รายงานผลการวิจัย

เรื่อง การพัฒนาวิธีการสกัดและวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันและแกมมาโอรีซานอลในรำข้าวเหนียวสายพันธุ์แม่โจ้ 2 สายพันธุ์แม่โจ้ 4 และสายพันธุ์แม่โจ้ 6

Extraction and determination development of oil and gamma-oryzanol in glutinous rice bran of Maejo 2 Maejo 4 and Maejo 6

ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัย **ประจำปี 2556**

จำนวน 200,000 บาท

หัวหน้าโครงการ **นางสาวอนรรฆอร ศรีไสยเพชร**

ผู้ร่วมโครงการ **นางสาววราภรณ์ แสงทอง**

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์

30/ก.ย./2557

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง การพัฒนาวิธีการสกัดและวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันและแกมมาโอรีซานอลในรำข้าวเหนียว สายพันธุ์แม่โจ้ 2 สายพันธุ์แม่โจ้ 4 และสายพันธุ์แม่โจ้ 6 (Extraction and determination development of oil and gamma-oryzanol in glutinous rice bran of Maejo 2 Maejo 4 and Maejo 6) ได้สำเร็จลุล่วง โดยได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย จากสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ประจำปีงบประมาณ 2556 ผู้วิจัยขอขอบคุณ หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิตสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ ที่อนุเคราะห์เรื่องสถานที่ และอุปกรณ์บางอย่างที่ใช้ในการดำเนินการวิจัยให้เสร็จสิ้นสมบูรณ์

คณะผู้วิจัย

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยแม่โจ้
B : 192740
I :
9 ก.พ. 2558
วันที่
เลขเรียกหนังสือ

สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	ข
สารบัญภาพ	จ
บทคัดย่อ	1
Abstract	2
คำนำ	3
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	4
ประโยชน์ที่คาดว่าได้รับ	5
การตรวจเอกสาร	6
อุปกรณ์และวิธีการ	55
ผลการวิจัย และวิจารณ์ผลการวิจัย	64
สรุปผลการวิจัย	103
เอกสารอ้างอิง	105

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1.1 การกระจายตัวของขนาดอนุภาคของรำข้าว	12
1.2 ความชื้นของรำข้าวในบรรยากาศที่มีค่าความชื้นสัมพัทธ์	12
1.3 องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าว	13
1.4 ปริมาณไขมันต่างๆ ในเลือด	22
1.5 คุณสมบัติทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันรำข้าว	25
1.6 ผลจากกระบวนการทำน้ำมันให้บริสุทธิ์ต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบในน้ำมัน	37
1.7 คุณลักษณะที่ต้องการของน้ำมันรำข้าวสำหรับบริโภค	40
2.1 สารเคมี	55
2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์	55
2.3 ปริมาณของสารมาตรฐานต่อตัวทำละลายที่ความเข้มข้นต่างๆ	59
2.4 สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์แกมมาโอรีซานอล โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง	60
2.5 ปริมาณของสารมาตรฐานต่อตัวทำละลายที่ความเข้มข้นต่างๆ	61
3.1 แสดงค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นของรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่าง ๆ	64
3.2 เปอร์เซ็นต์รวมจากน้ำมันรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่าง	65
3.3 ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าวดิบจากข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่าง ๆ (โดยน้ำหนักแห้ง) วิธี soxhlet method ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและปิโตรเลียมอีเทอร์	71
3.4 ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในชั้นของเฮกเซนเมื่อใช้รำข้าว 1 กรัม ต่อเฮกเซน 4 ml และ 8 mlที่เวลาสกัด 3 นาที	73
3.5 การหาปริมาณแกมมาโอรีซานอลในรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับที่เวลาสกัด 3 นาที	74
3.6 ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในชั้นของเฮกเซนเมื่อใช้รำข้าว 1 กรัม ต่อเฮกเซน 4 ml และ 8 ml ที่เวลาสกัด 5 นาที	75
3.7 การหาปริมาณแกมมาโอรีซานอลในรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ ที่เวลาสกัด 5 นาที	75
3.8 ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในชั้นของเฮกเซนเมื่อใช้รำข้าว 1 กรัม ต่อเฮกเซน 4 ml และ 8 ml ที่เวลาสกัด 7 นาที	76

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง	หน้า
3.9 การหาปริมาณแกมมาโอรีซานอลในรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ ที่เวลาสกัด 7 นาที	77
3.10 ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในชั้นของปิโตรเลียมอีเทอร์เมื่อใช้รำข้าว 1 กรัม ต่อปิโตรเลียมอีเทอร์ 4 ml และ 8 ml ที่เวลาสกัด 3 นาที	78
3.11 การหาปริมาณแกมมาโอรีซานอลในรำข้าวสายพันธุ์ต่าง ๆ โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับที่เวลาสกัด 3 นาที	79
3.12 ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในชั้นของปิโตรเลียมอีเทอร์เมื่อใช้รำข้าว 1 กรัม ต่อปิโตรเลียมอีเทอร์ 4 ml และ 8 mlที่เวลาสกัด 5 นาที	80
3.13 การหาปริมาณแกมมาโอรีซานอลในรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับที่เวลาสกัด 5 นาที	80
3.14 ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในชั้นของปิโตรเลียมอีเทอร์เมื่อใช้รำข้าว 1 กรัม ต่อปิโตรเลียมอีเทอร์ 4 ml และ 8 mlที่เวลาสกัด 7 นาที	81
3.15 การหาปริมาณแกมมาโอรีซานอลในรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับที่เวลาสกัด 7 นาที	82
3.16 ปริมาณแกมมาโอรีซานอลที่ได้จาก Soxhlet method กับการใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน	85
3.17 ปริมาณแกมมาโอรีซานอลที่ได้จาก Soxhlet method กับการใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับที่สกัดด้วยตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์	85
3.18 องค์ประกอบของแกมมาโอรีซานอล	89
3.19 ค่าเวลาของการแยกและร้อยละปริมาณสารประกอบของสารมาตรฐานแกมมาโอรีซานอล ตัวอย่างน้ำมันรำข้าวแอลฟาวัน และตัวอย่างน้ำมันรำข้าวดิบของข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่าง ๆ	91
3.20 ความยาวคลื่นที่ดูดกลืนสูงสุดของน้ำมันในตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ	94
3.21 การหาปริมาณน้ำมันในรำข้าวสายพันธุ์ต่าง ๆ โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ	98
3.22 ปริมาณน้ำมันที่ได้จาก Soxhlet method กับการใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน	99
3.23 ปริมาณน้ำมันที่ได้จาก Soxhlet method กับการใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับที่สกัดด้วยตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์	100

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง	หน้า
3.24 ค่าไอโอดีนของน้ำมันรำข้าวเหนียวแต่ละสายพันธุ์	101
3.25 ค่าเปอร์ออกไซด์ของน้ำมันรำข้าวเหนียวแต่ละสายพันธุ์	102

มหาวิทยาลัยแม่โจ้ MAEJO UNIVERSITY

สารบัญภาพ

รูป	หน้า
1.1 เมล็ดข้าวเปลือกและส่วนประกอบ	7
1.2 เมล็ดข้าวเหนียวพันธุ์กข 6	8
1.3 เมล็ดข้าวเหนียวพันธุ์สันป่าตอง 1	9
1.4 เมล็ดข้าวเหนียวพันธุ์แม่โจ้ 2	10
1.5 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารแกมมาโอรีซานอล	19
1.6 แผนภาพกระบวนการสกัดน้ำมันรำข้าว	31
1.7 แผนภาพแสดงขั้นตอนการผลิตน้ำมันให้บริสุทธิ์ทั้งทางเคมีและทางกายภาพ	33
1.8 เครื่องยูวี – วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์	44
1.9 หลอดดิวเทอเรียม (ซ้าย) และหลอดทังสเตน (ขวา)	45
1.10 ตัวอย่าง cuvettes แบบต่างๆ	46
1.11 (ซ้าย) ภาพตัดขวางของหลอด PMT (ขวา) ลักษณะหลอด PMT ในสเปกโทรโฟโตมิเตอร์	47
1.12 สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่มีไดโอดอาร์เรย์เป็นตัวตรวจจับสัญญาณ	47
1.13 ส่วนประกอบของเครื่อง HPLC	48
1.14 ลักษณะของ chromatogram ที่ได้จากการวิเคราะห์โดยเครื่อง HPLC	49
3.1 ผลการวิเคราะห์ TLC ของน้ำมันรำข้าเหนียวสายพันธุ์ต่าง ๆ	67
3.2 กราฟมาตรฐานแกมมาโอรีซานอลที่วิเคราะห์โดยในตัวทำละลายอินทรีย์ (ก) เฮกเซน (ข) ปิโตรเลียมอีเทอร์	69
3.3 ความเข้มข้นของแกมมาโอรีซานอลที่มีอยู่ในน้ำมันรำข้าวดิบจากข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและปิโตรเลียมอีเทอร์	70
3.4 ความเข้มข้นของแกมมาโอรีซานอลที่มีอยู่ในรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนที่ใช้เวลาในการสกัดที่เวลาต่างๆ	77
3.5 ความเข้มข้นของแกมมาโอรีซานอลที่มีอยู่ในรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่สกัดด้วยตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ที่ใช้เวลาในการสกัดที่เวลาต่าง ๆ	82
3.6 ความเข้มข้นของแกมมาโอรีซานอลที่มีอยู่ในรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและปิโตรเลียมอีเทอร์ที่ใช้เวลาในการสกัด (ก) 3 นาที (ข) 5 นาที	83
3.6 ความเข้มข้นของแกมมาโอรีซานอลที่มีอยู่ในรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและปิโตรเลียมอีเทอร์ที่ใช้เวลาในการสกัด (ค) 7 นาที	84

สารบัญภาพ (ต่อ)

รูป	หน้า
3.7 โครมาโทแกรมของ (ก) สารมาตรฐานแกมมาโอรีซานอล	86
3.7 โครมาโทแกรมของ (ข) น้ำมันรำข้าวแอลฟาวัน	87
(ค) ตัวอย่างน้ำมันรำข้าวดิบพันธุ์กข 6 (ง) ตัวอย่างน้ำมันรำข้าวดิบพันธุ์สันป่าตอง 1	
3.7 โครมาโทแกรมของ (จ) ตัวอย่างน้ำมันรำข้าวดิบพันธุ์แม่โจ้ 2	88
(ฉ) ตัวอย่างน้ำมันรำข้าวดิบพันธุ์แม่โจ้ 4 (ช) ตัวอย่างน้ำมันรำข้าวดิบพันธุ์แม่โจ้ 6	
3.8 โครมาโทแกรมของ Gamma – Oryzanol ในตัวอย่างน้ำมันรำข้าวดิบที่นำมาสกัด	89
3.9 การดูดกลืนแสงสูงสุดของน้ำมันที่ละลายในตัวทำละลาย (ก) เฮกเซน (ข) ปิโตรเลียมอีเทอร์	95
3.10 กราฟมาตรฐานน้ำมันที่วิเคราะห์โดยในตัวทำละลายอินทรีย์ (ก) เฮกเซน	96
3.10 กราฟมาตรฐานน้ำมันที่วิเคราะห์โดยในตัวทำละลายอินทรีย์ (ข) ปิโตรเลียมอีเทอร์	97
3.11 ปริมาณน้ำมันที่มีอยู่ในรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่ละลายในตัวทำละลายเฮกเซน และปิโตรเลียมอีเทอร์	98

บทคัดย่อ

การพัฒนาวิธีการสกัดและวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันและแกมมาโอรีซานอลในรำข้าวเหนียวสายพันธุ์แม่โจ้ 2 สายพันธุ์แม่โจ้ 4 และสายพันธุ์แม่โจ้ 6

อนรรฆอร ศรีไสยเพชร และ วราภรณ์ แสงทอง

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่

น้ำมันรำข้าวมีสารที่มีประโยชน์หลายชนิด โดยเฉพาะแกมมาโอรีซานอลซึ่งเป็นสารประกอบเอสเทอร์ระหว่าง เฟอรูเลต กับสเตอรอลหรือไตรเทอร์พีนแอลกอฮอล์ งานวิจัยนี้ได้ศึกษาวิธีการสกัดและวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลและน้ำมันในรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับและการสกัดด้วยซอกต์เลต จากผลการศึกษาพบว่า ปิโตรเลียมอีเทอร์สามารถสกัดแกมมาโอรีซานอลจากรำข้าวเหนียวในทุกสายพันธุ์ที่ทำการศึกษาได้ในปริมาณสูง นอกจากนี้ปริมาณของแกมมาโอรีซานอลและน้ำมันที่สกัดได้ยังขึ้นอยู่กับสายพันธุ์รำข้าวและเวลาที่ใช้ในการสกัดอีกด้วย และสามารถตรวจสอบองค์ประกอบเบื้องต้นของแกมมาโอรีซานอลและน้ำมันจากน้ำมันรำข้าวดิบที่สกัดได้โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีแบบผิวบาง (TLC)ส่วนองค์ประกอบของแกมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าวดิบทำการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง กล่าวได้ว่า การสกัด ;ช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับเป็นวิธีการที่เหมาะสมในการสกัดและวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอล เนขณะที่การสกัดน้ำมันควรใช้การสกัดด้วยวิธีซอกต์เลต

คำสำคัญ : ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ แกมมาโอรีซานอล กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 แม่โจ้ 6

ABSTRACT

Extraction and determination development of oil and gamma-oryzanol in glutinous rice bran of Maejo 2 Maejo 4 and Maejo 6

Anakhaorn Srisaipet and *Varaporn Sangtong*
Faculty of Science Maejo University, Chiangmai Thailand

Rice bran oil (RBO) contains a high level of several phytochemicals, e.g. gamma – oryzanol which is a complex ester of ferulate esterfied with sterols or triterpene alcohols. This research has studied the extraction and analyzation of gamma-oryzanol and total lipids in glutinous rice bran which were analyzed *via* Adsorption coefficient (K) and soxhlet apparatus in Gorkhor 6, Sanpatong 1, Maejo 2, Maejo 4 and Maejo 6 rice vatities. It was found that petroleum ether exhibit to extract gamma-oryzanol in all of varieties types. Moreover the extracted gamma-oryzanol and total lipid quantity depend on the breed and extraction time. The gamma-oryzanol and total lipids from crude rice bran oil are qulitatived by Thin-layer chromatography (TLC) and the composition of gamma-oryzanol was analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC). Adsorption coefficient (K) is optimized to extraction and analyzation of gamma-oryzanol in glutinous rice bran while soxhlet extraction were selected for total lipid extraction.

Keywords: Adsorption coefficient (K), gamma-oryzanol, gorkhor 6, sanpatong 1, maejo 2, maejo 4 and maejo 6 glutinous rice vatities

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรอุตสาหกรรม โดยเฉพาะอย่างยิ่ง “ข้าว” ซึ่งจัดเป็นสินค้าส่งออกอันดับต้นของประเทศ และข้าวยังเป็นอาหารหลักของคนไทย โดยเฉพาะข้าวเหนียวซึ่งเป็นข้าวที่ประชากรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือนิยมบริโภค แม้ว่าผลผลิตทางด้านการเกษตรของข้าวจะได้รับการพัฒนา ปรับปรุง ในแง่มุมต่างๆ ก็ยังขาดแหล่งวิทยาการ และข้อมูลที่สนับสนุนในการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับผลพลอยได้จากการสีข้าว ซึ่งก็คือรำข้าว ที่มีปริมาณสูงมากในแต่ละฤดูการผลิต คณะผู้วิจัยซึ่งได้ทำงานด้านนี้อยู่และตระหนักถึงความสำคัญในปริมาณและคุณค่าของสารต่างๆ ที่มีอยู่ในรำข้าวเป็นอย่างดี จึงได้ศึกษาค้นคว้าและทำการวิจัยเกี่ยวกับการวิเคราะห์เพื่อศึกษาถึงปริมาณสารสำคัญที่มีประโยชน์ในรำข้าว ซึ่งในที่นี้ คือ น้ำมันรำข้าว และแกมมาโอรีซานอล โดยการใช้เทคนิคการสกัดที่ทำได้อย่างสะดวก รวดเร็ว และมีความแม่นยำ ทั้งนี้เพื่อเป็นประโยชน์ในการพัฒนาเทคนิคและวิธีการนำรำข้าวไปใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดเต็มประสิทธิภาพ รวมถึงเป็นการสนับสนุนข้อมูลสำหรับข้าวแต่ละสายพันธุ์ให้มีความครบถ้วนมากยิ่งขึ้น

หวังเป็นอย่างยิ่งว่ารายงานฉบับสมบูรณ์นี้ จะเป็นประโยชน์สำหรับการสนับสนุนข้อมูลด้านงานวิจัยของพันธุ์ข้าว หากมีข้อพบพร่องประการใด คณะผู้วิจัยขอน้อมรับคำติชมด้วยความยินดีเป็นอย่างยิ่ง

คณะผู้วิจัย

กันยายน 2557

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

ใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (adsorption coefficient : K) ในการพัฒนาวิธีสกัดและวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันและแกมมาโอรีซานอลในรำข้าวเหนียวสายพันธุ์แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- เป็นการศึกษาเทคนิควิธีการใหม่ในการสกัดสารที่อยู่ในของแข็ง ซึ่งเป็นเทคนิคที่ทำได้ง่ายในเวลารวดเร็ว ตลอดจนใช้สารในปริมาณน้อย และเป็นการสร้างองค์ความรู้ในการสกัดเพื่อวิจัยสารในกลุ่มอื่นๆ ต่อไป

- ทราบปริมาณน้ำมันและสารแกมมาโอรีซานอลที่มีอยู่ในวัตถุดิบรำข้าวที่ได้มีการพัฒนาสายพันธุ์ขึ้นมาใหม่เพื่อได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ รวมถึงเป็นข้อมูลแนวทางในการนำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำมันรำข้าว รวมถึงอุตสาหกรรมอื่นๆ

- นำหลักการของเทคนิคที่ศึกษาได้ไปใช้กับการสกัดสารที่มีคุณค่าทางด้านอื่นๆ เช่น สารต่อต้านมะเร็ง ซึ่งมักพบในปริมาณน้อย

การตรวจเอกสาร

1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย

ข้าวเหนียวเป็นข้าวที่นิยมบริโภคอย่างกว้างขวางในประเทศไทย และเป็นอาหารหลักของประชากรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกข้าวเหนียว 18 ล้านไร่ หรือร้อยละ 31 ของพื้นที่ปลูกทั้งหมด ให้ผลผลิตฤดูนาปีประมาณ 6 ล้านตัน ส่วนฤดูนาปรังมีพื้นที่ปลูกประมาณ 2.6 แสนไร่ ให้ผลผลิต 1.2 แสนตัน รวมผลผลิตทั้งปีประมาณ 7 ล้านตัน [1] ซึ่งส่วนใหญ่จะแปรรูปเป็นข้าวสารที่ผ่านการขัดสีเพื่อการบริโภคในรูปของข้าวหุงสุกทั้งเมล็ด พบว่าในการสีข้าวเปลือก 1 ตัน จะได้ข้าวสาร 650 – 660 กิโลกรัม แกลบ 200 – 250 กิโลกรัมและส่วนที่เหลือเป็นรำข้าวประมาณ 70 – 90 กิโลกรัม ส่วนของรำข้าวนี้ประกอบด้วยจมูกข้าว สารอาหารทั้งหมดในเมล็ดข้าว จากการสำรวจข้อมูลพบว่ามีการใช้ประโยชน์จากรำข้าวน้อยมาก เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณและคุณค่ามีบางส่วนที่นำไปผลิตน้ำมันรำข้าว ในขณะที่รำข้าวมากกว่าร้อยละ 60 เมตริกตัน/ปี จะถูกละเลยไม่มีการใช้ประโยชน์ทางด้านอาหารอย่างจริงจังส่วนใหญ่แล้วจะนำไปเป็นอาหารสัตว์และนำไปทิ้ง [2]

น้ำมันรำข้าวจัดเป็นน้ำมันที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงมากและจากการศึกษาองค์ประกอบของน้ำมันรำข้าวดิบแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ กลุ่มที่สปอนนิฟายได้ มีประมาณ 90 – 96 % และกลุ่มสารที่สปอนนิฟายไม่ได้ประมาณ 42 % โดยพบว่าเป็นเปอร์เซ็นต์ที่สูงกว่าน้ำมันอื่นๆ และยังเป็นส่วนสำคัญที่มีองค์ประกอบของสารอาหารที่มีประโยชน์ เช่น แกมมาโอรีซานอล และวิตามินอี [3]

แกมมาโอรีซานอลเป็นกลุ่มสารประกอบเอสเทอร์ระหว่างกรดเฟอรูลิก (ferulic acid) และสเตียรอล (sterol) หรือไตรเทอร์พีนแอลกอฮอล์ (triterpene alcohols) มีฤทธิ์ในการลดระดับคอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ [4] โดยมีบทบาทในการควบคุมปริมาณโคเลสเตอรอลในเลือดและช่วยลดไตรกลีเซอไรด์ในผู้ที่มีปัญหาไขมันในเลือดสูง และยังเป็นสารแอนติออกซิแดนท์ทำหน้าที่ต้านอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายอีกด้วย [2]

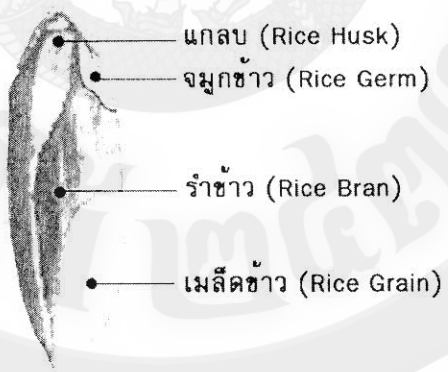
งานวิจัยนี้จะมุ่งเน้นศึกษาวิธีการสกัดและวิธีการวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลและน้ำมันในรำข้าวเหนียวบางสายพันธุ์ได้แก่ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (adsorption coefficient: K) รำข้าวสายพันธุ์ แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 เป็นข้าวเหนียวสายพันธุ์ที่ได้รับการพัฒนาสายพันธุ์ขึ้นมาใหม่ ดังนั้นจึงต้องการศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลที่เป็นสารสำคัญที่มีอยู่ในรำข้าว รวมถึงปริมาณน้ำมัน เพื่อเพิ่มข้อมูลที่ครบถ้วนให้กับข้าวเหนียวสายพันธุ์ใหม่เหล่านี้

1.2 ทฤษฎี

1.2.1 ข้าวเหนียว

ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกข้าวเหนียว 18 ล้านไร่ หรือร้อยละ 31 ของพื้นที่ปลูกทั้งหมดให้ผลผลิตรวมทั้งปีประมาณ 7 ล้านตัน ส่วนใหญ่ปลูกเพื่อบริโภคภายในครัวเรือนที่เหลือจำหน่ายทั้งภายในและต่างประเทศ สามารถส่งออกทั้งในรูปเมล็ดข้าวสารและผลิตภัณฑ์ ด้านคุณค่าทางอาหารของข้าวเหนียวกับข้าวเจ้าไม่ต่างกัน เพียงแต่ข้าวเหนียวต่างจากข้าวเจ้าที่องค์ประกอบของแป้งในเมล็ดข้าวสาร ชนิดของแป้งในเมล็ดข้าวเหนียวมีเพียงแป้งอมิโลเปคติน ทำให้ข้าวเหนียวหุงสุก มีความเหนียวและเมล็ดเกาะติดกันใช้น้ำน้อย [1]

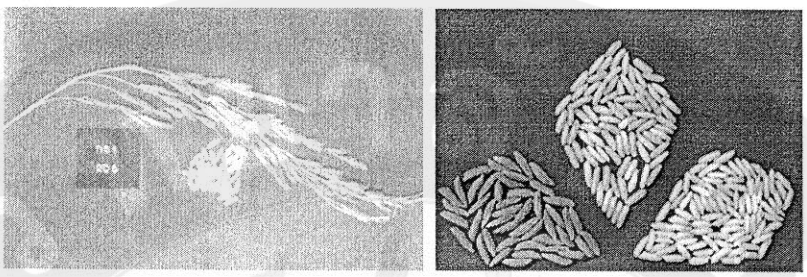
ข้าวเป็นอาหารหลักของชาวโลกมานานนับพันปี พลเมืองทั่วโลกรับประทานข้าวเป็นอาหารหลัก เพราะข้าวมีสารอาหารครบถ้วนบริบูรณ์ ทั้งคาร์โบไฮเดรต ซึ่งมีแป้งในปริมาณที่สูงมาก จึงเป็นแหล่งให้พลังงานที่ดีที่สุด [5] เมล็ดข้าวนั้นประกอบด้วย เมล็ดข้าวขาว รำข้าว (เยื่อหุ้มเมล็ด) และเปลือกข้าว ดังรูป 1.1 สารอาหารในเมล็ดข้าวประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต เป็นส่วนประกอบหลัก โปรตีน ไขมัน วิตามินบี วิตามินอี และแร่ธาตุ เป็นต้น ที่แยกไปอยู่ในส่วนต่างๆ ของเมล็ดข้าว ไขมันส่วนใหญ่อยู่ในรำข้าว โดยสามารถนำมาแปรรูปเป็นน้ำมันรำข้าวที่มีส่วนประกอบของวิตามินอีและแกมมาโอรีซานอลเป็นสารหลัก [6]



รูป 1.1 เมล็ดข้าวเปลือกและส่วนประกอบ [7]

1.2.2 พันธุ์ข้าวเหนียวที่ใช้ในการศึกษา

1.2.2.1 ข้าวเหนียวพันธุ์กข 6 [8]



รูป 1.2 เมล็ดข้าวเหนียวพันธุ์กข 6

ชื่อพันธุ์ กข 6

ชนิด ข้าวเหนียว

ประวัติพันธุ์ ได้จากการปรับปรุงพันธุ์ โดยการใช้รังสีชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ โดยใช้รังสีแกมมาปริมาณ 20 กิโลแรด อาบเมล็ดพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 แล้วนำมาปลูกคัดเลือกที่สถานีทดลองข้าวบางเขนและสถานีทดลองข้าวพิมาย จากการคัดเลือกได้ข้าวเหนียวหลายสายพันธุ์ในข้าวชั่วที่ 2 นำไปปลูกคัดเลือกจนอยู่ตัวได้สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงสุดคือ สายพันธุ์ KDML105'65-G2U-68-254 นับว่าเป็นข้าวพันธุ์ดีพันธุ์แรกของประเทศไทย ที่ค้นคว้าได้โดยใช้วิธีชักนำพันธุ์พืชให้เปลี่ยนกรรมพันธุ์โดยใช้รังสี การรับรองพันธุ์ - คณะกรรมการวิจัยและพัฒนากรมวิชาการเกษตร มีมติให้เป็นพันธุ์รับรอง เมื่อวันที่ 4 พฤษภาคม 2520

ลักษณะประจำพันธุ์

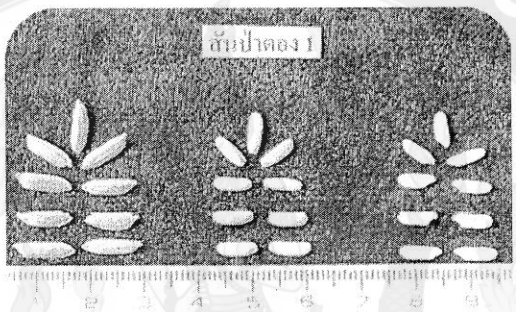
- เป็นข้าวเหนียว สูงประมาณ 154 เซนติเมตร
- ไวต่อช่วงแสง
- ทรงกอกระจายเล็กน้อย ใบยาวสีเขียวเข้ม ใบธงตั้ง เมล็ดยาวเรียว
- เมล็ดข้าวเปลือกสีน้ำตาล
- อายุเก็บเกี่ยวประมาณ 110 – 120 วัน
- ระยะพักตัวของเมล็ดประมาณ 5 สัปดาห์
- เมล็ดข้าวกล้อง กว้าง x ยาว x หนา = 2.2 x 7.2 x 1.7 มิลลิเมตร
- คุณภาพข้าวสุก เหนียวนุ่ม มีกลิ่นหอม

ผลผลิต ประมาณ 666 กิโลกรัมต่อไร่

ลักษณะเด่น ให้ผลผลิตสูงและทนแล้งดีกว่าพันธุ์เหนียวสันป่าตอง คุณภาพการหุงต้มดี มีกลิ่นหอม ลำต้นแข็งปานกลาง ต้านทานโรคใบจุดสีน้ำตาลคุณภาพการสีดี

ข้อควรระวัง ไม่ต้านทานโรคขอบใบแห้งและโรคใบไหม้ ไม่ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและแมลงบั่ว

1.2.2.2 ข้าวเหนียวพันธุ์สันป่าตอง 1 [9]



รูป 1.3 เมล็ดข้าวเหนียวพันธุ์สันป่าตอง 1

ชื่อพันธุ์ สันป่าตอง 1

ชนิด ข้าวเหนียว

คู่ผสม BKNLR75001-B-CNT-B-B-RST-36-2 / กข2

ประวัติพันธุ์ ได้จากการผสมพันธุ์ข้าวสายพันธุ์ BKNLR75001-B-CNT-B-RST-36-2 กับพันธุ์ กข2 ที่สถานีทดลองข้าวสันป่าตอง เมื่อปี พ.ศ. 2527 ปลูกคัดเลือกจนได้สายพันธุ์ SPTLR84051-32-2-2-4

ลักษณะประจำพันธุ์

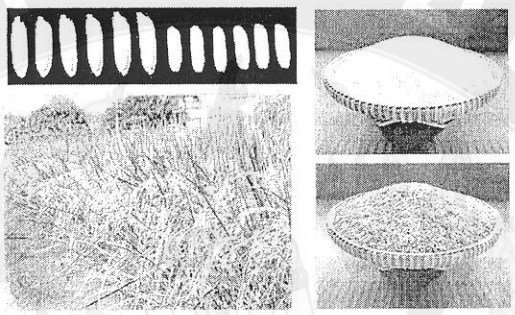
- เป็นพันธุ์ข้าวเหนียว สูงประมาณ 119 เซนติเมตร
- ไวต่อช่วงแสง
- อายุเก็บเกี่ยว ประมาณ 130-135 วัน
- ทรงกอตั้ง ใบสีเขียว กาบใบสีเขียว ใบธงตั้งตรง รวงยาว ระแง้ถี่ รวงแน่น คอรวงสั้น ฟางแข็ง ใบแก่ช้า เมล็ดข้าวเปลือกสีฟาง
- ระยะพักตัวของเมล็ดประมาณ 8 สัปดาห์
- เมล็ดข้าวกล้อง กว้าง x ยาว x หนา = 2.2 x 7.1 x 1.8 มิลลิเมตร
- คุณภาพข้าวสุก เหนียวนุ่ม

ผลผลิต ประมาณ 630 กิโลกรัมต่อไร่

ลักษณะเด่น ให้ผลผลิตสูง ต้านทานโรคไหม้และโรคขอบใบแห้ง เป็นข้าวเหนียวที่สามารถปลูกได้ตลอดปี

ข้อควรระวัง ไม่ต้านทานโรคใบสีส้มและไม่ต้านทานแมลงบั่ว

1.2.2.3 **ข้าวเหนียวพันธุ์แม่โจ้ 2** [10]



