รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์
ทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินอุดหนุนทั่วไปจากรัฐบาล

การผลิตกรดไขมันผสมเพื่อใช้เป็นสารมาตรฐานในการศึกษาแบบแผนชนิดของกรดไขมันด้วยก๊าซโครมาโตกราฟี

Production of Fatty Acid Mixtures for Using as Standards in Analysis of Fatty Acid Profiles by Gas Chromatography.

โดย

นางสาวศจี น้อยตั้ง (Ms. Sajee Noitang)

นางศรินทิพ สุกใส (Mrs. Sarintip Sooksai)

สถาบันวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement)

รายงานผลการวิจัยฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงได้ เพราะได้รับการสนับสนุนทุนงบประมาณแผ่นดินประจำปีงบประมาณ 2558 โดยได้รับการอนุมัติจาก รองศาสตราจารย์ ดร.นาตยา งามโรจนวณิชย์ ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ และ รองศาสตราจารย์ ดร.พลกฤษณ์ แสงวณิช คณบดีคณะวิทยาศาสตร์ (อดีตผู้อำนวยการสถาบันฯ) ผู้ที่ให้โอกาสในการดำเนินการวิจัย รวมทั้งให้คำปรึกษาเพื่อให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ทางคณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณอาจารย์ บุคลากร และนิสิตของสถาบันฯ ที่มีส่วนสนับสนุนด้านต่างๆ ทั้งงานด้านเอกสาร ด้านวัตถุดิบท้องถิ่น เช่น เมล็ดพืชต่างๆ เพื่อให้มีความหลากหลายของงานวิจัย

ขอขอบพระคุณ ว่าที่ร้อยเอก วีระเดช สุขเอียด ที่ให้คำปรึกษาเกี่ยวกับรายละเอียดต่างๆ ของพืชที่นำมาใช้ในงานวิจัย

ขอบใจเพื่อนติ๊ก ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องปั่นสำหรับเตรียมตัวอย่าง จนดำเนินการโครงการจนแล้วเสร็จ

คณะผู้วิจัย

บทคัดย่อ

ประเทศไทยเป็นแหล่งที่มีความสมบูรณ์ของพืชนานาชนิดโดยที่บริเวณสะสมน้ำมันของพืชจะอยู่ที่เมล็ด ยกเว้น เนื้อมะพร้าว และ ดอกคำฝอย มีการนำเมล็ดพืชจำนวน 48 ชนิด เนื้อและดอกมาอีก 2 ชนิด มาทำการสกัดน้ำมันด้วยวิธี soxhlet พบว่าในส่วนของเมล็ดพืชประเภทถั่ว (nut) มีปริมาณน้ำมันสูง (50-70%) รองลงมาคือพวกเมล็ดงา เมล็ดทานตะวัน เมล็ดแตงโม (40-50%) ซึ่งในพืชนำนวน 50 ชนิด ที่ได้นำมาทดลอง พบว่ามีพืชถึง 30 ชนิด ที่มีปริมาณน้ำมันสูงกว่า 20% ซึ่งน่าสนใจที่จะใช้เป็นแหล่งน้ำมันในการผลิตสารมาตรฐานของกรดไขมันที่พบในธรรมชาติ เมื่อนำน้ำมันเหล่านี้มาผ่านกระบวนการเปลี่ยนกรดไขมันให้อยู่ในรูปเมธิลเอสเทอร์ (FMAE) แล้วพบว่าในน้ำมัน 100 มิลลิกรัม สามารถเปลี่ยนเป็น FAME ได้ 80-95%

โดยในการเตรียมสารมาตรฐานแสดงกรดไขมันผสม FAME ของพืชแต่ละชนิด พบว่าการผสม FAME ของเนื้อมะพร้าว (CCN) : เมล็ดแมงลัก (OCM) : เมล็ดไนเจอร์ (NG) : เมล็ดแมคาดาเมีย (MM) : เมล็ดเงาะ (RBT) : เมล็ดฟักข้าว (FK) ที่อัตราส่วน 20 : 15 : 10 : 20 : 20 : 15 % (v/v) ตามลำดับ ให้กรดไขมันผสมที่มีองค์ประกอบของกรดไขมัน 15 ชนิด (ปริมาณเป็นเปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ดังนี้ methyl octanoate : C8:0 (1.09%) methyl decanoate : C10:0 (1.34%) methyl laurate : C12:0 (11.53%) methyl tetradecanoate : C14:0 (5.04%) methyl palmitate : C16:0 (7.83%) methyl palmitoleate : C16:1 (4.12%) methyl octadecanoate : C18:0 (6.21%) methyl oleate : C18:1n9 (28.40%) methyl linoleate : C18:2 (13.80%) methyl linoenate : C18:3 (9.07%) methyl arachidate : C20:0 (4.57%) methyl cis-11-eicosenoate : C20:1 (1.73%) methyl docosanoate : C22:0 (4.82%) และ methyl erucate : C22:1 (0.45%) ที่ครอบคลุมกรดไขมัน C8-C22 จากการใช้วัตถุดิบเริ่มต้นเพียง 6 ชนิด เท่านั้น ซึ่งในกระบวนการผลิตค่าใช้จ่ายเกี่ยวกับวัตถุดิบและสารเคมีรวมทั้งสิ้นประมาณ 400 บาท ต่อ 400 mg ของกรดไขมันผสมสำหรับใช้เป็นสารมาตรฐาน

Abstract

Thailand is abundance of plants which plant oil is usually accumulated in their seeds. In this research, forty eight seeds of plant and coconut meat and Safflower are used to extract oil and change fatty acids to fatty acid methyl ester (FAME) for study of their fatty acid profiles. Results showed that nuts are the seeds of plant that have the highest oil content (50-70%) and followed by sesame seed, sunflower seed, watermelon seed that have high oil content (40-50%). Thirty plants from fifty kinds of plant in this study have oil content more than 20% of dry weight which is interesting for production of the mixtures of FAME standard. Plant oil was derived to FAME by transesterification, IUPAC method, which the percent yield of FAME was 80-95%.

Therefore, the appropriate ratio of FAME for prepatation of the mixed FAME standard was coconut (CCN) : ocimum seed (OCM) : niger seed (NG) : macadamia seed (MM) : rambutan seed (RBT) : gac seed (FK) at 20 : 15 : 10 : 20 : 20 : 15 % (v/v), respectively. Result shown that the mixture of 15 FAMEs consist of methyl octanoate : C8:0 (1.09%), methyl decanoate : C10:0 (1.34%), methyl laurate : C12:0 (11.53%), methyl tetradecanoate : C14:0 (5.04%), methyl palmitate : C16:0 (7.83%), methyl palmitoleate : C16:1 (4.12%), methyl octadecanoate : C18:0 (6.21%), methyl oleate : C18:1n9 (28.40%), methyl linoleate : C18:2 (13.80%), methyl linoenate : C18:3 (9.07%), methyl arachidate : C20:0 (4.57%), methyl cis-11-eicosenoate : C20:1 (1.73%), methyl docosanoate : C22:0 (4.82%) and methyl erucate : C22:1 (0.45%) and cover C8-C22 fatty acid. And the production of the mixed FAME used only 6 raw materials (plants) which cost of the mixed FAME standard was about 400 bath for 400 mg.

สารบัญเรื่อง (Table of Contents)

หน้า

กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement) i

บทคัดย่อภาษาไทย ii

Abstract iii

สารบัญเรื่อง (Table of Contents) iv

สารบัญตาราง (List of tables) vi

สารบัญภาพ (List of Illustrations) vii

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในงานวิจัย (List of Abbreviation) viii

บทนำ (Introduction)

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย 1

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย 2

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย 2

1.4 ทฤษฎี สมมติฐาน (ถ้ามี) และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย 2

1.5 วิธีดำเนินการวิจัยโดยสรุป 6

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 6

เนื้อเรื่อง (Main body)

2.1 วิธีดำเนินการวิจัย 7

2.1.1 ค้นหาข้อมูลเมล็ดพืชที่มีความเหมาะสม 8

2.1.2 ดำเนินการจัดหาเมล็ดพืชที่ต้องการหรือสนใจเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบ 11

2.1.3 ทำการสกัดน้ำมันจากเมล็ดพืชต่างๆ ที่ต้องการ 11

2.1.3.1 การวิเคราะห์หาปริมาณร้อยละความชื้น 11

2.1.3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณร้อยละน้ำมันโดยน้ำหนักแห้ง 11

2.1.4 นำน้ำมันที่สกัดได้ในแต่ละเมล็ดพชมาทำการเปลี่ยนรูปให้อยู่ในรูปเมธิลเอสเทอร์ 12

2.1.4.1 %yield ของ FAME ที่ใช้ในการสกัด ตามวิธี IUPAC, 1979 12

2.1.4.2 %yield ของ FAME ที่ใช้ในการสกัด ตามวิธี IUPAC, 1979 13

2.1.4.3 การวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของกรดไขมันในสารมาตรฐาน C8-C22 13

2.1.5 สร้างแบบแผนกรดไขมันที่สามรถจำแนกชนิดได้อย่างง่ายหรือชัดเจน 14

2.1.6 นำน้ำมันในแต่ละเมล็ดพืชหรือวัตถุดิบต่างๆ มาทำการผลิตกรดไขมันผสม 14

2.1.7 วิเคราะห์ค่าใช้จ่ายและผลผลิตที่ได้ 14

2.2 อภิปรายผล (Results and Discussion) 15

2.2.1 ปริมาณร้อยละน้ำมันจากตัวอย่างโดยน้ำหนักแห้ง 16

2.2.2 %yield ของ FAME ที่ได้จากการสกัด 16

2.2.3 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่าง 17

2.2.4 การผลิตกรดไขมันให้อยู่ในรูปเมธิลเอสเทอร์ ของตัวอย่างน้ำมันที่ทำการคัดเลือก 20

2.2.5 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดไขมันของตัวอย่างน้ำมันที่ได้ทำการคัดเลือกเพื่อมาเป็นวัตถุดิบ 21

2.2.6 การปรับความเข้มข้นของตัวอย่างเพื่อนำมาทำการผสมเพื่อให้ได้ชนิดและปริมาณตามที่ต้องการ 22

2.2.7 การคำนวณต้นทุนในการผลิต 24

สรุปและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Recommendation) 26

เอกสารอ้างอิง (Reference) 27

ภาคผนวก (Appendix) 29

สารบัญตาราง (List of tables)

ที่		หน้า
1	จำนวนคาร์บอนอะตอมของกรดไขมันที่มีผลต่อจุดหลอมเหลวของไขมัน	4
2	เมล็ดหรือส่วนของพืชที่น่าสนใจและพบในประเทศไทย	8
3	แสดงชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างน้ำมัน	17
4	แสดงน้ำมันและกรดไขมันที่มีเหมาะสมกับการนำมาใช้ในการผลิตเมื่อเทียบกับ standard C8-C22	19
5	แสดงชนิดและปริมาณของกรดไขมันในน้ำมันแต่ละตัวอย่างเปรียบเทียบกับ สารมาตรฐานกรดไขมัน C8-22 (Std C8-C22)	21
6	การผสม FAME ในแต่ละอัตราส่วน	22
7	แสดงชนิดและปริมาณของกรดไขมันในน้ำมันแต่ละตัวอย่างเปรียบเทียบกับ สารมาตรฐานกรดไขมัน C8-C22 (Std C8-C22)	23
8	การคำนวณต้นทุนที่ใช้ในการผลิตกรดไขมันผสมเพื่อใช้เป็นสารมาตรฐานในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC	32
9	แสดงปริมาณน้ำมันของพืชแต่ละชนิด	34

สารบัญภาพ (List of Illustrations)

ที่		หน้า
1	โครงสร้างทั่วไปของกรดไขมัน	3
2	ปฏิกิริยารวมของเมธิลเอสเทอร์	5
3	แบบแผนกรดไขมันของสารมาตรฐาน Supelco C8-C22 : CRM18920	8
4	การสกัดน้ำมันตามวิธี soxhlet	12
5	Gas chromatography : GC	14
6	ตัวอย่างเมล็ดพืชที่นำมาใช้ในการสกัดน้ำมัน	15
7	ปริมาณน้ำมันในตัวอย่างโดยน้ำหนักแห้ง (w/w)	16
8	เปรียบเทียบ %yield ของ FAME ที่สกัดจากตัวอย่างพืช ตามวิธี IUPAC	20
9	แบบแผนกรดไขมันของกรดไขมันมาตรฐาน C8-C22 Mixed S9 และ Mixed S10	25
10	ใบ Certificate ของสารมาตรฐาน C8-C22 ยี่ห้อ Supelco	30

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในงานวิจัย (List of Abbreviation)

^{o}C	องศาเซลเซียส
$^{o}C/min$	องศาเซลเซียสต่อนาที
C-	Carbon
CH_3-	Methyl group
-COOH	Carboxyl group
FAME	Fatty acid methyl ester
GC	Gas chromatography
GC-FID	Gas chromatography- flame ionization detector
GC-MS	Gas chromatography-mass spectrometry
MUFA	Monounsaturated fatty acid
PUFA	Polyunsaturated fatty acid
SFA	Saturated fatty acid
Std.	Standard
v/v	ปริมาตรต่อปริมาตร
w/v	น้ำหนักต่อปริมาตร
w/w	น้ำหนักต่อน้ำหนัก

บทนำ (Introduction)

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ในอุตสาหกรรม กรดไขมัน (fatty acid) ผลิตโดยการไฮโดรไลสิส (hydrolysis) เอสเตอร์ (ester) ไขมันหรือน้ำมันที่อยู่ในรูปของไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) ด้วยการกำจัดกลีเซอรอลออกไป ชนิดของกรดไขมันที่มีพันธะคู่จะเรียกว่ากรดไขมันไม่อิ่มตัว และกรดไขมันที่ไม่มีพันธะคู่จะเรียกว่ากรดไขมันอิ่มตัว โดยจะแตกต่างกันในความยาวของคาร์บอน โดยมีการจำแนกเป็นกลุ่มๆ คือ

กลุ่มไขมันในนม (milk fat group) ประกอบด้วย กรดโอเลอิค (oleic acid) กรดปาลมิติค (palmitic acid) กรดเสตียริค (stearic acid) และจะมีกรด C_4-C_{12} เป็นจำนวนมาก

กลุ่มกรดลอริค (lauric acid group) มีกรดลอริคสูง แต่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวต่ำซึ่งเป็นผลดีในแง่ของอายุการเก็บรักษา ได้แก่ น้ำมันมะพร้าว น้ำมันจากเนื้อในเมล็ดปาล์ม (palm kernel) และบาบาสสุ (babassu) หรือที่เรียกว่า coquilla nut

กลุ่มของไขมันกลุ่มใหญ่ (oleic - linoleic acid group) ซึ่งมีความสำคัญเป็นไขมันจากพืชทั้งหมด มักมีกรดไขมันที่อิ่มตัวกว่าร้อยละ 20 ได้แก่ น้ำมันที่สกัดได้จากเมล็ดพืช คือ ฝ้าย ข้าวโพด งา ถั่วลิสง ทานตะวัน ดอกคำฝอย และจากส่วนเนื้อของมะกอก (olive) และปาล์ม