รูป 1.4 เมล็ดข้าวเหนียวพันธุ์แม่โจ้ 2

ชื่อพันธุ์ แม่โจ้ 2

ชนิด ข้าวเหนียว

คู่ผสม ข้าวเจ้าพันธุ์ปทุมธานี 1 (พันธุ์รับ) กับข้าวเหนียวพันธุ์ กข6 (พันธุ์ให้)

ประวัติพันธุ์ ข้าวเหนียวหอมต้นเตี้ยไม่ไวต่อช่วงแสงสายพันธุ์แม่โจ้ 2 เป็นสิ่งที่คิดค้นขึ้นใหม่ โดยมีความแปลกใหม่ เพราะได้จากการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเจ้าหอมต้นเตี้ยไม่ไวต่อช่วงแสง ปลูกศึกษาพันธุ์ 2 ฤดู ทดสอบผลผลิต 3 ฤดู รวมทั้งทดสอบคุณสมบัติทางเคมีของข้าว ระดับความต้านทานโรคไหม้ และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ทำการทดลองทั้งหมด 7 ปีต่อเนื่อง จนได้ข้าวเหนียวหอมต้นเตี้ยไม่ไวต่อช่วงแสงสายพันธุ์แม่โจ้ 2

ลักษณะประจำพันธุ์

- เป็นพันธุ์ข้าวเหนียว สูงประมาณ 90-114 เซนติเมตร
- ไม่ไวต่อช่วงแสง
- อายุเก็บเกี่ยว ประมาณ 120 วัน
- ทรงกอแบะ ใบสีเขียวมีขน กาบใบ และปล้องสีเขียว ใบธงยาวตั้งตรง รวงอยู่ใต้ใบธง
- เมล็ดข้าวเปลือกสีฟาง มีขนสั้น บางเมล็ดมีหางยาว
- เมล็ดข้าวกล้อง กว้าง x ยาว x หนา = 1.9 x 7.5 x 1.6 มิลลิเมตร
- คุณภาพข้าวสุก นุ่มเหนียว มีกลิ่นหอม

ผลผลิต 715 กิโลกรัมต่อไร่

ลักษณะเด่น ต้านทานต่อโรคไหม้ และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

1.2.2.4 ข้าวเหนียวพันธุ์แม่โจ้ 4

เป็นสายพันธุ์ข้าวที่ยังอยู่ในช่วงระหว่างการศึกษาวิจัย ยังไม่ได้ทำการเผยแพร่ข้อมูล

1.2.2.5 ข้าวเหนียวพันธุ์แม่โจ้ 6

เป็นสายพันธุ์ข้าวที่ยังอยู่ในช่วงระหว่างการศึกษาวิจัย ยังไม่ได้ทำการเผยแพร่ข้อมูล

1.2.3 รำข้าว

รำข้าว คือ เยื่อสีทองที่ห่อหุ้มเมล็ดข้าวกล้อง เป็นส่วนที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงที่สุดของข้าว อุดมไปด้วยวิตามินอีและโอรีซานอล อันเป็นสารธรรมชาติที่ช่วยลดคอเลสเตอรอลและช่วยต้านอนุมูลอิสระ การสกัดน้ำมันรำข้าวโดยใช้สารละลายสกัด (solvent extraction) มีอยู่หลายแบบ คือ แบบสุ่ม (batch type) แบบกระเช้า (basket type) แบบใบหมุน (rotorcell) และอื่นๆ ผลผลิตน้ำมันรำข้าวที่ได้ประมาณ 16-18% [11]

1.2.4 องค์ประกอบและคุณสมบัติของรำข้าว

ปริมาณและองค์ประกอบของรำข้าวขึ้นอยู่กับชนิดของข้าว คุณภาพของข้าวเปลือก การเตรียมข้าวเปลือก เช่น การนึ่ง วิธีการสีข้าวและระดับของการขัดขาว ในข้าวชนิดเมล็ดเรียว รำข้าวจะมีปริมาณน้ำมันมากกว่าข้าวชนิดเมล็ดกลางและเมล็ดสั้นตามลำดับ ข้าวเปลือกที่ได้รับการจัดการสีอย่างถูกต้องจะให้ผลผลิตของรำข้าวที่สูงขึ้น เช่น รำข้าวที่สีด้วยวิธีการสมัยใหม่จะมีน้ำมันและโปรตีนมากกว่ารำข้าวที่ได้จากการสีแบบดั้งเดิม เพราะสัดส่วนของสารปนเปื้อนลดลง สำหรับข้าวเปลือกที่ผ่านการนึ่งเมื่อนำมาสีจะได้รำข้าวที่มีสีเข้มกว่ารำข้าวปกติปริมาณของรำข้าวที่ได้จะต่ำกว่ารำข้าวที่ไม่ได้นึ่งแต่รำข้าวจะมีปริมาณโปรตีน และไขมันที่เป็นองค์ประกอบมาก ซึ่งทำให้ผลผลิตของน้ำมันจากรำข้าวที่ผ่านการนึ่งสูงกว่ารำข้าวปกติ โดยมีปริมาณน้ำมันเพิ่มขึ้นประมาณ 4 – 5 % [12]

1.2.4.1 คุณสมบัติทางกายภาพของรำข้าว

Barber และ Benedito [13] ได้สรุปคุณสมบัติทางกายภาพของรำข้าวไว้ดังนี้ อนุภาคของรำข้าวมีขนาดที่แตกต่างกันอยู่ในช่วงกว้างแสดงดังตาราง 1.1 ซึ่งขึ้นอยู่กับกระบวนการสี

ข้าว รำข้าวที่ได้จากการสีด้วยเครื่องสีข้าวแบบกด (friction type) จะมีขนาดอนุภาคใหญ่กว่ารำข้าวที่ได้จากการสีด้วยเครื่องแบบลูกแก้ว (abrasive type) และการสีข้าวเมื่อสีในระดับลึกรำข้าวที่ได้จะมีอนุภาคเล็กลง นอกจากนี้ถ้ารำข้าวที่ผ่านการอบด้วยไอน้ำอนุภาคของรำข้าวจะจับตัวเป็นก้อนทำให้มีอนุภาคที่ใหญ่ขึ้นและรำข้าวนึ่ง (รำข้าวที่สีได้จากข้าวที่ผ่านการนึ่ง) ขนาดอนุภาคก็จะใหญ่ขึ้นด้วยเช่นกัน ความหนาแน่น (bulk density) ของรำข้าวโดยทั่วไปมีค่าประมาณ 0.32 กรัม/มิลลิลิตร นอกจากนี้รำข้าวยังมีคุณสมบัติในการดูดซับ (absorption) และคาย (desorption) ความชื้น ดังนั้นความชื้นในรำข้าวจึงเปลี่ยนแปลงไปตามค่าความชื้นสัมพัทธ์ (relative humidity) ของบรรยากาศ แสดงดังตาราง 1.2 ซึ่งลักษณะเช่นนี้ทำให้มีผลต่อความเสถียรของรำข้าวในระหว่างการเก็บ [14]

ตาราง 1.1 การกระจายตัวของขนาดอนุภาคของรำข้าว [13]

ขนาดอนุภาค		รำข้าว (%)
Mesh	μm	
>18	>1000	0.0
18 – 30	1000 – 595	2.4
30 – 50	595 – 297	30.0
50 – 80	297 – 177	12.2
80 – 100	177 – 149	5.8
<100	<149	46.7

ตาราง 1.2 ความชื้นของรำข้าวในบรรยากาศที่มีค่าความชื้นสัมพัทธ์ต่างๆ [14]

ความชื้นสัมพัทธ์ (%)	ความชื้นของรำข้าว (%)
10	5.0
20	6.4
30	8.0
40	9.0
50	10.0
60	11.0
70	12.4
80	14.8
90	18.0

1.2.4.2 คุณสมบัติทางเคมีของรำข้าว

องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญในรำข้าวได้แก่ คาร์โบไฮเดรต (carbohydrates) โปรตีน และกรดอะมิโน (protein and amino acid) ลิปิด (lipids) แร่ธาตุ (minerals) วิตามิน (vitamin) และเอนไซม์ (enzymes) ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวแสดงดังตาราง 1.3

ตาราง 1.3 องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าว [15]

องค์ประกอบ	เปอร์เซ็นต์
โปรตีน	13.2 – 17.3
ไขมัน	17.0 – 22.9
เส้นใย	9.5 – 13.2
เถ้า	9.2 – 11.5
ไนโตรเจน	39.6 – 60.8
แป้ง	16.1
น้ำตาลอิสระ	6.0 – 6.5

ในระหว่างการสีข้าวลิปิดส่วนใหญ่จะออกมากับรำข้าวและปลายข้าว (polis) ลิปิดในรำข้าวประมาณ 1 ใน 3 ได้มาจาก เอ็มบริโอ (embryo) ปริมาณลิปิดของรำข้าวขึ้นกับระดับการสี และวิธีการสีข้าว ลิปิดจะมีความเข้มข้นมากในชั้นนอก และในจมูกข้าว (germ) สำหรับรำข้าวพบลิปิดประมาณร้อยละ 17.0 – 23.0 ลิปิดที่พบส่วนใหญ่เป็นไตรกลีเซอไรด์ (triglycerides) มีฟอสโฟลิปิด (phospholipids) ไกลโคลิปิด (glycolipids) และไข (waxes) เป็นส่วนน้อยอัตราส่วนโดยประมาณของลิปิดตามธรรมชาติกับลิปิดที่มีขั้วในรำข้าวประมาณ 90 : 10 [16]

1.2.5 การรักษาความเสถียรของรำข้าว

การเสื่อมคุณภาพของรำข้าว ไม่เหมือนพืชน้ำมันอื่นๆ ที่นำมาสกัดเอาน้ำมัน คือ ถ้าเก็บรักษาในโรงเก็บไม่ดี รำข้าวก็จะมีความชื้นมากจะทำให้เกิดกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้นประมาณ 1 เปอร์เซ็นต์/วัน ตามปกติกรดไขมันอิสระจะเกิดขึ้นทันทีภายในรำข้าวหลังจากการผ่านกระบวนการสีเรียบร้อยแล้ว ซึ่งมีประมาณ 2 – 4 % ในกรณีที่เป็นข้าวใหม่ 5 – 8 % ในกรณีที่เป็นข้าวค้างปี 10 % หรือมากกว่าในกรณีที่เป็นข้าวเก็บไว้นานปี สามารถป้องกันได้โดยนำรำข้าวไปอบด้วยความร้อนของไอน้ำ ด้วยอุณหภูมิประมาณ 100 องศาเซลเซียส ($^{\circ}C$) นาน 3 นาที หรืออบด้วยความร้อน 95 $^{\circ}C$ ด้วยเวลา 7 – 8 นาที การอบด้วยอุณหภูมิสูงกว่า 85 $^{\circ}C$ ขึ้นไปนี้เพื่อไล่ความชื้นออกจากรำข้าวและจะทำ

ให้ความชื้นลดลงเหลือเพียง 3 – 4 % จากนั้นทำให้เย็นด้วยลมเย็นก่อนนำไปเก็บ และไม่ควรเก็บรำข้าวไว้นานเกิน 1 เดือน เนื่องจากเมื่อนำไปสกัดน้ำมัน ผลผลิตที่ได้จะลดลง 1 – 2 % และสีของน้ำมันจะค่อนข้างคล้ำ ถ้ารำข้าวมีความชื้นสูงขึ้นกรดไขมันอิสระในน้ำมันรำข้าวที่ได้จะเพิ่มขึ้น [17]

รำข้าวจัดเป็นแหล่งของเอนไซม์หลายชนิด เช่น ไลเปส (lipase) เลซิทิเนส (lecithinase) ไลปอกซีจีเนส (lipoxygenase) อะไมเลส (amylase) เอสเทอเรส (esterase) อินเวอร์เทส (invertase) มอลเตส (maltase) เพคติเนส (pectinase) และเพอออกซิเดส (peroxidase) เป็นต้น แต่ไลเปสเป็นเอนไซม์ที่ได้รับการสนใจมากที่สุด เนื่องจากไลเปสมีผลกระทบต่อคุณภาพของรำข้าว โดยไลเปสสามารถไฮโดรไลซ์น้ำมันเป็นกลีเซอรอลและกรดไขมันอิสระ จุดประสงค์หลักของการรักษาความเสถียรของรำข้าวเพื่อระงับการเพิ่มปริมาณกรดไขมันอิสระในรำข้าว ซึ่งทำได้โดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ หรือโดยการทำลายสภาพธรรมชาติ (denaturation) ของเอนไซม์การรักษาความเสถียรของรำข้าวแบ่งได้เป็น 2 วิธีคือ [18]

1.2.5.1 วิธีทางเคมี (Chemical stabilization)

เป็นการใช้สารเคมีในการทำลายสภาพธรรมชาติของเอนไซม์ ได้แก่ การใช้แก๊สซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO_2) โซเดียมเมตะไบซัลไฟต์ ($Na_2S_2O_5$) ซึ่งผลการใช้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์และไฮโดรคลอริก (HCl) ในการรักษาความเสถียรของรำข้าว พบว่าให้ผลเป็นที่น่าพอใจ แต่วิธีทางเคมีพบว่ามีข้อเสียหลายประการ เช่น ซัลเฟอร์ไดออกไซด์จะทำปฏิกิริยากับองค์ประกอบที่เป็นประโยชน์ในรำข้าวหลายตัว เช่น ทำลาย thiamine ถ้าอยู่ในรูปซัลเฟอร์จะทำปฏิกิริยากับ cysteine ได้ thiols และ sulfonate ทำให้ iodine value ลดลง นอกจากนี้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ยังทำให้เกิดการผุกร่อนของเครื่องมือ และเป็นมลภาวะทางอากาศด้วย [19]

1.2.5.2 วิธีทางกายภาพ (Physical stabilization)

วิธีทางกายภาพมี 4 วิธีได้แก่ [19]

ก) Cold storage เป็นการเก็บรักษารำข้าวที่อุณหภูมิต่ำใกล้ๆ 0 °C พบว่าสามารถลดการเพิ่มของกรดไขมันอิสระได้ แต่การใช้วิธีเก็บรักษาด้วยความเย็นนี้เมื่อนำรำข้าวออกสู่อุณหภูมิภายนอก เอนไซม์ไลเปสจะเริ่มทำงานทันที นอกจากนี้ถ้าจะนำไปปฏิบัติในระดับอุตสาหกรรมต้องมีระบบการถ่ายเทความร้อนที่มีประสิทธิภาพสูง จึงเป็นการสิ้นเปลืองพลังงาน และไม่คุ้มต่อการลงทุน

ข) Storage in an inert atmosphere เป็นการใช้แก๊สเฉื่อยในการเก็บรักษารำข้าว เช่น แก๊สไนโตรเจน แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ในการเก็บรักษารำข้าวที่อุณหภูมิ 20 – 25 °C พบว่าวิธีนี้เป้าหมายเพื่อป้องกันกลิ่นหืนที่เกิดจาก

ปฏิกิริยาออกซิเดชันมากกว่า และไม่สามารถยับยั้งการเพิ่มของกรดไขมันอิสระได้ เนื่องจากไม่สามารถทำลายเอนไซม์ไลเปสได้

ค) Irradiation เป็นการใช้รังสีในการเก็บรักษารำข้าว เช่น รังสีแกมมา (gamma rays) การรักษาความเสถียรของรำข้าวด้วยวิธี irradiation นี้เป็นวิธีที่ยุ่งยากและเสียค่าใช้จ่ายสูง

ง) Heat stabilization เป็นการรักษาความเสถียรของรำข้าว โดยใช้ความร้อน สามารถแบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ

a. การใช้ความร้อนแห้ง (dry heat) เช่น การอบรำข้าวที่อุณหภูมิสูง (100 – 200 °C) เป็นระยะเวลา 3 – 4 ชั่วโมง การให้ความร้อนวิธีนี้สามารถยับยั้งการทำลายของเอนไซม์ไลเปสได้บางส่วน แต่ที่สำคัญคือ สามารถลดความชื้นในรำข้าวซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการเพิ่มของกรดไขมันอิสระ ดังนั้นวิธีนี้จะได้ผลดีก็ต่อเมื่อสามารถควบคุมระดับความชื้นในรำข้าวหลังอบให้อยู่ระหว่างร้อยละ 3 – 6 ส่วนการให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูง มีข้อควรระวังคือ รำข้าวหลังอบและน้ำมันที่สกัดได้จะมีสีเข้มและมีกลิ่นไหม้ นอกจากนี้ยังอาจเกิดการออกซิเดชันของน้ำมัน

b. การใช้ความร้อนชื้น เป็นวิธีที่นิยมใช้มากที่สุดโดยเฉพาะการให้ความร้อนแก่รำข้าวใน moving bed ซึ่งในกระบวนการมีการเติมน้ำ หรือไอน้ำระหว่างการให้ความร้อน ตัวอย่าง เช่น screw conveyors, fluidized bed, extrusion cookers

1.2.6 น้ำมันรำข้าว

น้ำมันรำข้าว คือ น้ำมันพืชที่ผลิตจากน้ำมันรำข้าวดิบ ซึ่งสกัดจากรำข้าว มีสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น วิตามินอี ในกลุ่มโทโคฟีรอลประมาณ 19 - 40 % และกลุ่มโทโคไตรอีนอล 51 - 81 % และ โอรีซานอล (oryzanol) ซึ่งสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าวิตามินอีถึง 6 เท่า มีกรดไขมันอิ่มตัว 18 % กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (monounsaturated fatty acid : MUFA) 45 % กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (polyunsaturated fatty acid : PUFA) 37% น้ำมันรำข้าวเหมาะสำหรับผู้ที่ต้องการลดคอเลสเตอรอลที่ไม่ดี (LDL-C)

1.2.6.1 สารที่มีอยู่ในน้ำมันรำข้าว

น้ำมันรำข้าวเป็นน้ำมันที่ได้จากกระบวนการพิเศษในการสกัดเอาสารสำคัญที่มีประโยชน์นานาชนิด ซึ่งมีอยู่ในเยื่อหุ้มเมล็ดข้าว (seed membrane layer) และจมูกข้าว (rice germ) จึงอุดมด้วยสาระสำคัญทางธรรมชาติและมีคุณค่าสูงต่อร่างกายหลายชนิด เช่น

• **กลุ่มสารฟอสโฟลิปิด (Phospholipids)** เช่น เลซิติน (lecithin) เซฟฟาลิน (cephalin) ไลโซเลซิติน (lysolecithin) ซึ่งมีความสำคัญในการนำไปสร้างและซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอของเซลล์ประสาทสมอง และช่วยป้องกันเซลล์ประสาท จากสารที่เป็นพิษและอนุมูลอิสระต่างๆ ช่วยลดความเครียด และช่วยเสริมสร้างในด้านความจำ

• **กลุ่มเซราไมด์ (Ceramide)** ซึ่งเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของชั้นใต้ผิวหนัง ช่วยทำให้ผิวหนังมีความยืดหยุ่น การเสริมสร้างเซราไมด์ให้เพียงพอ ทั้งโดยการรับประทานหรือการให้ทางผิวหนังในรูปการทาครีม หรือโลชัน จะช่วยรักษาผิวพรรณให้สดใสเปล่งปลั่ง ปราศจากริ้วรอยย่นก่อนเวลาอันควร นอกจากนี้เซราไมด์ยังมีคุณสมบัติเป็นไวท์เทนเนอร์ (whitener) ซึ่งสามารถยับยั้งการสังเคราะห์เมลานิน อันเป็นสาเหตุให้เกิดฝ้า กระ จุดด่างดำบนผิวพรรณได้ดี และยังเป็นมอยเจอไรเซอร์ (moisturizer) ให้ความชุ่มชื่นแก่ผิวอีกด้วย

• **กลุ่มโทคอล (Tocols)** วิตามินอีธรรมชาติ ในรูปของโทโคเฟอรอล (tocopherol) และโทโคไทรอีนอล (tocotrienol) มีประโยชน์ต่อร่างกายในการสร้าง และซ่อมแซมเซลล์ต่างๆ ของร่างกายและยังช่วยทำให้ร่างกายมีภูมิคุ้มกันต่อโรคต่างๆช่วยต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นเหตุสำคัญของการเกิดโรคมะเร็ง

• **กลุ่มกรดไขมันลิโนเลอิค (linoleic Acid)** หรือโอเมก้า 6 และ **กรดลิโนเลนิค (linolenic Acid)** หรือโอเมก้า 3 ที่เป็นกรดไขมันจำเป็น โดยมีอยู่ประมาณ 33 %

• **กลุ่มวิตามิน B - complex** ซึ่งช่วยให้การทำงานของระบบประสาทดีขึ้น

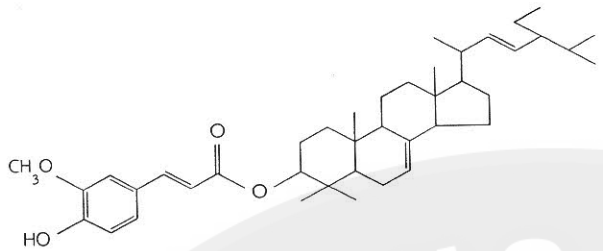
• **กลุ่มโอรีซานอล** มีฤทธิ์ในการลดระดับคอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ ทำให้ลดการตีบตันของหลอดเลือด เพิ่มการไหลเวียนของโลหิต และยังมีฤทธิ์ในการลดความเครียด และรักษาอาการ ผิดปกติของสตรีวัยทอง นอกจากนี้ยังเป็นสารอนุมูลอิสระ และยังป้องกันแสงยูวีได้ เมื่อใช้กินหรือใช้ทา ทำให้ผิวหนังชุ่มชื่นและต้านการอักเสบ สารชนิดนี้มีความปลอดภัยสูงมาก [20]

1.2.6.2 โอรีซานอล

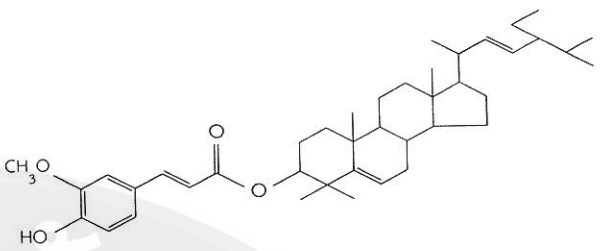
โอรีซานอล (Oryzanol) ค้นพบครั้งแรกในน้ำมันรำข้าวในปี ค.ศ. 1954 โดยนักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่นชื่อ Tsuchiya, T. และ Kaneko, R. (Orthoefer, 1996) โอรีซานอลมีรากศัพท์มาจากคำว่า โอรีซาซัลทิวา (Oryza Sativa) ซึ่งแปลว่าข้าว เนื่องจากพบโอรีซานอลมากที่สุดในข้าว โดยเฉพาะในส่วนผิวสีน้ำตาลอ่อนของข้าวกล้องที่เราเรียกกันว่า "รำข้าว" ซึ่งเป็นส่วนที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงสุดของข้าวกล้อง โอรีซานอลเป็นสารธรรมชาติที่พบในน้ำมันรำข้าวเท่านั้น ไม่พบในน้ำมันพืชชนิดอื่น จึงทำให้น้ำมันรำข้าวมีความโดดเด่นมากยิ่งขึ้นเพราะโอรีซานอลเป็นสารที่มีคุณสมบัติเช่นเดียวกับวิตามินอีในการต้านอนุมูลอิสระ และยังเป็นสารธรรมชาติที่ดีในการป้องกันการเกิดออกซิเดชัน (antioxidation) คือ การที่กรดไขมันไม่อิ่มตัวทำปฏิกิริยากับออกซิเจน ทำให้โครงสร้างของกรดไขมันเปลี่ยนแปลงและเกิดกลิ่นหืน ซึ่งสามารถเกิดได้ทั้งไขมันในอาหารและไขมันที่อยู่ในร่างกาย ซึ่งการเกิดออกซิเดชันนั้นเป็นสาเหตุของการเกิดสภาวะที่ผิดปกติในร่างกาย เช่น โรคมะเร็ง และโรคที่เกี่ยวกับหลอดเลือด นอกจากนั้นโอรีซานอลยังมีคุณสมบัติช่วยลดโคเลสเตอรอลที่ไม่ดี (LDL-C) ให้กับร่างกายอีกด้วย ปัจจุบันโอรีซานอลยังมีความสำคัญมากขึ้นในการใช้เป็นยา อาหารเสริมสุขภาพ และเครื่องสำอาง เพราะมีคุณสมบัติที่สำคัญคือ มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้สูงกว่าวิตามินอีถึง 6 เท่า ในสภาวะที่อยู่ในน้ำ นอกจากนั้นยังช่วยปรับสมดุลของระดับฮอร์โมนในสตรีวัยทอง ลดอาการร้อนวูบวาบ (hot flashes) ป้องกันแสงยูวี ทำให้ผิวหนังชุ่มชื้น ใช้ต้านการอักเสบ และสามารถเพิ่มระดับโคเลสเตอรอลที่ดี (HDL-C) ปริมาณโอรีซานอลที่พบในน้ำมันรำข้าวเพื่อการบริโภคมีอยู่ประมาณ 700 - 2,000 ppm น้ำมันรำข้าวจึงมีคุณสมบัติพิเศษในการป้องกันการเกิดออกซิเดชันได้อย่างมีประสิทธิภาพ [21]

1.2.6.2.1 โครงสร้างของโอรีซานอล (Structure of oryzanol)

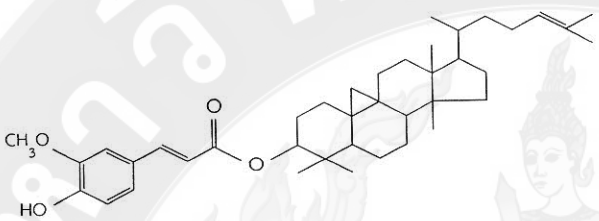
เอสเทอร์ของโอรีซานอลประกอบด้วยสองส่วนสำคัญ ส่วนแรกเป็นส่วนที่มีขั้วของ ferulic acid ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลง อีกส่วนเป็นส่วนที่มี functional group เป็นแอลกอฮอล์ ได้แก่ พวกสเตรียรอลและไตรเทอร์พีนแอลกอฮอล์ซึ่งโครงสร้างมีลักษณะคล้ายคอเลสเตอรอล (cholesterol) โอรีซานอลที่พบในน้ำมันรำข้าวมีชื่อเรียกเฉพาะว่า แกมมาโอรีซานอล ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1954 ซึ่งมีการค้นพบโอรีซานอลครั้งแรกจนถึง ค.ศ. 1999 มีการค้นพบอนุพันธุ์ของแกมมาโอรีซานอลทั้งสิ้น 10 อนุพันธุ์ ได้แก่ Dalta-7-stigmastenyl ferulate, stigmasteryl ferulate, cycloartenyl ferulate, 24-methylenecycloartanyl ferulate, Delta-7-campestenyl ferulate, campesteryl ferulate, Delta-7-sitostenyl ferulate, sitosteryl ferulate, campestanyl ferulate และ sitostanyl ferulate 6 ซึ่งแสดงดังรูป1.5 โดยมีอนุพันธุ์ 3 ชนิดเท่านั้นที่เป็นองค์ประกอบหลักของแกมมาโอรีซานอล คือ cycloartenyl ferulate, 24-methylenecycloartanyl ferulate และ campesteryl ferulate



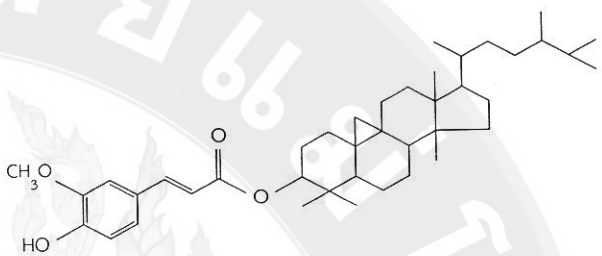
(1) Δ^7- Stigmastenyl ferulate



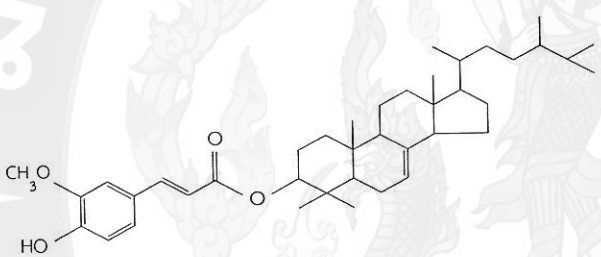
(2) Stigmasteryl ferulate



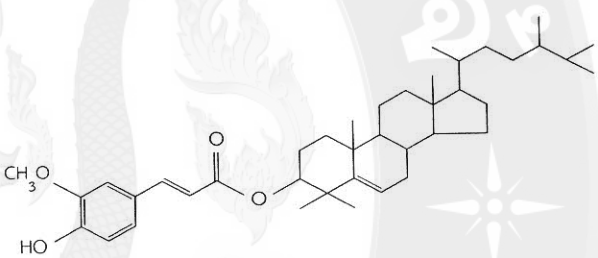
(3) Cycloartenyl ferulate



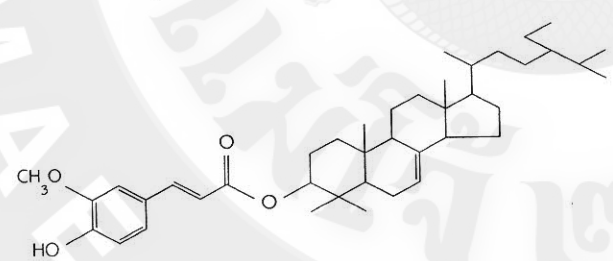
(4) 24-Methylene cycloartanyl ferulate



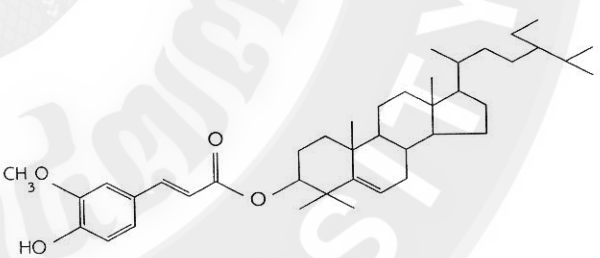
(5) Δ^7- Campestenyl ferulate



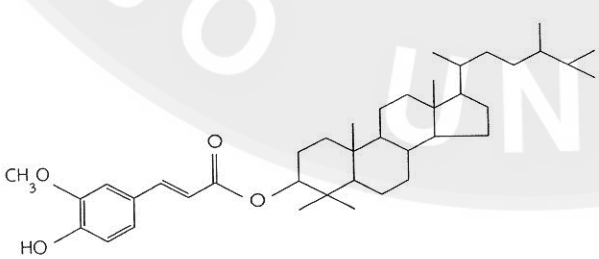
(6) Campesteryl ferulate



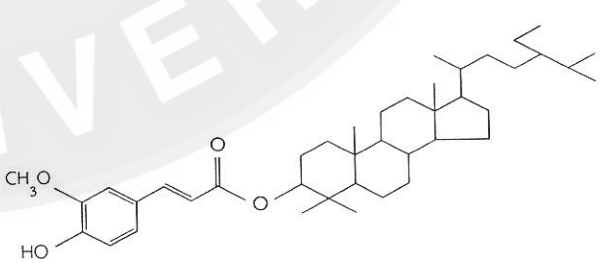
(7) Δ^7- Sitostenyl ferulate



(8) Sitosteryl ferulate



(9) Campestanyl ferulate



(10) Sitostanyl ferulate

รูป 1.5 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารแกมมาโอรีซานอล [22]

1.2.6.2.2 คุณสมบัติของโอรีซานอล

ลักษณะเป็นผงสีขาวหรือสีขาวปนเหลืองอ่อน ละลายได้ดีในตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม รองลงมาคือปิโตรเลียมอีเทอร์ ละลายได้น้อยในเฮปเทน และไม่ละลายในน้ำ มีจุดหลอมเหลวสูงประมาณ 161.2 °C มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (absorption maxima) ที่ 315, 291 และ 231 nm [22]

1.2.6.2.3 แหล่งของโอรีซานอลในธรรมชาติ

โอรีซานอลพบมากในผิวของเมล็ดข้าวกล้องหรือที่เรียกว่า รำข้าว จึงพบโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าว นอกจากนี้ยังพบในพวกธัญพืช เช่น ข้าวโพด ข้าวไรน์ เป็นต้น

1.2.6.2.4 ประโยชน์ของโอรีซานอล [23]

1. เป็นสารแอนตี้ออกซิแดนท์ (Antioxidant) คือสารต้านอนุมูลอิสระ ลดการเสื่อมสภาพของเซลล์ในร่างกายอันทำให้เกิดการแก่ก่อนวัย (anti-aging) ช่วยป้องกันการเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์ผิดปกติ หรือที่เรียกว่า เซลล์มะเร็ง (cancer)

2. มีความสามารถในการป้องกันเซลล์ผิวจากการถูกทำลายด้วยแสงแดด

3. ยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไทโรซิเนส ซึ่งเป็นตัวเร่งการสร้างเม็ดสี จึงทำให้ผิวดูกระจ่างสดใสขึ้น

4. ลดระดับของไขมันในเลือดลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจอุดตัน

5. เพิ่มการหลั่งสารเอ็นดอร์ฟิน (Endophine Hormone) ช่วยผ่อนคลายความเครียดและทำให้หลับสบาย

6. กระตุ้นการหลังฮอร์โมนสำหรับการเจริญเติบโต (Growth Hormone)

7. ลดการสูญเสียแคลเซียม ทำให้ลดอัตราการเกิดโรคกระดูกพรุน

8. ลดอัตราการเกิดภาวะหมดประจำเดือนก่อนเวลาอันควร (Menopause)

1.2.6.2.5 การวิจัยของโอรีซานอลที่มีผลต่อร่างกาย

สารแกมมาโอรีซานอลมีฤทธิ์ในการลดระดับโคเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ ทำให้ลดการตีบตันของหลอดเลือด เพิ่มการไหลเวียนของโลหิต มีฤทธิ์ในการลดความเครียด และรักษาอาการผิดปกติของสตรีวัยทอง เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ และยังป้องกันแสงยูวี ทำให้ผิวหนังชุ่มชื้นและต้านการอักเสบ

แกมมาโอรีซานอลมีความปลอดภัยสูง เนื่องจากผลิตภัณฑ์น้ำมันจมูกข้าว แกมมาโอรีซานอลเป็นส่วนผสมของกรดเฟอรูลิกเอสเทอร์ของสเตอรอลและแอลกอฮอล์ สกัดได้จากน้ำมันจมูกข้าวและจมูกข้าว ซึ่งมีผลต่อร่างกายหลักๆ ดังนี้ คือ

<u>ระดับไขมันในเลือดสูง</u>

จากการศึกษาในคนการใช้แกมมาโอรีซานอลในการช่วยลดระดับไขมันในเลือด พบว่า กลุ่มคนไข้ที่มีระดับไขมันในเลือดสูงเมื่อได้รับแกมมาโอรีซานอล ทำให้ระดับคอเลสเตอรอลรวม และระดับไตรกลีเซอไรด์ลดลง และยังเพิ่มระดับคอเลสเตอรอลชนิดดี (HDL-C)

คอเลสเตอรอล เป็นไขมันชนิดหนึ่งมีลักษณะคล้ายขี้ผึ้ง เป็นส่วนประกอบสำคัญของผนังเซลล์ในร่างกาย เป็นสารตั้งต้นในการสร้างฮอร์โมนต่างๆ และพบในกระแสเลือด เมื่อมีในปริมาณที่พอเพียงจะก่อให้เกิดประโยชน์ แต่ถ้ามีคอเลสเตอรอลมากก็เกิดความผิดปกติ โดยคอเลสเตอรอลจะสะสมอยู่ตามหลอดเลือดทั่วร่างกาย โดยเฉพาะหลอดเลือดหัวใจ หลอดเลือดสมอง และหลอดเลือดส่วนปลาย

คอเลสเตอรอล เป็นปัจจัยที่ก่อให้เกิดโรคต่างๆ เช่น โรคหัวใจขาดเลือดเฉียบพลัน หัวใจวาย โรคหลอดเลือด สมองตีบ อัมพฤกษ์ อัมพาต

<u>คอเลสเตอรอล</u> **มี 2 ชนิด คือ**

1. **คอเลสเตอรอลชนิดร้าย** (LDL-C) เป็นคอเลสเตอรอลที่จับตัวสะสมอยู่ตามหลอดเลือด และเป็นต้นเหตุของอาการหลอดเลือดตีบตัน ที่ทำให้เกิดโรคต่างๆ

2. **คอเลสเตอรอลชนิดดี (HDL-C)** เป็นคอเลสเตอรอลที่อุดตันอยู่ในหลอดเลือด ทำลายการเผาผลาญที่ตับ คอเลสเตอรอลชนิดดีมีประโยชน์ต่อร่างกาย และช่วยป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือดได้

ไขมันอีกชนิดที่มีผลต่อสุขภาพ คือ ไตรกลีเซอไรด์ ในปัจจุบันมีข้อมูลบ่งชี้ว่าปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจขาดเลือด โดยเฉพาะผู้ที่อ้วนเป็นเบาหวาน ความดันโลหิตสูง และมีระดับคอเลสเตอรอล (HDL-C) ต่ำอาจจะเกิดอันตรายในภาวะไขมันในเลือดสูงโดยเฉพาะคอเลสเตอรอลชนิดร้าย (LDL-C) เป็นสาเหตุของโรคหัวใจและหลอดเลือด

ตารางที่ 1.4 ปริมาณของไขมันชนิดต่างๆ ในเลือด

ชนิดไขมันในเลือด	ปริมาณที่เหมาะสม (มก./ดซล.)	ปริมาณที่เริ่มอันตราย (มก./ดซล.)	ปริมาณที่อันตราย (มก./ดซล.)
คอเลสเตอรอลรวม	น้อยกว่า 200	200 ขึ้นไป	240 ขึ้นไป
คอเลสเตอรอลชนิดร้าย	น้อยกว่า 130	130 ขึ้นไป	160 ขึ้นไป
คอเลสเตอรอลชนิดดี	มากกว่า 45	น้อยกว่า 45	น้อยกว่า 35
ไตรกลีเซอไรด์	น้อยกว่า 150	150 ขึ้นไป	200 ขึ้นไป

กลุ่มอาการของหญิงวัยหมดประจำเดือน

การรายงานว่าเมื่อกลางปี ค.ศ. 1950 มีการแยก การสกัด และการทำให้บริสุทธิ์ของแกมมาโอรีซานอล ในประเทศญี่ปุ่นคนญี่ปุ่นใช้สารตัวนี้ในการักษาทางยาตั้งแต่ปี ค.ศ. 1962 สารตัวนี้ถูกใช้ในการรักษาอาการวิตกกังวล ในปี ค.ศ. 1970 ค้นพบว่า สารตัวนี้รักษากลุ่มอาการของหญิงวัยหมดประจำเดือน และปลายปี ค.ศ. 1980 ได้รับการยอมรับในการใช้รักษาระดับคอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ แกมมาโอรีซานอลถูกพิสูจน์แล้วว่า มีประสิทธิภาพในการรักษากลุ่มอาการของหญิงวัยหมดประจำเดือน เช่น อาการร้อนวูบวาบ และกลุ่มอาการชราภาพ มีรายงานฉบับหนึ่งพบว่าประมาณ 70 % ของคนไข้มีอาการของวัยหมดประจำเดือนลดลง แกมมาโอรีซานอลจะมีกลไกในการออกฤทธิ์ คือ ลดการหลั่งฮอร์โมนลูติไนซิ่งจากต่อมพิทูอิทาลี และเพิ่มการปลดปล่อยฮอร์โมนเอนโดฟินจากสมองส่วนไฮโปธาลามัส

การเกิดกรดในลำไส้

แกมมาโอรีซานอลถูกนำมาใช้ในการรักษาปัญหาโรคแผลในกระเพาะอาหาร โดยการออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทควบคุมการหลั่งกรด ที่เคยหลั่งกรดออกมามากก็ทำให้มีการหลั่งกรดน้อยลงในระบบย่อยอาหาร

การใช้ในด้านอื่นๆ

แกมมาโอรีซานอล มีผลต่อการทำงานของระบบประสาทส่วนกลาง (CNS) และระบบต่อมไร้ท่อ (endocrine system) มีการรายงานในเรื่องนี้เพียงเล็กน้อย ส่วนการศึกษาแกมมาโอรีซานอลในสัตว์ทดลอง พบว่า การหลั่งนอร์อีพิเนฟรีน (norepinephrine) เพิ่มขึ้น และการศึกษาแกมมาโอรีซานอลในคน พบว่า มีผลยับยั้งการหลั่งระบบฮอร์โมน คือ thyroid stimulating hormone ในคนไข้ที่เป็นโรคต่อมไทรอยด์ทำงานน้อย (hypothyroidism) มีผลโดยตรงต่อสมองส่วนไฮโปธาลามัส

การศึกษาแกมมาโอรีซานอลในผู้ฝึกออกกำลังกาย พบว่า ขนาดการกินที่เหมาะสมคือ 500 มิลลิกรัมต่อวัน การใช้แกมมาโอรีซานอลยังไม่มีข้อห้ามใช้อย่างเด่นชัด ส่วนการใช้ในหญิงตั้งครรภ์มีความปลอดภัยในการใช้ในระยะให้นมบุตรอาจทำให้น้ำนมหยุดไหลได้ แกมมาโอรีซานอลไม่ทำให้เกิดกลายพันธุ์ ไม่ทำให้เกิดการยับยั้งสายโครโมโซม ไม่ทำให้เกิดมะเร็ง [24]

1.2.6.2.6 ผลวิจัยยืนยันคุณค่าโอรีซานอล

จากการรวบรวมผลงานวิจัยทางด้านโภชนาการของโอรีซานอล พบว่า การบริโภคโอรีซานอลสามารถลดระดับโคเลสเตอรอลในเลือด ส่งเสริมการทำงานของหลอดเลือด ลดการจับตัวของเกล็ดเลือดและลดการสังเคราะห์โคเลสเตอรอลในตับ ปัจจุบันโอรีซานอลยังมีความสำคัญมากขึ้น ในการใช้เป็นยา อาหารเสริมสุขภาพ และเครื่องสำอาง นอกจากนั้น ยังช่วยปรับสมดุลของระดับฮอร์โมนในสตรีวัยทอง ลดอาการวูบวาบ (hot flashes) ป้องกันแสงยูวี ทำให้ผิวหนังชุ่มชื้น ใช้ต้านการอักเสบ และโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าวยังสามารถ เพิ่มระดับโคเลสเตอรอลชนิดดี (HDL-C)

ผศ.ดร. เรวดี จงสุวัฒน์ ภาควิชาโภชนวิทยา คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ให้ข้อมูลเกี่ยวกับการบริโภคอาหารเพื่อป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือดของคนไทยว่า การเปลี่ยนแปลงของเศรษฐกิจ สังคม วัฒนธรรม และความก้าวหน้าทางเทคโนโลยี ทำให้อาหารมีความหลากหลายและมีความสะดวกในการซื้อสูงขึ้น ซึ่งส่งผลให้แบบแผนการบริโภคอาหารของคนไทยเปลี่ยนแปลงไปมาก มีการบริโภคเนื้อสัตว์เพิ่มขึ้น ทำให้ได้รับกรดไขมันอิ่มตัวและคอเลสเตอรอลมากขึ้น รวมทั้งมีการบริโภคน้ำตาลและโซเดียมเพิ่มขึ้นด้วย

นอกจากนี้กิจกรรมประเภทที่ไม่ต้องเคลื่อนไหวก็มีสูงขึ้น ทั้งการนั่งดูโทรทัศน์ การใช้เครื่องคอมพิวเตอร์ การออกกำลังกายน้อยลง ปัจจัยต่างๆ เหล่านี้ เป็นสาเหตุทำให้อัตราความชุกของภาวะคอเลสเตอรอลในเลือดสูง ภาวะน้ำหนักเกิน โรคเบาหวาน และความดันโลหิตสูง เพิ่มสูงขึ้นเป็นลำดับพร้อมๆ กัน ซึ่งปัจจัยเสี่ยงเหล่านี้เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด

การบริโภคอาหารเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดปัจจัยเสี่ยงของโรคต่างๆ สำหรับปัญหาคอเลสเตอรอลสูง จะต้องระมัดระวังการรับประทานอาหารประเภทไขมันเป็นพิเศษ โดยลดกรดไขมันอิ่มตัว ทั้งในส่วนที่มองเห็นได้ในเนื้อสัตว์ เช่น มันหมู หนังเป็ด หนังไก่ ซึ่งยังอาจไม่เพียงพอ ควรเลี่ยงการบริโภคน้ำมันที่มีกรดไขมันอิ่มตัวสูงตัว ได้แก่ น้ำมันหมู น้ำมันมะพร้าว น้ำมันปาล์ม ควรจะแทนที่ด้วยน้ำมันที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวสูง ได้แก่ น้ำมันมะกอก น้ำมันรำข้าว เพราะกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว มีผลในการลดคอเลสเตอรอลที่ไม่ดี โดยไม่ลดคอเลสเตอรอลที่ดี

อย่างไรก็ตามกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว จะให้ประโยชน์ได้เต็มที่ในการป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือด ก็ต่อเมื่อมีการจำกัดปริมาณไขมันที่บริโภค การลดกรดไขมันอิ่มตัวในอาหารลง และการจำกัดปริมาณคอเลสเตอรอลในอาหารที่บริโภค

ด้าน รศ.นฤมล จียโชค รองคณบดีฝ่ายบริหาร คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี อธิบายเกี่ยวกับแกมมาโอรีซานอล ว่าเป็นสารธรรมชาติที่ถูกค้นพบครั้งแรกในน้ำมันรำข้าวเมื่อปี ค.ศ. 1954 โดยปริมาณโอรีซานอลที่ค้นพบในน้ำมันรำข้าวมีมากกว่าวิตามินอีประมาณ 20 เท่า ซึ่งน้ำมันรำข้าวเป็นแหล่งสำคัญที่พบโอรีซานอล

นอกจากนี้ ยังพบโอรีซานอลในธัญพืชอื่นๆ เช่น ข้าวโพด ข้าวสาลี ข้าวไรย์ ข้าวโอ๊ต ข้าวบาร์เล่ย์ และ Triticale อีกด้วย

สำหรับคุณสมบัติพิเศษของโอรีซานอลนั้น สามารถสรุปออกได้เป็น 4 ประการ ดังนี้

1. ทำหน้าที่เป็นสารแอนติออกซิแดนท์คล้ายกับวิตามินอี ในการลดปฏิกิริยาออกซิเดชันแต่แกมมาโอรีซานอลสามารถลดปฏิกิริยาออกซิเดชันของคอเลสเตอรอลได้สูงกว่าวิตามินอี จึงนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต่าง ๆ มากมาย
2. ลดการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลในตับ และลดการดูดซึมคอเลสเตอรอลของร่างกาย
3. ช่วยรักษาอาการของระบบประสาทที่ทำงานผิดปกติ และภาวะหลังหมดประจำเดือนที่แปรปรวนโดยคาดว่าน่าจะไปมีผลกับระบบฮอร์โมน
4. ช่วยส่งเสริมการสร้างกล้ามเนื้อ มักใช้กันมากในกลุ่มของนักกีฬา เนื่องจากมีผลต่อการปลดปล่อยสารเอนโดฟิน และการเพิ่มระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน เนื่องจากโอรีซานอลมีประโยชน์หลายประการ จึงถูกนำไปใช้อย่างแพร่หลายทั้งทางด้านอาหาร เครื่องสำอาง และทางการแพทย์ โดยยืนยันได้จากงานทดลองที่มีเป็นจำนวนมาก [23]

1.2.6.3 คุณสมบัติทางกายภาพของน้ำมันรำข้าวและองค์ประกอบทางเคมี

คุณสมบัติทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันรำข้าว [25] สามารถแสดงได้ดังตาราง 1.5

ตาราง 1.5 คุณสมบัติทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันรำข้าว [25]

คุณสมบัติทางกายภาพและเคมี	**ค่าที่วัดได้**
ค่ากรด	1.2
ค่าไอโอดีน	91.5
ค่าสปอนนิฟิเคชัน	211.8
กลุ่มสารที่สปอนนิฟายไม่ได้	4.2
องค์ประกอบของกรดไขมัน	**เปอร์เซ็นต์**
C14:0	0.6
C16:0	21.5
C18:0	2.9
C18:1	38.4
C18:2	34.4
C18:3	2.2

1.2.7 กระบวนการผลิตน้ำมันรำข้าว

กรรมวิธีในการผลิตน้ำมัน มี 2 ขั้นตอน [26] ดังนี้

1.2.7.1 การสกัดน้ำมัน (Oil extraction)

สกัดได้จากส่วนต่างๆ เช่น ผลและเมล็ดของพืช เช่น มะพร้าว ปาล์ม ข้าวโพด ถั่วลิสง รำข้าว เป็นต้น ปริมาณน้ำมันแต่ละชนิดมากน้อยแตกต่างกันไป

1. การบีบหรือใช้แรงอัด (Mechanical expression) การสกัดโดยวิธีธรรมชาติจะได้น้ำมันออกมาน้อย ยังคงมีน้ำมันเหลืออยู่ในกากอยู่มากในทางอุตสาหกรรมจึงมีการนำเอาตัวทำละลายมาช่วยในการสกัด เพื่อให้ได้น้ำมันออกมาให้ได้มากที่สุดส่วนใหญ่การใช้ตัวทำละลายจะสกัดได้มากกว่า 90 % ของปริมาณน้ำมันที่มีอยู่ในวัตถุดิบ

2. การสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent extraction) เป็นวิธีการแยกสารพื้นฐานและทำให้สารบริสุทธิ์โดยใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสม เป็นเทคนิคในการสกัดแยกสารเคมีวิธีหนึ่งโดย

อาศัยหลักของการกระจาย (distribution) ของตัวถูกทำละลายในตัวทำละลาย 2 ชนิด ที่ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน เมื่อตัวถูกละลายแพร่กระจายในตัวทำละลายทั้งสองจนถึงสมดุล อัตราส่วนของความเข้มข้นของตัวถูกละลายในตัวทำละลายทั้งสองจะมีค่าคงที่ โดยทั่วไปพบว่าในตัวทำละลายคู่หนึ่งๆ สารตัวหนึ่งจะละลายในตัวทำละลายทั้งสองชั้นนั้นเป็นอัตราส่วนคงที่ที่อุณหภูมิอันหนึ่ง อัตราส่วนนี้เรียกว่า สัมประสิทธิ์การกระจาย (distribution coefficient) ตัวย่อว่า K

สารอินทรีย์ที่เป็นของเหลวที่นำมาใช้เป็นตัวทำละลายสำหรับการสกัดนั้นควรมีคุณสมบัติดังนี้ [26]

1. ควรละลายสารที่ต้องการสกัดได้ดี
2. ไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกับสารละลายของผสมที่จะสกัด
3. ไม่ควรละลายสิ่งเจือปนหรือสารที่ไม่ต้องกรสกัด
4. ควรจะแยกจากสารที่สกัดได้ง่าย ภายหลังการสกัดแล้ว
5. ควรเป็นตัวทำละลายที่มีราคาถูก และไม่มีอันตราย

สารอินทรีย์ที่เป็นของเหลวที่นำมาใช้เป็นตัวทำละลายที่รู้จักกันดี ได้แก่ คลอโรฟอร์ม ($CHCl_3$) มีความถ่วงจำเพาะ 1.49 เป็นตัวทำละลายที่หนักกว่าน้ำ ใช้อย่างกว้างขวางสำหรับแยกสารประกอบอินทรีย์และสารประกอบเชิงซ้อน (complexes compounds) จากสารละลายที่มีน้ำเป็นตัวทำละลายได้ดีกว่าคาร์บอนเตตระคลอไรด์ (CCl_4) สำหรับเบนซิน (C_6H_6) มีความถ่วงจำเพาะ 0.88 และเอทิลอีเทอร์ ($C_2H_5OC_2H_5$) มีความถ่วงจำเพาะ 0.98 มีความหนาแน่นใกล้เคียงกับน้ำจึงถูกนำมาใช้กันอย่างกว้างขวาง (extensively) โดยเฉพาะสกัดพวก metal association complexes ได้ดีกว่าตัวทำละลายอินทรีย์อื่นๆ และบางครั้งอาจจะนำ tributyl phosphate TBP $(C_4H_9O)_3PO_4$) ผสมกับ C_6H_6 หรือ ketone เพื่อทำเป็นตัวทำละลายสำหรับสกัดสารและช่วยเพิ่ม selectivity สำหรับการสกัดเมื่อตัวถูกละลายละลายในตัวทำละลาย เช่น น้ำ นำมาเขย่ากับตัวทำละลายอีกชนิดหนึ่งที่ไม่ละลายซึ่งกันและกัน ก็จะเกิดการแข่งขัน (competition)ระหว่างตัวทำละลายทั้งสอง สำหรับตัวถูกละลายที่ต้องการทราบว่าตัวถูกละลายจะไปอยู่ในวัฏภาคใดมากกว่าก็ต้องอาศัยหลัก “like dissolve like”

Solid-liquid extractionเป็นเทคนิคการสกัดสารออกจากของแข็งโดยใช้ตัวสกัดเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ ที่สามารถละลายสารที่สนใจให้แยกออกจากของแข็ง โดยทั่วไปพบว่าในตัวทำละลายหนึ่ง สารตัวหนึ่งจะละลายในตัวทำละลายหนึ่งเป็นอัตราส่วนคงที่ที่อุณหภูมิหนึ่งเช่นเดียวกันกับการสกัดสารออกจากของเหลว อัตราส่วนของความเข้มข้นของสารที่กระจายอยู่ในของแข็งและตัวทำละลายอินทรีย์แต่ละชนิดจะเป็นค่าคงที่ที่เรียกว่า distribution coefficient

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยแม่โจ้

หรือ adsorption coefficient ตัวย่อว่า K ซึ่งหมายถึง ความเข้มข้นของตัวถูกละลายในตัวทำละลายอินทรีย์และในของแข็งในสภาวะสมดุล [27]

เขียนได้ดังสมการ

$$K = \frac{C_m}{A_s} = \text{Adsorption coefficient} \qquad (1.1)$$

$$K = \left[\frac{M_m}{V_m}\right]\left[\frac{g_s}{M_s}\right] \qquad (1.2)$$

โดยกำหนดให้

K	คือ	สัมประสิทธิ์การดูดซับ (Adsorption coefficient)
C_m	คือ	ความเข้มข้นของสารในชั้นของตัวทำละลาย
A_s	คือ	ปริมาณของสารที่กระจายอยู่ในชั้นของของแข็ง
M_m	คือ	ปริมาณของตัวถูกละลายในชั้นของตัวทำละลาย
M_s	คือ	ปริมาณของตัวถูกละลายในชั้นของของแข็ง
V_m	คือ	ปริมาตรของตัวทำละลาย
g_s	คือ	น้ำหนักของของแข็ง

การทราบค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (K) จะนำมาใช้ทำนายปริมาณสารที่มีอยู่ในของแข็งส่วนการศึกษาหาค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับทำได้โดยการศึกษาความเข้มข้นของตัวถูกละลายในชั้นตัวทำละลายอินทรีย์และในชั้นของของแข็ง แต่ในกรณีที่ไม่อาจหาปริมาณสารในชั้นของของแข็งได้ อาจนำวิธีแก้สมการทางคณิตศาสตร์มาประยุกต์ใช้ในแบบต่างๆ

ในกรณีที่สกัดสารตัวอย่าง 2 ชุด ด้วยปริมาตรเท่ากัน โดยให้ปริมาตรของตัวทำละลายในชุดที่ 2 เป็นสองเท่าของตัวทำละลายในชุดที่ 1 และทำการสกัดอย่างละ 1 ครั้ง

กำหนดให้

Y คือ ปริมาณสารทั้งหมดในของแข็ง (mg)

X_1 คือ ปริมาณตัวถูกละลายในวัฏภาคของตัวทำละลายที่สกัดได้ในชุดที่ 1 (mg)

X_2 คือ ปริมาณตัวถูกละลายในวัฏภาคของตัวทำละลายที่สกัดได้จากการใช้ปริมาตรของตัวทำละลาย เป็น 2 เท่าในการสกัดชุดที่ 2 (mg)

K คือ ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ

V คือ ปริมาตรของตัวทำละลายอินทรีย์ (mg)

จากสมการที่ (1.2)

$$K = \left[\frac{M_m}{V_m}\right]\left[\frac{g_s}{M_s}\right] \qquad (1.2)$$

การสกัดในชุดที่ 1

$$K_1 = \left[\frac{X_1}{V_1}\right]\left[\frac{1}{Y - X_1}\right] \qquad (1.3)$$

การสกัดในชุดที่ 2

$$K_2 = \left[\frac{X_2}{V_2}\right]\left[\frac{1}{Y - X_2}\right] \qquad (1.4)$$

แต่ $K_1 = K_2$

$$\left[\frac{X_1}{V_1(Y- X_1)}\right] = \left[\frac{X_2}{V_2(Y- X_2)}\right] \quad (1.5)$$

$$X_1V_2 (Y- X_2) = X_2V_1 (Y- X_1)$$

$$X_1V_2Y- X_1X_2V_2 = X_2V_1Y- X_2X_1V_1$$

$$X_1V_2Y- X_2V_1Y = X_1X_2V_2- X_1X_2V_1$$

จาก $V_2 = 2V_1$ $\quad Y_1(X_1V_2- X_2V_1) = X_1X_2(V_2- V_1)$

$$Y = \frac{X_1X_2(V_2- V_1)}{X_1V_2- X_2V_1} \quad (1.6)$$

$$Y = \frac{X_1X_2(2V_1- V_1)}{2X_1V_2- X_2V_1}$$

$$Y = \frac{X_1X_2(V_1)}{V_1(2X_1- X_2)}$$

$$Y = \frac{X_1X_2}{2X_1- X_2} \quad (1.7)$$

ดังนั้นเราสามารถหาปริมาณสารทั้งหมดในของแข็ง (Y) จากสมการ (1.7) ได้ และเมื่อแทนค่า Y ลงในสมการ (1.3) หรือ (1.4) จะได้ค่า K

ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของการสกัดไขมันและน้ำมัน [26] ได้แก่

1. ปริมาณของตัวทำละลาย ถ้าใช้ปริมาณตัวทำละลายในการสกัดมากจะทำให้สกัดน้ำมันออกมาได้มาก มีการสูญเสียตัวทำละลายที่ระเหยออกไปสูงขึ้นด้วย ดังนั้นตัวทำละลายที่ใช้ควรมีปริมาณที่เหมาะสม

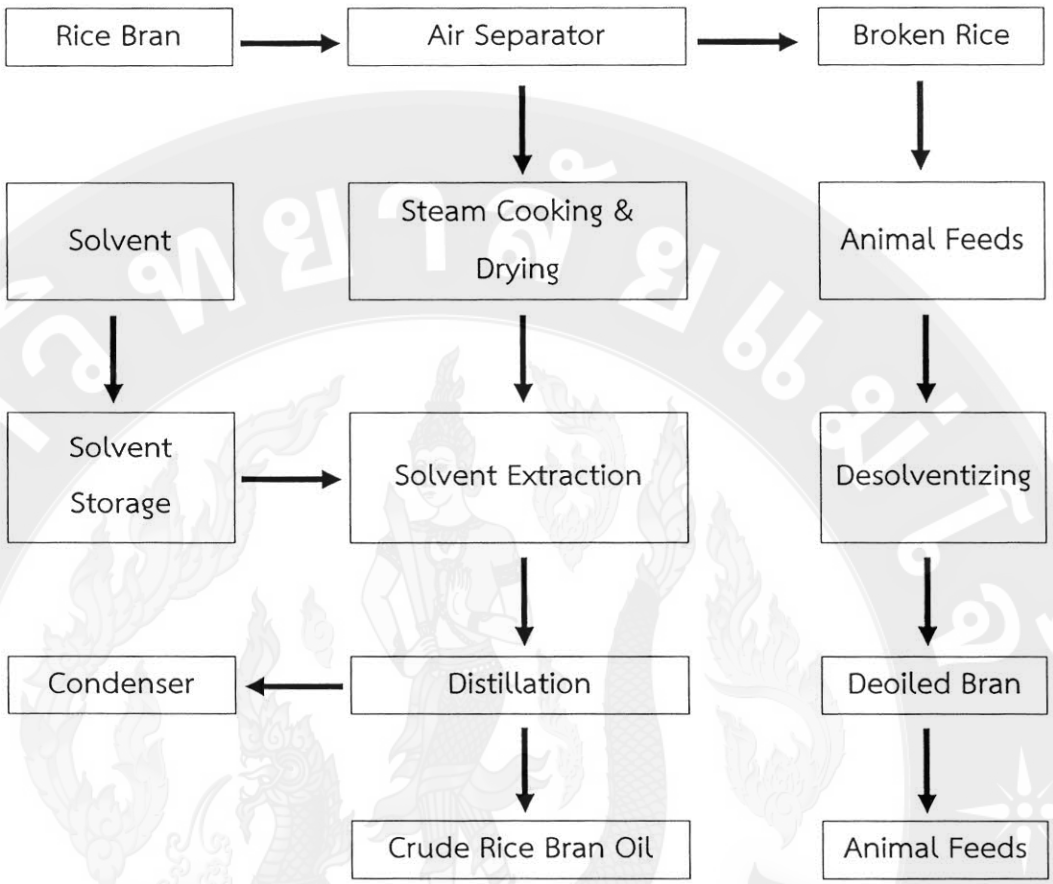
2. ชนิดของตัวทำละลาย มีตัวทำละลายหลายชนิดที่ใช้ในการสกัดน้ำมัน ตัวทำละลายแต่ละชนิดจะมีคุณสมบัติแตกต่างกันออกไป ต้องเลือกใช้ให้เหมาะสมกับชนิดของเมล็ดพืชและไม่เป็นพิษต่อร่างกาย

3. อุณหภูมิ การสกัดน้ำมัน ตัวทำละลายต้องมีอุณหภูมิสูงประมาณ 60 °C เพื่อช่วยทำให้น้ำมันละลายออกจากรำข้าวได้ง่าย

4. ความชื้นของวัตถุดิบที่นำมาสกัดน้ำมันไม่ควรมีความชื้นสูงเกิน 10 % และตัวทำละลายจะ ต้องไม่มีความชื้นปนอยู่เพราะจะทำให้สกัดน้ำมันออกมาได้ยาก

5. เวลาในการสกัด การสกัดน้ำมันด้วยตัวทำละลายต้องใช้เวลานานพอสมควรเพื่อให้ตัวทำละลายสามารถสกัดเอาน้ำมันออกมาให้ได้มากที่สุด โดยทั่วๆ ไปจะใช้เวลาประมาณ 1 -2 ชั่วโมง