กลุ่ม Linolenic acid group ประกอบด้วยกรดลิโนเลนิคจำนวนมาก ทั้งยังมีกรดโอเลอิคและลิโนเลอิคอยู่มากด้วย คือ น้ำมันแมงลัก น้ำมันที่สกัดจากคัพภะของข้าวสาลี (wheat germ oil) น้ำมันลินซีด ทั้งนี้น้ำมันที่มีกรดลิโนเลนิคปริมาณมากจะมีสมบัติเป็น drying oil

กลุ่มไขมันที่ได้จากสัตว์ (animal fat group) ได้แก่ หมู และวัว จะมีกรดไขมันชนิดอิ่มตัว C_{16} และ C_{18} ร้อยละ 30-40 และมีกรดโอเลอิคและลิโนเลอิคสูงถึงร้อยละ 60 ไขมันพวกนี้มีจุดหลอมเหลวสูง เนื่องจากมีกรดไขมันชนิดอิ่มตัวมาก

ทั้งนี้คุณสมบัติของไขมันบางชนิดเมื่อตั้งทิ้งไว้ในอากาศมีสมบัติในการจับตัวกันเป็นโพลีเมอร์ (polymer) เกิดเป็นแผ่นแข็งบาง ๆ เรียกว่าเกิดการพอลิเมอไรเซชั่น (polymerization) ซึ่งน้ำมันพวกนี้เรียกว่า “drying oil”เป็นน้ำมันที่มีกรดไขมันพวกที่ไม่อิ่มตัวสูงๆ อยู่มาก ใช้ประโยชน์สำหรับทำสีทาบ้าน และทำน้ำมันชักเงา เช่น พวกน้ำมันลินซีด น้ำมันตัง และ purilla oil ส่วนไขมันอีกพวกหนึ่งที่ไม่แข็งตัวเรียกว่า “non-drying oil” เช่น น้ำมันถั่วลิสง น้ำมันละหุ่ง และน้ำมันมะกอก น้ำมันบางอย่างมีสมบัติอยู่ระหว่างไขมันทั้ง 2 ประเภทข้างต้น จัดเป็น semidrying oil เช่น น้ำมันเมล็ดฝ้าย น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันข้าวโพด และน้ำมันเมล็ดทานตะวัน

จากกรดไขมันในแต่ละกลุ่มจะเห็นได้ชัดเจนถึงความหลากหลาย ซึ่งมีงานวิจัย งานเชิงพาณิชย์ในอุตสาหกรรม และงานบริการวิชาการแก่สังคมของหน่วยงานของรัฐ ที่จำเป็นต้องใช้กรดไขมันมาตรฐานในการดูแบบ

แผนชนิดของกรดไขมัน โดยสารมาตรฐานกรดไขมันที่วางจำหน่ายมีทั้งแบบสารมาตรฐานกรดไขมันเดี่ยวๆ และสารมาตรฐานกรดไขมันผสม ในปัจจุบันสารมาตรฐานกรดไขมันที่ใช้ได้ถูกนำมาจากตัวแทนจำหน่ายที่นำเข้ามาจากต่างประเทศและมีราคาสูง และมีอายุการเก็บรักษาสั้น เนื่องจากกรดไขมันมาตรฐานบางชนิดเป็นน้ำมันชักแห้ง ทางผู้วิจัยเล็งเห็นปัญหาที่เกิดขึ้นในแง่ของต้นทุน การสูญเสีย และอุปสรรคในการต้องรอนำเข้าจากต่างประเทศ โดยในประเทศไทยมีแหล่งวัตถุดิบที่มีความหลากหลายของกรดไขมัน หากนำมาทำการศึกษาการผลิตกรดไขมันผสมที่มีแบบแผนในการจำแนกได้อย่างเหมาะสม และกรดไขมันผสมจะมีอายุการเก็บรักษาที่ยาวนานขึ้น และยังใช้วัตถุดิบในประเทศอีกด้วย

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1.2.1 เพื่อผลิตกรดไขมันผสมที่มีแบบแผนเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดไขมันในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคก๊าซโครมาโตกราฟี

1.2.2 เพื่อเป็นแนวทางในการลดปัญหาต้นทุนสารมาตรฐานที่ใช้ในงานบริการวิชาการ งานวิจัย และผลิตภัณฑ์เชิงพาณิชย์

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

1.3.1 ค้นหาข้อมูลเมล็ดพืชหรือแหล่งวัตถุดิบที่มีความเหมาะสม

1.3.2 สกัดน้ำมันจากเมล็ดพืชต่างๆ หรือแหล่งวัตถุดิบที่ต้องการ

1.3.3 วิเคราะห์ชนิดและปริมานกรดไขมันด้วยเทคนิคก๊าซโครมาโตกราฟี

1.3.4 สร้างแบบแผนกรดไขมันที่มีให้สามารถจำแนกชนิดได้อย่างง่ายหรือชัดเจน

1.3.5 ผลิตกรดไขมันผสมเพื่อใช้เป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบแบบแผนของกรดไขมันด้วยเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟี

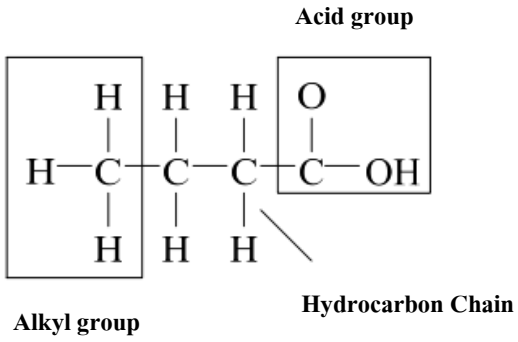
1.3.6 วิเคราะห์ค่าใช้จ่ายและผลผลิตที่ได้

1.4 ทฤษฎี สมมติฐาน (ถ้ามี) และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

ไขมันเป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันกับกลีเซอรอล เกิดจากหมู่ไฮดรอกซิลของกลีเซอรอลทำปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันกับกรดไขมัน หนึ่ง สอง หรือ สามหมู่ ถ้าหมู่ไฮดรอกซิลของกลีเซอรอลเกิดเอสเทอร์กับกรดไขมันหนึ่งหมู่เรียกว่า โมโนกลีเซอไรด์ (monoglyceride) สองหมู่เรียกว่า ไดกลีเซอไรด์ (diglyceride) และสามหมู่เรียกว่า ไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) ถ้าไดกลีเซอรไรด์หรือไตรกลีเซอรไรด์ที่เกิดขึ้นประกอบด้วยกรดไขมันต่างชนิดกันจะเรียกว่า กลีเซอไรด์ผสม (mixed glyceride) ซึ่งไขมันธรรมชาติทั่วไปจะมีโครงสร้างประเภทนี้ ไขมันอาจมีสถานะเป็นของแข็งหรือของเหลวก็ได้ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและจุดหลอดเหลวของไขมันนั้นๆ ไขมันที่มีสถานะเป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้องนั้นเรียกว่า น้ำมัน (oil) เช่น น้ำมันมะกอก (olive oil) และน้ำมันเมล็ดฝ้าย (cotton seed oil) เป็นต้น (White, 1968)

ส่วนไขมันที่มีสถานะเป็นของแข็งที่อุณหภูมิห้องจะเรียกว่า ไขมัน (fat) โดยโรงงานสบู่จะมีการจำแนกไขมันออกเป็น 2 ประเภท เมื่อทำการวัดอุณหภูมิ ณ จุดที่ไขมันเริ่มแข็งตัว ถ้าอุณหภูมิสูงกว่า 38 องศาเซลเซียส เรียกว่า ไขมันสัตว์ (tallow) ถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 38 องศาเซลเซียส เรียกว่า ไขมันชนิดข้น (grease) โดยไขมันแต่ละชนิดที่มีจุดหลอมเหลวเท่ากันอาจมีปริมาณกรดไขมันอิสระ สี ความชื้น และสารที่ทำปฏิกิริยากับด่างในปริมาณต่างกัน (พันทิพา, 2539)

กรดไขมัน (fatty acid) คือกรดคาร์บอกซิลิก (carboxylic acid) เป็นกรดอินทรีย์ ซึ่งโมเลกุลของกรดไขมันประกอบด้วยหมู่คาร์บอกซิล (-COOH) ซึ่งแสดงความเป็นกรดต่ออยู่กับสายของไฮโดรคาร์บอน (ภาพที่ 1) กรดไขมันในอาหารมีจำนวนคาร์บอนเป็นเลขคู่ ประมาณ 4-24 อะตอม สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม ตามชนิดของพันธะในสายของไฮโดรคาร์บอน กรดไขมันที่อิ่มตัว (saturated fatty acid) และกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) ซึ่งประกอบด้วยกรดไขมันที่มีพันธะคู่ 1 อัน (monounsaturated fatty acid : MUFA) และกรดไขมันที่มีพันธะคู่ตั้งแต่ 2 อันขึ้นไป (polyunsaturated fatty acid : PUFA) กรดไขมันเป็นลิพิด (lipid) ซึ่งในธรรมชาติมักไม่พบกรดไขมันในรูปของกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) แต่พบกรดไขมันเป็นองค์ประกอบอยู่ในโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) หรือไตรเอซิลกลีเซอรอล (triacylglycerol) อยู่ในน้ำมัน (oil) และไขมัน (fat) ทั้งจากพืชและสัตว์ จากความหลากหลายของชนิดของกรดไขมันทำให้ไขมันและน้ำมันเกิดลักษณะได้ 3 แบบ คือ ไขมันชนิดที่มีสมบัติจับตัวกันเป็นโพลิเมอร์ (polymer) เมื่อต้องทิ้งไว้ในอากาศ เรียกว่า “drying oil” ไขมันที่ไม่แข็งตัวเมื่อสัมผัสอากาศ เรียกว่า “non-drying oil” และน้ำมันที่มีสมบัติอยู่ระหว่าง drying oil และ non-drying oil เรียกว่า “semidrying oil”



ภาพที่ 1 โครงสร้างทั่วไปของกรดไขมัน (British nutrition foundation, 2016)

ไขมันจะประกอบด้วยกรดไขมันหลายชนิดที่มีส่วยประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางฟิสิกส์ที่แตกต่างกัน โดยกรดไขมันที่ปรากฏตามธรรมชาติส่วนใหญ่ประกอบด้วยจำนวนคาร์บอนอะตอมเลขคู่ ถ้าโมเลกุลใหญ่ขึ้นจากการที่มีสายยาวขึ้นจะทำให้จุดหลอมเหลวสูงขึ้นดังแสดงในตารางที่ 1 ซึ่งตำแหน่งและจำนวนพันธะคู่มีผลต่อจุดหลอมเหลวด้วย

ตารางที่ 1 จำนวนคาร์บอนอะตอมของกรดไขมันที่มีผลต่อจุดหลอมเหลวของไขมัน

จำนวนคาร์บอนอะตอม	กรดไขมัน	จุดหลอมเหลว (องศาเซลเซียส)	แหล่งไขมัน
4	บิวทีริก (Butyric)	-5.3	ไขมันนม
6	คาร์โพรอิก (Carpoic)	-3.2	ไขมันนม
8	คาร์พรีอิก (Carpryic)	16.5	ไขมันนมและน้ำมันเมล็ดปาล์ม
10	คาร์พริก (Carpric)	31.6	น้ำนมแกะและน้ำนมแพะ
12	ลูริก (Lauric)	44.8	น้ำมันมะพร้าว
14	มายริสติก (Myristic)	54.4	น้ำมันปาล์มและน้ำมันมะพร้าว
16	ปาล์มิติก (Palmitic)	69.2	ไขมันสัตว์
18	สเตียริก (Stearic)	70.1	ไขมันสัตว์
20	อะแรชชิดิก (Arachidic)	76.1	ไขมันสัตว์บางชนิด
22	เบเฮนิก (Behenic)	80.0	น้ำมันจากเมล็ดพืช
24	ลิกโนเซอริก (Lignoceric)	84.2	น้ำมันจากเมล็ดพืช
26	เซอโรติก (Cerotic)	87.8	ไขมันพืช
28	มอนตานิก (Montanic)	90.9	ไขมันพืช
30	เมลิสสิก (Melissic)	93.6	ไขมันพืช

ที่มา : Johnson and Peterson (1974)

ทางเลือกในการวิเคราะห์นิยมใช้ก๊าซโครมาโตกราฟี (Gas chromatography : GC) สวนใหญจะนิยมใช ตัวตรวจวัดแบบเฟลมไอออไนเซชั่นดีเทคเตอร์ (Flame-Ionization Detector : FID) หรือก๊าซโครมาโตกราฟี แมสสเปคโตรเมทรี (Gas chromatography-mass spectrometry : GC-MS) การใช GC-MS ในการตรวจวิเคราะห มีขอได เปรียบกวาการใช GC-FID อยู เชน สามารถวิเคราะหหามวลของสารตัวอยางได โดยไม่จำเป็นต องใช สาร มาตรฐาน อีกทั้งยังสามารถวิเคราะหองคประกอบของธาตุและโครงสรางของสารตัวอยางได หากแตขอเสียของการวิ เคราะหด วยเทคนิค GC-MS นั้นมีราคาที่แพงกวาการตรวจวิเคราะหโดยใช GC-FID ดังนั้นในทางอุตสาหกรรมในการ ตรวจวิเคราะหปริมาณสารอินทรีย เทคนิค GC-FID จึงเปนที่นิยมมากกวา GC-MS โดย fatty acid ที่จะวิเคราะห์ด้วย เทคนิค GC-FID จะต้องผ่านการทำ derivatization ก่อนจะนำมาทำการวัด โดยจะใช้ methyl esterization หรือ trimethylsilylation แต่ methyl esterization (ภาพที่ 2) จะเป็นที่นิยมมากกว่า ซึ่งจะได้กรดไขมันที่อยู่ในรูปเมธิล เอสเทอร์ (fatty acid methyl ester: FAME) (ภิเษก และสายรุ้ง, 2555) โดยช่องทางการนำไปใช้ของสารมาตรฐาน กรดไขมันมีหลากหลาย ทั้งในส่วนของงานวิจัย งานบริการวิชาการแก่สังคม และเชิงพาณิชย์ เช่น ไบโอดีเซล อาหาร และยา เป็นต้น แต่เนื่องจากสารมาตรฐานกรดไขมันที่ใช้แยกเป็นแต่ละชนิด แต่อายุการใช้งานจะสั้นโดยเฉพาะกรด ไขมันในกลุ่ม PUFA ที่เกิดการ polymerization รวมทั้งมีราคาค่อนสูง เนื่องจากนำเข้าจากต่างประเทศ และมี ระยะเวลาในการขนส่งทำให้เกิดผลเสียต่องานด้านต่างๆ การศึกษาวิจัยนี้ได้ออกแบบการศึกษาเพื่อผลิตกรดไขมันผสม

เพื่อใช้เป็นสารมาตรฐานในตรวจสอบแบบแผนของกรดไขมันที่ต้องการ โดยกรดไขมันผสมจะสามารถเก็บรักษาได้นานกว่ากรดไขมันชนิดเดี่ยว ลดต้นทุน และใช้วัตถุดิบภายในประเทศ