แผนภาพกระบวนการสกัดน้ำมันรำข้าว รำข้าวดิบ (rice bran) หรือรำข้าวที่ถูกทำให้เสถียร (stabilized rice bran) ซึ่งผ่านขั้นตอนการทำความสะอาดแล้ว จะถูกส่งไปสกัดน้ำมันโดยกระบวนการสกัดด้วยตัวทำละลาย ตัวทำละลายที่นิยมใช้กันมากที่สุด คือ เฮกเซน (hexane) หรือปิโตรเลียมอีเทอร์ (petroleumether) ในการสกัดน้ำมันรำข้าวจะถูกแช่ในตัวทำละลาย ซึ่งน้ำมันจะถูกสกัดออกมาด้วยตัวทำละลาย แล้วจึงกรองแยกรำข้าวกับมิสเซลลาออกจากกัน หลังจากนั้นจะแยกตัวทำละลายออกจากส่วนผสมระหว่างตัวทำละลายกับน้ำมัน น้ำมันที่ได้จะถูกนำไปผ่านการรีฟายน์ ขั้นตอนการสกัดน้ำมันแสดงดังรูป 1.6



รูป 1.6 แผนภาพกระบวนการสกัดน้ำมันรำข้าว [26]

1.2.7.2 วิธีการทำน้ำมันให้บริสุทธิ์ (Refining oil)

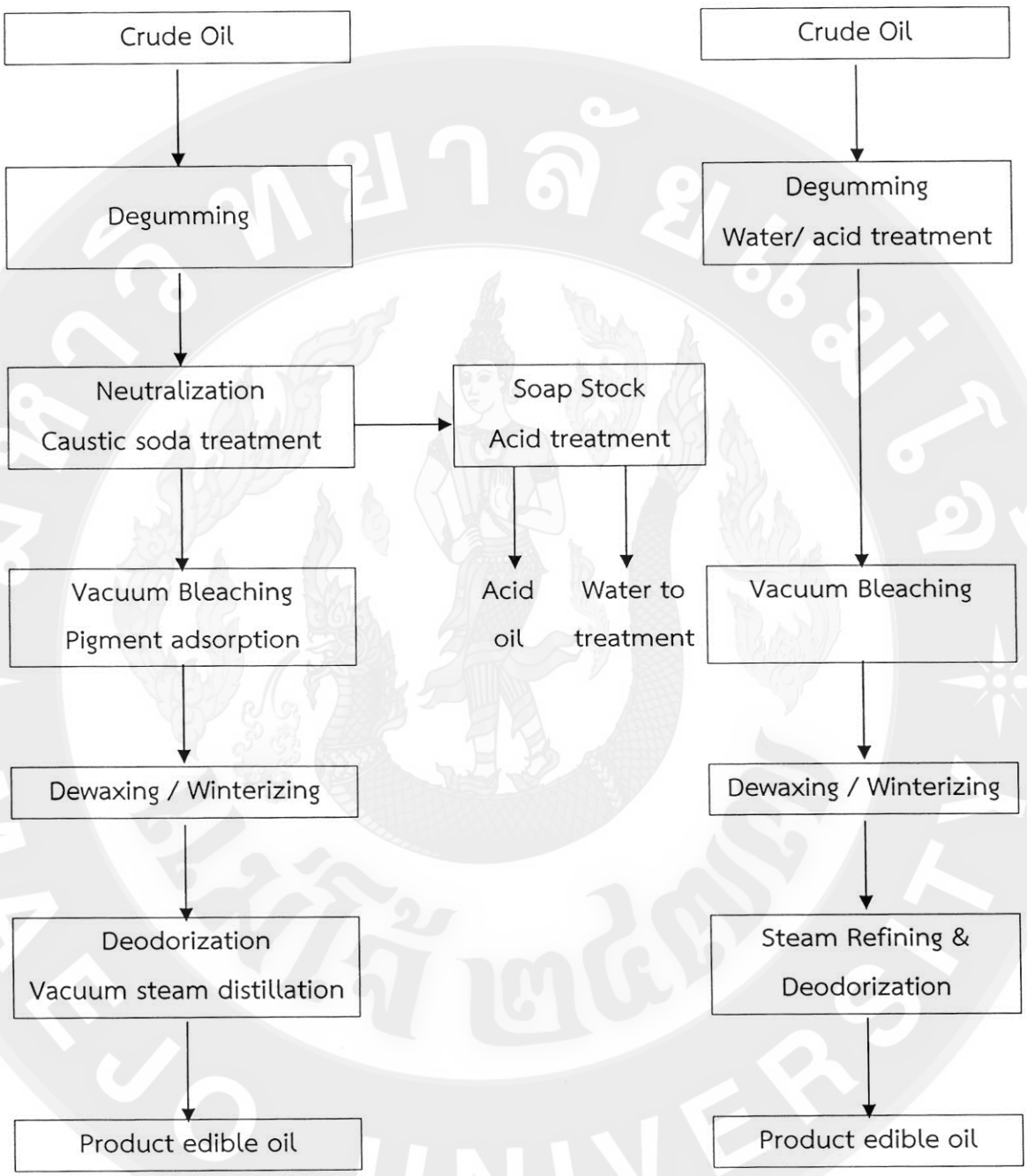
ไขมันและน้ำมันที่สกัดออกมาด้วยวิธีการใช้ตัวทำละลายจะมีสารประกอบชนิดอื่นละลายเจือปนออกมาด้วย ซึ่งสารต่างๆ เหล่านี้มีผลต่อ สี กลิ่น และรสชาติของไขมันและน้ำมัน สารเจือปนบางชนิดมีสมบัติคล้ายไขมัน ได้แก่ ฟอสโฟลิพิด สารประกอบเชิงซ้อนของไขมันและโปรตีน คาร์โบไฮเดรต กรดไขมันอิสระ สารสีต่างๆ ไขหรือแวกซ์ กลีเซอไรด์ที่จุดหลอมเหลวสูงและสารที่ให้กลิ่นต่างๆ เช่น แอลดีไฮด์ คีโตน และไฮโดรคาร์บอน

ในปัจจุบันการทำน้ำมันให้บริสุทธิ์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมแบ่งออกเป็น 2 วิธีการ คือ

1. การทำน้ำมันให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีทางเคมี (chemical refining)
2. การทำน้ำมันให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีทางกายภาพ (physical refining)

วิธีการทำให้น้ำมันบริสุทธิ์แบบดั้งเดิมเป็นวิธีทางเคมีซึ่งพบปัญหาหลักในกรณีที่มีน้ำมันดิบมีกรดไขมันปริมาณสูงจะทำให้เกิดการสูญเสียน้ำมันในการบวนการผลิต (refining loss) มากกว่าค่าจากการ

คำนวณ จากการศึกษาพบว่าขั้นตอนที่ทำให้เป็นกลาง (neutralization or alkali refining) ซึ่งมีการเติมด่างเพื่อทำปฏิกิริยากับกรดไขมันได้สบู่เป็นผลพลอยได้เป็นขั้นตอนสำคัญที่ทำให้เกิดการสูญเสียน้ำมัน ดังนั้นจึงมีการพัฒนาวิธีการทำน้ำมันให้บริสุทธิ์โดยตัดขั้นตอนทำให้เป็นกลางสำหรับกรดไขมันที่ต้องการกำจัดออกจะใช้วิธี steam distillation ในขั้นตอนขจัดกลิ่น (deodorization) ซึ่งปรับปรุงให้มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นเพื่อขจัดกรดไขมันที่หลงเหลืออยู่มาก วิธีใหม่ดังกล่าวเรียกว่าวิธีทางกายภาพ ขั้นตอนการผลิตเปรียบเทียบระหว่างวิธีทางเคมีและทางกายภาพ พบว่าแต่ละวิธีมีขั้นตอนต่างๆที่เหมือนกันและแตกต่างกัน [26] ดังรูป 1.7



รูป 1.7 แผนภาพแสดงขั้นตอนการผลิตน้ำมันให้บริสุทธิ์ทั้งทางเคมีและทางกายภาพ [26]

จากรูป 1.7 สามารถอธิบายในแต่ละขั้นตอนซึ่งมีวัตถุประสงค์และวิธีการดังนี้

<u>การขจัดกัม (Degumming)</u>

น้ำมันที่สกัดออกมาด้วยตัวทำละลายไม่ได้ประกอบด้วยไตรกลีเซอไรด์เพียงอย่างเดียวแต่จะมีสารประกอบอื่นๆ เช่น ฟอสโฟลิปิดซึ่งละลายได้ในน้ำปนอยู่ด้วย จะทำให้น้ำมันที่ได้มีลักษณะข้นหนืด (gummy) สารนี้มีอยู่ในน้ำมันประมาณ 0.03 – 3.0 % โดยในน้ำมันที่ดีจะต้องไม่มีสารประกอบอื่นที่ไม่ใช่ไตรกลีเซอไรด์ปนอยู่ ในกระบวนการทำน้ำมันให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีการทางเคมีและทางกายภาพ จะเริ่มจากขั้นตอนการขจัดกัมโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อขจัดสารประกอบพวกฟอสโฟลิปิด เหตุผลและความจำเป็นต้องขจัดฟอสโฟลิปิดออกจากน้ำมันเพราะ

1. หากปล่อยฟอสโฟลิปิดไว้ในน้ำมันนาน ฟอสโฟลิปิดจะดูดความชื้นจากอากาศและตกตะกอนแยกตัวออกจากน้ำมัน ทำให้มองดูไม่น่ารับประทาน

2. อายุการเก็บรักษาน้ำมันจะสั้นลง เกิดกลิ่นเหม็นหืนง่ายและสีคล้ำเร็ว ทั้งนี้เนื่องจากเกลือโลหะ เช่น Fe^{3+} ที่ปนเปื้อนมา และเกาะอยู่กับฟอสโฟลิปิดจะทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน

3. เพื่อนำฟอสโฟลิปิดไปใช้ประโยชน์ต่อวิธีการขจัดกัมหรือฟอสโฟลิปิดที่นิยมทั่วๆ ไปทำได้โดยการผสมน้ำมันกับกรดฟอสโฟริคเข้มข้นประมาณ 80 - 85 % ประมาณ 0.5 - 1 % ของน้ำมัน และน้ำ 2 - 3 % ของน้ำหนักน้ำมัน ต่อจากนั้นจึงทำการกวนและให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 $^{\circ}C$ เป็นเวลา 15 นาที นอกจากนั้นการขจัดกัมยังทำได้โดยเติมน้ำกับสารขจัดกัมชนิดอื่นๆ ลงไปในน้ำมัน ทำให้ฟอสโฟลิปิดดูดน้ำถึงระดับหนึ่งซึ่งไม่ละลายในน้ำมันแล้วแยกตัวและตกตะกอน

<u>การทำให้เป็นกลาง (Neutralization)</u>

Neutralization เป็นขั้นตอนหนึ่งที่สำคัญในกระบวนการทำให้น้ำมันบริสุทธิ์ด้วยวิธีทางเคมี ซึ่งกระบวนการนี้ยังใช้กันมาก และยังใช้กันอยู่ในปัจจุบัน แต่ถ้าเป็นกระบวนการทำให้น้ำมันบริสุทธิ์ด้วยวิธีการทางกายภาพขั้นตอนนี้จะถูกข้ามไปหรือไม่มี

กระบวนการนี้มีจุดประสงค์หลักเพื่อขจัดกรดไขมันอิสระที่ติดมากับน้ำมันออกไปโดยอาศัยปฏิกิริยาการทำให้เป็นกลาง ซึ่งกรดไขมันอิสระ ฟอสโฟลิปิด และรงควัตถุบางชนิดจะถูกกำจัดออกมาในรูปของสบู่ (soap stock) วิธีการเติมด่างลงไปเพื่อให้ไปทำปฏิกิริยากับกรดไขมันอิสระที่มีอยู่ในน้ำมันเป็นการอาศัยปฏิกิริยาในการทำสบู่ หรือการเกิดปฏิกิริยา saponification ดังสมการ

$$RCOOH + NaOH \xrightarrow{\triangle} RCOONa + H_2O$$

ด่างที่นิยมนำมาใช้ คือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ซึ่งกำจัดกรดไขมันอิสระได้ดีจนเหลือเพียง 0.01-0.03 % สบู่ที่เกิดขึ้นมานี้จะละลายน้ำได้ดี จึงแยกตัวออกจากน้ำมันเข้ามาอยู่ในชั้นน้ำ เนื่องจากสบู่เป็นสารอิมัลซิฟายเออร์ที่ดี ดังนั้นระหว่างปฏิกิริยาจะมีการให้ความร้อนแก่ระบบประมาณ75 °C เพื่อขจัดอีมัลชันที่เกิดขึ้นระยะเวลาที่ใช้ในปฏิกิริยาการทำให้เป็นกลางนี้แตกต่างกัน ขึ้นกับระบบของโรงงาน จากนั้นแยกน้ำมันออกจาก soap stock โดยใช้ระบบกะ (batch process) แยกด้วยแรงโน้มถ่วงของโลก ส่วนระบบต่อเนื่อง (continuous process) แยกโดยการปั่นเหวี่ยง (centrifuge) แล้วล้างน้ำมันด้วยความร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 90 °C เพื่อขจัดสบู่ที่อยู่เหลือในน้ำมัน น้ำมันที่ได้จะถูกส่งเข้าขั้นตอนการฟอกสี และการขจัดกลิ่นต่อไป สำหรับ soap stock ที่ได้มักนำไปขายให้กับโรงงานทำสบู่ แต่บางครั้งก็นำไปทำปฏิกิริยากับกรดซัลฟูริคให้กลายเป็นกรดไขมันอิสระ เรียกกระบวนการนี้ว่า acidulation

ในการทำให้เป็นกลางด้วยด่างมีตัวแปรหลายอย่างที่ต้องคำนึงถึงที่สำคัญ คือ ชนิดและความเข้มข้นของด่าง อุณหภูมิ และวิธีขจัดสิ่งเจือปนที่แยกออกมา ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มักใช้อยู่ในช่วง 7 – 30 % (น้ำหนัก/ปริมาณ) โดยในกรณีของน้ำมันที่มีปริมาณกรดไขมันอิสระต่ำควรใช้สารละลายเจือจาง (7-12 %) ส่วนสารละลายเข้มข้นจะใช้เฉพาะกับน้ำมันที่มีกรดไขมันอิสระสูงๆ

<u>การฟอกสี (Bleaching)</u>

เป็นกระบวนการที่ใช้แยกสารประกอบที่เป็นสารสีต่างๆ และนำสารที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งปนเปื้อนอยู่ในน้ำมันออกไป หรือทำให้มีปริมาณลดน้อยลง สารสีเหล่านี้ได้แก่ คลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ ขั้นตอนนี้จะทำหลังจากการขจัดกัมออกไปบางส่วนแล้ว การดูดซับสีโดยใช้สารดูดซับซึ่งอาจจะเป็น bleaching clay, activated clay หรือ activated carbon การแยกเอาสารประกอบที่เป็นสารสีออกไปจะช่วยทำให้น้ำมันมีสีจางลง นอกจากนี้ยังช่วยลดปริมาณโลหะหนัก สบู่ สารประกอบเปอร์ออกไซด์ และ phosphatides ที่เหลือจากขั้นตอนการขจัดกัมได้อีกด้วย

<u>การกำจัดกลิ่น (Deodorization)</u>

เป็นกระบวนการซึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อขจัดสารที่ระเหยได้ง่ายออกจากน้ำมันพืช สารประกอบที่ถูกกำจัดไปจะเป็นพวกสารระเหยได้ เช่น กรดไขมันอิสระ แอลดีไฮด์ คีโตน เปอร์ออกไซด์ รวมทั้งพวกสเตอรอล แวกซ์ โมโนกลีเซอไรด์ สารสีบางชนิด และสารประกอบที่ได้จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกกรดไขมัน สารที่ให้กลิ่นเหล่านี้จะมีอยู่ในน้ำมัน ประมาณ 0.2 - 0.5 % น้ำมันที่ผ่านกระบวนการนี้แล้วไม่ควรมีสารเหล่านี้เหลืออยู่เกิน 1 % ของเดิมที่มีอยู่ กระบวนการที่เกิดขึ้นนี้เป็นการใช้ไอน้ำภายใต้สุญญากาศ อุณหภูมิสูง เพื่อช่วยพากลิ่นต่างๆ ออกจากน้ำมันได้เร็วยิ่งขึ้น

อย่างไรก็ตามการเพิ่มอุณหภูมิในการขจัดกลิ่นจะมีขีดจำกัดที่น้ำมันจะถูกออกซิไดด์ และให้สารที่มีกลิ่นอื่นๆ ออกมาอีก การขจัดกลิ่นจึงมักกระทำในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน การขจัดกลิ่นจะช่วยให้น้ำมันปราศจากกลิ่น อายุการเก็บรักษายาวนานขึ้นในบางครั้งสีของน้ำมันจะจางลง อันเนื่องมาจากสีจากสิ่งเจือปนต่างๆ ถูกทำลาย เช่น สารจำพวก carotenoids เป็นต้น

ส่วนการทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีการทางกายภาพในกระบวนการขจัดกลิ่นนี้จะมีการทำ steam refining ไปด้วยพร้อมกัน โดยการใช้ไอน้ำผ่านเข้าไปในน้ำมันร้อนภายใต้สุญญากาศกรดไขมันอิสระจะระเหยออกไปพร้อมกับสิ่งเจือปนที่ระเหยง่าย วิธีทางกายภาพนี้มักใช้กับน้ำมันที่มีกรดไขมันอิสระสูงแม้วิธีทางกายภาพจะมีข้อดีมากกว่าวิธีทางเคมี แต่ก็พบข้อเสียในด้านการใช้พลังงานอย่างสิ้นเปลือง

<u>การขจัดไข (Dewaxing)</u>

เป็นกระบวนการทำให้น้ำมันมีอุณหภูมิลดต่ำลงและเกิดการแข็งตัวตกผลึกแยกออกมา (fractional crystallization) เป็นขั้นตอนที่เพิ่มขึ้นมาสำหรับกระบวนการผลิตน้ำมันบางชนิดที่มีปริมาณไขและไขมันอิ่มตัวปริมาณสูง เช่น น้ำมันรำข้าว และน้ำมันข้าวโพด โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อขจัดไขซึ่งเป็นสารประกอบเอสเทอร์ของ long chain acid และ long chain fatty alcohol มีจุดหลอมเหลวค่อนข้างสูงและละลายได้ในน้ำมันต่ำ พวกข้าวโพด linseed และรำข้าว จะมีไขติดปนมาด้วยเสมอเมื่ออุณหภูมิต่ำลงไขจะแยกตัวทำให้มีลักษณะขุ่น ไขที่ติดปนมาอาจมีปริมาณสูงถึง 2,000 ppm ดังนั้นถ้าต้องการให้น้ำมันมีความอยู่ตัวที่อุณหภูมิต่ำจะต้องกำจัดไข ให้ได้ต่ำกว่า 10 ppm

วิธีการขจัดไขโดยทั่วไปจะทำหลังจากการฟอกสีหรือขจัดกลิ่น โดยการแช่น้ำมันให้เย็นลงอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 6 – 8 °C นาน 4 – 6 ชั่วโมง เป็นอย่างน้อยและปล่อยให้ไขตกผลึกซึ่งการลดอุณหภูมิต้องค่อยๆ ลดเพื่อให้เกิดผลึกที่มีขนาดใหญ่จะได้สะดวกแก่การกรอง

ผลของกระบวนการต่างๆ ทำให้น้ำมันบริสุทธิ์ต่อการเปลี่ยนแปลงส่วนประกอบในน้ำมันแสดงดังตาราง 1.6

ตาราง 1.6 ผลจากกระบวนการทำน้ำมันให้บริสุทธิ์ต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบในน้ำมัน [26]

กระบวนการ	การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น	ส่วนประกอบที่ถูกกำจัดและลดลง
การขจัดกัม		- สารประกอบที่ละลายได้ในน้ำ เช่น ฟอสโฟลิปิด และคลอโรฟิลล์บางส่วนถ้าใช้กรดฟอสฟอริก
การทำให้เป็นกลาง		- กรดไขมันอิสระและฟอสโฟลิปิดที่ยังเหลืออยู่ถูกกำจัด สารสีเหลืองรงควัตถุมีปริมาณลดลง
การฟอกสี	- เกิด conjugated acid	- แคโรทีนอยด์และคลอโรฟีลล์ถูกกำจัด เพอร์ออกไซด์ถูกทำลาย - กอสสิพอลถูกกำจัด - toxic agents เช่น polycyclic aromatic hydrocarbon ถูกกำจัดออก
การขจัดกลิ่น	- เกิด geometrical isomers - เกิด linear และ cyclic dimer / polymers	- กรดไขมันอิสระและ decomposition product ถูกกำจัด - สเตอรอล สเตอรอลเอสเทอร์และวิตามินอีถูกกำจัด - สารพิษตกค้างและสารพิษจากเชื้อราถูกกำจัดออก
การขจัดไข	- ไตรเอซิลกลีเซอรอลที่มีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบมากขึ้น	- ไตรเอซิลกลีเซอรอลที่มีจุดหลอมเหลวสูงถูกกำจัดออก

1.2.8 การวิเคราะห์คุณภาพน้ำมัน [28]

1.2.8.1 ค่าไอโอดีน (Iodine number (I.N.) หรือ Iodine value (I.V.))

ค่าไอโอดีน คือ จำนวนกรัมของไอโอดีน ที่เข้าไปทำปฏิกิริยากับพันธะคู่ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่เป็นส่วนประกอบในโมเลกุลของไขมัน หรือน้ำมัน 100 กรัม

ค่า I.V. เป็นตัวชี้บ่งว่าไขมันหรือน้ำมัน มีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเป็นส่วนประกอบอยู่ในโมเลกุลมากน้อยเพียงใด ถ้าค่า I.V. สูงแสดงว่ามีปริมาณกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเป็นส่วนประกอบมาก และจะเกิดการหืนชนิดที่เกิดจากการมีออกซิเจนในปฏิกิริยาได้ง่ายด้วย

น้ำมันพืชที่มีค่า I.V. สูงซึ่งแสดงว่ามีปริมาณไขมันชนิดไม่อิ่มตัวอยู่เป็นปริมาณมากนั้น ยังเป็นตัวชี้บ่งคุณค่าทางโภชนาการของไขมัน หรือน้ำมันชนิดนั้น ๆ ด้วยน้ำมันที่มีค่า I.V. สูงจะมีคุณค่าทางโภชนาการสูง เนื่องจากมีปริมาณของกรดไขมันจำเป็น ซึ่งเป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวมากด้วย

การหาค่า I.V. มี 2 วิธี คือ ใช้สารละลายของวิจ (wij solution) ซึ่งเป็นสารละลายไอโอดีนละลายอยู่ในกรดอะซิติค และมีไอโอดีนโมในคลอไรด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ส่วนอีกวิธีหนึ่งใช้สารละลายฮาสัส (Hanus reagent) เป็นสารละลายไอโอดีนละลายอยู่ในกรดอะซิติคและมีไอโอดีนโมโนโปรไมด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา การทำปฏิกิริยาต้องเติมสารละลายไอโอดีนให้มากเกินพอ ปริมาณไอโอดีนที่เหลือหาได้ โดยการไตเตรทด้วยสารละลายโซเดียมไธโอซัสเฟตมาตรฐาน โดยใช้น้ำแป้งเป็นอินดิเคเตอร์ ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็น ดังนี้

$$R\text{-}HC{=}CH\text{-}(CH_2)\text{-}COOH + ICl \longrightarrow R\text{-}CHI\text{-}CHCl\text{-}(CH_2)\text{-}COOH + ICl$$

$$ICl + KI \longrightarrow KCl + I_2$$

$$I_2 + 2Na_2S_2O_3 \longrightarrow 2NaI + Na_2S_4O_6$$

1.2.8.2 ค่าเพอร์ออกไซด์ (Peroxide value; P.V.) [28]

ค่าเพอร์ออกไซด์ (Peroxide value ; P.V.) เป็นค่าที่ใช้การวัดอัตราการเกิดปฏิกริยา lipid oxidation ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดกลิ่นหืน (rancidity) เป็นค่าที่บอกการเสื่อมเสียของน้ำมันและไขมัน รวมทั้งอาหารที่มีไขมันสูง เช่น อาหารทอด

Peroxide value คือ ปริมาณออกไซด์ที่มีอยู่ในน้ำมันและไขมัน หมายถึง จำนวนมิลลิลิตรของสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต ความเข้มข้น 0.002 นอร์มัล ที่ใช้ในการไตเดรตไขมัน หรือน้ำมัน 1 กรัม หรือหมายถึง จำนวนมิลลิกรัมสมบูรณ์ของ เพอร์ออกไซด์ออกซิเจนที่มีในไขมัน หรือน้ำมัน 1 กิโลกรัม ถ้าค่า Peroxide value สูง แสดงว่าไขมันหรือน้ำมันเกิด lipid oxidation มากมีกลิ่นเหม็นหืน

$$ROOH(peroxide) + KI \longrightarrow KOH + I_2 + ROH$$

$$I_2 + 2Na_2S_2O_3 + \text{น้ำแป้ง (สีฟ้า)} \longrightarrow Na_2S_4O_6 + 2NaI + \text{น้ำแป้ง (ไม่มีสี)}$$

1.2.9 มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำมันรำข้าวสำหรับบริโภค

น้ำมันที่สกัดได้โดยเฉพาะน้ำมันที่สกัดได้จากตัวทำละลาย มักมีสารประกอบชนิดอื่นเจือปนมาด้วย เช่น สารที่มีคุณสมบัติเหมือนไขมัน ได้แก่ ฟอสโฟลิปิด สารประกอบเชิงซ้อนของไขมันและโปรตีน (fat – protein complex) คาร์โบไฮเดรต กรดไขมันอิสระ รงควัตุต่างๆ แวกซ์ กลีเซอร์ไรด์ที่มีจุดหลวมเหลวสูง และสารที่มีกลิ่นต่างๆ เช่น แอลดีไฮด์ คีโตน และไฮโดรคาร์บอน เป็นต้น สิ่งเหล่านี้จำเป็นต้องกำจัดออกเพื่อให้น้ำมันบริสุทธิ์และใช้บริโภคได้ตามมาตราฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำมันรำข้าวสำหรับบริโภคได้กำหนดคุณลักษณะที่ต้องการของน้ำมันรำข้าวสำหรับบริโภค [28] ดังตาราง 1.7

ตาราง 1.7 คุณลักษณะที่ต้องการของน้ำมันรำข้าวสำหรับบริโภค [28]

รายการ	คุณลักษณะ	เกณฑ์ที่กำหนด
1	น้ำและสิ่งที่ระเหยได้ (water and volatile matter) ร้อยละโดยน้ำหนัก	ไม่เกิน 0.2
2	สารที่ไม่ละลายในน้ำมัน (insoluble impurities)ร้อยละโดยน้ำหนัก	ไม่เกิน 0.05
3	ปริมาณสบู่ (soap content) ร้อยละโดยน้ำหนัก	ไม่เกิน 0.005
4	สี (colour) ใช้โลวิบอนสเกล 1 นิ้วคิดเป็น Y+5R	ไม่เกิน 20
5	ดัชนีหักเห (refractive index)	1.460 ถึง 1.470
6	ความถ่วงจำเพาะ (specific gravity)	0.910 ถึง 0.920
7	ค่าสปอนนิฟิเคชั่น (saponification value) มิลลิกรัมโปตัสเซียมไฮดรอกไซด์ต่อหนึ่งกรัมน้ำมัน	180 ถึง 195
8	สารที่สปอนนิฟายไม่ได้ (unsaponifiable matter) ร้อยละโดยน้ำหนัก	ไม่เกิน 3.0
9	ค่าของกรด (acid value) มิลลิกรัมโปตัสเซียมไฮดรอกไซด์ต่อหนึ่งกรัมน้ำมัน	ไม่เกิน 0.6
10	ค่าไอโอดีนส์ แบบวิจส์ (iodine value Wijs)	92 ถึง 115
11	ไตเตอร์ (titre) องศาเซลเซียส	26 ถึง 32
12	ค่าเปอร์ออกไซด์ (peroxide value) มิลลิกรัมสมมูลย์ต่อหนึ่งกิโลกรัมน้ำมัน	ไม่เกิน 10
13	เหล็ก มิลลิกรัมต่อหนึ่งกิโลกรัมน้ำมัน	ไม่เกิน 2.5
14	สารหนู มิลลิกรัมต่อหนึ่งกิโลกรัมน้ำมัน	ไม่เกิน 0.1
15	ทองแดง มิลลิกรัมต่อหนึ่งกิโลกรัมน้ำมัน	ไม่เกิน 0.1
16	ตะกั่ว มิลลิกรัมต่อหนึ่งกิโลกรัมน้ำมัน	ไม่เกิน 0.1

1.2.10 ทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (Thin-layer chromatography หรือ TLC) [29]

Thin-layer chromatography (TLC) เป็นเทคนิคที่เกี่ยวข้องกับการกระจายของสารระหว่างภาคนิ่งซึ่งเป็นตัวดูดซับที่เคลือบอยู่บนแผ่นแก้วหรือแผ่นพลาสติกแข็งและตัวทำละลาย ซึ่งเป็นภาคเคลื่อนที่ที่เคลื่อนผ่านตัวดูดซับ TLC จึงจัดเป็น solid - liquid adsorption chromatography เช่นเดียวกับคอลัมน์โครมาโทกราฟี แต่เดิม TLC ใช้วิเคราะห์เชิงคุณภาพ สำหรับสารประกอบอินทรีย์ที่มีปริมาณน้อยเพื่อหาจำนวนสารที่อยู่ในสารผสมและใช้พิสูจน์สาร โดยเปรียบเทียบ Rf ของสารกับสารแท้ (authentic sample) TLC ยังใช้สำหรับหาตัวทำละลายที่เหมาะสมเพื่อนำไปใช้ในการแยกสารผสมที่มีปริมาณมากโดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (Thin-layer chromatography หรือ TLC)

TLC เป็นแผ่นแก้วหรือแผ่นพลาสติกแข็ง เคลือบด้วยตัวดูดซับเป็นชั้นบางๆ (หนาขนาด 0.25-0.3 มม.) ตัวดูดซับที่ใช้กับ TLC มีขนาด อนุภาคเล็กกว่าที่ใช้ในคอลัมน์โครมาโทกราฟี ชนิดของตัวดูดซับที่ใช้ก็เช่นเดียวกับที่ใช้กับคอลัมน์โครมาโทกราฟี ได้แก่ ซิลิกาเจล อะลูมินา คิเซลกัวร์ (kieselguhr) และผงเซลลูโลส เป็นต้น ตัวดูดซับเหล่านี้มักมีสารเรืองแสงผสมอยู่เพื่อใช้ตรวจสอบตำแหน่งของสารโดยมองภายใต้แสง UV

วิธีการของ TLC แบ่งเป็นขั้นตอนดังนี้

1. การเตรียมแผ่น TLC
2. การจุดสารตัวอย่างบนแผ่น TLC
3. การพัฒนาให้เกิดการแยกสารบนแผ่น TLC (Developement of TLC plate)
4. การตรวจหาจุดบนแผ่น TLC (Visualization)
5. การคำนวณหาค่า Rf

การเตรียมแผ่นTLC

นำตัวดูดซับมาผสมกับน้ำทำเป็นสเลอร์รี่ (slurry) สัดส่วนของตัวดูดซับกับตัวทำละลาย ทำตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิต นำสเลอร์รี่ที่ผสมกันดีแล้วมาเคลือบเป็นชั้นบางๆบนแผ่นแก้วหรือแผ่นพลาสติกที่สะอาดและแห้ง ตัวดูดซับมักมีตัวยึด (binder) เช่น calcium sulfate (Plaster of Paris) หรือแป้งผสมอยู่เล็กน้อยเพื่อให้ตัวดูดซับยึดกับแผ่นแก้วหรือพลาสติก แผ่น TLC อาจเตรียมในห้องปฏิบัติการก่อนใช้หรือซื้อแผ่น TLC ที่ผลิตสำเร็จรูปมาใช้

การจุดสารตัวอย่างบนแผ่น TLC

ใช้หลอดแคปิลลารี (capillary) ขนาดเล็กมาดูดสารละลายของสารตัวอย่าง แล้วจุดบนแผ่น TLC ควรจุดให้ห่างจากขอบล่างประมาณ 1.5 ซม. เส้นผ่าศูนย์กลางของจุดไม่ควรเกิน กว่า 2 มม. รอให้ตัวทำละลายระเหยจนแห้งก่อนทำขั้นตอนต่อไป

Development ของ แผ่น TLC (Development of TLC plate)

นำแผ่น TLC ที่จุดสารตัวอย่างแล้วมาวางในภาชนะแก้วที่บรรจุตัวทำละลายที่เหมาะสมโดยให้ตำแหน่งจุดอยู่เหนือตัวทำละลาย ภายในภาชนะแก้วควรใส่กระดาษกรอง และปิดฝาภาชนะให้สนิท เพื่อให้ภายในภาชนะอิ่มตัวด้วยไอของตัวทำละลาย ซึ่งจะทำให้ตัวทำ ละลายเคลื่อนขึ้นด้านบนได้เร็วขึ้น เมื่อตัวทำละลายเคลื่อนขึ้นไปจนเกือบถึงขอบบน ให้นำแผ่น TLC ออกพร้อมกับขีดแนวของตัวทำละลาย (solvent front) ก่อนที่ตัวทำละลายจะแห้ง ระยะที่ ตัวทำละลายเคลื่อนที่มีส่วนสำคัญต่อการคำนวณค่า Rf

การตรวจหาจุดบนแผ่น TLC (Visualization)

การตรวจหาตำแหน่งของจุดบนแผ่น TLC จะง่ายมากถ้าเป็นสารประกอบที่มีสี แต่ถ้าเป็นสารประกอบที่ไม่มีสี มีวิธีการตรวจหาได้หลายวิธีดังนี้

1. มองแผ่น TLC ภายใต้แสง UV ในที่มืด สารประกอบที่เกิดฟลูออเรสเซนส์ จะเกิดความสว่าง มากภายใต้แสง UV เครื่องที่ให้กำเนิดแสง UV เรียกว่า Ultraviolet lamp ตัวดูดซับมักมีสารเรืองแสงซึ่งเป็นสารผสมของ cadmium sulfide และ zinc sulfide ปนอยู่ ดังนั้นเราจะสังเกต เห็นแสงสีเขียวสว่างทั่วแผ่น TLC ภายใต้แสง UV ในที่มืด ถ้าสารตัวอย่างดูดกลืนแสง UV แสง UV ตรงตำแหน่งที่สารอยู่จะถูกดูดกลืน ทำให้ตำแหน่งดังกล่าวมืดลงและเห็นเป็นจุดมืด ถ้าสารตัวอย่างเป็นสารเรืองแสงและเรืองแสงเป็นสีอื่นที่ไม่ใช่สีเขียว ก็ช่วยให้สังเกตง่ายขึ้น

2. นำแผ่น TLC มาใส่ในภาชนะที่มีผลึกของไอโอดินอยู่ ถ้าทิ้งแผ่น TLC ไว้ จะเห็นจุดสีน้ำตาลเกิดบนแผ่นTLC จุดสีน้ำตาลเกิดจากสารประกอบอินทรีย์ (ยกเว้น alkanes และ alkyl halides) เกิดโมเลกุลเชิงซ้อนกับไอโอดิน

3. ฉีดพ่นแผ่น TLC ด้วยสารเคมี เช่น กรดซัลฟุริกเข้มข้น, กรด $H_2SO_4 + HNO_2$, $H_2SO_4 + Na_2Cr_2O_7$ หรือ $H_2SO_4 + K_2Cr_2O_7$ เมื่อฉีดแล้วให้ความร้อนกับแผ่น TLC ที่ 100 ^{0}C เป็น เวลา 2-3 นาที จะเห็นจุดดำบริเวณที่มีสารตัวอย่างอยู่

4. การตรวจสอบกรดอะมิโน ให้ฉีดพ่นด้วยสารละลายนินไฮดริน (ninhydrine) จะเห็นเป็นจุดสี ม่วงปรากฏตรงบริเวณที่มีกรดอะมิโนอยู่

5. การตรวจสอบ alkyl halides ให้ฉีดพ่นสารละลายเงือจางของ silver nitrate บนแผ่น

TLC จะเกิด silver halides Silver halides จะสลายตัวเมื่อถูกแสง ทำให้เกิดจุดดำ (เป็น Ag อิสระ) บนแผ่น TLC

การคำนวณหาค่า Rf

ค่า Rf เป็นค่าประจำตัวของสารประกอบภายใต้สภาวะต่างๆ (ตัวดูดซับ ตัวทำละลาย และความหนาของชั้นตัวดูดซับ) ที่กำหนด ค่านี้แปรเปลี่ยนได้ถ้าสภาวะในการทดลองเปลี่ยน

ค่า Rf ถูกนิยามไว้ดังนี้ :

$$Rf = \frac{\text{ระยะที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่}}{\text{ระยะที่สารตัวอย่างเคลื่อนที่}}$$

การเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกสารผสมโดยใช้แผ่น TLC

ตัวทำละลายที่เหมาะสมที่จะใช้เป็นภาคเคลื่อนที่ อาจเป็นตัวทำละลายเดี่ยวหรือเป็นตัวทำละลายผสม การหาตัวทำละลายที่เหมาะสมควรทำอย่างมีระบบดังนี้ จุดสารตัวอย่างที่เป็นสารผสมลงบนแผ่น TLC หลายๆ แผ่น เลือกตัวทำละลายหลายๆ ระบบ เช่น ปิโตรเลียมอีเทอร์ เบนซีน อีเทอร์ และเมทานอล ตามลำดับ (ตัวทำละลายเรียงลำดับจากสภาพขั้วต่ำไปยังสภาพขั้วสูง) แล้ววางแผ่น TLC ที่จุดสารตัวอย่างแล้วลงในตัวทำละลายแต่ละชนิดๆ ละ 1 แผ่น หาค่า Rf ของแต่ละแผ่นในตัวทำละลายที่ต่างกัน เลือกตัวทำละลายที่สามารถให้ผลการแยกที่ชัดเจน

ประโยชน์ของ TLC

1. ใช้ในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (qualitative analysis) โดยการเปรียบเทียบค่า Rf ของสารตัวอย่างกับสารแท้ (authentic sample) เพื่อพิสูจน์ว่าเป็นสารตัวเดียวกันในงานวิจัยเกี่ยวกับการสังเคราะห์สาร ถ้าต้องการพิสูจน์ว่า ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาเป็นสารที่ต้อง การหรือไม่ ให้หาสารตัวเดียวกันนี้ที่ได้จากปฏิกิริยาอื่นมาจุดบนแผ่น TLC เทียบกับสารที่เกิดจากปฏิกิริยาก็จะทราบว่าปฏิกิริยาที่วางแผนไว้ได้ผลตามที่ต้องการหรือไม่ เป็นวิธีตรวจสอบผลขั้นต้นที่รวดเร็วกว่าวิธีอื่น

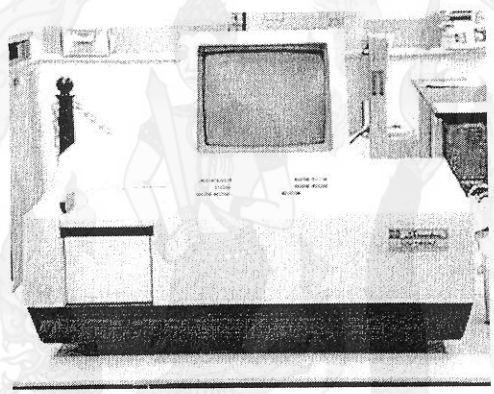
2. ใช้ตรวจสอบความก้าวหน้าของปฏิกิริยาโดยหาค่า Rf ของสารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์ เมื่อเวลาผ่านไปสารตั้งต้นย่อมมีปริมาณน้อยลง ส่วนผลิตภัณฑ์ย่อมมีมากขึ้น เราสามารถใช้ TLC ตรวจสอบระยะเวลาที่ปฏิกิริยาเกิดจนเสร็จสิ้นสมบูรณ์

3. ใช้ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสารตัวอย่าง สารตัวอย่างที่บริสุทธิ์ย่อมให้จุดเพียงจุดเดียวบนแผ่น TLC ในทุกระบบตัวทำละลาย

4. ใช้หาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกสารผสมโดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี

1.2.11 เครื่องยูวี – วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

เครื่องยูวี – วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ แสดงดังรูป 1.8 เป็นเทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารอินทรีย์ ในปัจจุบันเทคนิคนี้นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายและได้กลายเป็นเครื่องมือวิเคราะห์ที่มีความสำคัญที่ใช้ในปัจจุบัน เทคนิคนี้เป็นเทคนิคที่ง่าย ประยุกต์ใช้ได้กว้าง มีความรวดเร็ว และความแม่นยำสูง อีกทั้งเป็นเทคนิคที่มีค่าใช้จ่ายไม่สูงอีกด้วย เทคนิคนี้เลือกใช้แสงในช่วง Ultraviolet (UV; ความยาวคลื่น 100 - 380 nm) และช่วง Visible (ความยาวคลื่น 380-700 nm) ของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้ามาใช้ในการวิเคราะห์ [30]



รูป 1.8 เครื่องยูวี – วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

ส่วนประกอบหลักของเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ [31] มีอยู่ 5 ส่วนด้วยกันดังนี้

1. แหล่งกำเนิดแสง (light source)
2. ส่วนเลือกความยาวคลื่น (wavelength selector)
3. ภาชนะใส่สาร (cell หรือ cuvette)
4. ตัวตรวจจับสัญญาณ (detector)
5. ส่วนบันทึกและแปรผลสัญญาณ (recorder and processor)

1. แหล่งกำเนิดแสง (Light source) [31]

แหล่งกำเนิดแสงในเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์จะต้องให้รังสีในช่วงความยาวคลื่นที่ต้องการอย่างต่อเนื่องและคงที่ตลอดเวลา รวมทั้งมีความเข้มแสงที่มากพอด้วยสำหรับความยาวคลื่นในช่วงอัลตราไวโอเลตจะใช้หลอดดิวเทอเรียม (deuterium lamp) เป็นแหล่งกำเนิดแสง ซึ่งให้แสงในช่วง 185-375 nm หลักการคือทำให้อะตอมดิวเทอเรียมที่อยู่ในสภาวะเร้าคายพลังงานออกมา ส่วนหลอดทังสเตน (tungsten filament lamp) จะให้ความยาวคลื่นครอบคลุมช่วงแสงที่มองเห็นได้คือตั้งแต่ 320 - 2500 nm หลักการจะคล้ายกับหลอดไฟทังสเตนธรรมดาคือ ให้กระแสไฟฟ้าผ่านเข้าไป

จนกระทั่งลวดทังสเตนร้อนและเปล่งรังสีออกมา โดยปกติจะเปิดเครื่องทิ้งไว้ก่อนใช้งานประมาณ 30 นาที เพื่อให้แน่ใจว่าหลอดดิวเทอเรียมหรือหลอดทังสเตนให้แสงที่มีความเข้มสม่ำเสมอ หลอดดิวเทอเรียม และหลอดทังสเตน แสดงดังรูป 1.9

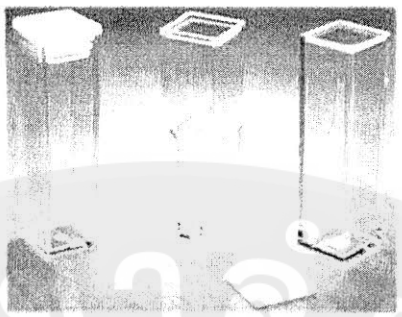
รูป 1.9 หลอดดิวเทอเรียม (ซ้าย) และหลอดทังสเตน (ขวา)

2. ส่วนเลือกความยาวคลื่น (Wavelength selector) [31]

เป็นส่วนที่ใช้แยกความยาวคลื่นที่ออกมาจากแหล่งกำเนิดแสง ซึ่งเป็นแสงที่มีหลายๆ ความยาวคลื่น (polychromatic wavelength) ให้เป็นแถบแสงในช่วงแคบๆ หรือ เป็นความยาวคลื่นเดี่ยว (monochromatic wavelength) เครื่องมือสมัยก่อนจะใช้ปริซึมหรือ ฟิลเตอร์สำหรับแยกความยาวคลื่น แต่ปัจจุบันเปลี่ยนมาใช้โมโนโครเมเตอร์ (monochromater) แบบเกรตติ้ง (grating) สะท้อนแสงซึ่งมีลักษณะเป็นร่องเล็กๆ ขนานกันจำนวนมาก แสงจากแหล่งกำเนิดแสงจะตกกระทบลงบนผิวหน้าของร่อง แล้วสะท้อนออกมาที่มุมต่างๆ เฉพาะความยาวคลื่นที่เราเลือกเท่านั้นจึงจะผ่าน ช่องแสงออก (exit slit) ไปสู่สารตัวอย่าง

3. ภาชนะใส่สารตัวอย่าง (Cell หรือ cuvette) [31]

ภาชนะใส่สารตัวอย่างสำหรับสเปกโทรโฟโตมิเตอร์จะเรียกว่า เซลล์หรือคิวเวทท์ (cuvette) แสดงดังรูป 1.10 มีหลายแบบหลายขนาดด้วยกันขึ้นกับการใช้งาน หลักสำคัญในการเลือกใช้ก็คือ การวัดในช่วงแสงอัลตราไวโอเลต จะต้องใช้เซลล์ที่ทำจากควอตซ์ (quartz) เท่านั้น เนื่องจากแก้วสามารถดูดกลืนแสงในช่วงอัลตราไวโอเลตได้ ส่วนเซลล์ที่ทำจากแก้วจะใช้วัดในช่วงแสงที่มองเห็นได้ นั่นหมายความว่าถ้าเราต้องการวัดสารในช่วงแสงที่มองเห็นได้ก็ควรจะใช้เซลล์ที่ทำจากแก้ว การใช้เซลล์ควอตซ์ไม่ได้มีผลให้การวัดแสงดีขึ้น แต่จะสิ้นเปลืองเปล่า ประโยชน์เพราะควอตซ์ราคาแพง กว่าแก้วมาก



รูป 1.10 ตัวอย่าง cuvettes แบบต่างๆ

นอกจากนี้การวิเคราะห์โดยใช้ spectrophotometric detection ถ้างานวิเคราะห์นั้นมี ความไว (sensitivity) ต่ำ เราสามารถเพิ่มความไวให้สูงขึ้นได้ง่ายๆ โดยใช้เซลล์ที่มีความกว้างมากขึ้น เพราะจากกฎของเบียร์ – แลมเบิร์ต ค่าการดูดกลืนแสงของสารยังขึ้นกับความหนาของตัวกลางที่แสงเดินทางผ่าน ดังสมการ

$$A = \varepsilon cl$$

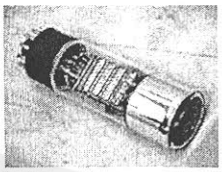
ซึ่งเซลล์ที่ใช้ในงานทั่วไปมีความกว้างตั้งแต่ 1-10 cm หรือถ้าสารมีราคาแพงและปริมาณน้อยก็มีเซลล์ขนาดเล็กที่ปริมาตรต่ำกว่า 1 ml ส่วนการทำความสะอาดเซลล์เพียงแค่กลั้วด้วยน้ำกลั่นหรือกลั้วด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมตามด้วยน้ำกลั่นก็เพียงพอ ห้ามขัดถูเพราะจะทำให้เซลล์มีรอยขีดข่วน

4. ตัวตรวจจับสัญญาณ (Detector) [31]

เครื่องตรวจจับสัญญาณที่ดีต้องมีสภาพไวสูง คือ แม้ปริมาณแสงจะเปลี่ยนไปเล็กน้อย ก็สามารถตรวจจับสัญญาณความแตกต่างได้ ปัจจุบันเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ส่วนใหญ่นิยมใช้ตัวตรวจจับสัญญาณ 2 ชนิดคือ

4.1 หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ (Photomultiplier tube; PMT)

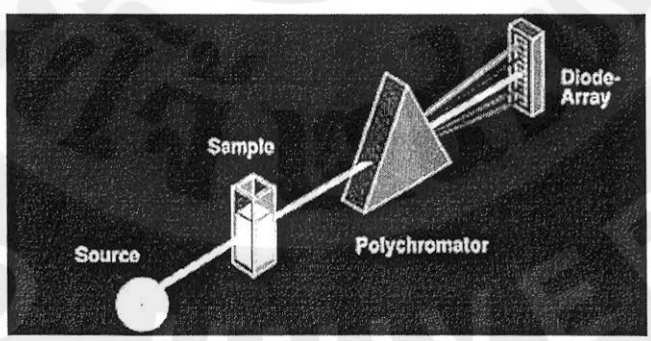
หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ แสดงดังรูป 1.11 ประกอบไปด้วยแคโทด (cathode) ที่ฉาบผิวด้วยสารที่สามารถให้อิเล็กตรอนได้เมื่อถูกแสงจำนวน 9 ชุด เรียกว่า ไดโนด (dynode) แต่ละไดโนดจะมีศักย์ไฟฟ้าสูงขึ้นเรื่อยๆ เมื่อแสงตกกระทบกับไดโนดตัวที่หนึ่งสารที่ฉาบผิวจะเกิดอิเล็กตรอนขึ้นแล้ววิ่งไปกระทบไดโนดที่สอง สาม สี่ จนครบทั้งเก้าตัว ดังนั้นปริมาณอิเล็กตรอนจะเพิ่มขึ้นถึง 106 - 107 เท่า แล้วจึงชนแอโนดให้กระแสไฟฟ้าออกมาเข้าเครื่องขยายสัญญาณต่อไป



รูป 1.11 (ซ้าย) ภาพตัดขวางของหลอด PMT (ขวา) ลักษณะหลอด PMT ในสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

4.2 โฟโตไดโอดอาร์เรย์ (Photodiode arrays; PDA) [31]

ตัวตรวจจับสัญญาณชนิดนี้สามารถจับสัญญาณได้ครอบคลุมทั้งสเปกตรัมโดยใช้ไดโอดนี้ มาเรียงต่อกันเป็นแถว ซึ่งสามารถวัดครอบคลุมสเปกตรัมได้ตั้งแต่ 200 - 1100 nm ตัวตรวจจับสัญญาณนี้ประกอบไปด้วยโฟโตไดโอดและตัวเก็บประจุ (capacitor) ประมาณ 200 - 4000 ตัวเรียงต่อกันเป็นแถว หลักการเริ่มต้นด้วยการให้ประจุผ่านผิวหน้าไดโอด ซึ่งไดโอดก็จะเก็บประจุไว้ที่ตัวเก็บประจุ เมื่อแสงตกลงบนไดโอดจะทำให้เกิดประจุไฟฟ้าไปทำลายประจุที่เก็บไว้ที่ตัวเก็บประจุ ทำให้ต้องใส่ประจุเพิ่มเข้าไปใหม่ซึ่งเป็นช่วงของการสแกนแต่ละครั้งนั่นเอง ปริมาณของประจุที่ต้องใส่เข้าไปใหม่ จะเป็นปฏิภาคโดยตรงกับความเข้มแสงที่วัดได้ของแต่ละไดโอด ดังนั้นจากการวัดปริมาณแสงที่แตกต่างกันตลอดช่วงความยาวคลื่นจะได้เป็นสเปกตรัมการดูดกลืนของสารนั้นออกมา แสดงดังรูป 1.12



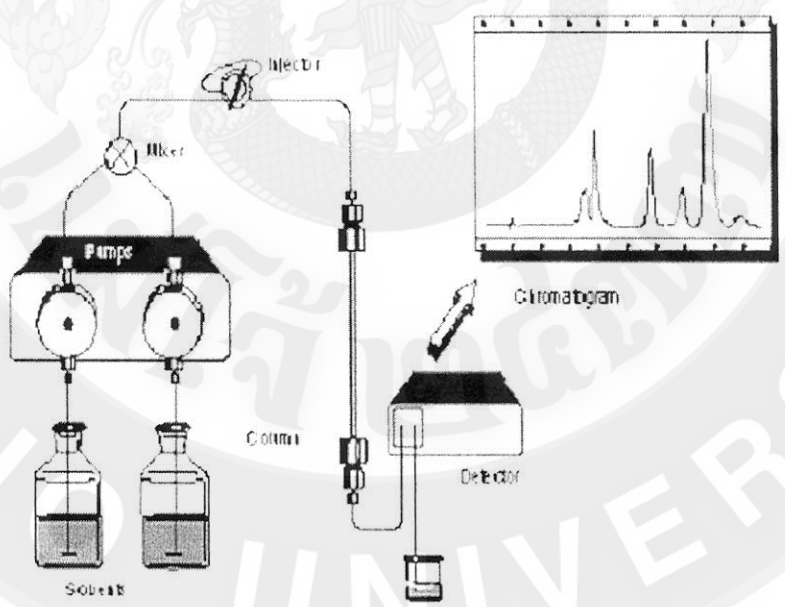
รูป 1.12 สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่มีไดโอดอาร์เรย์เป็นตัวตรวจจับสัญญาณ

5. ส่วนบันทึกและแปรผลสัญญาณ (Recorder and processor) [31]

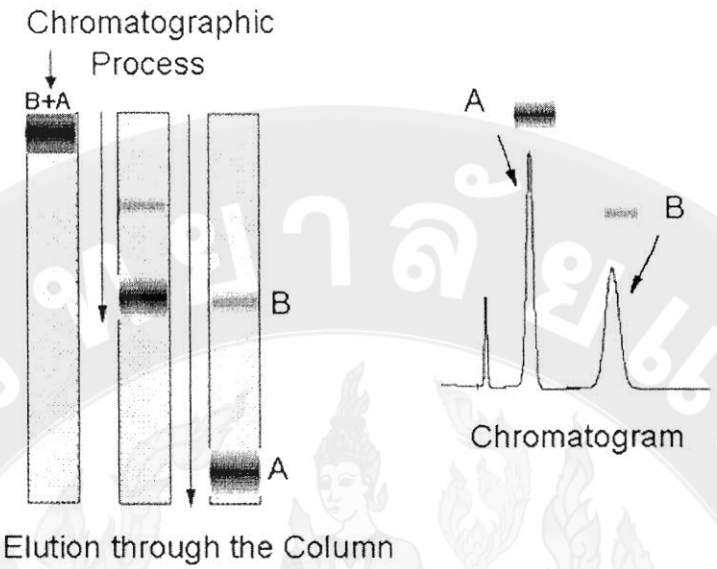
ทำหน้าที่ขยายสัญญาณ และแปรผลสัญญาณให้ออกมาในมาตราส่วนแบบล็อก (log scale)

1.2.12 เทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) [32]

HPLC เป็นเครื่องมือใช้สำหรับแยกสารประกอบที่สนใจที่ผสมอยู่ในตัวอย่าง ส่วนประกอบของเครื่อง HPLC แสดงดังรูป1.13 โดยกระบวนการแยกสารประกอบที่สนใจจะเกิดขึ้นระหว่างเฟส 2 เฟส คือ เฟสอยู่กับที่ (column) กับเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) จะถูกแยกออกมาในเวลาที่ต่างกัน ซึ่งสาร ผสมที่อยู่ในตัวอย่างสามารถถูกแยกออกจากกันได้นั้นขึ้นอยู่กับความสามารถในการเข้า กันได้ดีของสารนั้นกับเฟสที่เคลื่อนที่ หรือ เฟสที่อยู่กับที่สารประกอบตัวไหนที่สามารถ เข้ากันได้ดีกับเฟสที่เคลื่อนที่ สารนั้นก็จะถูกแยกออกมาก่อน ส่วนสารที่เข้ากันได้ไม่ดีกับเฟสที่เคลื่อนที่หรือเข้ากันได้ดีกับเฟสอยู่กับที่ก็จะถูกแยกออกมาทีหลัง โดยสารที่ถูกแยกออกมาได้นี้จะถูกตรวจวัดสัญญาณด้วยตัวตรวจวัด สัญญาณที่บันทึกได้จากตัว ตรวจวัดจะมีลักษณะเป็นพีค ซึ่งจะเรียกว่าโครมาโทแกรม แสดงดังรูป1.14



รูป 1.13 ส่วนประกอบของเครื่อง HPLC



รูป 1.14 ลักษณะของ chromatogram ที่ได้จากการวิเคราะห์โดยเครื่อง HPLC

ส่วนประกอบหลักของเครื่อง HPLC ประกอบด้วย

1. Mobile phase / Solvent : ตัวทำละลายที่ใช้ในการชะหรือแยกตัวอย่าง เป็นเฟสเคลื่อนที่ มีลักษณะเป็นของเหลว ทำหน้าที่ในการนำสารตัวอย่างและตัวทำละลายเข้าสู่ เฟสที่อยู่กับที่ที่บรรจุอยู่ในคอลัมน์ ซึ่งกระบวนการแยกจะเกิดขึ้นภายในคอลัมน์

2. Pump : ทำหน้าที่ดึงตัวทำละลายซึ่งทำหน้าที่เป็นเฟสเคลื่อนที่เข้าสู่ระบบ HPLC

3. Injector / Autosampler : ทำหน้าที่ในการฉีดสารตัวอย่างเข้าระบบ HPLC

4. Column : ภายในบรรจุด้วยเฟสที่อยู่กับที่ มีลักษณะเป็นของแข็งหรือเจล ทำให้เกิดกระบวนการแยกองค์ประกอบของสารที่สนใจ โดยกระบวนการแยกเกิดขึ้นระหว่างเฟสที่ เคลื่อนที่กับ เฟสที่อยู่กับที่

5. Detector : เป็นตัวตรวจวัดสัญญาณ ทำหน้าที่ในการตรวจวัดสัญญาณของสารที่ สนใจที่ได้จากกระบวนการแยก HPLC สามารถทดสอบได้ทั้งเชิงคุณภาพ และทดสอบเชิงปริมาณ โดยการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน

การพิจารณาเลือกใช้เทคนิค HPLC ในการวิเคราะห์จะต้องคำนึงถึง

1. ธรรมชาติของสารตัวอย่าง เช่น สมบัติทางการภาพและทางเคมี เช่น ความสามารถใน การละลายของสารตัวอย่าง ขนาดโมเลกุลของสาร มวลโมเลกุลของสาร สารตัวอย่างมีขั้ว หรือไม่มีขั้ว เป็นต้น

2. ตัวอย่างต้องละลายได้ในเฟสที่เคลื่อนที่

3. กรองตัวอย่างก่อนฉีดเข้าเครื่อง HPLC

4. เฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ต้องเป็น HPLC เกรดเท่านั้น

5. ตัวอย่างที่มีสารรบกวน(matrix)จำเป็นต้องมีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างเพื่อกำจัด matrix นั้นก่อนฉีดเข้าเครื่อง

6. ต้องคำนึงถึงการเข้ากันได้ดีของเฟสเคลื่อนที่ในกรณีมีการใช้เฟสเคลื่อนที่มากกว่า 1 ชนิด ในการแยก

1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Lilitchan และคณะ [27] ได้ศึกษาวิธีการสกัดสำหรับวิเคราะห์หา total lipid และแกมมาโอรีซานอลในรำข้าวที่มีความว่องไว และเพื่อหาวิธีที่จะลดตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีพิษ และเพื่อประหยัดเวลาในการสกัดโดยไม่ต้องใช้เครื่องมือ ในที่นี้ใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (Kd) ในการสกัด นอกจากนี้ยังได้ศึกษาผลกระทบของตัวทำละลายที่มีความแม่นยำในการหาปริมาณแกมมาโอรีซานอลในตัวทำละลาย 7 ชนิดคือ เฮกเซน เอททิลอะซิเตท ไดไอโซโพลพิล – อีเทอร์ ไดบิวทิลอีเทอร์ เอทานอล ไอโซโพรพานอล และบิวทานอล ด้วยเครื่อง UV - VIS spectrophotometer จากผลการทดลองไอโซโพรพานอลเป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุดในการวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน

Lerma และคณะ [33] ได้ศึกษาข้อมูลต่างๆ ของน้ำมันรำข้าว เช่น คุณสมบัติ โครงสร้าง วิธีการสกัดน้ำมันรำข้าวโดยวิธีการต่างๆ เป็นต้น ซึ่งจากการศึกษาพบว่า ความเข้มข้นของแกมมาโอรีซานอล tocopherols และ tocotrienols จากรำข้าวและน้ำมันรำข้าวนั้นจะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์และบริเวณพื้นที่การปลูก

Karladee และคณะ [34] ศึกษาการสะสมสารแกมมาโอรีซานอลในเมล็ดข้าวเหนียวดำ โดยทำการสกัดเมล็ดข้าวเหนียวดำพันธุ์พื้นเมืองทั้งหมด 4 พันธุ์ โดยมีข้าวขาว 1 พันธุ์ การสกัดได้แยกการสกัดจากรำและเมล็ดข้าวกล้อง โดยใช้ n-hexane และ ethyl acetate เป็นสารสกัดและอ่านประมาณสารแกมมาโอรีซานอลจาก HPLC จากการทดลองพบว่า crude oil ที่ได้สกัดได้ในรำและข้าวกล้องของข้าวทั้ง 4 พันธุ์ มีค่าที่ไม่แตกต่างกันมากนัก เช่นเดียวกับพันธุ์เปรียบเทียบ ส่วนปริมาณแกมมาโอรีซานอล พบว่า ในข้าวเหนียวดำมีปริมาณแกมมาโอรีซานอลมากกว่าข้าวขาว และปริมาณของแกมมาโอรีซานอลของข้าวเหนียวดำแต่ละสายพันธุ์นั้นมีค่าที่แตกต่างกันซึ่งขึ้นอยู่กับความแตกต่างทางพันธุกรรมของรำข้าว

Hu และคณะ [35] เปรียบเทียบตัวทำละลายระหว่าง ไอโซโพรพานอล และเฮกเซน ที่ใช้สกัดวิตามินอีและแกมมาโอรีซานอลจาก stabilized rice bran โดยศึกษาผลกระทบที่อุณหภูมิ 40 ^{0}c และ 60 ^{0}c ระยะเวลาในการสกัดที่ 5, 10, 15, 20 และ 30 นาที และอัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายต่อรำข้าวที่ 2/1 และ 3/1 โดยน้ำหนักผลการทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพตัวทำละลายสองชนิดพบว่าประสิทธิภาพไม่แตกต่างกัน สภาวะการสกัดวิตามินอีและแกมมาโอรีซานอลที่ดีที่สุด คือ 60 ^{0}c ระยะเวลาการสกัด 15 นาที และมีอัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายต่อรำข้าวเป็น 3 : 1 โดยน้ำหนัก