ภาพที่ 2 ปฏิกิริยารวมของเมธิลเอสเทอร์

การนำกรดไขมันไปใช้มีค่อนข้างมากในปัจจุบัน คือ การพัฒนาผลิตภัณฑ์ แก้ปัญหา บริการวิชาการ งานวิจัยต่างๆ เป็นต้น ด้านงานวิจัยในเชิงพัฒนาผลิตภัณฑ์ด้านเชื้อเพลิงพลังงานทดแทน เช่น ไบโอดีเซล มีความจำเป็นต้องใช้กรดไขมันเพื่อเป็นสารมาตรฐานในตรวจสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์ กรดไขมันโอเมก้า-3 (Omega-3 fatty acid) และโอเมก้า-6 (Omega-6 fatty acid) เป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวซึ่งมีพันธะคู่หลายอัน โดยโอเมก้า-6 มีตำแหน่งของพันธะคู่ซึ่งนับจากคาร์บอนบนสายกรดไขมันด้านปลายที่มีหมู่เมธิล (CH_3-) ตำแหน่งที่ 6 และโอเมก้า-3 จะมีพันธะคู่อยู่ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ซึ่งจะมีคุณสมบัติในการเป็น drying oil และ semidrying oil แต่กรดไขมันโอเมก้า-3 และ 6 ที่ได้จากปลาจะถูกนำมาใช้มากในอุตสาหกรรมอาหาร (Nuria et.al., 2010)

โดยในทางการค้าสารมาตรฐานของกรดไขมันมีการจำหน่ายผลิตภัณฑ์ Supelco® และ Sigma-Aldrich® ของ ห้างหุ้นส่วนจำกัดแซคซายน์ Accustandard® ของบริษัทแสงวิทย์ซายน์จำกัด เป็นต้น ซึ่งมีการนำเข้าในรูปแบบต่างๆ เช่น กรดไขมันและอนุพันธ์กรดไขมันแบบเดี่ยวๆ หรือแบบผสมเพื่อใช้ในการตรวจสอบโดยเฉพาะ เช่น น้ำมันตับปลา น้ำมันในเนื้อ น้ำมันจากเมล็ดถั่วเหลือง น้ำมันปาล์ม เป็นต้น หรือการนำกรดไขมันแบบเดี่ยวมาทำให้อยู่ในรูปกรดไขมันผสมตามกลุ่มของจำนวนคาร์บอน พันธะ หรือแบบรวม ซึ่งประมาณ 100 มิลลิกรัม มีราคาอยู่ในช่วง 100-1,000 เหรียญ (ประมาณ 3,000-30,000 บาท) คณะผู้วิจัยได้ทำการศึกษาค้นคว้าหาข้อมูลงานวิจัยกรดไขมันต่างๆ ที่สอดคล้องกับวัตถุดิบในประเทศ เช่น น้ำมันเมล็ดแมงลักมีองค์ประกอบของกรดไขมันไม่อิ่มตัว คือ linolenic acid (C 18:3), linoleic acid (C 18:2), oleic acid (C 18:1) และกรดไขมันอิ่มตัว palmitic acid (C 16:0) และ steric acid (C 18:0) (ศรินทิพ และคณะ, 2552) ขณะที่น้ำมันปาล์มและน้ำมันเมล็ดมะกอกมีองค์ประกอบของกรดไขมันหลัก คือ palmitic acid, myristic acid (C 14:0), oleic acid และ linoleic acid (Rohmana and Che Man, 2010) น้ำมันจากเมล็ดเงาะมีกรดไขมัน oleic acid, arachidic acid (C 20:0), palmitic acid, stearic acid, Eicosenoic acid หรือ gondoic acid (C 20:1) และ behenic acid (C 22:0) (Augustin and Chua, 1988) น้ำมันมะพร้าวมีกรดไขมัน

caprylic acid (C 8:0), capric acid (C 10:0), myristic acid, palmitic acid, stearic acid, oleic acid และ linoleic acid (Paiwan et.al., 2013) น้ำมันแมคคาเดเมีย (macademia oil) พบกรดไขมัน palmitoleic acid (C 16:1) และ asclepic acid (C 18:1 Alpha) (Antonio et.al., 2011) เป็นต้น

จากข้อมูลเบื้องต้นทางคณะผู้วิจัยจะดำเนินการสำรวจข้อมูลเบื้องต้นในการออกแบบกรดไขมันผสมที่มีการใช้วัตถุดิบที่สามารถหาได้ในประเทศในรูปเมล็ดพืชต่างๆ เพื่อสามารถนำมาใช้เป็นสารมาตรฐานในงานวิจัย งานเชิงพาณิชย์ หรืองานบริการวิชาการแก่สังคมได้ โดยจะวิเคราะห์หาต้นทุน และผลผลิตที่ได้จากการผลิตกรดไขมันผสม

1.5 วิธีดำเนินการวิจัยโดยสรุป

1.5.1 ค้นหาข้อมูลเมล็ดพืชที่มีความเหมาะสม ที่มีอยู่ในท้องตลาด หรือสามารถจัดหาได้ง่าย

1.5.2 ดำเนินการจัดหาเมล็ดพืชที่ต้องการ หรือสนใจเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบ

1.5.3 ทำการสกัดน้ำมันจากเมล็ดพืชต่างๆ ที่ต้องการ ตามวิธี Soxhlet ด้วยปิโตรเลียมอีเธอร์ พร้อมทั้งวิเคราะห์หาร้อยละไขมัน (ต่อน้ำหนักแห้ง) (AOAC, 1990)

1.5.4 นำน้ำมันที่สกัดได้ในแต่ละเมล็ดพืชมาทำการเปลี่ยนรูปให้อยู่ในรูปเมธิลเอสเทอร์ เพื่อวิเคราะห์ชนิดและปริมานกรดไขมันด้วยเทคนิคก๊าซโครมาโตรกราฟี (คิดเป็นร้อยละต่อปริมาณกรดไขมันทั้งหมด) (IUPAC, 1979)

1.5.5 สร้างแบบแผนกรดไขมันที่มีให้สามารถจำแนกชนิดได้อย่างง่ายหรือชัดเจน ซึ่งสามารถจำแนกได้จาก relation time, peak และ condition ที่เหมาะสม

1.5.6 นำน้ำมันในแต่ละเมล็ดพืชหรือวัตถุดิบต่างๆ มาทำการผลิตกรดไขมันผสมเพื่อใช้เป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบแบบแผนของกรดไขมันด้วยเครื่องก๊าซโครมาโตรกราฟี

1.5.7 วิเคราะห์ค่าใช้จ่าย และผลผลิตที่ได้

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.6.1 เสนอผลงานในงานประชุมวิชาการระดับชาติ/นานาชาติ 1 ครั้ง หรือ บทความที่ตีพิมพ์ระดับชาติ/นานาชาติ 1 ฉบับ

1.6.2 ผลิตสารมาตรฐานเพื่อใช้ในงานวิจัยและงานบริการวิชาการของสถาบันฯ หรือเชิงพาณิชย์

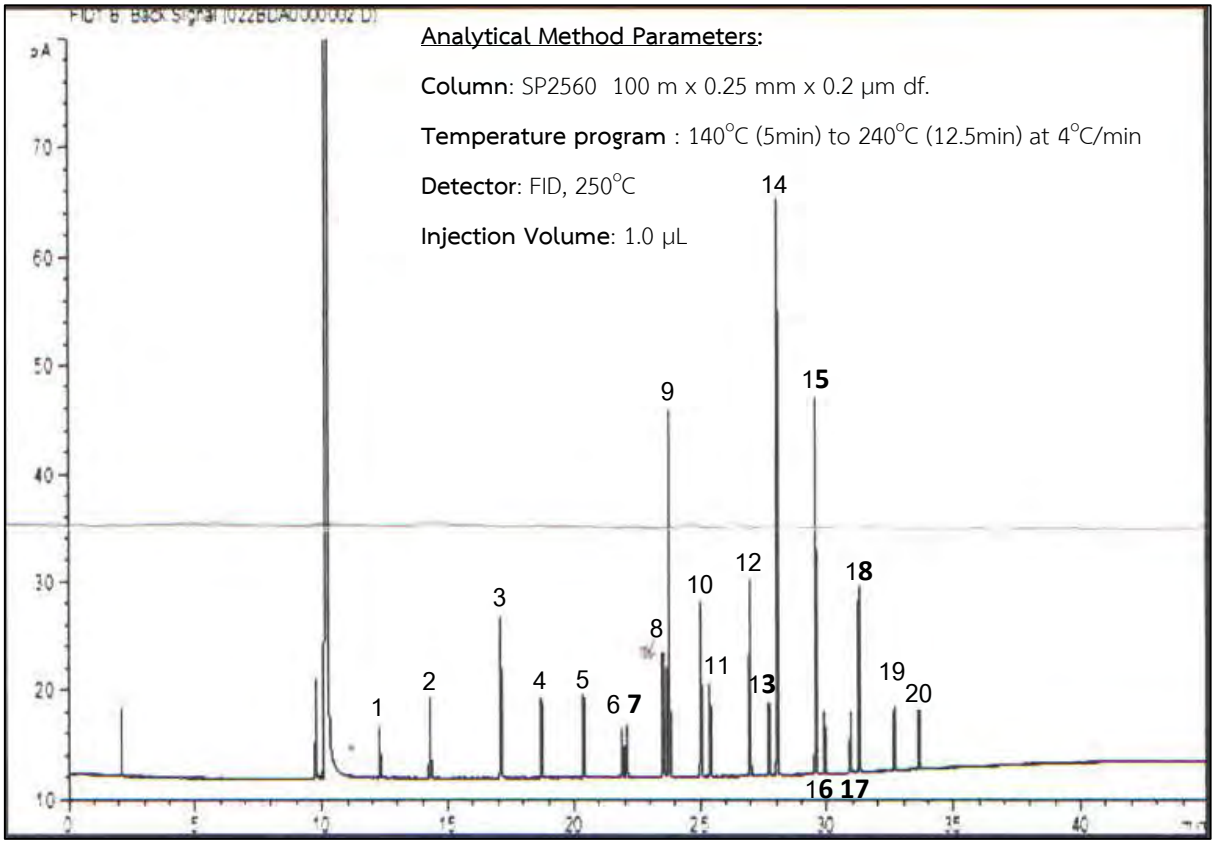
เนื้อเรื่อง (Main Body)

2.1 วิธีดำเนินการวิจัย (Materials and Methods)

งานวิจัยนี้มีความสนใจในการผลิตสารมาตรฐานของกรดไขมันที่ครอบคลุมกับกรดไขมันที่มีอยู่ในธรรมชาติ จากการค้นคว้าหากรดไขมันมาตรฐานในรูปแบบผสมหลายชนิดของกรดไขมันมาตรฐานยี่ห้อ Supelco (fatty acid methyl ester, C8-C22 : CRM18920) ซึ่งมีกรดไขมันและ Internal standard รวม 20 ชนิด เพื่อใช้เป็นสารต้นแบบในการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานของกรดไขมันผสมที่จะดำเนินการวิจัย โดยมีชนิดของกรดไขมันดังนี้

1) methyl octanoate (C8:0)
2) methyl decanoate (C10:0)
3) methyl laurate (C12:0)
4) methyl tridecanoate (C13:0)
5) methyl tetradecanoate (C14:0)
6) myristoleic acid methyl ester (C14:1)
7) Internal standard (IS)
8) methyl pentadecanoate (C15:0)
9) methyl palmitate (C16:0)
10) methyl palmitoleate (C16:1)
11) methyl hepptadecanoate (C17:0)
12) methyl octadecanoate (C18:0)
13) trans-9-elaidic methyl ester (C18:1t)
14) methyl oleate (C18:1n9)
15) methyl linoleate (C18:2)
16) methyl arachidate (C20:0)
17) methyl cis-11-eicosenoate (C20:1)
18) methyl linoenate (C18:3)
19) methyl docosanoate (C22:0)
20) methyl erucate (C22:1)

เรียงตามลำดับ 1-20 ของแบบแผนกรดไขมันสารมาตรฐาน C8-C22 ดังแสดงในภาพที่ 3



ภาพที่ 3 แบบแผนกรดไขมันของสารมาตรฐาน Supelco C8-C22 : CRM18920

2.1.1 ค้นหาข้อมูลเมล็ดพืชที่มีความเหมาะสม ที่มีอยู่ในท้องตลาด หรือสามารถจัดหาได้ง่าย เมล็ดพืชในประเทศ

เมล็ดหรือส่วนของพืชในไทยที่เป็นพืชท้องถิ่นและมีจำหน่ายค่อนข้างมีอย่างหลากหลาย และอาจมีปริมาณน้ำมัน ชนิดและปริมาณกรดไขมันที่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 เมล็ดหรือส่วนของพืชที่น่าสนใจและพบในประเทศไทย

ที่	ตัวอย่าง	ชื่อสามัญ (Common name)	ชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific name)	วงศ์ (Family)
1	เมล็ดเรฟ (ผักกาดก้านขาว)	Rape seed	*Brassica napus* L.	BRASSICACEAE
2	เมล็ดผักกาดเขียว กวางตุ้งดอก	Rape seed	*Brassica chinensis Juslvav. Parachinensis* (Bailey) Tseng Lee.	BRASSICACEAE
3	เมล็ดผักกาดกวางตุ้ง	Rape seed	*Brassica napus* L.	BRASSICACEAE
4	เมล็ดฮาเซลนัท	Hazelnut	*Corylus* spp.	BETULACEAE

ที่	ตัวอย่าง	ชื่อสามัญ (Common name)	ชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific name)	วงศ์ (Family)
5	เมล็ดเงาะ	Rambutan	*Nephelium lappaceum* Linn.	SAPINDACEAE
6	เมล็ดสบู่ดำ	Purging nut	*Jatropha curcas* Linn.	EUPHORBIACEAE
7	ดอกคำฝอย	Safflower	*Carthamus tinctorius* L.	ASTERACEAE (COMPOSITAE)
8	เมล็ดแตงโม	Watermelon	*Citrullus lanatus* (Thunb.) Mats. & Nakai	CUCURBITACEAE
9	เมล็ดกระเจี๊ยบแดง	Roselle	*Hibiscus sabdariffa* Linn.	MALVACEAE
10	เมล็ดคะน้าใบ	Chinese Kale	*Brassica albroglabra*	CRACITERAE
11	เมล็ดคะน้ายอดต้นใหญ่	Chinese Kale	*B. oleraceae Var. alboglabra*	CRUCIFERAE
12	เมล็ดมะละกอฮอลแลนด์	Holland papaya seed	*Carica papaya* L.	CARICACEAE
13	เมล็ดฝ้าย	Cotton seed	*Gossypium hirbaceum* L.	MALVACEAE
14	เมล็ดอัลมอนด์	Almond	*Prunus dulcis* (Mill.)	ROSACEAE
15	เมล็ดถั่วพู	Winged bean seed	*Psophocarpus tetragonolobus* (L.)	LEGUMINOSAE-PAPILIONOIDEAE
16	เมล็ดพีแคน	Pecan nut	*Carya illinoinensis*	JUGLANDACEAE
17	เมล็ดไนเจอร์	Niger seed	*Guizotia abyssinica*	ASTERACEAE
18	เมล็ดไนเจอร์ แม่โจ้	Niger seed maejo	*Guizotia abyssinica*	ASTERACEAE
19	เนื้อมะพร้าว	Coconut	*Cocos nucifera* L	PALMAE
20	เมล็ดมะรุมไทย	Horse radish, Drumstick seed	*Moringa oleifera* Lam.	MORINGACEAE
21	เมล็ดถั่วลิสง	Peanut	*Arachis hypogaea* L.	LEGUMINOSAE
22	เมล็ดมะม่วงหิมพานต์	Cashew nut	*Anacardium occidentale*	ANACARDIACEAE
23	เมล็ดผักชี	Coriander	*Coriandrum sativum* L.	APIACEAE
24	เมล็ดวอลนัท	Walnut	*Juglans* spp.	JUGLANDACEAE
25	เมล็ดงาดำ	Black sesame	*Sesamum indicum* L.	PEDALIACEAE
26	เมล็ดงาขาว	White sesame	*Sesamum indicum* L.	PEDALIACEAE
27	เมล็ดเฟลกซ์/ ลินิน	Flax seed	*Linum usitatissimum* L.	LINACEAE
28	เมล็ดทานตะวันดำ	Sunflower	*Helianthus Annus* Var. Macrocarpus	COMPOSITAE
29	เมล็ดทานตะวันลาย	Sunflower	*Helianthus Annus* Var. Macrocarpus	COMPOSITAE/ ASTERACEAE