Promote และคณะ [36] ได้ทำการศึกษาความร้อนที่มีผลต่อค่าการสลายตัวของแกมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าวโดยใช้เทคนิค UV – VIS spectrophotrometry โดยใช้ตัวทำละลายไอโซโพพานอล จากการทดลองพบว่าค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุด ของสารมาตรฐานแกมมาโอรีซานอลในตัวทำละลายไอโซโพพานอล คือ 327 นาโนเมตร และจากการหาค่าการสลายตัวของแกมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าว พบว่าเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 120, 150 และ 200 ^{0}c จะให้ความเข้มข้นของแกมมาโอรีซานอลจะลดลงตามค่าความร้อนที่เพิ่มขึ้น

Krishna และคณะ [37] ได้ทำการศึกษาผลกระทบจากกระบวนการผลิตน้ำมันรำข้าวดิบที่มีผลต่อปริมาณแกมมาโอรีซานอลในรำข้าวสายพันธุ์อินเดีย พบว่า ในขั้นตอนการขจัดกัมจะสูญเสียปริมาณแกมมาโอรีซานอลเท่ากับ 1.1% ในขั้นตอนการขจัดไขจะสูญเสียปริมาณแกมมาโอรีซานอลเท่ากับ 5.9% และกระบวนการผลิตทางกายภาพไม่ก่อให้เกิดการสูญเสียแกมมาโอรีซานอล เมื่อนำน้ำมันรำข้าวมาวิเคราะห์องค์ประกอบของสารประกอบแกมมาโอรีซานอลด้วยเทคนิค HPLC พบว่า มีสารประกอบอนุพันธุ์ของแกมมาโอรีซานอล ได้แก่ methyl ferulate (0.3%) , cycloartanyl ferulate (0.14%), 24-methylene cycloartanyl ferulate (0.56%), campesteryl ferulate (0.49%) and β-sitosteryl ferulate (0.24%)

Huang และคณะ [38] ได้ศึกษาพัฒนาปรับปรุงเฟสของเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (NP-HPLC) เพื่อวิเคราะห์ปริมาณของวิตามินอีและแกมมาโอรีซานอลในข้าว สามารถแยกสารที่สนใจทั้งทั้งหมดได้สำเร็จภายใน 25 นาที โดยใช้คอลัมน์ CN-3 SIL-100A5 μM ขนาด 4.6 mm x 250 mm และใช้ เฮกเซน : ไอโซโพพานอล : เอทิลอะซิเตท : กรดอะซิติก (97.6 : 0.8 : 0.8 : 08 v / v) เป็น mobile phase มีอัตราการไหลที่ 0.7 - 1.5 mL min^{-1} ได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เชิงเส้น (R^2> 0.99) สามารถวัดความเข้มข้นของวิตามินอีเท่ากับ 0.05 - 10 μg mL^{-1} และความเข้มข้นของแกมมาโอรีซานอลเท่ากับ 0.5 - 500 μg mL^{-1} วิธีการนี้ได้พิสูจน์แล้วว่าเป็นวิธีการที่วิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็ว ถูกต้องแม่นยำ และสามารถทำซ้ำได้

Vanesssa และคณะ [39] ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ ความเข้มข้นของวิตามินอี และความเข้มข้นของแกมมาโอรีซานอล ในกระบวนการผลิตในขั้นตอนต่างๆ ของการสกัดน้ำมันรำข้าว ในการศึกษาจะศึกษาในขั้นตอนการขจัดไข และการกำจัดกลิ่น แล้วถูกนำวิเคราะห์ในเรื่องความชื้น ค่า pH ค่าความเป็นกรด ค่าเปอร์ออกไซด์ และ unsaponifiable จะใช้เทคนิค GC ในการวิเคราะห์ พบว่า ความชื้น ค่าความเป็นกรด ค่าเปอร์ออกไซด์ จะลดลงระหว่างกระบวนการผลิตและค่า unsaponifiable ไม่มีการเปลี่ยนแปลง สำหรับการวิเคราะห์ความเข้มข้นของวิตามินอีและแกมมาโอรี

ซานอลซาได้รับการวิเคราะห์โดยเทคนิค HPLC โดยใช้ดีเทคเตอร์ คือ fluorescence และ UV-Vis ตามลำดับ พบว่า วิตามินอีที่สกัดในกระบวนจะไม่ลดปริมาณลง และวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นเท่ากับ 26 mg/100 g ส่วนแกมมาโอรีซานอลมีปริมาณความเข้มข้นลดลงเท่ากับ 4 % และมีความเข้มข้นเท่ากับ 2.3 %

พจนทิพย์ และคณะ [40] ศึกษาการสกัดสารแอลฟาโทโคฟีรอลและแกมมาโอรีซานอลจากรำข้าว (*Oryza Sativa Linn.*) การทดลองแบ่งออกเป็น 4 ส่วน ส่วนแรกเป็นการวิเคราะห์คุณสมบัติของรำข้าว พบว่ารำข้าวที่มีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 297–595 ไมโครเมตรจะมีปริมาณมากที่สุด รำข้าวมีความชื้นประมาณ 14.01 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง และมีปริมาณไขมัน/น้ำมัน19.08 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง ส่วนที่สองเป็นการสกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต ทำการสกัดที่อุณหภูมิ 45 – 65 องศาเซลเซียส ความดัน 38 และ 48 เมกกะปาสคาล อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 0.45 มิลลิลิตรต่อนาที จากผลการทดลองพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารแอลฟาโทโคฟีรอล คือที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ความดัน 48 เมกกะปาสคาล ทำการสกัดโดยใช้ static extraction ร่วมกับ dynamic extraction สำหรับสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารแกมมาโอไรซานอล คือที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ความดัน 48 เมกกะปาสคาล ทำการสกัดโดยใช้ dynamic extraction เพียงอย่างเดียว ส่วนที่สามเป็นการสกัดด้วยตัวทำละลายของเหลวที่อุณหภูมิ 55–60 องศาเซลเซียส จากผลการทดลองพบว่าเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารแกมมาโอไรซานอล และส่วนที่สี่เป็นการสกัดด้วยซอกเลตภายใต้สภาวะสุญญากาศจากผลการทดลองพบว่าสามารถสกัดสารแอลฟาโทโคฟีรอลและแกมมาโอรีซานอลได้ 172.23 และ 9,808.79 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมรำข้าวแห้ง ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบการสกัดทั้งสามวิธี พบว่าการสกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตเป็นวิธีการสกัดที่เหมาะสมที่สุด

1.4 ขอบเขตของการทดลอง

1. เพื่อศึกษาการสกัดแกมมาโอรีซานอลและน้ำมันจากรำข้าวเหนียว โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (K)
2. เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของ ตัวทำละลาย และเวลาที่ใช้ในการสกัด ในการวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลและน้ำมันในรำข้าวเหนียว
3. เพื่อวิเคราะห์ปริมาณและองค์ประกอบของแกมมาโอรีซานอลที่สกัดได้จากรำข้าวเหนียว

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 สารเคมี

ตาราง 2.1 สารเคมี

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	บริษัทผู้ผลิต	ประเทศ
Acetonitrile (GR grade)	CH_3CN	Duksan pure chemicals	Korea
Acetic acid	CH_3COOH	Lab-scan	Thailand
Ethyl acetate	$C_4H_8O_2$	Lab-scan	Thailand
Iodine mono-chloride	ICl	Panreac	E.U.
Methanol (HPLC grade)	CH_3OH	Duksan pure chemicals	Korea
n-Hexane	C_6H_{14}	Lab-Scan	Thailand
Petroleum ether	CH_3CH_2-O-CH_2-CH_3	Panreac	E.U.
Potassium iodide	KI	Ajax Finechem	Australia
Silica gel 60 GF_{254}	-	Merck	Germany
Sodium thiosulphate	$Na_2S_2O_3$	Ajax Finechem	Australia

*หมายเหตุ : สารเคมีที่ใช้เป็น Analytical grade

2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

ตาราง 2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องมือ-อุปกรณ์	บริษัทผู้ผลิต และรุ่น	ประเทศ
เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical balance)	Mettler foledo รุ่น AB204	Switzerland
เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV – VIS spectrophotometer)	Fisher Scientific รุ่น 232 HITACHI รุ่น U – 100	USA Japan
เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง (Centrifuge)	Lab quip รุ่น 1000	England
เครื่องกวนสารแบบให้ความร้อน (Hot plate and stirrer)	Fisher Scientific	USA

ตาราง 2.2 (ต่อ) เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องมือ-อุปกรณ์	บริษัทผู้ผลิต และรุ่น	ประเทศ
เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performamce Liquid Chromatography ; HPLC)	Hewlett Packard รุ่น1100 serie	Germany
เครื่องปั่นผสม (Vortex mixer)	Scientific Industries	USA
เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator)	Buchi รุ่น B-480	Switzerland
ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)	Gallen Kamp รุ่น A050714	UK
เตาหลุม (Heating mantle)	Wahtman	England
โถดูดความชื้น (Desiccator)	Duran	Germany

2.3 สารมาตรฐาน

- แกมมาโอรีซานอล 98 % จากบริษัท Suno ประเทศญี่ปุ่น
- รำข้าวเหนียวพันธุ์ทั้งหมด 5 พันธุ์ ได้แก่ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6

2.4 วิธีการทดลอง

2.4.1 การศึกษาความชื้นของรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ

อบภาชนะสำหรับหาความชื้นในตู้อบอุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 2 – 3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบไปใส่ในโถดูดความชื้น จนกระทั่งภาชนะมีอุณหภูมิเท่าอุณหภูมิห้อง แล้วชั่งน้ำหนักนำไปอบอีกครั้งจนผลต่างของน้ำหนักต่างกันไม่มากกว่า 0.001 g ชั่งตัวอย่างรำข้าวหนัก 3 g ให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอนในภาชนะ นำไปอบที่อุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบปล่อยให้เย็นในโถดูดวามชื้นที่อุณหภูมิห้อง และชั่งน้ำหนัก นำไปอบซ้ำกระทั่งน้ำหนักคงที่ ผลต่างของน้ำหนักต่างกันไม่มากกว่า 0.001 g จึงเป็นน้ำหนักสุดท้ายที่ต้องอบ การคำนวณความชื้นของตัวอย่าง (ทำ 3 ซ้ำ) แสดงดังสมการ

$$\% \text{ ความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (g)} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (g)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (g)}} \times 100$$

2.4.2 การหาเปอร์เซ็นต์น้ำมันรวม (โดยน้ำหนักแห้ง) ในรำข้าวด้วยวิธี soxhlet method ของรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ

การหาเปอร์เซ็นต์น้ำมันรวม โดยนำรำข้าวที่ผ่านการอบแห้งมาสกัดด้วยวิธี soxhlet method ซึ่งทำการวิเคราะห์โดย ชั่งรำข้าว 20 g เทลงบนกระดาษกรองห่อให้มิดชิด นำมาใส่ลงใน thimble บรรจุในชุดสกัด โดยใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลาย และเปลี่ยนตัวทำละลายเป็นปิโตรเลียมอีเทอร์ ในปริมาณ 300 ml ใส่ในขวดก้นกลมให้ความร้อนที่ระดับต่ำนาน 3 – 4 ชั่วโมง จากนั้นนำขวดก้นกลมออกจากเตาหลุม ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไประเหยด้วยเครื่อง rotary evaporator นำไปชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง บันทึกน้ำหนักและคำนวณปริมาณที่สกัดได้ การคำนวณน้ำมันรวมแสดงดังสมการ

$$\text{น้ำมันรวม (\% dry weight)} = \frac{\text{น้ำหนักน้ำมัน (g)}}{\text{น้ำหนักแห้งของตัวอย่าง (g)}} \times 100$$

2.4.3 การวิเคราะห์หาแกมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง (TLC)

เป็นการวิเคราะห์หาแกมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าวดิบโดยเปรียบเทียบกับน้ำมันรำข้าวและน้ำมันปาล์มโดยมีแกมมาโอรีซานอลเป็นสารมาตรฐาน

วิธีเตรียมแผ่น TLC

นำซิลิกาเจล 45 g ละลายด้วยน้ำปริมาตร 130 ml แล้วนำกระจก 2 แผ่นประกบกันจุ่มลงไปให้ปลายข้างหนึ่งเหลือ 1 cm ยกกระจกขึ้น ปล่อยให้ซิลิกาเจลไหลกลับเช็ดซิลิกาที่เลอะ ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนกว่าซิลิกาเจลจะแห้ง

วิธีทดลอง

หยดตัวอย่างน้ำมันรำข้าวดิบบนแผ่น TLC โดยเทียบกับสารมาตรฐานแกมมาโอรีซานอล และน้ำมันรำข้าวทิ้งไว้ให้แห้ง แล้วจุ่มแผ่น TLC ลงในสารละลาย mobile phase ทิ้งไว้จน

สารละลาย mobile phase เคลื่อนที่ไปบนแผ่น TLC จนถึงด้านบนของแผ่น TLC เหลือที่ว่างประมาณ 1 cm นำแผ่น TLC ไปอังเกล็ดไดโอดีนจะปรากฏจุดของสารบนแผ่น TLC

การเตรียมสารละลาย mobile phase

เฮกเซน 45 ml ผสมเอทิลอะซีเตต 5 ml และกรดอะซิติก 1 ml

2.4.4 การวิเคราะห์หาปริมาณแกมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ ด้วยเทคนิค UV – VIS spectrophotometer

2.4.4.1 การสร้างกราฟมาตรฐานน้ำมันเทคนิค UV – VIS spectrophotometer

การวิเคราะห์หาแกมมาโอรีซานอลทำโดยใช้การเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายแกมมาโอรีซานอลที่ทำละลายในตัวทำละลายต่างๆ

1. เตรียม stock standard

ชั่งสารมาตรฐานแกมมาโอรีซานอล 0.01 g ละลายในตัวทำละลายต่างๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์ เช่น เฮกเซน และปิโตรเลียมอีเทอร์ ปรับปริมาตรให้เป็น 100 ml จะได้ความเข้มข้นของแกมมาโอรีซานอลเท่ากับ 0.1 mg/ml หรือ 100 ppm

2. ขั้นตอนการเตรียมกราฟมาตรฐาน

เตรียมสารละลายต่างๆ ในหลอดทดลองในปริมาตรต่างๆ ดังตาราง 2.3 เพื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่หาได้ของแต่ละตัวทำละลาย และนำข้อมูลที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbances; Abs.) กับค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานแกมมาโอรีซานอล (ppm)

ตาราง 2.3 ปริมาณของสารมาตรฐานต่อตัวทำละลายที่ความเข้มข้นต่างๆ

หลอดที่	สารมาตรฐานโอรีซานอล (ml)	ตัวทำละลาย (ml)	ความเข้มข้นของโอรีซานอล (ppm)
1	0.00	10.00	0.00
2	0.25	9.75	2.50
3	0.50	9.50	5.00
4	0.75	9.25	7.50
5	1.00	9.00	10.00
6	1.25	8.75	12.50
7	1.50	8.50	15.00
8	1.75	8.25	17.50
9	2.00	8.00	20.00

2.4.4.2 การศึกษาอิทธิพลของตัวทำละลายต่อปริมาณแกมมาโอรีซานอลที่มีอยู่ในน้ำมันรำข้าวดิบจากรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ ที่ทำการสกัดด้วยการเขย่า

ชั่งรำข้าวแห้งบดละเอียด 1 g ลงในหลอดทดลองฝาเกลียว แล้วเติมเฮกเซนลงไป 4 ml ปิดฝาเขย่าอย่างแรงโดยใช้เครื่อง vortex mixture เป็นเวลา 15 min หลังจากนั้นเซนตริฟิวจ์ที่ 4000 rpm เป็นเวลา 5 min เพื่อตกตะกอนสารแขวนลอย

จากนั้นเปลี่ยนตัวทำละลายจากเฮกเซนเป็นปิโตรเลียมอีเทอร์ ทำการวิเคราะห์หาปริมาณแกมมาโอรีซานอล โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดโดยใช้ตัวทำละลายเป็น blank และวิเคราะห์แกมมาโอรีซานอลด้วยเครื่อง UV – VIS spectrophotometer

2.4.5 การวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอล โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (adsorption coefficient; K) ของแกมมาโอรีซานอลระหว่างชั้นของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้สกัดกับชั้นของรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ

ชั่งรำข้าวแห้งที่บดละเอียด 1 g ใส่ในหลอดทดลองฝาเกลียว 2 หลอด ทำการสกัดโดยใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นตัวทำละลายโดยในหลอดที่ 1 เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ 4 ml ส่วนหลอดที่ 2 เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ 8 ml ปิดฝาเขย่าอย่างแรงโดยใช้เครื่อง vortex mixture เป็นเวลา 3, 5, และ 7 min ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 $^{\circ}$C ทำการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง และทำการสกัดโดยใช้เวลา 5 min นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 315 nm

จากนั้นเปลี่ยนตัวทำละลายเป็นเฮกเซน แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 314 nm จากนั้นหาปริมาณแกมมาโอรีซานอลโดยการนำไปเทียบในกราฟมาตรฐาน และนำมาหาค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับตามสมการที่ 1.3 ถึง 1.7

2.4.6 การวิเคราะห์องค์ประกอบแกมมาโอรีซานอลด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง

เตรียมสารละลายโอรีซานอล 500 ppm โดยชั่งสารละลายโอรีซานอลมา 0.005 g แล้วปรับปริมาณ 100 ml ด้วยเฟสเคลื่อนที่ (อะซิโตไนไตรล์ : เมทานอล) แล้วเตรียมสารละลายโอรีซานอล 100 ppm โดยปิเปตสารละลายโอรีซานอล 500 ppm มา 2 ml แล้วปรับปริมาตรเป็น 10 ml ด้วยเฟสเคลื่อนที่ แล้วนำไปกรองด้วยชุดกรอง 0.45 µm

ทำการสกัดน้ำมันรำข้าวด้วยตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์โดยการเขย่าเป็นเวลา 7 นาที และแช่ในตัวทำละลาย 1 คืน หลังจากนั้นทำการระเหยตัวทำละลายออก นำตัวอย่างน้ำมันรำข้าวละลายด้วยเฟสเคลื่อนที่ แล้วนำไปกรองด้วยชุดกรอง 0.45 µm นำมาฉีดเข้าเครื่องในสภาวะอัตราการไหลคงที่ที่ 1 ml/min โดยใช้อัตราส่วนเฟสเคลื่อนที่ คือ อะซิโตไนไตรล์: เมทานอล ในอัตราส่วน 90 : 10

ตาราง 2.4 สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์แกมมาโอรีซานอล โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

พารามิเตอร์	สภาวะ
1 คอลัมน์	Hypersil ODS C18 ขนาด 150 x 4.0 มิลลิเมตร
2 ดีเทคเตอร์	UV detector, 295 นาโนเมตร
3 อัตราส่วนเฟสเคลื่อนที่	อะซิโตไนไตรล์ : เมทานอล 90 : 10
4 อัตราส่วนการไหลของตัวทำละลาย	1.0 มิลลิลิตรต่อนาที
5 ปริมาตรของสารที่ฉีดเข้าเครื่อง	20 ไมโครลิตร

2.4.7 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำมัน โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (adsorption coefficient; K) ของน้ำมันระหว่างชั้นของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้สกัดกับชั้นของรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ

2.4.7.1 การศึกษาหาความยาวคลื่นสูงสุดของน้ำมันในรำข้าว

ใช้น้ำมันรำข้าวที่มีความเข้มข้น 10 µg/ml (ppm) ในการศึกษาหาการดูดกลืนคลื่นสูงสุดของน้ำมันในรำข้าว ที่ละลายในตัวทำละลายเฮกเซนและปิโตรเลียมอีเทอร์ ด้วยเทคนิค UV – VIS spectrophotometer

2.4.7.2 การสร้างกราฟมาตรฐานน้ำมันเทคนิค UV – VIS spectrophotometer

การวิเคราะห์หาน้ำมันในรำข้าวทำโดยใช้การเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของน้ำมันที่ทำละลายในตัวทำละลายต่างๆ

1. เตรียม stock standard

ชั่งน้ำมันรำข้าวมา 0.01 g ละลายในตัวทำละลายต่างๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์ เช่น เฮกเซน และปิโตรเลียมอีเทอร์ ตามลำดับปรับปริมาตรให้เป็น 50 ml จะได้ความเข้มข้นของแกมมาโอรีซานอลเท่ากับ 0.2 mg/ml หรือ 200 ppm

2. ขั้นตอนการเตรียมกราฟมาตรฐาน

เตรียมสารละลายต่างๆ ในหลอดทดลองในปริมาตรต่างๆ ดังตาราง 2.5 เพื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่หาได้ของแต่ละตัวทำละลาย และนำข้อมูลที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbances; Abs.) กับค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานน้ำมัน (ppm)

ตาราง 2.5 ปริมาณของสารมาตรฐานต่อตัวทำละลายที่ความเข้มข้นต่างๆ

หลอดที่	สารมาตรฐานน้ำมัน (ml)	ตัวทำละลาย (ml)	ความเข้มข้นของน้ำมัน (ppm)
1	0.00	10.00	0.00
2	1.50	8.50	30.00
3	3.00	7.00	60.00
4	4.50	5.50	90.00
5	6.00	4.00	120.00
6	7.50	2.50	150.00

2.4.7.3 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำมัน โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (adsorption coefficient; K) ของน้ำมันระหว่างชั้นของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้สกัดกับชั้นของรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ

ชั่งรำข้าวแห้งที่บดละเอียด 1 g ใส่ในหลอดทดลองฝาเกลียว 2 หลอด ทำการสกัดโดยใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นตัวทำละลายโดยในหลอดที่ 1 เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ 4 ml ส่วนหลอดที่ 2 เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ 8 ml ปิดฝาเขย่าอย่างแรงโดยใช้เครื่อง vortex mixture เป็นเวลา 7 min ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 °C ทำการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง และทำการสกัดโดยใช้เวลา 5 min นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 315 nm

จากนั้นเปลี่ยนตัวทำละลายเป็นเฮกเซน แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 314 nm หาปริมาณน้ำมันโดยการนำไปเทียบในกราฟมาตรฐาน และนำมาหาค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับตามสมการที่ 1.3 ถึง 1.7

2.4.8 การศึกษาค่าไอโอดีน (Iodine value หรือ I.V.)

1. ปิเปตสารละลายลิปิดที่ได้จากการสกัดมา 5 g ลงในขวดรูปชมพู่ แล้วปิเปต ICl เติมลงไป 20 ml ปิดฝาขวดแล้วตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 1 ชั่วโมง โดยเขย่าบางเป็นบางครั้ง ในขณะเดียวกันก็เตรียมขวดเปรียบเทียบ ซึ่งใช้คลอโรฟอร์ม 10 ml แทนสารละลายลิปิด

2. เมื่อครบ 1 ชั่วโมง เทสารละลายลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 ml ปิเปต KI ลงในขวดรูปชมพู่ 20 ml แล้วปิดให้สนิททันทีด้วยพาราฟิลม์ เขย่าให้เข้ากันจนเกิดก๊าซ I_2 ขึ้น

3. ไตเตรทหาปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้นด้วย $Na_2S_2O_3$ เมื่อไตเตรทจนได้สารละลายสีเหลืองซีด (เทียบกับขวดเปรียบเทียบ) เติมน้ำแป้งลงไป 1 ml น้ำแป้งจะทำปฏิกิริยากับไอโอดีนได้สารละลายเป็นสีน้ำเงิน

4. ไตเตรทต่อจนสีน้ำเงินจางหายไป ระหว่างไตเตรทค่อยๆเติม $Na_2S_2O_3$ ทีละน้อยและต้องเขย่าแรง ๆ ตลอดเวลาเพื่อให้แน่ใจว่า I_2 ถูกดึงออกจากชั้นของคลอโรฟอร์มและทำปฏิกิริยาได้เต็มที่

5. บันทึกปริมาตรสารละลาย $Na_2S_2O_3$ ที่ใช้ในการไตเตรทขวดตัวอย่างและขวดเปรียบเทียบคำนวณหาค่า Iodine value

การคำนวณค่าไอโอดีน

$$\text{Iodine value} = \frac{1.27\,(B - A)}{g}$$

กำหนดให้

A = มิลลิลิตรของ 0.1 M $Na_2S_2O_3$ ที่ใช้ในการไตเตรทขวดตัวอย่าง

B = มิลลิลิตรของ 0.1 M $Na_2S_2O_3$ ที่ใช้ในการไตเตรทขวดเปรียบเทียบ

g = น้ำหนักลิปิด (g)

2.4.9 การศึกษาค่าเพอร์ออกไซด์ (Peroxide value; P.V.)

1. นำขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 ml ชั่งบนเครื่องชั่งหยาบ เติมน้ำมันตัวอย่างลงไปให้ได้ 1 g

2. เติมกรดแอซิติกเข้มข้นต่อคลอโรฟอร์ม (อัตราส่วน 3 ต่อ 2) ปริมาตร 20 ml เขย่าเบาๆ ให้เข้ากัน

3. เติมสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ ปริมาตร 1 g เขย่าเบาๆ ให้เข้ากัน

4. เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 25 ml และเติมอินดิเคเตอร์น้ำแป้งสุก ความเข้มข้น 0.5 % ปริมาตร 2 ml เขย่าเบาๆ ให้เข้ากัน นำไปเก็บในที่มืดนาน 5 – 10 min จากนั้นนำไปไตเตรทด้วยสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต ความเข้มข้น 0.05 N จนกระทั่งสีน้ำเงินจางหายไป จดปริมาตรของสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟตที่ใช้ไป เพื่อนำไปใช้คำนวณต่อไป

5. ในส่วนของชุดการทดลองเปรียบเทียบ (blank) ทำการทดลองโดยเติมกรดแอซิติกเข้มข้นต่อคลอโรฟอร์ม (อัตราส่วน 3 ต่อ 2) ปริมาตร 20 ml เติมสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ 1 g เขย่าเบาๆ ให้เข้ากัน เติมน้ำกลั่นปริมาตร 25 ml เขย่าเบาๆ ให้เข้ากัน หลังจากนั้นเติมอินดิเคเตอร์น้ำแป้งสุกความเข้มข้น 0.5 % ปริมาตร 2 ml เขย่าเบาๆ ให้เข้ากัน นำไปไตเตรทด้วยสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟตความเข้มข้น 0.05 N จนกระทั่งสีน้ำเงินจางหายไป จดปริมาตรของสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟตที่ใช้ เพื่อนำไปใช้คำนวณต่อไป

การคำนวณค่าเพอร์ออกไซด์

$$\text{Peroxide value} = \frac{(A - B)}{\text{mass of sample (g)}}$$

กำหนดให้

A = ค่าที่ได้จากการ ไตเตรท ตัวอย่าง

B = ค่าที่ได้จากการ ไตเตรท Blank

N = ค่า Normality ของ สารละลาย Sodium thiosulphate

ผลการวิจัย และวิจารณ์ผลการวิจัย

รำข้าว มีลักษณะเป็นเยื่อสีทองที่ห่อหุ้มเมล็ดข้าว ซึ่งมีส่วนที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงที่สุดของข้าว อุดมไปด้วยวิตามินอีและโอรีซานอล [11] ซึ่งโอรีซานอลที่พบในน้ำมันรำข้าวมีชื่อเรียกเฉพาะว่า แกมมาโอรีซานอลเป็นกลุ่มสารประกอบเอสเทอร์ระหว่างกรดเฟอรูลิก (ferulic acid) และสเตียรอล (sterol) หรือไตรเทอร์พีนแอลกอฮอล์ (triterpene alcohols) มีฤทธิ์ในการลดระดับคอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ รำข้าวสามารถนำมาสกัดเป็นน้ำมันรำข้าวโดยกระบวนการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ซึ่งเป็นวิธีที่ได้รับความนิยมมากที่สุด [4]

3.1 การศึกษาความชื้นของรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ

รำข้าวมีคุณสมบัติในการดูดซับ (absorption) และคาย (desorption) ความชื้น ดังนั้นความชื้นในรำข้าวจึงเปลี่ยนแปลงไปตามค่าความชื้นสัมพัทธ์ (relative humidity) ของบรรยากาศและความชื้นของข้าวเปลือกก่อนที่จะนำมาผ่านกระบวนการสีข้าว [15] เนื่องจากความชื้นนั้นเป็นอุปสรรคในการสกัดที่ทำให้ไม่สามารถนำพาสารที่ต้องการออกมาได้ ดั้งนั้นจึงต้องทำการศึกษาความชื้นของวัตถุดิบรำข้าว ก่อนที่จะนำไปทำการสกัดสารที่สนใจ โดยนำรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่ใช้ศึกษา ได้แก่ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 มาชั่งน้ำหนักที่แน่นอนแล้วนำไปอบด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 ^{0}C จนกว่าน้ำหนักจะคงที่แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นดังสมการ 3.1 ซึ่งผลการทดลองที่ได้แสดงดังตาราง 3.1

$$\% \text{ ความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (g)} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (g)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (g)}} \times 100 \qquad (3.1)$$

ตาราง 3.1 แสดงค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นของรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่าง ๆ

สายพันธุ์รำข้าว	ความชื้น (%)
กข 6	9.54
สันป่าตอง 1	10.29
แม่โจ้ 2	9.32
แม่โจ้ 4	9.34
แม่โจ้ 6	9.64

จากตาราง 3.1 เป็นความชื้นที่มีอยู่ในตัวอย่างของรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ พบว่ามีค่าร้อยละของความชื้นเฉลี่ยที่ใกล้เคียงกันอยู่ในช่วงร้อยละ 9 – 11 (โดยน้ำหนักแห้ง) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Lilitchan และคณะ [27] ได้ศึกษาวิธีการสกัดสำหรับวิเคราะห์หา total lipid และแกมมาโอรีซานอลในรำข้าว พบว่าความชื้นของรำข้าวอยู่ในช่วงร้อยละ 8 - 11.0 ซึ่งความชื้นขึ้นอยู่กับความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ (relative humidity)

เมื่อทำการศึกษาความชื้นของรำข้าวในทุกสายพันธุ์ที่ได้ศึกษาแล้ว ขั้นตอนต่อไปคือการหาเปอร์เซ็นต์น้ำมันรวม (โดยน้ำหนักแห้ง) ที่มีอยู่ในรำข้าว

3.2 การหาเปอร์เซ็นต์น้ำมันรวม (โดยน้ำหนักแห้ง) ในรำข้าวด้วยวิธี soxhlet method ของรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ

การหาค่าเปอร์เซ็นต์น้ำมันรวมน้ำมันรวมของรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 ทำโดยนำรำข้าวแห้งของแต่ละสายพันธุ์มาบดให้ละเอียด แล้วนำไปสกัดด้วย Soxhlet Extraction Apparatus โดยใช้เฮกเซน และปิโตรเลียม เป็นตัวทำละลาย จากนั้นนำมาคำนวณดังสมการ 3.2 ผลที่ได้แสดงดังตาราง 3.2

$$\text{น้ำมันรวม (\% dry weight)} = \frac{\text{น้ำหนักน้ำมัน}}{\text{น้ำหนักแห้งของตัวอย่าง (g)}} \times 100 \qquad (3.2)$$

ตาราง 3.2 เปอร์เซ็นต์น้ำมันรวมจากรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ เมื่อสกัดด้วยเฮกเซนและปิโตรเลียมอีเทอร์