ที่	ตัวอย่าง	ชื่อสามัญ (Common name)	ชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific name)	วงศ์ (Family)
30	เมล็ดแมคาเดเมีย	Macadamia	*Macadamia integrifolia*	PROTEACEAE
31	เมล็ดถั่วเหลือง	Soybean	*Glycine max* (L.) Merr.	LEGUMINOSAE
32	เมล็ดงาขี้ม่อน	Perilla	*Perilla frutescens* (L.) Britton	LAMIACEAE
33	เมล็ดแมงลักสุโขทัย	Hairy Basil	*Ocimum basilicum* L.f. var. citratum Back.	APIACEAE (Labiatae)
34	เมล็ดบวบเหลี่ยม	Angled loofah	*Luffa acutangula* (L.) Roxb.	CUCURBITACEAE
35	เมล็ดกระเจี๊ยบเขียว	Okra Gumbo, Lady's finger	*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench	MALVACEAE
36	เมล็ดข้าวโพด	Corn seed	*Zea Mays* L.	GRAMINEAE
37	เมล็ดมะกล่ำตาช้าง	Red wood	*Adenanthera pavonina* L.	LEGUMINASAE
38	เมล็ดอัญชัน	Butterfly pea	*Clitoria ternatea* L.	FABACEAE
39	เมล็ดกระถิน	White popinac	*Leucaena leucocephala* (Lamk.) de Wit	FABACEAE
40	เมล็ดราชพฤกษ์	Golden shower	*Cassia fistula* L.	FABACEAE
41	เมล็ดฟักทอง	Pumpkin	*Cucurbita maxima*	CUCURBITACEAE
42	เมล็ดถั่วฟักยาว	Yardlong bean	*Vigna unguiculata subsp. Sesquipedalis* (L.) Verdc.	FABACEAE
43	เมล็ดชำมะเลียง	Luna nut	*Lepisathes fruticosa* (Roxb.) Leenh	PIPERACEAE
44	เมล็ดทุเรียนเทศ	Soursop	*Annona municata* L.	ANNONACEAE
45	เมล็ดมะนาวผี	Manao Phi	*Atalantia monophylla* (Roxb.) A. DC.	RUTACEAE
46	กำชำ, มวด	-	*Lepisanthes rubiginosa* (Roxb.) Leenh.	SAPINDACEAE
47	เมล็ดแคขาว	Agasta	*Sesbania grandiflora* (L.) Poiret	FABACEAE
48	เมล็ดผักบุ้งจีน	Water spinach, Chinese spinach	*Ipomoea aquatic* Forssk. Var. reptan	CONVOLVULCEAE
49	เมล็ดฟักข้าว	Gac	*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng	CUCURBITACEAE
50	เมล็ดลูกเนียงนก	-	*Archidendron jiringa* (Jack)	LEGUMINOSAE

ที่มา : Wikipedia (2016)

2.1.2 ดำเนินการจัดหาเมล็ดพืชที่ต้องการ หรือสนใจเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบ

จากการค้นหาข้อมูลและหาวัตถุดิบในการสกัดได้ทั้งหมด 50 ชนิด ที่มีอยู่ในไทย เป็นเมล็ดพืช จำนวน 48 ชนิด และส่วนเนื้อกับดอกอีกจำนวน 2 ชนิด

2.1.3 ทำการสกัดน้ำมันจากเมล็ดพืชต่างๆ ที่ต้องการ ตามวิธี Soxhlet ด้วยปิโตรเลียมอีเธอร์ พร้อมทั้งวิเคราะห์หาร้อยละไขมัน (ต่อน้ำหนักแห้ง) (AOAC, 1990)

2.1.3.1 การวิเคราะห์หาปริมาณร้อยละความชื้น (%moisture)

นำเมล็ดพืชที่ต้องการสกัดหาปริมาณความชื้นมาทำการบดด้วยเครื่องปั่น แล้วชั่งตัวอย่างประมาณ 5 กรัม ใส่ถ้วยอลูมิเนียม (aluminium dish) ที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอนทศนิยม 4 ตำแหน่ง นำไปทำการอบให้แห้งในตู้อบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 100$\pm$5°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เอาออกจากตู้อบลมร้อนมาทำให้เย็นในโถดูดความชื้น (desiccator) ชั่งน้ำหนัก (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) แล้วนำไปอบพร้อมทำตามวิธีข้างต้นจนกระทั่งน้ำหนักคงที่

<u>วิธีคำนวน</u>

$$\%\text{moisture (w/w)} = \frac{\text{(wt. sample + foil หลังอบ) – (wt. sample + foil ก่อนอบ)}}{\text{wt. sample}} \times 100$$

2.1.3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณร้อยละน้ำมันโดยน้ำหนักแห้ง (%oil)

นำเมล็ดพืชที่ต้องการสกัดหาปริมาณน้ำมันมาทำการบดด้วยเครื่องปั่น แล้วชั่งตัวอย่างประมาณ 2-5 กรัม (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ใส่กระดาษกรอง whatman เบอร์ 2 แล้วนำไปใส่ลงใน thimble แล้วต่อเข้ากับชุดสกัด soxhlet ที่มีขวดก้นกลม (round bottom flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่ทราบน้ำหนัก (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ที่มีการเติมปิโตเลียมอีเธอร์ 200 มิลลิลิตร (ภาพที่ 4) สกัดที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส หรือมีการหยดของปิโครเลียมอีเธอร์ 3-4 หยดต่อวินาที ใช้เวลา 7-10 ชั่วโมง ทำการระเหยปิโตรเลียมอีเธอร์ด้วยเครื่องระเหยแห้งแบบสูญญากาศ (rotary evaporator) แล้วนำไปทำการอบในตู้อบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 100$\pm$5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เอาออกจากตู้อบลมร้อนมาทำให้เย็นในโถดูดความชื้น (desiccator) ชั่งน้ำหนัก (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) แล้วนำไปอบพร้อมทำตามวิธีข้างต้นจนกระทั่งน้ำหนักคงที่ เพื่อระเหยตัวทำละลายและน้ำที่อาจปนเปื้อนอยู่ในน้ำมัน

<u>วิธีคำนวน</u>

$$\%\text{oil (w/w)} = \frac{\text{(wt. ขวดก้นกลม + น้ำมัน หลังอบ) – (wt. ขวดก้นกลม)}}{\text{wt. sample (dw)}} \times 100$$

ภาพที่ 4 การสกัดน้ำมันตามวิธี soxhlet

2.1.4 นำน้ำมันที่สกัดได้ในแต่ละเมล็ดพืชมาทำการเปลี่ยนรูปให้อยู่ในรูปเมธิลเอสเทอร์ เพื่อวิเคราะห์ชนิดและปริมานกรดไขมันด้วยเทคนิคก๊าซโครมาโตรกราฟี : GC (คิดเป็นร้อยละต่อปริมาณกรดไขมันทั้งหมด) (IUPAC, 1979 และ 1989)

2.1.4.1 %yield ของ FAME ที่ได้จากการสกัด ตามวิธี IUPAC 1979

ชั่งตัวอย่างน้ำมันที่สกัดได้ 0.0400 g ใส่ขวดก้นกลมขนาด 50 ml แล้วนำไป set เข้ากับ condenser ที่ทำความเย็น 12 องศาเซลเซียส บน water bath ที่อุณหภูมิ 85-90 องศาเซลเซียส เติม 4 ml 0.5N sodium hydroxide (NaOH) ใน methanol (จนกระทั่งเดือด) นาน 15 นาที หลังจากนั้นเติม 4 ml boron trifluoride (BF_3-MetOH) ใน methanol (จนกระทั่งเดือด) นาน 3 นาที แล้วจึงเติม 1 ml heptane ลงไป นาน 1 นาที ยกชุดสกัดออกมาทั้งชุด ทิ้งไว้ให้เย็น อาจใช้น้ำหล่อเย็น เมื่อเย็นให้ถอดจากชุดสกัด เติม Saturated sodium chloride (Sat. NaCl) จนกระทั่งถึงคอขวด ปิดปากขวดก้นกลมด้วย aluminium foil พร้อมกับปิดทับด้านนอกด้วย parafilm เพื่อไม่ให้ระเหย ทิ้งไว้ให้แยกชั้น (ประมาณ 20 – 30 นาที) ดูดส่วนใสด้านบน 400 µl ใส่ vial ที่ชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง Dry up ด้วย N_2 gas แล้วนำมาทำการระเหย solvent ที่เหลือใน desiccator 0.5 – 1 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนัก (vial+FAME) ทศนิยม 4 ตำแหน่ง นำไปคำนวนหาค่า %yield ที่ได้

<u>วิธีการคำนวน</u>

$$\text{wt. FAME (g)} = \frac{\text{(wt.vial+FAME) - wt.vial}}{\text{1000 (µl)}} \times 400\ (\mu l)$$

$$\%\text{yield (w/w)} = \frac{\text{wt. FAME}}{\text{wt.oil}} \times 100$$

2.1.4.2 %yield ของ FAME ที่ได้จากการสกัด ตามวิธี IUPAC 1989

ชั่งตัวอย่างน้ำมันที่สกัดได้ 0.1000 g (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ใส่ในหลอดทดลองฝาเกลียว เติม 2 ml heptane ลงไป เขย่าให้เข้ากันด้วย vortex นาน 1 นาที เติม 200 µl 2N KOH ใน methanol ลงไป เขย่าให้เข้ากันด้วย vortex นาน 1 นาที ทิ้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง เติม Saturated NaCl รอทิ้งไว้ให้แยกชั้น ดูดส่วนใสด้านบน 1500 µl ใส่ vial ที่ชั่งน้ำหนักแล้ว (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) Dry up ด้วย N_2 gas แล้วนำมาทำการระเหย solvent ที่เหลือใน desiccator 0.5 – 1 ชั่วโมง แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก (vial+FAME) นำไปคำนวนหาค่า % yield ที่ได้

<u>วิธีการคำนวน</u>

$$\text{wt. FAME (g)} = \frac{\text{(wt.vial+FAME) - wt.vial}}{\text{2000 (µl)}} \times 1500\ (\mu l)$$

$$\%\text{ yield (w/w)} = \frac{\text{wt. FAME (g)}}{\text{wt.oil (g)}} \times 100$$

2.1.4.3 การวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของกรดไขมันในสารมาตรฐาน C8-C22 ยี่ห้อ Supelco และตัวอย่าง มาทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC (ภาพที่ 5) ตาม condition ดังนี้

Column : ชนิด HP-INNOWAX (30 m x 0.3 mm i.d.) เคลือบฟิมล์หนา 0.25 µm

Carrier gas : He

Inlet temperature : 150°C

Detector temperature : 250°C

Temperature program : อุณหภูมิในตู้อบ Column เริ่มต้นที่ 150°C เพิ่มอุณหภูมิในอัตรา 10°C/min จนถึงอุณหภูมิ 180°C จากนั้น เพิ่มอุณหภูมิในอัตรา 5 °C/min จนถึงอุณหภูมิ 200°C, จากนั้น เพิ่มอุณหภูมิในอัตรา 0.5 °C/min จนถึงอุณหภูมิ 205°C, คงไว้ที่ 205°C, 2 min จากนั้น เพิ่มอุณหภูมิในอัตรา 5 °C/min จนถึงอุณหภูมิ 250°C, คงไว้ที่ 250°C, 5 min เวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ทั้งสิ้น 33 min

Injection volume : 1.0 µl

Flow rate : 2.3 ml/min

ภาพที่ 5 Gas chromatography : GC

2.1.5 สร้างแบบแผนกรดไขมันที่สามารถจำแนกชนิดได้อย่างง่ายหรือชัดเจน ซึ่งสามารถจำแนกได้จาก relation time, peak และ condition ที่เหมาะสม

โดยจะเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดไขมัน C8-C22 กรดไขมันคาร์พรีอิก (carpryic acid : C8) กรดไขมันคาร์พริก (carpric acid : C10) กรดไขมันลูริก (lauric acid : C12) กรดไขมันมายริสติก (myristic acid : C14) กรดไขมันปาล์มิติก (palmitic acid : C16) กรดไขมันสเตียริก (stearic acid : C18) กรดไขมันอะแรชชิดิก (arachidic acid : C20) และกรดไขมันเบเฮนิก (behenic acid : C22)

2.1.6 นำน้ำมันในแต่ละเมล็ดพืชหรือวัตถุดิบต่างๆ มาทำการผลิตกรดไขมันผสมเพื่อใช้เป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบแบบแผนของกรดไขมันด้วยเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟี

นำ FAME ที่สนใจในแต่ละตัวอย่างมาทำการปรับความเข้มข้นด้วยตัวทำละลายเฮปเทน (heptane) ให้ได้ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ก่อนทำการผสมในสารตัวอย่างในอัตราส่วนต่างๆ (v/v) เพื่อหาอัตราส่วนผสมที่เหมาะสม

2.1.7 วิเคราะห์ค่าใช้จ่าย และผลผลิตที่ได้

2.2 อภิปรายผล (Results and Discussion)

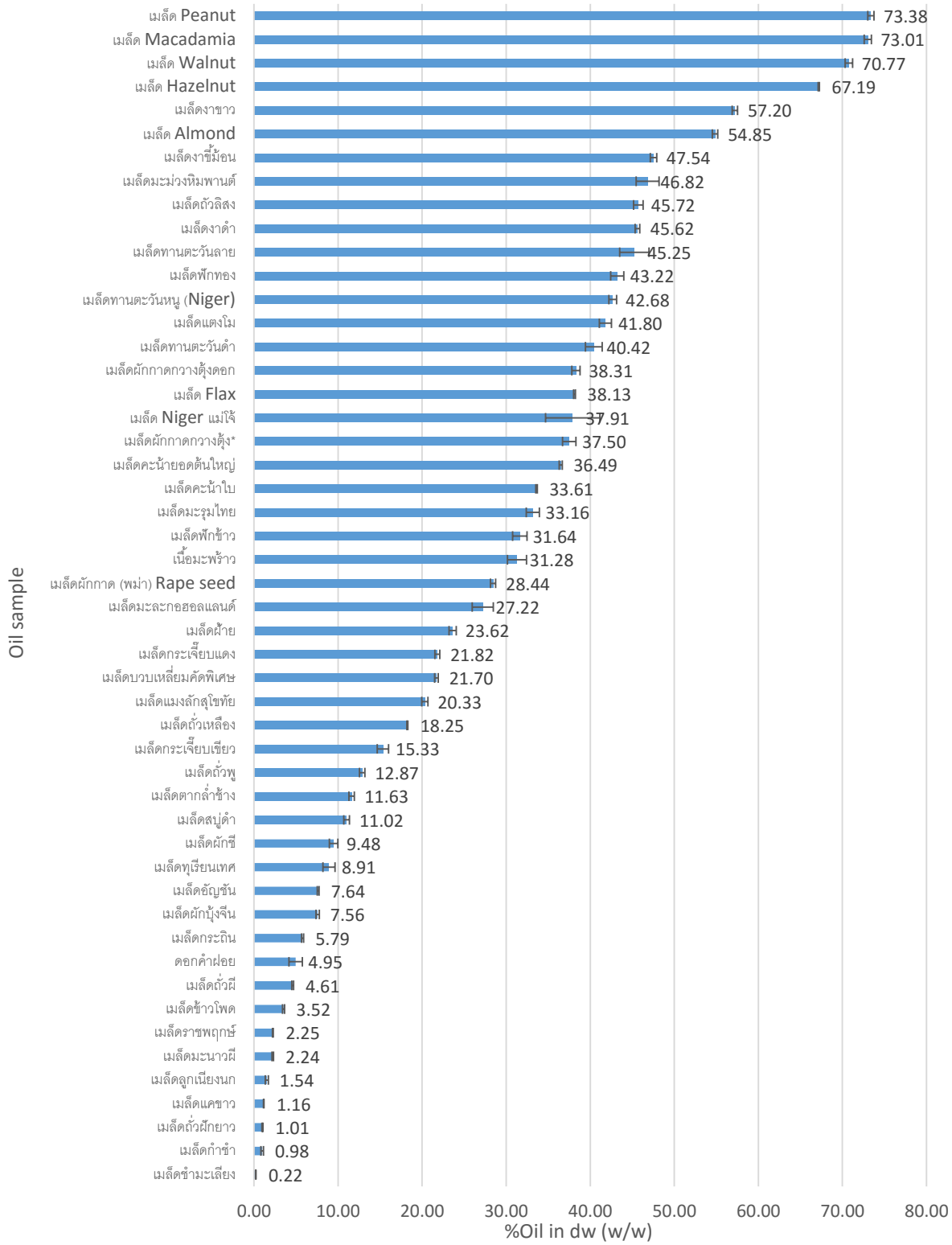
2.2.1 ปริมาณร้อยละน้ำมันจากตัวอย่างโดยน้ำหนักแห้ง (ภาพที่ 7) ตามวิธี Soxhlet (AOAC, 1995)

จากการสกัดน้ำมันในตัวอย่างพืช 50 ชนิด (ภาพที่ 6) โดยพบว่า พืชในกลุ่มพวก ถั่ว (nut) ให้ปริมาณน้ำมันสูง (50-70%) รองลงมาเป็นพวกเมล็ดงา เมล็ดทานตะวัน เมล็ดแตงโม (40-50%) และพบว่าจากตัวอย่างทั้งหมด 50 ชนิด มีตัวอย่างจำนวน 30 ชนิด ที่มีปริมาณน้ำมันสูงกว่า 20% มีศักยภาพที่จะใช้เป็นแหล่งน้ำมันได้

ภาพที่ 6 ตัวอย่างเมล็ดพืชที่นำมาใช้ในการสกัดน้ำมัน

2.2.2 %yield ของ FAME ที่ได้จากการสกัด

จากการสกัดโดยวิธีของ IUPAC (1979) ได้ %yield ของ FAME ที่สกัดได้ประมาณ 90% (w/w)



ภาพที่ 7 ปริมาณน้ำมันในตัวอย่างโดยน้ำหนักแห้ง (w/w)

2.2.3 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างน้ำมัน ตามวิธีของ IUPAC, 1979

ตัวอย่าง	ปริมาณoil (%)	Total of fatty acid (%)														
		C8:0	C10:0	C12:0	C14:0	C14:1	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0	C20:1	C22:0	other
standard C8-C22		**2.34**	**3.90**	**7.46**	**3.37**	**1.99**	**13.11**	**6.43**	**6.52**	**22.06**	**11.63**	**5.08**	**1.90**	**1.89**	**1.86**	
เมล็ดผักกาดกวางตุ้งดอก	38.31±0.48						2.62		1.21	24.59	14.79	9.37	8.05		39.37	
เมล็ดแมงลักสุโขทัย	20.33±0.37						6.27		2.38	13.82	20.92	53.35				3.25
เมล็ดมะรุมไทย	33.16±0.18						7.26	1.85	2.90	85.19	0.49		1.18	1.14		
niger seed	42.68±0.46						8.31		6.27	6.59	74.25					4.08
เมล็ดผักกาดกวางตุ้ง	37.5±0.79						2.57		1.18	19.76	16.61	10.52	7.08		42.28	
เมล็ดบวบเหลี่ยมพิเศษ	21.70±0.22				0.13		16.9		10.63	14.95	53.92					2.81
เมล็ด macadamia	73.01±0.43				0.80		9.98	17.79	2.81	64.74	1.86		1.44			0.58
เมล็ดเงาะ	25.75±0.09						4.92	0.41	6.84	41.23	1.99		32.39	10.94		2.56
ดอกคำฝอย	4.95±0.80			2.20	1.85	1.89	34.38		6.01	17.49	18.33	15.36				2.48
เนื้อมะพร้าว	31.28±1.14	3.38	5.15	47.00	20.57		10.97		3.46	7.92	0.20	1.35				
เมล็ดงาขี้ม่อน	45.32±0.06						7.05		2.47	11.76	17.88	60.83				
เมล็ดสบู่ดำ	11.02±0.33						14.16	0.96	6.86	54.38	22.96	0.24				0.42
เมล็ดกระเจี๊ยบแดง	21.82±0.30				0.20		22.14	0.54	4.83	37.08	33.30	1.38				0.53
เมล็ดผักชี	9.48±0.50						3.46	0.57		80.96	15.02					
เมล็ดงาดำ	45.62±0.26						9.29		4.71	40.97	45.03					
flax seed	38.13±0.10						5.10		3.24	20.58	14.39	55.12				1.56

ตัวอย่าง	ปริมาณoil (%)	Total of fatty acid (%)														
		C8:0	C10:0	C12:0	C14:0	C14:1	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0	C20:1	C22:0	other
standard C8-C22		2.34	3.90	7.46	3.37	1.99	13.11	6.43	6.52	22.06	11.63	5.08	1.90	1.89	1.86	
เมล็ดถั่วพู	12.87+0.32						9.78	0.07	5.98	39.81	32.49	1.32	1.35	2.42		6.78
เมล็ดกระเจี๊ยบเขียว	15.33+0.67				0.24		29.68	1.00	2.59	19.48	46.39	0.60				
เมล็ดฝ้าย	23.63±0.35				0.42		24.72	0.61	2.87	19.98	50.84					0.57
เมล็ดคะน้าใบ	33.61±0.10						4.88			22.48	19.18	14.70	10.33	5.52	28.90	
เมล็ดทานตะวันดำ	40.42±1.00						5.40		2.33	36.49	55.78					
เมล็ดทานตะวันลาย	43.22±1.73						5.37	0.09	1.89	84.51	8.14					
เมล็ดถั่วลิสง	45.72±0.57						13.10		3.10	42.67	41.13					
เมล็ดงาขาว	57.20±0.32						9.69		4.48	42.95	41.79					1.09
เมล็ดคะน้ายอดต้นใหญ่	36.49±0.19						4.10	0.14	1.11	19.09	15.69	12.17	5.29	5.10	37.31	
เมล็ดถั่วเหลือง	18.25±0.05						11.23		3.50	23.83	54.00	6.87				0.57
เมล็ด walnut	70.77±0.43						7.23		2.37	15.91	59.91	14.36				0.23
เมล็ด hazelnut	67.19±0.08						4.36		2.70	49.88	43.06					
เมล็ด almond	54.85±0.32						6.35	0.54	0.99	71.82	20.3					
เมล็ดมะม่วงหิมพานต์	46.82±1.36						10.53	0.52	7.96	59.51	17.88					3.60
เมล็ด pecan nut	73.38±0.43						6.19		1.96	56.35	34.06	1.11				0.33
เมล็ดแตงโม	41.80±0.71						11.85		6.26	10.68	71.21					
เมล็ดมะละกอฮอลแลนด์	27.22±1.25				0.15		14.76		5.21	76.60	2.61					1.12
niger seed แม่โจ้	37.91±4.03						9.38	0.07	7.29	9.17	73.91	0.18				

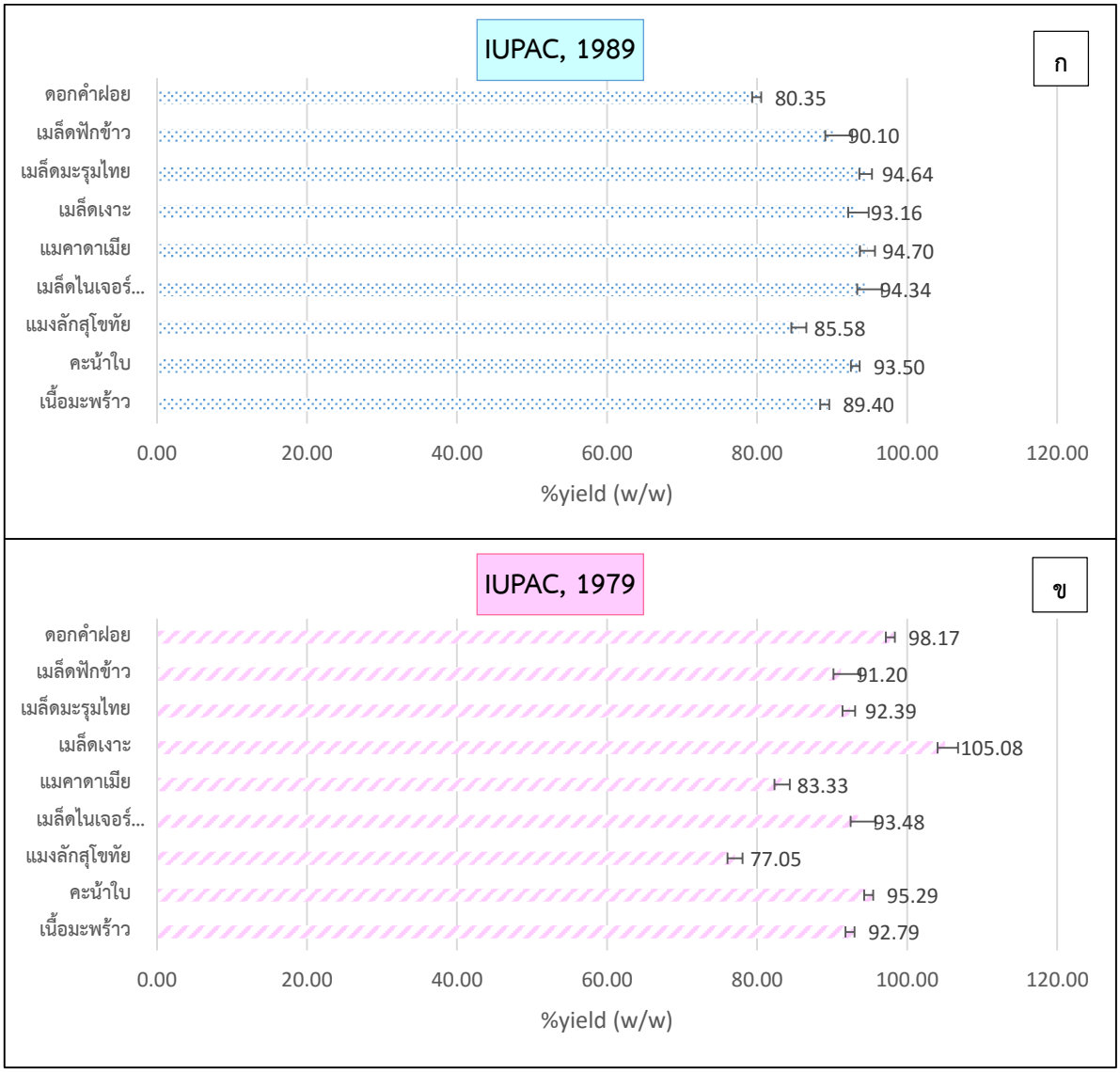
จากผลของชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่าง (ตารางที่ 3) จึงได้ทำการคัดเลือก FAME ในแต่ละตัวอย่างเพื่อเปรียบเทียบกับ standard C8-22 ให้ใกล้เคียงที่สุดในเบื้องต้นในการนำมาผสมแล้วให้ได้ใกล้เคียงกับ standard ที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงปริมาณน้ำมันและชนิดของกรดไขมันที่เหมาะสมกับการนำมาใช้ในการผลิตเมื่อเทียบกับ standard C8-C22

ตัวอย่าง	ปริมาณ oil (%)	ปริมาณ (% of total fatty acid)														
		C8:0	C10:0	C12:0	C14:0	C14:1	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0	C20:1	C22:0	other
C8-C22		2.34	3.90	7.46	3.37	1.99	13.11	6.43	6.52	22.06	11.63	5.08	1.90	1.89	1.86	
มะพร้าว	31.28±1.14	3.38	5.15	47.00	20.57		10.97		3.46	7.92	0.20	1.35				
ดอกคำฝอย	4.95±0.80			2.20	1.85	1.89	34.38		6.01	17.49	18.33	15.36				2.48
macadamia	73.01±0.43				0.80		9.98	17.79	2.81	64.74	1.86		1.44			0.58
มะรุมไทย	33.16±0.18						7.26	1.85	2.90	85.19	0.49		1.18	1.14		
niger seed	42.68±0.46						8.31		6.27	6.59	74.25					4.08
แมงลักสุโขทัย	20.33±0.37						6.27		2.38	13.82	20.92	53.35				3.25
คะน้าใบ	33.61±0.10						4.88			22.48	19.18	14.70	10.33	5.52	28.90	
เมล็ดเงาะ	25.75±0.09						4.92	0.41	6.84	41.23	1.99		32.39	10.94		2.56