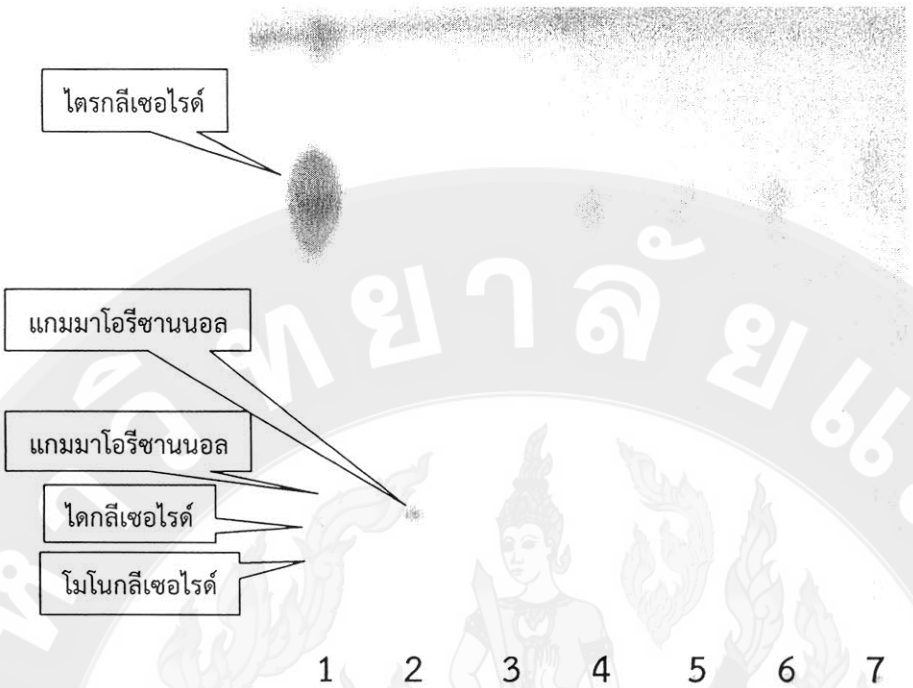
สายพันธุ์รำข้าว	น้ำมันรวม (%dry weight)	
	ตัวทำละลายเฮกเซน	ตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์
กข 6	24.18	12.22
สันป่าตอง 1	19.84	32.62
แม่โจ้ 2	28.20	40.70
แม่โจ้ 4	24.16	23.51
แม่โจ้ 6	30.78	18.00

จากตาราง พบว่าเปอร์เซ็นต์น้ำมันรวม (โดยน้ำหนักแห้ง) ของรำข้าวสาย ที่สกัดด้วยตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์จากรำข้าวสายพันธุ์ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 มีปริมาณ 12.22%, 32.62%, 40.70%, 23.51% และ 18.00% ตามลำดับ และเปอร์เซ็นต์น้ำมันรวม (โดยน้ำหนักแห้ง) ของรำข้าว ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนจากรำข้าวสายพันธุ์ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 มีปริมาณ 24.18%, 19.84%, 28.20%, 24.16% และ 30.78 % ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับนพมาศ 2545 [41] ซึ่งได้ทำการสำรวจปริมาณแกมมาโอรีซานอลและวิตามินอี ในรำข้าวไทยพันธุ์ต่างๆ พบว่าปริมาณน้ำมันในรำข้าวอยู่ในช่วงร้อยละ 12.61 – 22.73

เมื่อหาเปอร์เซ็นต์น้ำมันรวม (โดยนำหนักแห้ง) ของรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ ที่ศึกษาแล้วจากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าว

3.3 การวิเคราะห์หาแกมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบผิวบาง (TLC)

การวิเคราะห์หาแกมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบผิวบาง (TLC) เป็นการวิเคราะห์เบื้องต้นหาแกมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าวดิบโดยเปรียบเทียบกับน้ำมันรำข้าวที่มีขายทั่วไปในท้องตลาด โดยมีแกมมาโอรีซานอลเป็นสารมาตรฐาน และทดสอบความเป็นน้ำมันเบื้องต้น ผลการทดลองแสดงดัง รูป 3.1



รูป 3.1 ผลการวิเคราะห์ TLC ของน้ำมันรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่าง ๆ
(เฟสเคลื่อนที่ คือ เฮกเซน 45 ml : เอทิลอะซีเตต 5 ml : กรดอะซิติก 1 ml)

หมายเหตุ :

เลนที่ 1 น้ำมันรำข้าว
เลนที่ 2 สารมาตรฐานแกมมาโอรีซานอล
เลนที่ 3 ตัวอย่างน้ำมันรำข้าวดิบพันธุ์ กข 6
เลนที่ 4 ตัวอย่างน้ำมันรำข้าวดิบพันธุ์ สันป่าตอง 1
เลนที่ 5 ตัวอย่างน้ำมันรำข้าวดิบพันธุ์ แม่โจ้ 2
เลนที่ 6 ตัวอย่างน้ำมันรำข้าวดิบพันธุ์ แม่โจ้ 4
เลนที่ 7 ตัวอย่างน้ำมันรำข้าวดิบพันธุ์ แม่โจ้ 6

จากการวิเคราะห์หาองค์ประกอบของตัวอย่างของน้ำมันรำข้าวดิบจากข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ ด้วยเทคนิค TLC โดยทำการเปรียบเทียบน้ำมันรำข้าวและสารมาตรฐานแกมมาโอรีซานอล โดยจุดที่ปรากฏบนแผ่น TLC ที่เฟสเคลื่อนที่ มีความสูงที่ใกล้เคียงกัน ถือว่าเป็นสารตัวเดียวกัน ซึ่งเห็นได้ว่าในน้ำมันรำข้าวจากท้องตลาดมีส่วนประกอบของ โมโนกลีเซอไรด์ ไดกลีเซอไรด์ ไตรกลีเซอไรด์ และแกมมาโอรีซานอล ส่วนน้ำมันรำข้าวดิบที่สกัดได้ประกอบไปด้วย โมโนกลีเซอไรด์ ไดกลีเซอไรด์ และไตรกลีเซอไรด์ แต่ปรากฏจุดของแกมมาโอรีซานอลที่ไม่เด่นชัดมากอาจเนื่องจากตัวอย่างน้ำมันรำข้าวดิบมีปริมาณแกมมาโอรีซานอลค่อนข้างต่ำ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องทำการวิเคราะห์แกมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าวดิบด้วยเทคนิคอื่นต่อไป เช่น งานวิจัยของ Promote และคณะ [36] ได้ทำการศึกษาปริมาณแกมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าวโดยใช้เทคนิค UV – VIS spectrophotometerและ

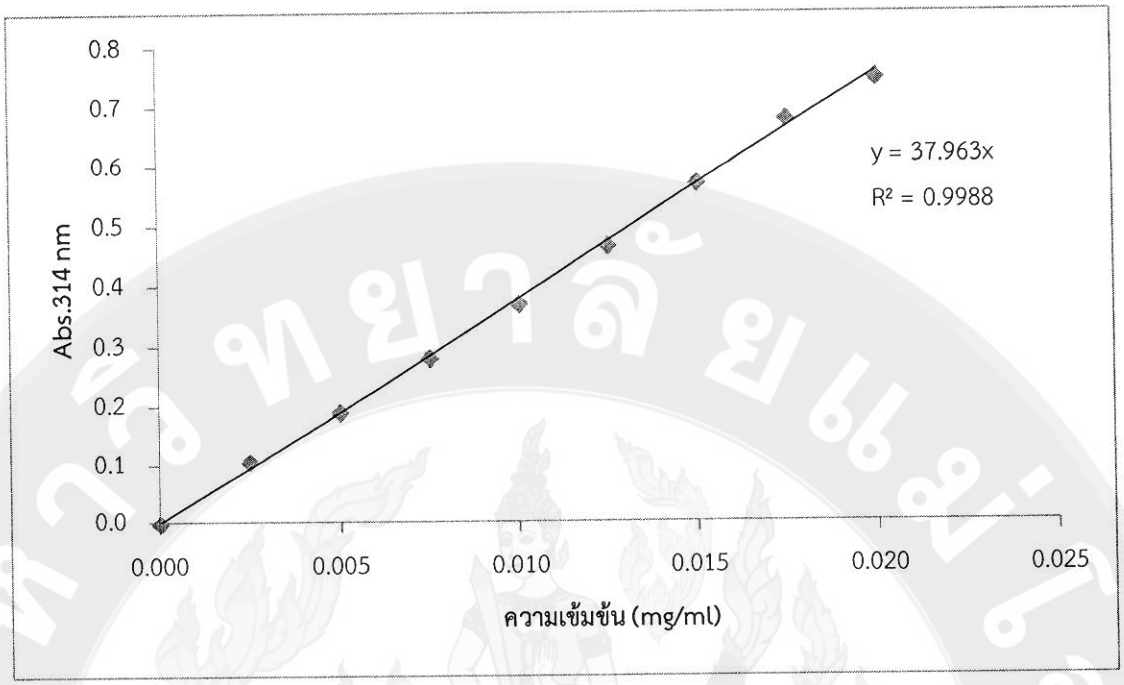
งานวิจัย Vanessa และคณะ [39] ใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูงในการวิเคราะห์หาแกมมาโอรีซานอลในรำข้าว ในการวิจัยนี้ได้ใช้ทั้งเทคนิค UV – VIS spectrophotometer ในการวิเคราะห์หาปริมาณแกมมาโอรีซานอลในตัวอย่างน้ำมันรำข้าวดิบสายพันธุ์ต่าง ๆ และวิเคราะห์หาอนุพันธุ์แกมมาโอรีซานอลในรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง

3.4 การวิเคราะห์หาปริมาณแกมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ ด้วยเทคนิค UV – VIS spectrophotometer

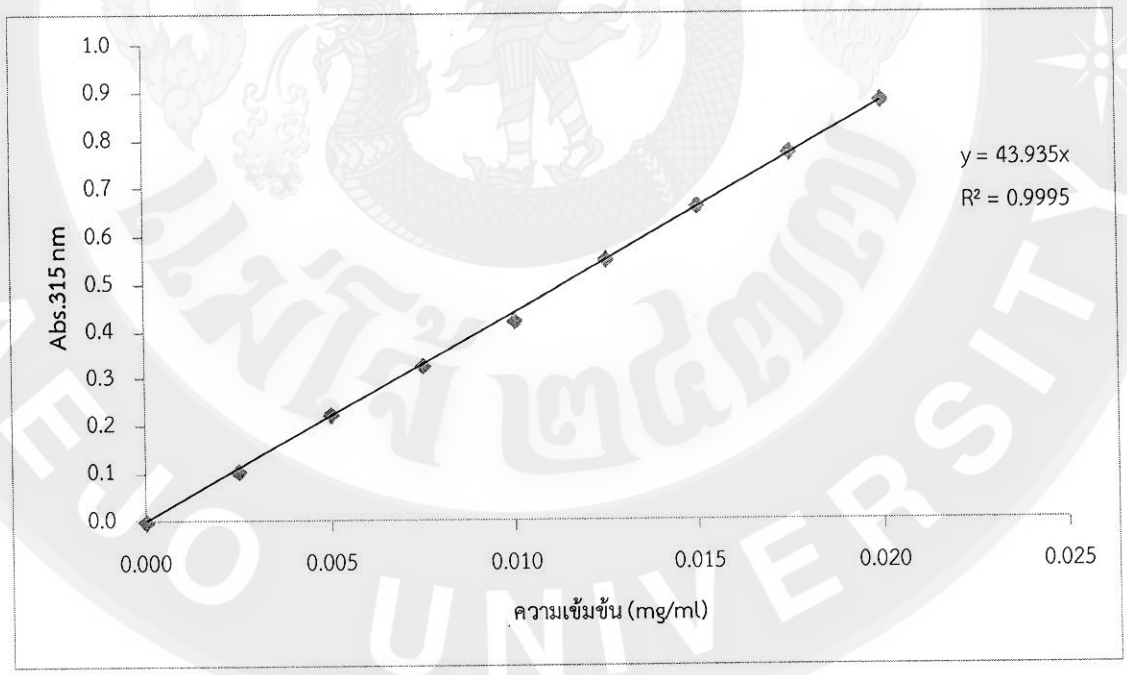
เทคนิค UV – VIS spectrophotometer เป็นเทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์สาร โดยใช้แสงในช่วง Ultraviolet (UV ความยาวคลื่น 100 - 380 nm) และช่วง Visible (ความยาวคลื่น 380-700 nm) ของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้ามาใช้ในการวิเคราะห์ [30] สารมาตรฐานแกมมาโอรีซานอลมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (maximum adsorption) มีความยาวคลื่น 231, 291 และ 315 nm [27] ดังนั้นจึงสามารถวิเคราะห์หาปริมาณแกมมาโอรีซานอลในเชิงคุณภาพและปริมาณด้วยเทคนิค UV – VIS spectrophotometer ได้

3.4.1 กราฟมาตรฐานแกมมาโอรีซานอลที่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ

การสร้างกราฟมาตรฐานนั้นนับว่าเป็นวิธีการวิเคราะห์เชิงปริมาณที่ได้รับความนิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย สามารถทำได้โดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แล้วนำไปวัดค่าการความยาวคลื่นที่ดูดกลืนแสงสูงสุด โดยเทียบกับ blank และนำผลที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ทำการวัด ในการทดลองนี้ได้สร้างกราฟมาตรฐานแกมมาโอรีซานอลที่ละลายในตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ เฮกเซน และปิโตรเลียมอีเทอร์ โดยวัดที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ 314 และ 315 nm [27] ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดสำหรับการวิเคราะห์แกมมาโอรีซานอลในตัวทำละลายแต่ละชนิด ผลการศึกษาแสดงดัง รูป 3.2



รูป 3.2 กราฟมาตรฐานแกมมาโอรีซานอลที่วิเคราะห์โดยในตัวทำละลายอินทรีย์ (ก) เฮกเซน

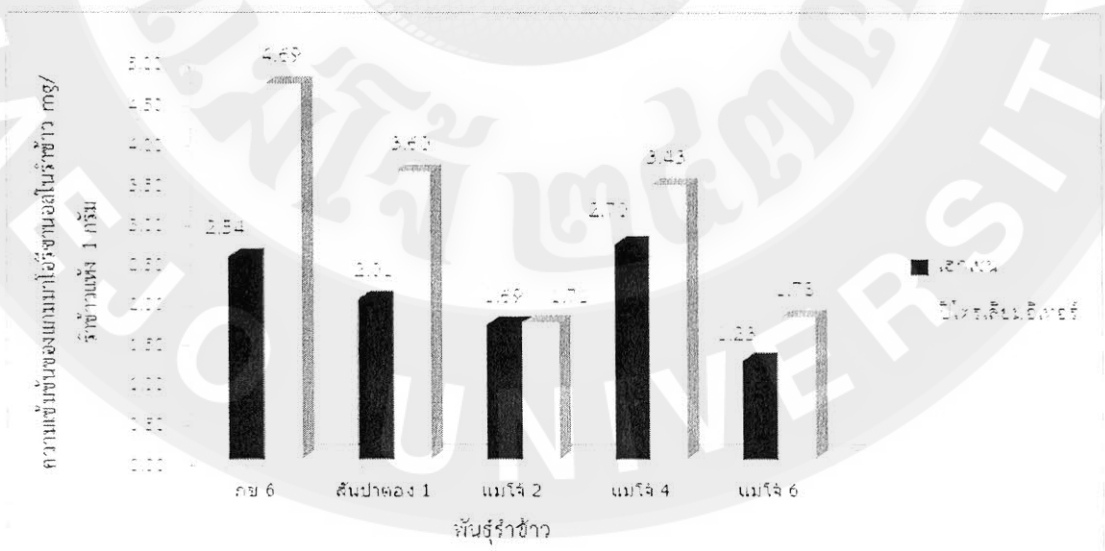


รูป 3.2 กราฟมาตรฐานแกมมาโอรีซานอลที่วิเคราะห์โดยในตัวทำละลายอินทรีย์ (ข) ปิโตรเลียมอีเทอร์

กราฟมาตรฐานแกมมาโอรีซานอลและสมการเส้นตรงที่ได้จากการวิเคราะห์สารมาตรฐานแกมมาโอรีซานอลที่ละลายในตัวทำละลายอิทรีย์ชนิดต่างๆ ที่ได้นี้ถูกนำไปใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าวดิบสายพันธุ์ต่างๆ ด้วยเทคนิค UV – VIS spectrophotometer ในขั้นตอนต่อไป

3.4.2 การศึกษาอิทธิพลของตัวทำละลายต่อปริมาณแกมมาโอรีซานอลที่มีอยู่ในน้ำมันรำข้าวดิบจากรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่ทำการสกัดด้วยการเขย่า

การศึกษาอิทธิพลของตัวทำละลายต่อปริมาณแกมมาโอรีซานอลที่มีอยู่ในน้ำมันรำข้าวดิบจากรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 โดยการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent) 2 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน และปิโตรเลียมอีเทอร์ มาทำการสกัดที่อุณหภูมิห้อง เขย่าโดยใช้เครื่อง vortex mixture เป็นเวลา 15 นาที ได้สารละลายน้ำมันรำข้าวดิบที่มีลักษณะเป็นสีเหลืองใส จากนั้นนำส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณแกมมาโอรีซานอลที่มีอยู่ในด้วยเครื่อง UV – VIS spectrophotometer โดยใช้ความยาวคลื่นที่แกมมาโอรีซานอลสามารถดูดกลืนได้สูงที่สุด คือ 314 และ 315 nm สำหรับแกมมาโอรีซานอลที่ละลายในเฮกเซน และปิโตรเลียมอีเทอร์ ตามลำดับ และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลโดยได้ผลการทดลองแสดงดัง รูป 3.3



รูป 3.3 ความเข้มข้นของแกมมาโอรีซานอลที่มีอยู่ในน้ำมันรำข้าวดิบจากข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและปิโตรเลียมอีเทอร์

จากรูป 3.3 พบว่า น้ำมันรำข้าวดิบจากข้าวเหนียวทุกสายพันธุ์ที่สกัดด้วยปิโตรลียมอีเทอร์มีปริมาณของแกมมาโอรีซานอลมากกว่าเมื่อทำการสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เนื่องจากการปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นตัวทำละลายผสมของพวกไฮโดรคาร์บอนหลายชนิด ได้แก่ เฮกเซน เฮปเทน เป็นต้น จึงสามารถสกัดออกมาได้มากกว่าเมื่อใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นตัวทำละลาย ดังนั้นตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันรำข้าวดิบและมีปริมาณแกมมาโอรีซานอลในปริมาณสูง คือ ปิโตรเลียมอีเทอร์

3.4.3 การวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซนอลในน้ำมันรำข้าวดิบจากข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ ด้วยวิธี soxhlet method

การหาปริมาณน้ำมันทั้งหมดในรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 โดยการนำรำข้าวแต่ละสายพันธุ์ที่อบแล้วไปสกัดเอาน้ำมันออกด้วยเทคนิค soxhlet method ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 2 ชนิด คือ เฮกเซน และปิโตรเลียมอีเทอร์ ซึ่งแกมมาโอรีซานอลจะละลายอยู่ในน้ำมันที่สกัดออกมาได้ สามารถวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลผลแสดงดังตาราง 3.3

ตาราง 3.3 ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าวดิบจากข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่าง ๆ (โดยน้ำหนักแห้ง) วิธี soxhlet method ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและปิโตรเลียมอีเทอร์

สายพันธุ์รำข้าว	แกมมาโอรีซานอลในน้ำมัน (%w/w)	
	ตัวทำละลายเฮกเซน	ตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์
กข 6	0.087	0.129
สันป่าตอง 1	0.065	0.127
แม่โจ้ 2	0.050	0.059
แม่โจ้ 4	0.068	0.072
แม่โจ้ 6	0.071	0.075

จากตาราง 3.3 พบว่า ปริมาณแกมมาโอรีซานอลที่มีในน้ำมันรำข้าวสายพันธุ์ ที่สกัดด้วยวิธี soxhlet method ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนมีปริมาณ 0.087, 0.065, 0.050, 0.068 และ 0.071 %w/w ตามลำดับ และปริมาณแกมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 ที่สกัดด้วยตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์มี

ปริมาณ 0.129, 0.127, 0.059, 0.072 และ 0.075 %w/w ตามลำดับ ซึ่งผลที่ได้นั้นสอดคล้องกับการศึกษาของ Krishna และคณะ [37] ที่ได้ศึกษาปริมาณแกมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าวที่สกัดโดยใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลายจากรำข้าวของอินเดีย 18 ชนิด พบว่า อยู่ในช่วงร้อยละ 1.63 – 2.72 ในน้ำมันดิบ

จากการศึกษาการศึกษาอิทธิพลของตัวทำละลายต่อปริมาณแกมมาโอรีซานอลที่มีอยู่ในน้ำมันรำข้าวดิบจากรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ ที่ทำการสกัดโดยการเขย่า และการวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซนอลในน้ำมันรำข้าวดิบจากข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ ด้วยวิธี soxhlet method พบว่าปิโตรเลียมสามารถสกัดแกมมาโอรีซานอลได้ในปริมาณมากกว่าเฮกเซน

3.5 การวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอล โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (adsorption coefficient; K) ของแกมมาโอรีซานอลระหว่างชั้นของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้สกัดกับชั้นของรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ

ในการวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 จะต้องมีการสกัดน้ำมันออกมาจากรำข้าวก่อน แล้วจึงนำไปวิเคราะห์หาปริมาณแกมมาโอรีซานอลที่มีอยู่ในน้ำมันที่สกัดได้ ซึ่งในแต่ละขั้นตอนของการสกัดน้ำมันออกจากรำข้าวได้หมดจะต้องใช้ตัวทำละลายในปริมาณมากและใช้เวลาในการสกัดนาน ดังนั้นการใช้หลักการ solid – liquid extraction โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับซึ่งเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว และประหยัดกว่าวิธีดั้งเดิม ซึ่งในการทดลองจะใช้สมการทางคณิตศาสตร์จากสมการที่ 1.3 และ 1.7 มาประยุกต์ใช้ในการหาปริมาณแกมมาโอรีซานอลทั้งหมดในรำข้าวเหนียวทุกสายพันธุ์

3.5.1 ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (adsorption coefficient; K) ของแกมมาโอรีซานอลระหว่างชั้นของเฮกเซนกับรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ เมื่อเฮกเซนเป็นตัวทำละลาย

การสกัดโดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับในการสกัดรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 ที่อบแห้งแล้ว โดยทำการสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ซึ่งใช้ปริมาณตัวทำละลายปริมาณ 1 เท่าและ 2 เท่า แล้ววิเคราะห์หาปริมาณแกมมาโอรีซานอลที่มีอยู่ในน้ำมันรำข้าวดิบแต่ละสายพันธุ์ ด้วยเครื่อง UV – VIS spectrophotometer ในการทดลองทำการสกัดที่เวลาต่างๆ ได้แก่ 3, 5, และ 7 นาที

3.5.1.1 ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (adsorption coefficient; K) ของแกมมาโอรีซา-นอลระหว่างชั้นของเฮกเซนกับรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ ที่สกัดเป็นเวลา 3 นาที

จากการสกัดรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 ด้วยเฮกเซนปริมาณ 1 เท่าและ 2 เท่า แล้วนำมาสกัดเป็นเวลา 3 นาที ได้น้ำมันมีลักษณะเป็นสีเหลืองใสจากนั้นนำส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณแกมมาโอรีซานอลที่มีอยู่ในน้ำมันรำข้าวดิบแต่ละสายพันธุ์ ด้วยเครื่อง UV – VIS spectrophotometer โดยใช้ความยาวคลื่นที่สารมาตรฐานแกมมาโอรีซานอลสามารถดูดกลืนได้สูงที่สุด คือ 314 nm นำผลที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานแกมมาโอรีซานอลที่ละลายในเฮกเซน ผลที่ได้แสดงดังตาราง 3.4

ตาราง 3.4 ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในชั้นของเฮกเซนเมื่อใช้รำข้าว 1 กรัม ต่อ เฮกเซน 4 ml และ 8 mlที่เวลาสกัด 3 นาที

สายพันธุ์รำข้าว	เฮกเซน 4 ml		เฮกเซน 8 ml	
	OD 314 nm	ปริมาณโอรีซานอล (mg), X_1	OD 314 nm	ปริมาณโอรีซานอล (mg), X_2
กข 6	0.138	1.454	0.072	1.517
สันป่าตอง 1	0.184	1.939	0.097	2.051
แม่โจ้ 2	0.087	0.917	0.044	0.927
แม่โจ้ 4	0.092	0.969	0.057	1.201
แม่โจ้ 6	0.113	1.191	0.060	1.264

Note : dilution 100 เท่า

จากตาราง 3.4 สามารถนำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่าค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (K) และปริมาณแกมมาโอรีซานอล (Y) จากสมการที่ 1.3 และสมการที่ 1.7 ตามลำดับ แล้วนำมาคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในรำข้าว (โดยน้ำหนักแห้ง) และคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าว (โดยน้ำหนักแห้ง) ผลที่ได้แสดงดังตาราง 3.5

ตาราง 3.5 การหาปริมาณแกมมาโอรีซานอลในรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับที่เวลาสกัด 3 นาที

สายพันธุ์รำข้าว	ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (K)	ปริมาณแกมมาโอรีซานอล (Y) (mg)	แกมมาโอรีซานอลในรำข้าวแห้ง 1 กรัม (mg)	แกมมาโอรีซานอลในรำข้าว (%w/w)	แกมมาโอรีซานอลในน้ำมัน (%w/w)
กข 6	2.67	1.59	1.76	0.176	0.73
สันป่าตอง 1	2.01	2.18	2.43	0.243	1.22
แม่โจ้ 2	9.97	0.94	1.04	0.104	0.37
แม่โจ้ 4	0.40	1.58	1.74	0.174	0.72
แม่โจ้ 6	1.87	1.35	1.49	0.149	0.48

3.5.1.2 ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (adsorption coefficient; K) ของแกมมาโอรีซานอลระหว่างชั้นของเฮกเซนกับรำข้าวสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่สกัดเป็นเวลา 5 นาที

จากการสกัดรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 ด้วยเฮกเซนปริมาณ 1 เท่าและ 2 เท่า แล้วนำมาสกัดเป็นเวลา 5 นาที ได้น้ำมันมีลักษณะเป็นสีเหลืองใสจากนั้นนำส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณแกมมาโอรีซานอลที่มีอยู่ในน้ำมันรำข้าวดิบแต่ละสายพันธุ์ ด้วยเครื่อง UV – VIS spectrophotometer โดยใช้ความยาวคลื่นที่สารมาตรฐานแกมมาโอรีซานอลสามารถดูดกลืนได้สูงที่สุด คือ 314 nm นำผลที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานแกมมาโอรีซานอลที่ละลายในเฮกเซน ผลที่ได้แสดงดังตาราง 3.6

ตาราง 3.6 ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในชั้นของเฮกเซนเมื่อใช้รำข้าว 1 กรัม ต่อ เฮกเซน 4 ml และ 8 ml ที่เวลาสกัด 5 นาที

สายพันธุ์รำข้าว	เฮกเซน 4 ml		เฮกเซน 8 ml	
	OD 314 nm	ปริมาณโอรีซานอล (mg), X_1	OD 314 nm	ปริมาณโอรีซานอล (mg), X_2
กข 6	0.139	1.464	0.086	1.812
สันป่าตอง 1	0.225	2.371	0.117	2.466
แม่โจ้ 2	0.091	0.959	0.046	0.969
แม่โจ้ 4	0.163	1.717	0.083	1.749
แม่โจ้ 6	0.124	1.306	0.064	1.348

Note : dilution 100 เท่า

จากตาราง 3.6 สามารถนำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่าค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (K) และปริมาณแกมมาโอรีซานอล (Y) จากสมการที่ 1.3 และสมการที่ 1.7 ตามลำดับ แล้วนำมาคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในรำข้าว (โดยน้ำหนักแห้ง) และคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าว (โดยน้ำหนักแห้ง) ผลที่ได้แสดงดังตาราง 3.7

ตาราง 3.7 การหาปริมาณแกมมาโอรีซานอลในรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับที่เวลาสกัด 5 นาที

สายพันธุ์รำข้าว	ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (K)	ปริมาณแกมมาโอรีซานอล (Y) (mg)	แกมมาโอรีซานอลในรำข้าวแห้ง 1 กรัม (mg)	แกมมาโอรีซานอลในรำข้าว (%w/w)	แกมมาโอรีซานอลในน้ำมัน (%w/w)
กข 6	0.40	2.38	2.63	0.263	1.08
สันป่าตอง 1	2.98	2.57	2.87	0.287	1.45
แม่โจ้ 2	11.42	0.98	1.08	0.108	0.38
แม่โจ้ 4	6.81	1.78	1.96	0.196	0.81
แม่โจ้ 6	3.89	1.39	1.54	0.154	0.50

3.5.1.3 ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (adsorption coefficient; K) ของแกมมาโอรีซา-นอลระหว่างชั้นของเฮกเซนกับรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ ที่สกัดเป็นเวลา 7 นาที

จากการสกัดรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 ด้วยเฮกเซนปริมาณ 1 เท่า และ 2 เท่า แล้วนำมาสกัดเป็นเวลา 7 นาที ได้น้ำมันมีลักษณะเป็นสีเหลืองใสจากนั้นนำส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณแกมมาโอรีซานอลที่มีอยู่ในน้ำมันรำข้าวดิบแต่ละสายพันธุ์ด้วยเครื่อง UV – VIS spectrophotometer โดยใช้ความยาวคลื่นที่สารมาตรฐานแกมมาโอรีซานอลสามารถดูดกลืนได้สูงที่สุด คือ 314 nm นำผลที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานแกมมาโอรีซานอลที่ละลายในเฮกเซน ผลที่ได้แสดงดังตาราง 3.8

ตาราง 3.8 ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในชั้นของเฮกเซนเมื่อใช้รำข้าว 1 กรัม ต่อ เฮกเซน 4 ml และ 8 ml ที่เวลาสกัด 7 นาที

สายพันธุ์รำข้าว	เฮกเซน 4 ml		เฮกเซน 8 ml	
	OD 314 nm	ปริมาณโอรีซานอล (mg), X_1	OD 314 nm	ปริมาณโอรีซานอล (mg), X_2
กข 6	0.153	1.612	0.092	1.939
สันป่าตอง 1	0.233	2.455	0.121	2.550
แม่โจ้ 2	0.097	1.022	0.049	1.032
แม่โจ้ 4	0.193	2.034	0.098	2.065
แม่โจ้ 6	0.127	1.338	0.071	1.496

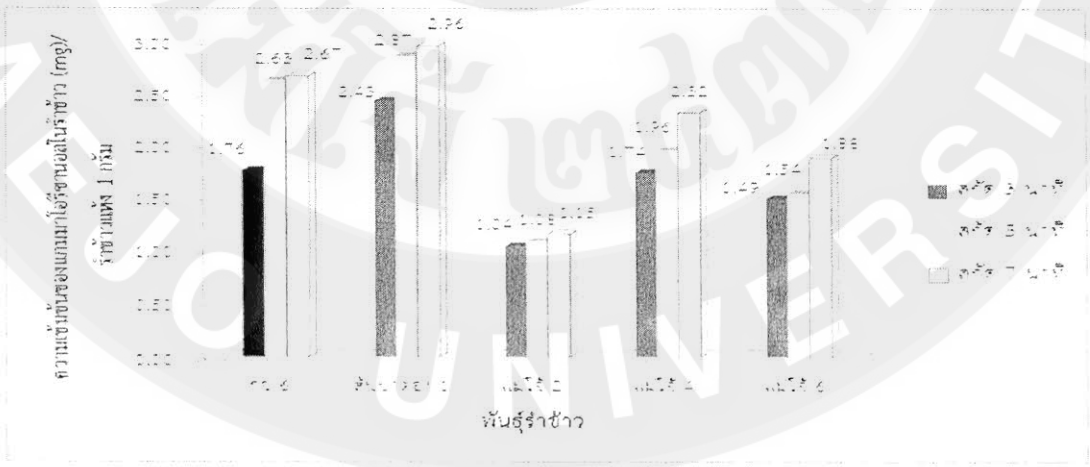
Note : dilution 100 เท่า

จากตาราง 3.8 สามารถนำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่าค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (K) และปริมาณแกมมาโอรีซานอล (Y) จากสมการที่ 1.3 และสมการที่ 1.7 ตามลำดับ แล้วนำมาคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในรำข้าว (โดยน้ำหนักแห้ง) และคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าว (โดยน้ำหนักแห้ง) ผลที่ได้แสดงดังตาราง 3.9