2.2.4 การผลิตกรดไขมันให้อยู่ในรูปเมธิลเอสเทอร์ ของตัวอย่างน้ำมันที่ทำการคัดเลือก

จากแบบแผนกรดไขมันในน้ำมันพืชชนิดต่างๆ ข้อ 2.2.3 จึงนำน้ำมันที่น่าสนใจมาทำการเตรียมให้อยู่ในรูปเมธิลเอสเทอร์ ได้แก่ เนื้อมะพร้าว (CCN) เมล็ดคะน้าใบ (KNB) เมล็ดแมงลัก (OCM) เมล็ดไนเจอร์ (NG) เมล็ดแมคคาดาเมีย (MM) เมล็ดเงาะ (RBT) เมล็ดมะรุมไทย (MRT) เมล็ดฟักข้าว (FK) และ ดอกคำฝอย (KFF) โดยการสกัดตามแบบวิธี IUPAC, 1989 ซึ่งมีขั้นตอนและการใช้สารเคมีในกระบวนการผลิตที่น้อยกว่าวิธี IUPAC, 1979



ภาพที่ 8 เปรียบเทียบ %yield ของ FAME ที่สกัดจากตัวอย่างพืช
ตามวิธี IUPAC, 1989 (ก) และ ตามวิธี IUPAC, 1989 (ข)

จะพบว่าจากการสกัด FAME ด้วยวิธี IUPAC, 1989 นั้น จะได้ %yield ที่น้อยกว่าของ IUPAC, 1979 (ภาพที่ 8) แต่การผลิต FAME ตามวิธี IUPAC, 1989 จะใช้สารเคมีและเวลาในการสกัดน้อยกว่าทำให้เกิด waste และต้นทุนการผลิตที่น้อยกว่า

2.2.5 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดไขมัน ของตัวอย่างน้ำมันที่ได้ทำการคัดเลือกเพื่อมาเป็นวัตถุดิบโดยทำการสกัดตามวิธีของ IUPAC, 1989 ดังแสดงในตารางที่ 5 พบว่า

ตารางที่ 5 แสดงชนิดและปริมาณของกรดไขมันในน้ำมันแต่ละตัวอย่างเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดไขมัน C8-22 (Std C8-C22) ตามวิธี IUPAC, 1989

Sample	% of total fatty acid																		
	C8:0	C10:0	C12:0	C13:0	C14:0	C14:1	IS	C15:0	C16:0	C16:1	C17:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0	C20:1	C22:0	C22:1
Std C8-C22	1.34	3.04	6.55	3.26	3.36	1.93	0.18	2.01	14.01	6.75	3.44	7.17	23.92	10.67	3.87	2.13	2.09	2.19	2.06
เนื้อมะพร้าว (CCN)	7.01	5.68	46.75		19.98				10.30			2.58	6.50	1.21					
ดอกคำฝอย (KF)									7.06			2.91	18.70	70.48		0.59			
เมล็ดคะน้าใบ (KNB)									4.02			0.90	17.96	15.42	12.70	0.39	5.57		37.95
เมล็ดแมงลักสุโขทัย (OCM)									6.19			1.83	13.26	21.26	57.46				
เมล็ดไนเจอร์ (NG)									9.14			5.27	7.33	78.25					
เมล็ดแมคาดาเมีย (MM)			0.09		0.86				9.29	18.49		1.80	65.40	1.88		0.95	1.25		
เมล็ดเงาะ (RBT)									5.51	0.54		6.20	43.57	2.18		30.99	10.09	0.92	
เมล็ดมะรุมไทย (MRT)					0.13				6.72	1.22		2.77	74.56	0.45		0.94	1.11		
เมล็ดฟักข้าว (FK)									2.11			28.00	4.79	9.03				48.70	5.51

2.2.6 การปรับความเข้มข้นของตัวอย่างเพื่อนำมาทำการผสมเพื่อให้ได้ชนิดและปริมาณตามที่ต้องการ

จากข้อมูลในเบื้องต้น ปริมาณของ FAME ที่สกัดได้ในแต่ละตัวอย่างคิดเป็นประมาณ 90% (w/w) ดังนั้นจะได้ประมาณ 0.090 g จากตัวอย่างถ้าน้ำมัน 0.100 g ซึ่งละลายอยู่ในสารละลาย heptane 2 ml (0.090 g/2 ml = 90 mg/2000 µl)

เมื่อคำนวณแล้วคิดเป็นความเข้มข้น = (90 mg x 100) / 2000 µl = 4.5% (w/v) แต่ต้องการปรับความเข้มข้นให้เป็น 5% (w/v) เพื่อให้มีค่าที่เพิ่มมากขึ้นและเพื่อง่ายต่อการผสมกรดไขมัน ทั้งยังเพิ่มความชัดเจนในการแยกแต่ peak โดยตัวอย่างน้ำมันที่เลือกมามีกรดไขมันโดดเด่นต่างชนิดกัน ดังนี้

- เนื้อมะพร้าว (CCN) แหล่งของ C8:0 C10:0 C12:0 และ C14:0
- ดอกคำฝอย (KF) และเมล็ดไนเจอร์ (NG) แหล่งของ C18:2
- เมล็ดคะน้าใบ (KNB) แหล่งของ C20:1 และ C22:1
- เมล็ดแมงลักสุโขทัย (OCM) แหล่งของ C18:3
- เมล็ดแมคาดาเมีย (MM) แหล่งของ C16:0 และ C16:1
- เมล็ดเงาะ (RBT) แหล่งของ C20:0 และ C20:1
- เมล็ดมะรุมไทย (MRT) แหล่งของ C18:1
- เมล็ดฟักข้าว (FK) แหล่งของ C22:0 และ C22:1

หลังจากนั้นทำการผสมตามอัตราส่วน ดังแสดงในตารางที่ 6 และทำการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดไขมันในแต่ละตัวอย่างดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 6 การผสม FAME ในแต่ละอัตราส่วน

Ratio of Mixed Samples (%v/v)									
FAME	**CCN**	**KFF**	**KNB**	**OCM**	**NG**	**MM**	RBT	**MRT**	**FK**
Mixed S1	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	-
Mixed S2	20.0	20.0	20.0	10.0	10.0	20.0	-	-	-
Mixed S3	18.2	18.2	18.2	9.1	9.1	18.2	9.1	-	-
Mixed S4	15.4	15.4	15.4	7.7	7.7	15.4	15.4	-	-
Mixed S5	17.4	13.0	13.0	13.0	13.0	13.0	17.4	-	-
Mixed S7	15.0	-	20.0	15.0		20.0	20.0	-	20.0
Mixed S8	15.0	-	15.0	15.0	10.0	15.0	15.0	-	15.0
Mixed S9	20.0	-	-	15.0	10.0	20.0	20.0	-	15.0
Mixed S10	20.0	-	10.0	15.0	10.0	15.0	20.0	-	10.0

ตารางที่ 7 แสดงชนิดและปริมาณของกรดไขมันในน้ำมันแต่ละตัวอย่างเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดไขมัน C8-C22 (Std C8-C22)

Sample	% of total FAMEs																		
	C8:0	C10:0	C12:0	C13:0	C14:0	C14:1	IS	C15:0	C16:0	C16:1	C17:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0	C20:1	C22:0	C22:1	Other
Std C8-C22	1.34	3.04	6.55	3.26	3.36	1.93	0.18	2.01	14.01	6.75	3.44	7.17	23.92	10.67	3.87	2.13	2.09	2.19	2.06	-
Mixed S1	0.34	0.55	5.06		2.38	-			8.73	2.44		4.56	32.73	19.43	8.29	6.06	3.41	0.78	4.52	0.73
Mixed S2	0.74	1.18	11.21		5.21	-			10.76	3.95		3.63	24.21	19.69	9.15	0.79	1.36	1.05	6.46	0.61
Mixed S3	0.83	1.50	13.97		6.39	-			10.19	3.44		3.69	25.10	16.37	7.23	3.41	1.68	1.24	4.47	0.50
Mixed S4	0.77	1.22	11.09		5.08	0.08			9.28	2.68		4.12	25.27	15.37	9.75	6.14	3.72	4.55	0.13	0.75
Mixed S5	0.81	1.25	11.52		5.31	-			9.36	3.06		3.98	29.09	8.05	9.35	8.12	5.10	4.49	-	0.52
Mixed S7	1.39	1.59	13.20		5.63	-			8.21	5.76		5.91	35.61	5.43	2.36	4.20	1.78	3.39	4.38	1.14
Mixed S8	1.07	1.23	10.21		4.37	-			8.02	3.37		5.62	26.79	16.72	11.02	3.36	1.35	2.92	3.45	0.50
Mixed S9	1.09	1.34	11.53		5.04	-			7.83	4.12		6.21	28.40	13.80	9..07	4.57	1.73	4.82	0.45	-
Mixed S10	1.23	1.49	12.88		5.57	-			8.28	3.32		5.35	26.38	15.72	10.09	3.15	1.56	3.35	1.62	-

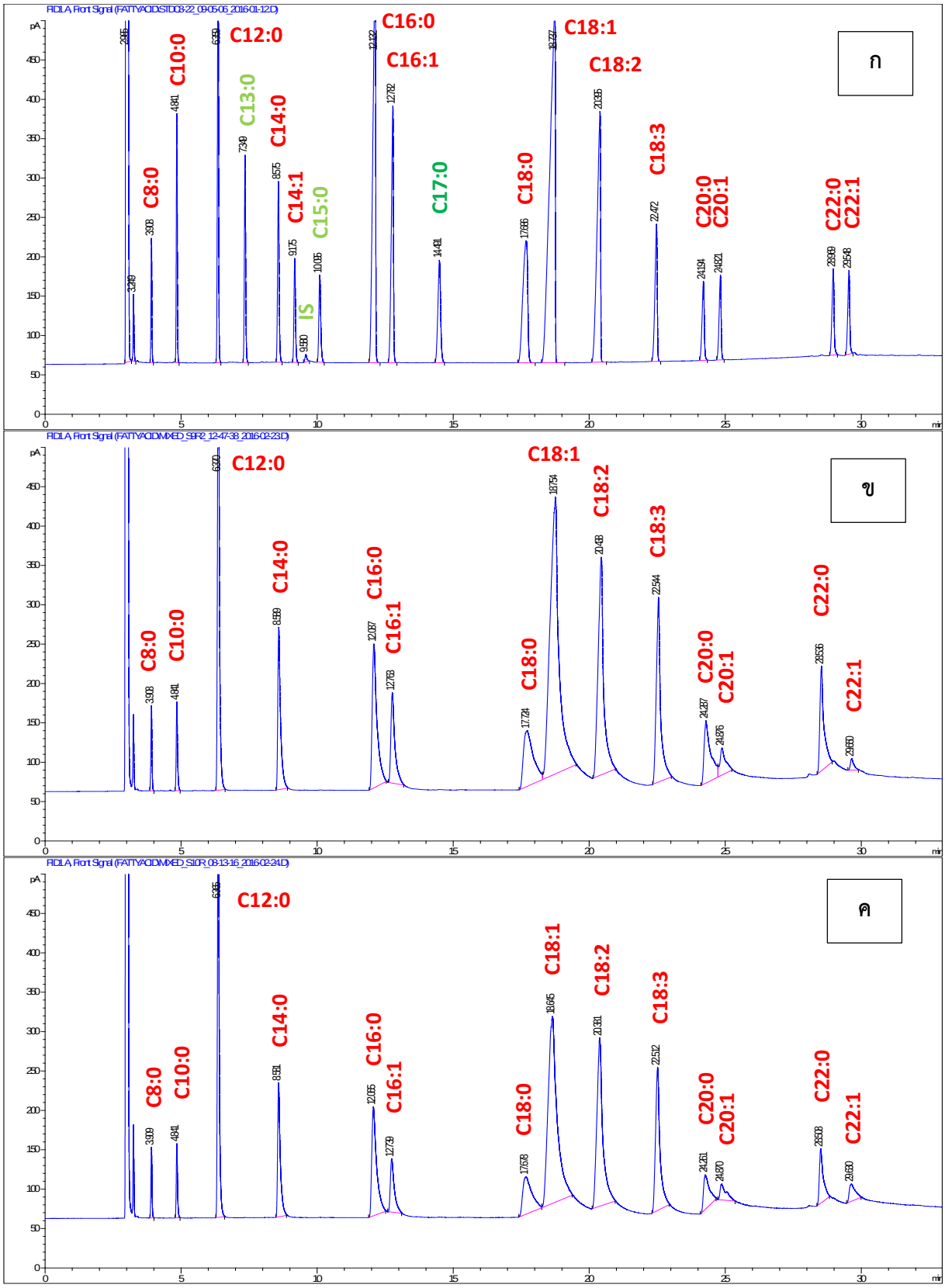
การผสมตัวอย่างพืชตาม Mixed S9 พบว่ามีชนิดกรดไขมันในรูปแบบผสมหลายชนิดที่ครอบคลุมชนิดกรดไขมันที่พบในธรรมชาติ และใช้วัตถุดิบเริ่มต้นเพียง 6 ชนิด เมื่อทำการเปรียบเทียบกับกรดไขมันมาตรฐานยี่ห้อ Supelco (fatty acid methyl ester, C8-C22 : CRM18920) ซึ่งมีกรดไขมัน 15 ชนิด จาก 19 ชนิด เนื่องจากกรดไขมันในธรรมชาติจะเป็นคาร์บอนเลขคู่ (ภาพที่ 9) ซึ่งมีรายละเอียดของชนิดกรดไขมันดังนี้

1) methyl octanoate (C8:0)
2) methyl decanoate (C10:0)
3) methyl laurate (C12:0)
4) methyl tridecanoate (C13:0)
5) methyl tetradecanoate (C14:0)
6) myristoleic acid methyl ester (C14:1)
7) Internal standard (IS)
8) methyl pentadecanoate (C15:0)
9) methyl palmitate (C16:0)
10) methyl palmitoleate (C16:1)
11) methyl hepptadecanoate (C17:0)
12) methyl octadecanoate (C18:0)
13) cis-9-oleic methyl ester (C18:1n9)
14) methyl linoleate (C18:2)
15) methyl linoenate (C18:3)
16) methyl arachidate (C20:0)
17) methyl cis-11-eicosenoate (C20:1)
18) methyl docosanoate (C22:0)
19) methyl erucate (C22:1)

แต่เนื่องจากตัวอย่างพืชที่พบ myristoleic acid methyl ester (C14:1) มีปริมาณน้อยมาก จึงไม่สามารถนำตัวอย่างจากที่ได้ทำการค้นหามาเบื้องต้นเพื่อนำมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตได้

2.2.7 การคำนวณต้นทุนในการผลิต

การใช้วัตถุดิบเพียง 6 ชนิด และเลือกวิธีที่ใช้สารเคมีเพียง 2N KOH และ heptane ในการผลิต โดยใช้น้ำมันเริ่มต้นในการผลิตชนิดละ 100 mg จะได้ปริมาณ FAME ประมาณ 400 mg ต่อต้นทุนเฉพาะวัตถุดิบและสารเคมี 400 บาท โดยมีการบรรจุขวด vial ขนาดปริมาณ 100 mg ได้ทั้งสิ้น 4 ขวด



ภาพที่ 9 แบบแผนกรดไขมันของกรดไขมันมาตรฐาน C8-C22 (ก) Mixed S9 (ข) และ Mixed S10 (ค)

สรุปและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Recommendation)

งานวิจัยนี้ มีการนำพืชจำนวน 50 ชนิดมาสกัดน้ำมันและศึกษาแบบแผนของกรดไขมัน โดยส่วนใหญ่จะใช้ส่วนทั้งเมล็ดที่เป็นบริเวณสะสมไขมันมาสกัดน้ำมันด้วยวิธี soxhlet จะพบว่าในส่วนของเมล็ดพืชประเภทถั่ว (nut) มีปริมาณน้ำมันสูง (50-70%) รองลงมาคือพวก เมล็ดงา เมล็ดทานตะวัน เมล็ดแตงโม (40-50%) และมีพืช 30 ชนิด ที่มีปริมาณน้ำมันสูงกว่า 20% ซึ่งมีความน่าสนใจใช้เป็นแหล่งน้ำมันในการนำมาทำการผลิตสารมาตรฐานของกรดไขมันที่พบในธรรมชาติ เมื่อนำมาผ่านกระบวนการเปลี่ยนกรดไขมันให้อยู่ในรูปเมธิลเอสเทอร์แล้วพบว่าในกระบวนการผลิตที่มีการใช้สารเคมี 2N NaOH และ heptane สามารถสกัดได้ FAME 80-95% ซึ่งจะมีราคาที่ถูกกว่าการใช้ BF_3-MetOH จึงเหมาะสมกับการนำมาใช้ในกระบวนการผลิตที่ใช้ต้นทุนน้อยกว่า เนื่องจากการผลิตทางการค้าของ Supelco มีหลักการทำโดยสกัดแบบแต่ละชนิด แล้วนำมาผสมกันให้ได้ตามที่ต้องการ แต่ก็จะใช้ขั้นตอนและต้นทุนในการผลิตค่อนข้างมาก (Supelco, 2016)

จากนั้นทำการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดไขมันของตัวอย่างพืชเพื่อเลือกแหล่งของกรดไขมันที่เหมาะสม พบว่า น้ำมันจากเนื้อมะพร้าว (CCN) เป็นแหล่งของกรดไขมัน C8:0 C10:0 C12:0 และ C14:0 เมล็ดไนเจอร์ (NG) เป็นแหล่งของกรดไขมัน C18:2 เมล็ดแมงลัก (OCM) เป็นแหล่งของกรดไขมัน C18:3 เมล็ดแมคาดาเมีย (MM) เป็นแหล่งของกรดไขมัน C16:0 C16:1 และ C 18:1 เมล็ดเงาะ (RBT) เป็นแหล่งของกรดไขมัน C18:1 C20:0 และ C20:1 และ เมล็ดฟักข้าว (FK) เป็นแหล่งของกรดไขมัน C18:0 C22:0 และ C22:1 ที่เหมาะสมเป็นวัตถุดิบ

ดังนั้น จึงเลือกน้ำมันจากเนื้อมะพร้าว เมล็ดไนเจอร์ เมล็ดแมงลัก เมล็ดแมคาดาเมีย เมล็ดเงาะ และเมล็ดฟักข้าว เป็นแหล่งวัตถุดิบในการเตรียมสารผสมของ FAME ในขั้นต่อไป โดยจะทำการปรับความเข้มข้นของ FAME ของพืชในแต่ละชนิดที่ 5% (w/v) ด้วย heptane แล้วทำการผลมด้วยสัดส่วนต่างๆ 10 สูตร พบว่า สูตรผสมตาม Mixed S9 คือ CCN : OCM : NG : MM : RBT : FK ที่อัตราส่วน 20 : 15 : 10 : 20 : 20 : 15 % (v/v) ตามลำดับ จะได้กรดไขมันผสมที่มีองค์ประกอบของกรดไขมัน 15 ชนิด ดังนี้ methyl octanoate : C8:0 (1.09%) methyl decanoate : C10:0 (1.34%) methyl laurate : C12:0 (11.53%) methyl tetradecanoate : C14:0 (5.04%) methyl palmitate : C16:0 (7.83%) methyl palmitoleate : C16:1 (4.12%) methyl octadecanoate : C18:0 (6.21%) methyl oleate : C18:1n9 (28.40%) methyl linoleate : C18:2 (13.80%) methyl linoenate : C18:3 (9.07%) methyl arachidate : C20:0 (4.57%) methyl cis-11-eicosenoate : C20:1 (1.73%) methyl docosanoate : C22:0 (4.82%) และ methyl erucate : C22:1 (0.45%) ซึ่งในกระบวนการผลิตค่าใช้จ่ายเกี่ยวกับวัตถุดิบและสารเคมีรวมทั้งสิ้น 400 บาท ต่อ 400 mg ของกรดไขมันผสมสำหรับใช้เป็นสารมาตรฐาน เนื่องจากได้องค์ประกอบหลักที่ครอบคลุมและมีการใช้วัตถุดิบเริ่มต้นเพียง 6 ชนิด เท่านั้น แต่ในส่วนนี้ยังไม่พบพืชที่มีกรดไขมัน myristoleic acid methyl ester : C14:1 เป็นองค์ประกอบหลัก หากต้องการให้ครบ ควรหาจากวัตถุดิบจากแหล่งอื่นหรือจากต่างประเทศ แต่อาจจะทำให้เพิ่มต้นทุนการผลิตมากขึ้น

เอกสารอ้างอิง (References)

1. พันธิพา พงษ์เพียรจันทร์. 2539. หลักโภชนาการศาสตร์และการประยุกต์. หลักการอาหารสัตว์. กรุงเทพมหานคร : โอเดียนสโตร์ 2.
2. ภิเษก รุงโรจนชัยพร และ สายรุง ซาวสุภา. 2555. เทคนิคการตรวจวัดปริมาณเมธิลเอสเทอรในไบโอดีเซล. วารสารวิทยาศาสตรลาดกระบัง ปที่ 21 ฉบับที่ 2 หน้า 66-77.
3. ศรินทิพ สุกใส, ศจี น้อยตั้ง, วีระเดช สุขเอียด และอมร เพชรสม. 2552. คุณสมบัติการพองตัวและอุ้มน้ำของสารเมือกจากผงเมล็ดแมงลักหลังสกัดน้ำมัน. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร ปีที่ 40 ฉบับที่ 2 หน้า 219-227.
4. Antonio J. M.P., Alicia S.G., Joaquín J.S., Rafael G. and Enrique M.F. 2011. Acyl-ACP thioesterases from macadamia (Macadamia tetraphylla) nuts: Cloning, characterization and their impact on oil composition. Plant Physiology and Biochemistry, 49 (1), 82-87.
5. AOAC. 1995. Official Methods of Analysis of AOAC International 16th edition, Virginia: Association of Official. Analytical Chemists International.
6. Augustin M.A. and Chua B.C. 1988. Composition of Rambutan Seeds. Pertanika,11 (2) , 211-215.
7. IUPAC. Standard methods for the analysis of oils, fats and derivatives ; 6th edition. International Union of Pure and Applied Chemistry. Pergamon press. France. (1979).
8. Johnson, A.H. and Peterson, M.S. 1974. Encyclopedia of food technology AIV. Publishing Company. Pp. 244-258.
9. Nuria R., Sagrario B., Isabel J., Sara M. de D., María T. S. and Jordi R.C. 2010. Production of omega-3 polyunsaturated fatty acid concentrates: A review. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 11, 1-12.
10. Paiwan P., Gunjan G., Marta L., Chalermpon Y. and Veerle F. 2013. Medium-chain fatty acids from coconut or krabok oil inhibitin vitrorumen methanogenesis and conversion of non-conjugated dienoicbiohydrogenation intermediates. Animal Feed Science and Technology, 180, 18-25.
11. Rohman A. and Che Man Y.B. 2010. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for analysis of extra virgin olive oil adulterated with palm oil. Food Research International, 43 (3), 886-892.
12. White, A., Handler, P., and Smith, E.L. 1968. Principle of Biochemistry. New York : McGraw-Hill Book.
13. http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search?interface=All&term=fatty%20acid&lang=en&region=TH&focus=product&N=0+220003048+219853254+219853286

14. http://www.saengvithscience.co.th/download/standard/1.%20Organic%20Standard%20Catalogue.pdf
15. Supelco. Fatty acid/FAME Application guide. https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Supelco/General_Information/t408126.pdf (March 2016)
16. British nutrition foundation. Fat. Available from https://www.nutrition.org.uk/nutritionscience/nutrients-food-and-ingredients/fat.html?limit=1&start=1. (March 2016)
17. https://www.wikipidia.com (March 2016)

TraceCERT®
Traceable Certified Reference Materials

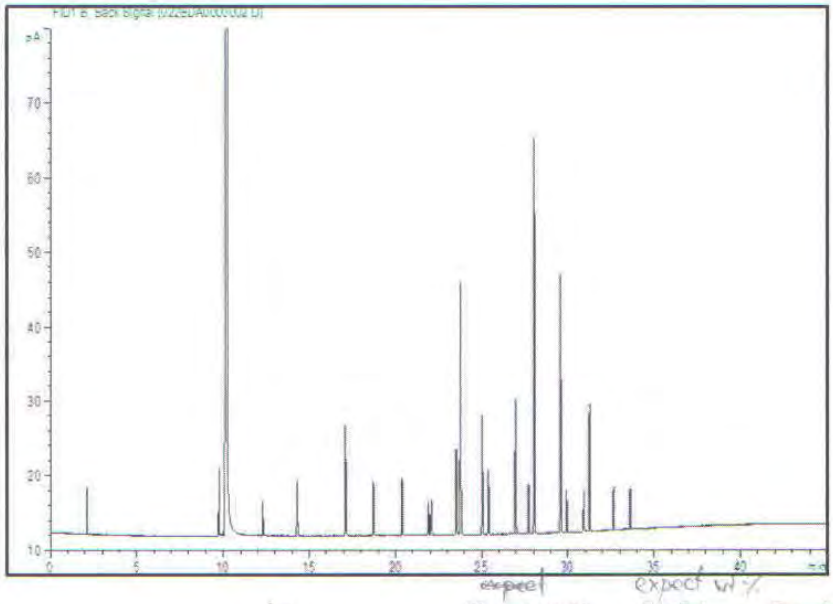
SUPELCO
Solutions within.™
595 North Harrison Road · Bellefonte, PA
16823-0048 USA · Phone(814)359-3441

Certificate of Analysis

Description: Fatty Acid Methyl Ester, C8-C22, 100mg, neat

Part Number: CRM18920
Lot Number: LC07187V
Expiration Date: April 2017
Storage: Freeze

Analytical Method Parameters:
Column: SP2560 100m x 0.25mm x 0.2µm df
140°C (5min) to 240°C (12.5min) at 4°C/min
Detector: FID, 250°C
Injection Volume:1.0uL



Elution	Analyte	Lot Number	CAS Number	Chromatographic Purity %	Certified Weight %	Expanded Uncertainty %	Analytical Weight %
1.	Methyl octanoate	LB97319	111-11-5	99.9	1.9	±0.1	1.8
2.	Methyl decanoate	LB86422	110-42-9	99.9	3.2	±0.2	3.0
3.	Methyl laurate	LB97659	111-82-0	99.9	6.4	±0.3	6.0
4.	Methyl tridecanoate	LC02846	1731-88-0	98.7	3.2	±0.2	3.0
5.	Methyl tetradecanoate	LB97558	124-10-7	99.9	3.2	±0.2	3.0
6.	Myristoleic Acid Methyl Ester	LB96087	56219-06-8	99.9	1.9	±0.1	1.8
7.	Methyl pentadecanoate	LC02851	7132-64-1	99.9	1.9	±0.1	1.8
8.	Internal Standard	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
9.	Methyl palmitate	LC02625	112-39-0	99.9	13.0	±0.7	12.2
10.	Methyl palmitoleate	LC05477	1120-25-8	99.9	6.4	±0.3	6.0
11.	Methyl heptadecanoate	LB87552	1731-92-6	99.6	3.2	±0.2	3.0
12.	Methyl octadecanoate	LB97274	112-61-8	99.9	6.5	±0.3	6.1
13.	trans-9-Elaidic Methyl Ester	LB93221	1937-62-8	99.7	2.6	±0.1	2.4
14.	cis-9-Oleic Acid Methyl Ester	LC02936	112-62-9	99.9	19.6	±1.0	18.4

ACLASS ACCREDITED TESTING Cert# AT-1607
ACLASS ACCREDITED REFERENCE MATERIAL PRODUCER Cert# AR-1606

Produced in double accredited laboratory fulfulling
ISO/IEC 17025 and
ISO Guide 34

SIGMA-ALDRICH®

Elution	Analyte	Lot Number	CAS Number	Chromatographic Purity %	Certified Weight %	Expanded Uncertainty %	Analytical Weight %
15.	Methyl linoleate	LB92660	112-63-0	99.9	13.0	±0.7	12.2
16.	Methyl arachidate	LB88395	1120-28-1	99.9	1.9	±0.1	1.8
17.	Methyl linolenate	LC02491	301-00-8	99.9	6.4	±0.3	6.0
18.	Methyl cis-11-eicosenoate	LC01495	2390-09-2	99.9	1.9	±0.1	1.8
19.	Methyl docosanoate	LC03090	929-77-1	99.7	1.9	±0.1	1.8
20.	Methyl erucate	LB99614	1120-34-9	99.9	1.9	±0.1	1.8

Notes:

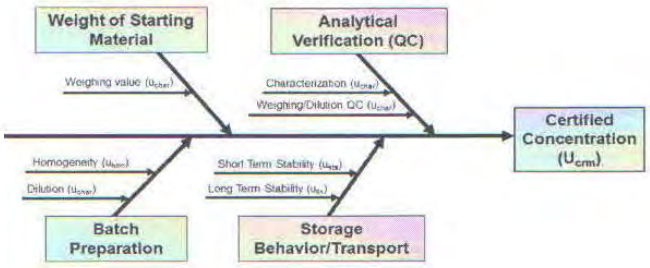
• NIST traceable weights are used to verify balance calibration with the preparation of each lot. Concentration of analyte in solution is ug/ml.

• Certified value is the gravimetric concentration weighed at room temperature and verified analytically by comparison to an independently prepared Quality Control Standard. Uncertainty of the gravimetric concentration in this document is expressed as Expanded Uncertainty (Ucrm) corresponding to the 95% confidence interval. Ucrm is derived from the combined standard uncertainty multiplied by the coverage factor k = 2. The components of combined standard uncertainty include the uncertainties due to characterization, homogeneity, long-term stability and short-term stability. The components due to stability are generally considered to be negligible unless otherwise indicated by stability studies.

• Homogeneity was assessed in accordance with ISO Guide 35. Completed units were sampled using a random stratified sampling protocol. The results of chemical analysis were then compared by Single Factor Analysis of Variance (ANOVA). The uncertainty due to homogeneity was derived from the ANOVA. Heterogeneity was not detected under the conditions of the ANOVA.

• Product intended for laboratory use only. Supelco warrants that its products conform to the information contained in this publication. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. Please see the latest catalog or order invoice and packing slip for additional terms and conditions of sale.

Cause-Effect Diagram for Uncertainty Contributions – Tier 3



$$U_{crm} = k\sqrt{u_{char}^2 + u_{hom}^2 + u_{sts}^2 + u_{lts}^2}$$

Test Date: April 30, 2014
Form: CRM18920

Duane Funk
QC Manager

ACCLASS ACCREDITED TESTING Cert# AT-1607

ACCLASS ACCREDITED REFERENCE MATERIAL PRODUCER Cert# AR-1606

Produced in double accredited laboratory fulfulling ISO/IEC 17025 and ISO Guide 34

SIGMA-ALDRICH®

ภาพที่ 10 ใบ Certificate ของสารมาตรฐาน C8-C22 ยี่ห้อ Supelco

ภาคผนวก ข (Appendix)

การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการผลิต

การทำกรดไขมันให้อยู่รูปเมธิลเอสเทอร์ ตามวิธี IUPAC (1979 และ 1989)

1. 0.5N NaOH ใน Methanol

   Molar mass ของ NaOH 39.9971 g mol^{-1}

   ชั่ง Sodium hydroxide (NaOH) 20 กรัม ละลายใน Methanol 1 ลิตร

   หรือ NaOH 10 กรัม ใน Methanol 500 มล.

   โดยทำการปรับปริมาตรใน volumetric flask ขนาด 500 มล.

2. 2N KOH ใน Methanol

   Molar mass 56.11 g mol^{-1}

   ชั่ง Potassium hydroxide (KOH) 112.22 กรัม ต่อ Methanol 1 ลิตร

   หรือ KOH 56.11 กรัม ต่อ Methanol 500 มล.

   โดยทำการปรับปริมาตรใน volumetric flask ขนาด 500 มล.

ภาคผนวก ค (Appendix)

ตารางที่ 8 การคำนวณต้นทุนที่ใช้ในการผลิตกรดไขมันผสมเพื่อใช้เป็นสารมาตรฐานในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC

	A	B	C	D	E	
ตัวอย่าง	**กรัม / ราคา**	**%oil**	**ต้องใช้ตัวอย่าง (g) เพื่อให้ได้น้ำมัน 100 mg**	**ต้นทุน (ที่ผลิตได้ FAME 90 mg)**	**ปริมาณการใช้**	**ต้นทุนของอัตราส่วน**
เมล็ดพืช			**= 0.1g * 100 / B**	**= C * ราคา / กรัม**		**= D * E / 90**
เนื้อมะพร้าวกะทิ CCN	1000g/40 บ	31.28	0.32	0.013	80	0.012
เมล็ดแมงลัก OCM	1000 g/100 บ	20.33	0.49	0.049	60	0.033
เมล็ดไนเจอร์ NG	1000 g/35 บ	37.91	0.26	0.009	40	0.004
เมล็ดแมคาดาเมีย MM	1000 g/1000 บ	73.01	0.14	0.137	80	0.122
เมล็ดเงาะ RBT	waste	25.75	0.39	0.000	80	0
เมล็ดฟักข้าว FK	waste	31.64	0.32	0.000	60	0
การสกัดน้ำมัน 6 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 200 ml						
Petroleum ether	4 L/1177 บ				1200	353.1
สาร 2N KOH in MetOH (112.2 g/1000 ml) 200 ul * 6 ตัวอย่าง						
MetOH	2.5 L/642 บ				1.2	0.308
KOH	1 kg/642 บ				0.13	0.086
ตัวอย่าง	**กรัม / ราคา**	**%oil**	**ต้องใช้ตัวอย่าง (g) เพื่อให้ได้น้ำมัน 100 mg**	**ต้นทุน (ที่ผลิตได้ FAME 90 mg)**	**ปริมาณการใช้**	**ต้นทุนของอัตราส่วน**

ขวดบรรจุ						
Vial	ขวดละ 10 บ				4	40
รวมต้นทุนทั้งหมดไม่รวมค่าไฟฟ้า ประมาณ 400 mg						**393.67**

ดังนั้น บรรจุขวดละ 100 mg ได้ 4 ขวด ต้นทุนการผลิตประมาณ 400 บาทต่อ 400 mg

ภาคผนวก ง (Appendix)

ตารางที่ 9 แสดงปริมาณน้ำมันของพืชแต่ละชนิด

ที่	ตัวอย่าง	ชื่อสามัญ (Common name)	ชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific name)	วงศ์ (Family)	%oil dw. (w/w)
1	เมล็ดชำมะเลียง	Luna nut	*Lepisathes fruticose* (Roxb.) Leenh	PIPERACEAE	0.22
2	กำชำ, มะหวด	-	*Lepisanthes rubiginosa* (Roxb.) Leenh.	SAPINDACEAE	0.98
3	เมล็ดถั่วฟักยาว	Yardlong bean	*Vigna unguiculata subsp. Sesquipedalis* (L.) Verdc.	FABACEAE	1.01
4	เมล็ดแคขาว	Agasta	*Sesbania grandiflora* (L.) Poiret	FABACEAE	1.16
5	เมล็ดลูกเนียงนก	-	*Archidendron jiringa* (Jack)	LEGUMINOSAE	1.54
6	เมล็ดมะนาวผี	Manao Phi	*Atalantia monophylla* (Roxb.) A. DC.	RUTACEAE	2.24
7	เมล็ดราชพฤกษ์	Golden shower	*Cassia fistula* L.	FABACEAE	2.25
8	เมล็ดข้าวโพด	Corn seed	*Zea Mays* L.	GRAMINEAE	3.52
9	ดอกคำฝอย	Safflower	*Carthamus tinctorius* L.	ASTERACEAE (COMPOSITAE)	4.95
10	เมล็ดกระถิน	White popinac	*Leucaena leucocephala* (Lamk.) de Wit	FABACEAE	5.79
11	เมล็ดผักบุ้งจีน	Water spinach, Chinese spinach,	*Ipomoea aquatic* Forssk.	CONVOLVULCEAE	7.56
12	เมล็ดอัญชัน	Butterfly pea	*Clitoria ternatea* L.	FABACEAE	7.64
13	เมล็ดทุเรียนเทศ	Soursoop	*Annona municata* L.	ANNONACEAE	8.91

ที่	ตัวอย่าง	ชื่อสามัญ (Common name)	ชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific name)	วงศ์ (Family)	%oil dw. (w/w)
14	เมล็ดผักชี	Coriander	*Coriandrum sativum* L.	APIACEAE	9.48
15	เมล็ดสบู่ดำ	Purging nut	*Jatropha curcas* Linn	EUPHORBIACEAE	11.02
16	เมล็ดมะกล่ำตาช้าง	Red wood	*Adenanthera pavonina* L.	LEGUMINASAE	11.63
17	เมล็ดถั่วพู	Winged bean seed	*Psophocarpus tetragonolobus* (L.)	LEGUMINOSAE-PAPILIONOIDEAE	12.87
18	เมล็ดกระเจี๊ยบเขียว	Okra, Lady's finger	*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench	MALVACEAE	15.33
19	เมล็ดถั่วเหลือง	Soybean	*Glycine max* (L.) Merr.	LEGUMINOSAE	18.25
20	เมล็ดแมงลักสุโขทัย	Hairy Basil	*Ocimum basilicum* L.f. var. citratum Back.	APIACEAE (Labiatae)	20.33
21	เมล็ดบวบเหลี่ยม	Angled loofah	*Luffa acutangula* (L.) Roxb.	CUCURBITACEAE	21.70
22	เมล็ดกระเจี๊ยบแดง	Roselle	*Hibiscus sabdariffa* Linn.	MALVACEAE	21.82
23	เมล็ดฝ้าย	Cotton seed	*Gossypium hirbaceum* L.	MALVACEAE	23.62
24	เมล็ดเงาะ	Rambutan	*Nephelium lappaceum* Linn.	SAPINDACEAE	25.75
25	เมล็ดมะละกอ ฮอลแลนด์	Holland papaya seed	*Carica papaya* L.	CARICACEAE	27.22
26	เมล็ดเรฟ (ผักกาดก้านขาว)	Rape seed	*Brassica napus* L.	BRASSICACEAE	28.44
27	เนื้อมะพร้าว	Coconut	*Cocos nucifera* L	PALMAE	31.28
28	เมล็ดฟักข้าว	Gac	*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng	CUCUBITACEAE	31.64

ที่	ตัวอย่าง	ชื่อสามัญ (Common name)	ชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific name)	วงศ์ (Family)	%oil dw. (w/w)
29	เมล็ดมะรุมไทย	Horse radish, Drumstick seed	*Moringa oleifera* Lam.	MORINGACEAE	33.16
30	เมล็ดคะน้าใบ	Chinese Kale	*Brassica albroglabra*	CRACITERAE	33..61
31	เมล็ดคะน้ายอดต้นใหญ่	Chinese Kale	*B. oleraceae Var. alboglabra*	CRUCIFERAE	36.49
32	เมล็ดผักกาดกวางตุ้ง	Rape seed	*Brassica napus* L.	BRASSICACEAE	37.50
33	เมล็ดไนเจอร์ แม่โจ้	Niger seed maejo	*Guizotia abyssinica*	ASTERACEAE	37.91
34	เมล็ดเฟลกซ์/ ลินิน	Flax seed	*Linum usitatissimum* L.	LINACEAE	38.13
35	เมล็ดผักกาดเขียวกวางตุ้งดอก	Rape seed	*Brassica chinensis Juslvav. Parachinensis* (Bailey) Tseng Lee.	BRASSICACEAE	38.31
36	เมล็ดทานตะวันดำ	Sun flower	*Helianthus Annus* Var. Macrocarpus	COMPOSITAE	40.42
37	เมล็ดแตงโม	Watermelon	*Citrullus lanatus* (Thunb.) Mats. & Nakai	CUCURBITACEAE	41.80
38	เมล็ดไนเจอร์	Niger seed	*Guizotia abyssinica*	ASTERACEAE	42.68
39	เมล็ดฟักทอง	Pumpkin	*Cucurbita maxima*	CUCURBITACEAE	43.22
40	เมล็ดทานตะวันลาย	Sun flower	*Helianthus Annus* Var. Macrocarpus	COMPOSITAE	45.25
41	เมล็ดงาดำ	Black sesame	*Sesamum indicum* L.	PEDALIACEAE	45.62
42	เมล็ดถั่วลิสง	Peanut	*Arachis hypogaea* L.	LEGUMINOSAE	45.72
43	เมล็ดมะม่วงหิมพานต์	Cashew nut	*Anacardium occidentale*	ANACARDIACEAE	46.82
44	เมล็ดงาขี้ม่อน	Perilla	*Perilla frutescens* (L.) Britton	LAMIACEAE	47.54

ที่	ตัวอย่าง	ชื่อสามัญ (Common name)	ชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific name)	วงศ์ (Family)	%oil dw. (w/w)
45	เมล็ดอัลมอนด์	Almond	*Prunus dulcis* (Mill.)	ROSACEAE	54.85
46	เมล็ดงาขาว	White sesame	*Sesamum indicum* L.	PEDALIACEAE	57.20
47	เมล็ดฮาเซลนัท	Hazelnut	*Corylus* spp.	BETULACEAE	67.19
48	เมล็ดวอลนัท	Walnut	*Juglans* spp.	JUGLANDACEAE	70.77
49	เมล็ดแมคาเดเมีย	Macadamia	*Macadamia integrifolia*	PROTEACEAE	73.01
50	เมล็ดพีแคน	Pecan nut	*Carya illinoinensis*	JUGLANDACEAE	73.38

ภาคผนวก ง (Appendix)

การเตรียมกรดไขมันให้อยู่ในรูปเมธิลเอสเทอร์ของ Supelco

Fatty Acid Methyl Ester (FAME) Preparation

GC can be used to analyze fatty acids either as free fatty acids or as fatty acid methyl esters. Details on the analysis of free fatty acids can be found on pages 3-4.

The primary reasons to analyze fatty acids as fatty acid methyl esters include:

- In their free, underivatized form, fatty acids may be difficult to analyze because these highly polar compounds tend to form hydrogen bonds, leading to adsorption issues. Reducing their polarity may make them more amenable for analysis.
- To distinguish between the very slight differences exhibited by unsaturated fatty acids, the polar carboxyl functional groups must first be neutralized. This then allows column chemistry to perform separations by boiling point elution (pages 7-9), and also by degree of unsaturation (pages 10-12), position of unsaturation (pages 13-15), and even the cis vs. trans configuration of unsaturation (pages 16-20).

The esterification of fatty acids to fatty acid methyl esters is performed using an alkylation derivatization reagent. Methyl esters offer excellent stability, and provide quick and quantitative samples for GC analysis. As shown in Figure 4, the esterification reaction involves the condensation of the carboxyl group of an acid and the hydroxyl group of an alcohol. Esterification is best done in the presence of a catalyst (such as boron trichloride). The catalyst protonates an oxygen atom of the carboxyl group, making the acid much more reactive. An alcohol then combines with the protonated acid to yield an ester with the loss of water. The catalyst is removed with the water. The alcohol that is used determines the alkyl chain length of the resulting esters (the use of methanol will result in the formation of methyl esters whereas the use of ethanol will result in ethyl esters).

Figure 4. Esterification Reaction

$$R\text{-}COOH + CH_3OH \xrightarrow{BCl_3} R\text{-}COO\text{-}CH_3 + H_2O$$

The following typical esterification procedure (using BCl_3-methanol) is intended as a guideline. It may need to be altered to meet the needs of a specific application.

1. Samples can be derivatized neat or after dissolving in solvent. If appropriate, dissolve sample in a non-polar solvent (such as hexane, heptane, or toluene). If the sample is in an aqueous solvent, first evaporate to dryness then use neat or dissolved in an organic, non-polar solvent.
2. Weigh 1-25 mg of sample into a 5-10 mL micro reaction vessel.
3. Add 2 mL BCl_3-methanol, 12% w/w. A water scavenger (such as 2,2-dimethoxypropane) can be added at this point.
4. Heat at 60 °C for 5-10 minutes. Derivatization times may vary, depending on the specific compound(s) being derivatized.
5. Cool, then add 1 mL water and 1 mL hexane.
6. Shake the reaction vessel (it is critical to get the esters into the non-polar solvent).
7. After allowing the layers to settle, carefully transfer the upper (organic) layer to a clean vial. Dry the organic layer by either:
   a. *Passing through a bed of anhydrous sodium sulfate during the transfer step to the clean vial.*
   b. *Adding anhydrous sodium sulfate to the clean vial then shaking.*
8. To determine the proper derivatization time, analyze aliquots of a representative sample using different derivatization times. Plot peak area (y-axis) vs derivatization time (x-axis). The minimum time to use is when no further increase in peak area is observed with increasing derivatization time (where the curve becomes flat).
9. If it is suspected that complete derivatization is never achieved, use additional reagent or re-evaluate temperature.
10. It is important to prepare a reagent blank, along with the samples, to identify any issues that may arise.

It is important to use only high quality derivatization reagents, to ensure that no artifacts are present during analysis. Additionally, only derivatization reagents with low moisture should be used, as the esterification reaction will be hindered by the presence of water. The storage conditions of derivatization reagents should be strictly adhered to, as some are susceptible to degradation during long-term storage. (5-6)