ตาราง 3.9 การหาปริมาณแกมมาโอรีซานอลในรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับที่เวลาสกัด 7 นาที

สายพันธุ์รำข้าว	ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (K)	ปริมาณแกมมาโอรีซานอล (Y) (mg)	แกมมาโอรีซานอลในรำข้าวแห้ง 1 กรัม (mg)	แกมมาโอรีซานอลในรำข้าว (%w/w)	แกมมาโอรีซานอลในน้ำมัน (%w/w)
กข 6	0.49	2.43	2.67	0.267	1.10
สันป่าตอง 1	3.18	2.65	2.96	0.296	1.49
แม่โจ้ 2	14.19	1.04	1.15	0.115	0.41
แม่โจ้ 4	7.70	2.10	2.32	0.232	0.96
แม่โจ้ 6	0.92	1.70	1.88	0.188	0.61

จากการวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอล โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (adsorption coefficient; K) ของแกมมาโอรีซานอลระหว่างชั้นของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้สกัดกับชั้นของรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนโดยการใช้เวลาในการสกัดนาน 3, 5 และ 7 นาที เมื่อนำค่าวัดการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณจากสมการที่ 1.3 แล้วคำนวณหาปริมาณแกมมาโอรีซานอลในรำข้าวแห้ง 1 กรัม (mg) จะได้ผลการทดลองดัง รูป3.4



รูป 3.4 ความเข้มข้นของแกมมาโอรีซานอลที่มีอยู่ในรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนที่ใช้เวลาในการสกัดที่เวลาต่าง

3.5.2 ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (adsorption coefficient; K) ของแกมมาโอรีซานอลระหว่างชั้นของปิโตรเลียมอีเทอร์กับรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ เมื่อปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นตัวทำละลาย

การสกัดโดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับในการสกัดรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 ที่อบแห้งแล้ว โดยทำการสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ซึ่งใช้ปริมาณตัวทำละลายปริมาณ 1 เท่าและ 2 เท่า แล้ววิเคราะห์หาปริมาณแกมมาโอรีซานอลที่มีอยู่ในน้ำมันรำข้าวดิบแต่ละสายพันธุ์ ด้วยเครื่อง UV – VIS spectrophotometer ในการทดลองจะทำการสกัดที่เวลาต่างๆ ได้แก่ 3, 5, และ 7 นาที

3.5.2.1 ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (adsorption coefficient; K) ของแกมมาโอรีซานอลระหว่างชั้นของปิโตรเลียมอีเทอร์กับรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ ที่สกัดเป็นเวลา 3 นาที

จากการสกัดรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 ด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ปริมาณ 1 เท่าและ 2 เท่า แล้วนำมาสกัดเป็นเวลา 3 นาที ได้น้ำมันมีลักษณะเป็นสีเหลืองใสจากนั้นนำส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณแกมมาโอรีซานอลที่มีอยู่ในน้ำมันรำข้าวดิบแต่ละสายพันธุ์ด้วยเครื่อง UV – VIS spectrophotometer โดยใช้ความยาวคลื่นที่สารมาตรฐานแกมมาโอรีซานอลสามารถดูดกลืนได้สูงที่สุด คือ 315 nm นำผลที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานแกมมาโอรีซานอลที่ละลายในเฮกเซน ผลที่ได้แสดงดังตาราง 3.10

ตาราง 3.10 ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในชั้นของปิโตรเลียมอีเทอร์เมื่อใช้รำข้าว 1 กรัมต่อปิโตรเลียมอีเทอร์ 4 ml และ 8 ml ที่เวลาสกัด 3 นาที

สายพันธุ์รำข้าว	ปิโตรเลียมอีเทอร์ 4 ml		ปิโตรเลียมอีเทอร์ 8 ml	
	OD 314 nm	ปริมาณโอรีซานอล (mg), X1	OD 314 nm	ปริมาณโอรีซานอล (mg), X2
กข 6	0.236	2.149	0.128	2.331
สันป่าตอง 1	0.297	2.704	0.152	2.768
แม่โจ้ 2	0.150	1.366	0.083	1.511
แม่โจ้ 4	0.158	1.438	0.098	1.784
แม่โจ้ 6	0.161	1.466	0.091	1.657

Note : dilution 100 เท่า

จากตาราง 3.10 สามารถนำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่าค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (K) และปริมาณแกมมาโอรีซานอล (Y) จากสมการที่ 1.3 และสมการที่ 1.7 ตามลำดับ แล้วนำมาคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในรำข้าว (โดยน้ำหนักแห้ง) และคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าว (โดยน้ำหนักแห้ง) ผลที่ได้แสดงดังตาราง 3.11

ตาราง 3.11 การหาปริมาณแกมมาโอรีซานอลในรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับที่เวลาสกัด 3 นาที

สายพันธุ์รำข้าว	ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (K)	ปริมาณแกมมาโอรีซานอล (Y) (mg)	แกมมาโอรีซานอลในรำข้าวแห้ง 1 กรัม (mg)	แกมมาโอรีซานอลในรำข้าว (%w/w)	แกมมาโอรีซานอลในน้ำมัน (%w/w)
กข 6	1.34	2.55	2.82	0.282	2.31
สันป่าตอง 1	4.97	2.84	3.17	0.317	0.97
แม่โจ้ 2	1.05	1.69	1.86	0.186	0.46
แม่โจ้ 4	0.39	2.35	2.59	0.259	1.10
แม่โจ้ 6	0.84	1.90	2.10	0.210	1.17

3.5.2.2 ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (adsorption coefficient; K) ของแกมมาโอรีซานอลระหว่างชั้นของปิโตรเลียมอีเทอร์กับรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ ที่สกัดเป็นเวลา 5 นาที

จากการสกัดรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 ด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ปริมาณ 1 เท่าและ 2 เท่า แล้วนำมาสกัดเป็นเวลา 5 นาที ได้น้ำมันมีลักษณะเป็นสีเหลืองใสจากนั้นนำส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณแกมมาโอรีซานอลที่มีอยู่ในน้ำมันรำข้าวดิบแต่ละสายพันธุ์ด้วยเครื่อง UV – VIS spectrophotometer โดยใช้ความยาวคลื่นที่สารมาตรฐานแกมมาโอรีซานอลสามารถดูดกลืนได้สูงที่สุด คือ 315 nm นำผลที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานแกมมาโอรีซานอลที่ละลายในเฮกเซน ผลที่ได้แสดงดังตาราง 3.12

ตาราง 3.12 ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในชั้นของปิโตรเลียมอีเทอร์เมื่อใช้รำข้าว 1 กรัมต่อปิโตรเลียมอีเทอร์ 4 ml และ 8 mlที่เวลาสกัด 5 นาที

สายพันธุ์รำข้าว	ปิโตรเลียมอีเทอร์ 4 ml		ปิโตรเลียมอีเทอร์ 8 ml	
	OD 314 nm	ปริมาณโอรีซานอล (mg), X1	OD 314 nm	ปริมาณโอรีซานอล (mg), X2
กข 6	0.245	2.230	0.132	2.404
สันป่าตอง 1	0.299	2.722	0.167	3.041
แม่โจ้ 2	0.139	1.266	0.083	1.511
แม่โจ้ 4	0.161	1.466	0.100	1.821
แม่โจ้ 6	0.209	1.903	0.107	1.948

Note : dilution 100 เท่า

จากตาราง 3.12 สามารถนำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่าค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (K) และปริมาณแกมมาโอรีซานอล (Y) จากสมการที่ 1.3 และสมการที่ 1.7 ตามลำดับ แล้วนำมาคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในรำข้าว (โดยน้ำหนักแห้ง) และคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าว (โดยน้ำหนักแห้ง) ผลที่ได้แสดงดังตาราง 3.13

ตาราง 3.13 การหาปริมาณแกมมาโอรีซานอลในรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับที่เวลาสกัด 5 นาที

สายพันธุ์รำข้าว	ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (K)	ปริมาณแกมมาโอรีซานอล (Y) (mg)	แกมมาโอรีซานอลในรำข้าวแห้ง 1 กรัม (mg)	แกมมาโอรีซานอลในรำข้าว (%w/w)	แกมมาโอรีซานอลในน้ำมัน (%w/w)
กข 6	1.51	2.60	2.87	0.287	2.35
สันป่าตอง 1	0.95	3.44	3.84	0.384	1.18
แม่โจ้ 2	0.52	1.87	2.06	0.206	0.51
แม่โจ้ 4	0.39	2.40	2.65	0.265	1.13
แม่โจ้ 6	4.90	2.00	2.21	0.221	1.23

3.5.2.3 ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (adsorption coefficient; K) ของแกมมาโอรีซา-นอลระหว่างชั้นของปิโตรเลียมอีเทอร์กับรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ ที่สกัดเป็นเวลา 7 นาที

จากการสกัดรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 ด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ปริมาณ 1 เท่าและ 2 เท่า แล้วนำมาสกัดเป็นเวลา 7 นาที ได้น้ำมันมีลักษณะเป็นสีเหลืองใสจากนั้นนำส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณแกมมาโอรีซานอลที่มีอยู่ในน้ำมันรำข้าวดิบแต่ละสายพันธุ์ด้วยเครื่อง UV – VIS spectrophotometer โดยใช้ความยาวคลื่นที่สารมาตรฐานแกมมาโอรีซานอลสามารถดูดกลืนได้สูงที่สุด คือ 315 nm นำผลที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานแกมมาโอรีซานอลที่ละลายในเฮกเซน ผลที่ได้แสดงดังตาราง 3.14

ตาราง 3.14 ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในชั้นของปิโตรเลียมอีเทอร์เมื่อใช้รำข้าว 1 กรัมต่อปิโตรเลียมอีเทอร์ 4 ml และ 8 mlที่เวลาสกัด 7 นาที

สายพันธุ์รำข้าว	ปิโตรเลียมอีเทอร์ 4 ml		ปิโตรเลียมอีเทอร์ 8 ml	
	OD 314 nm	ปริมาณโอรีซานอล (mg), X1	OD 314 nm	ปริมาณโอรีซานอล (mg), X2
กข 6	0.263	2.394	0.143	2.604
สันป่าตอง 1	0.301	2.740	0.179	3.259
แม่โจ้ 2	0.135	1.229	0.086	1.566
แม่โจ้ 4	0.202	1.839	0.117	2.130
แม่โจ้ 6	0.205	1.866	0.113	2.056

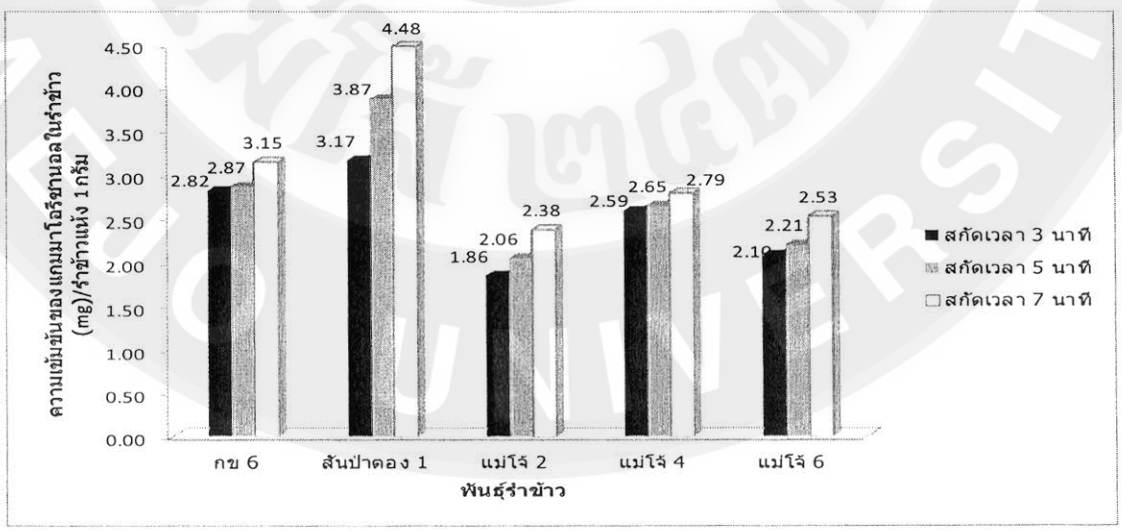
Note : dilution 100 เท่า

จากตาราง 3.14 สามารถนำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่าค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (K) และปริมาณแกมมาโอรีซานอล (Y) จากสมการที่ 1.3 และสมการที่ 1.7 ตามลำดับ แล้วนำมาคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในรำข้าว (โดยน้ำหนักแห้ง) และคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าว (โดยน้ำหนักแห้ง) ผลที่ได้แสดงดังตาราง 3.15

ตาราง 3.15 การหาปริมาณแกมมาโอรีซานอลในรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูด-ซับที่เวลาสกัด 7 นาที

สายพันธุ์รำข้าว	ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (K)	ปริมาณแกมมาโอรีซานอล (Y) (mg)	แกมมาโอรีซานอลในรำข้าวแห้ง 1 กรัม (mg)	แกมมาโอรีซานอลในรำข้าว (%w/w)	แกมมาโอรีซานอลในน้ำมัน (%w/w)
กข 6	1.31	2.85	3.15	0.315	2.58
สันป่าตอง 1	0.54	4.02	4.48	0.448	1.37
แม่โจ้ 2	0.33	2.16	2.38	0.238	0.58
แม่โจ้ 4	0.87	2.53	2.79	0.279	1.19
แม่โจ้ 6	1.10	2.29	2.53	0.259	1.44

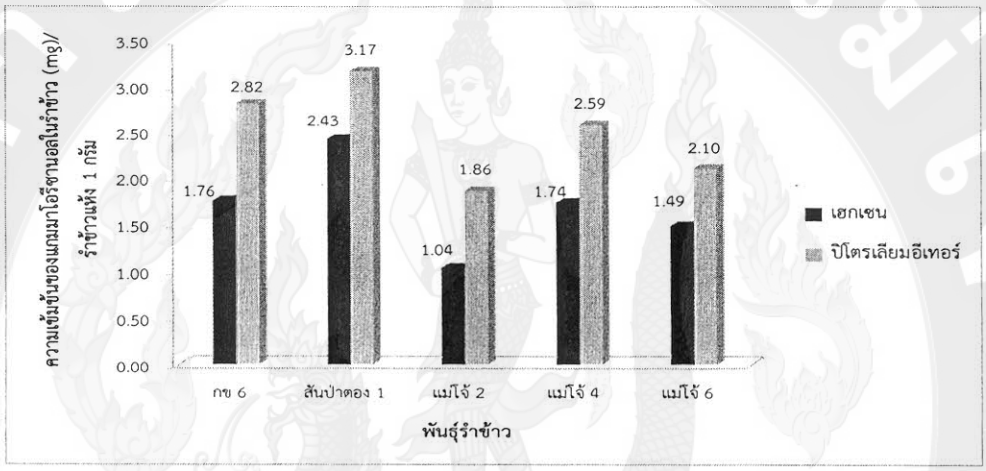
จากการวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอล โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (adsorption coefficient; K) ของแกมมาโอรีซานอลระหว่างชั้นของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้สกัดกับชั้นของรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 ด้วยตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์โดยการใช้เวลาในการสกัดนาน 3, 5 และ 7 นาที เมื่อนำค่าวัดการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณจากสมการที่ 1.3 แล้วคำนวณหาปริมาณแกมมาโอรีซานอลในรำข้าวแห้ง 1 กรัม (mg) จะได้ผลการทดลองดังรูป 3.5



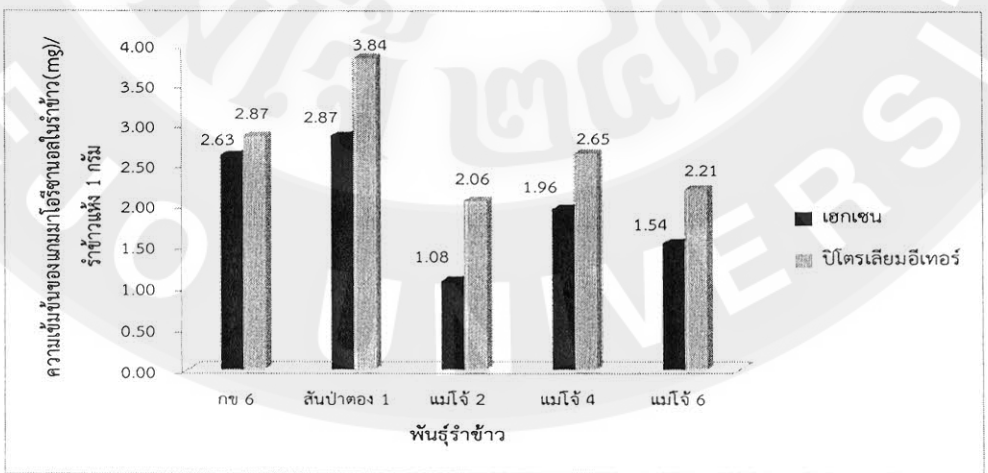
รูป 3.5 ความเข้มข้นของแกมมาโอรีซานอลที่มีอยู่ในรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่สกัดด้วยตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ที่ใช้เวลาในการสกัดที่เวลาต่าง ๆ

จากรูป 3.4 และรูป 3.5 พบว่า การสกัดแกมมาโอรีซานอลในรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและปิโตรเลียมอีเทอร์ที่เวลาต่างๆ พบว่าเมื่อทำการสกัดในเวลาที่มากขึ้นความเข้มข้นของแกมมาโอรีซานอลในรำข้าวสายพันธุ์ๆ ก็เพิ่มมากขึ้นด้วย เนื่องจากเวลาในการสกัดที่เหมาะสมตัวทำละลายก็จะสามารถสกัดสารที่สนใจออกมาได้มากที่สุด

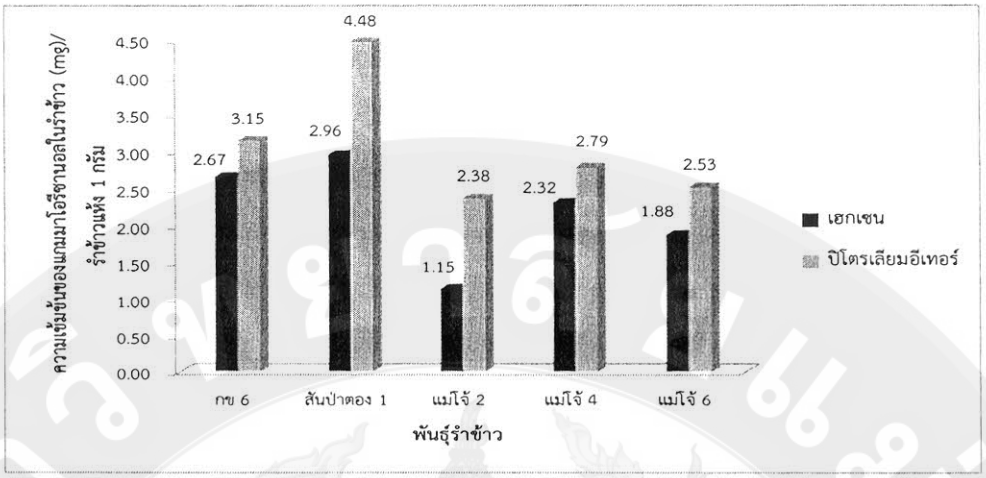
เมื่อนำผลการสกัดของแต่ละที่เวลาต่างๆ ของตัวทำละลายเฮกเซนและปิโตรเลียมอีเทอร์ของรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ ทั้ง 5 สายพันธุ์มาทำการเปรียบเทียบปริมาณของแกมมาโอรี-ซานอลในรำข้าวแห้ง 1 กรัมโดยแผนภูมิรูปภาพ แสดงดังรูป 3.6 ดังนี้



รูป 3.6 ความเข้มข้นของแกมมาโอรีซานอลที่มีอยู่ในรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและปิโตรเลียมอีเทอร์ (ก) ใช้เวลาในการสกัด 3 นาที



รูป 3.6 ความเข้มข้นของแกมมาโอรีซานอลที่มีอยู่ในรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและปิโตรเลียมอีเทอร์ (ข) ใช้เวลาในการสกัด 5 นาที



รูป 3.6 ความเข้มข้นของแกมมาโอรีซานอลที่มีอยู่ในรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและปิโตรเลียมอีเทอร์ (ค) ใช้เวลาในการสกัด 7 นาที

จากรูป 3.6 แสดงผลการเปรียบเทียบการสกัดแกมมาโอรีซานอลในรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่าง ๆ ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและปิโตรเลียมอีเทอร์ที่เวลาต่างๆ พบว่าปิโตรเลียมอีเทอร์สามารถสกัดปริมาณที่มากกว่าเฮกเซน ผลที่ได้นั้นมีค่าที่สอดคล้องกับการศึกษาอิทธิพลของตัวทำละลายต่อปริมาณแกมมาโอรีซานอลที่มีอยู่ในน้ำมันรำข้าวดิบจากรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ

การวิเคราะห์หาปริมาณแกมมาโอรีซานอลที่สกัดจากรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ คือ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 โดยการใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับของแกมมาโอรีซานอลระหว่างชั้นของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้สกัดกับชั้นของรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ พบว่า เวลาในการสกัดและตัวทำละลายอินทรีย์มีผลต่อการสกัดและวิเคราะห์หาปริมาณแกมมาโอรีซานอล นอกจากนี้ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในรำข้าวเหนียวแต่ละสายพันธุ์นั้นมีค่าที่แตกต่างกันซึ่งขึ้นอยู่กับลักษณะทางพันธุกรรมของข้าวแต่ละชนิดที่ได้รับการยืนยันผลงานวิจัยจาก Lerma และคณะ [33] ที่ได้ศึกษาข้อมูลต่าง ๆ ของน้ำมันรำข้าว เช่น คุณสมบัติ โครงสร้าง วิธีการสกัดน้ำมันรำข้าวโดยวิธีการต่างๆ เป็นต้น ซึ่งจากการศึกษาพบว่าปริมาณความเข้มข้นของแกมมาโอรีซานอล tocopherols และ tocotrienols จากรำข้าวและน้ำมันรำข้าวนั้นจะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์และบริเวณพื้นที่การปลูก

3.6 การเปรียบเทียบปริมาณของแกมมาโอรีซานอลที่ได้จากวิธี Soxhlet method กับการใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ

จากการวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 โดยใช้วิธี Soxhlet method กับการใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ทั้ง 2 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน และปิโตรเลียมอีเทอร์ แสดงผลดังตาราง 3.16 และตาราง 3.17 ตามลำดับ

ตาราง 3.16 ปริมาณแกมมาโอรีซานอลที่ได้จาก Soxhlet method กับการใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน

สายพันธุ์รำข้าว	แกมมาโอรีซานอลในน้ำมัน (%W/W)			
	Soxhlet method	adsorption coefficient method		
		3 นาที	5 นาที	7 นาที
กข 6	0.086	0.73	1.08	1.10
สันป่าตอง 1	0.065	1.22	1.45	1.49
แม่โจ้ 2	0.050	0.37	0.38	0.41
แม่โจ้ 4	0.068	0.72	0.81	0.96
แม่โจ้ 6	0.071	0.48	0.50	0.61

ตาราง 3.17 ปริมาณแกมมาโอรีซานอลที่ได้จาก Soxhlet method กับการใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับที่สกัดด้วยตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์

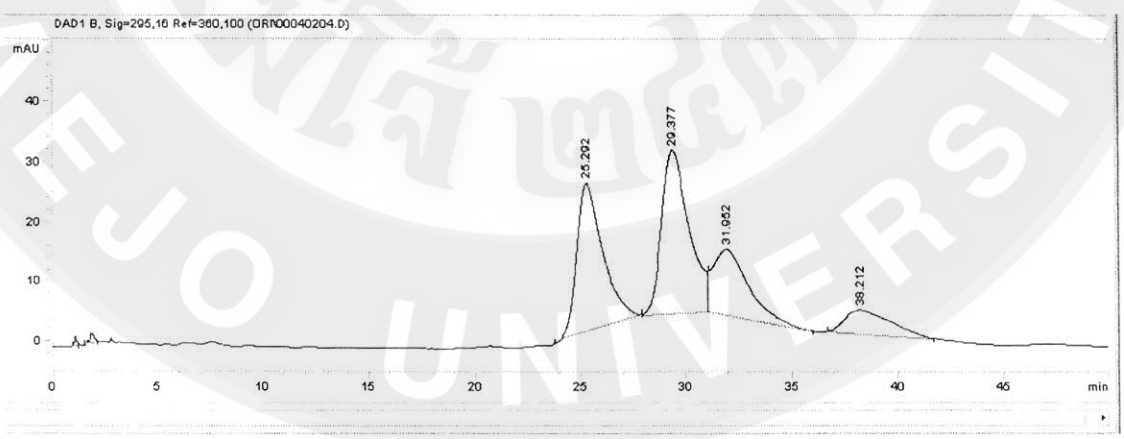
สายพันธุ์รำข้าว	แกมมาโอรีซานอลในน้ำมัน (%W/W)			
	Soxhlet method	adsorption coefficient method		
		3 นาที	5 นาที	7 นาที
กข 6	0.129	2.31	2.35	2.58
สันป่าตอง 1	0.127	0.97	1.18	1.37
แม่โจ้ 2	0.059	0.46	0.51	0.58
แม่โจ้ 4	0.072	1.10	1.13	1.19
แม่โจ้ 6	0.075	1.17	1.23	1.44

จากตาราง 3.16 และตาราง 3.17 พบว่าเมื่อทำการเปรียบเทียบปริมาณเปอร์เซ็นต์แกมมาโอรีซานอลในน้ำมันนั้นที่ได้จากทั้ง 2 วิธี จะพบว่าการสกัดด้วยค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ จะได้ปริมาณที่มากกว่าวิธีการสกัดด้วย Soxhlet method ซึ่งในการสกัดจะเป็นการสกัดแบบต่อเนื่องต้องใช้ปริมาณตัวทำละลายมากและเวลาที่ใช้ในการสกัดนานกว่าค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ

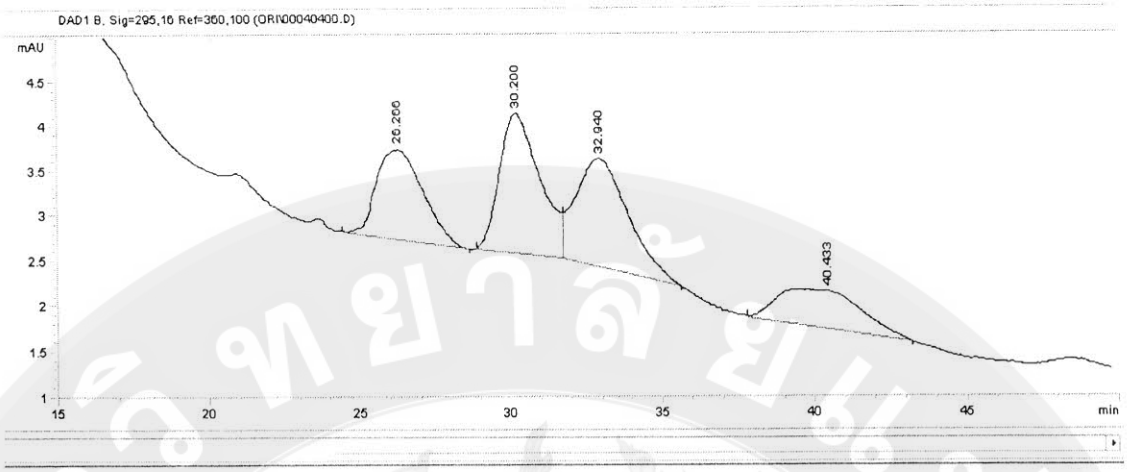
ดังนั้นในการวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของแกมมาโอรีซานอลในตัวอย่างน้ำมันรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ ตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุดในการวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของแกมมาโอรีซานอลได้ปริมาณสูงได้แก่ ปิโตรเลียมอีเทอร์ และวิธีที่เหมาะสมในการใช้วิเคราะห์ความเข้มข้นของแกมมาโอรีซานอลได้ปริมาณสูง คือ การสกัดด้วยค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ ที่ใช้ปริมาณตัวอย่าง ตัวทำละลาย และเวลาการสกัดที่น้อยกว่า Soxhlet method

3.7 การวิเคราะห์องค์ประกอบแกมมาโอรีซานอลด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง

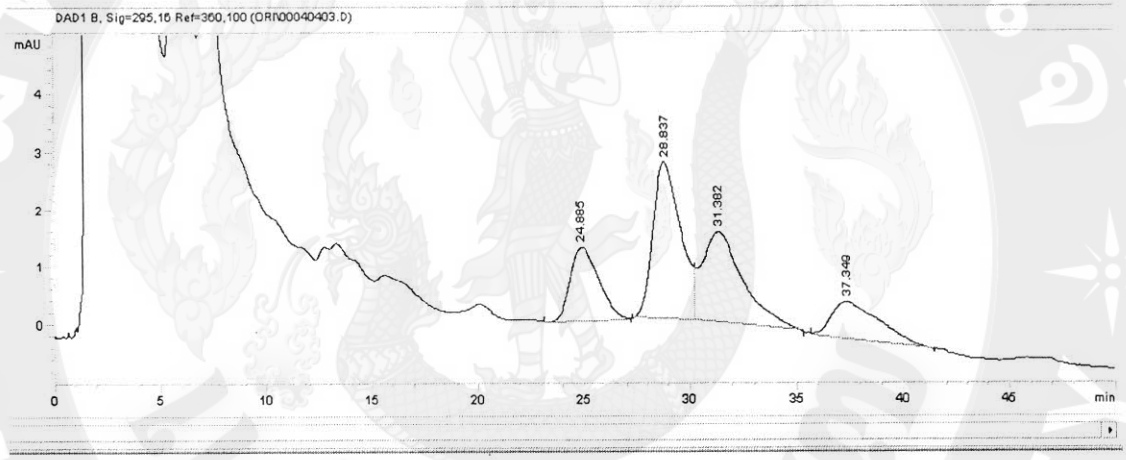
การวิเคราะห์แกมมาโอรีซานอลโดยการนำตัวอย่างโดยการนำตัวอย่างน้ำมันรำข้าวดิบสายพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 โดยค่าสัมประสิทธิ์ในการสกัดและใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นตัวทำละลาย ทำการสกัดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 นาที โดยมีสารมาตรฐานแกมมาโอรีซานอลและน้ำมันรำข้าวที่มีแกมมาโอรีซานอลสูง 5,000 ppm เป็นตัวเปรียบเทียบ การศึกษาจะเน้นเฉพาะการแยกอนุพันธุ์ของแกมมาโอรีซานอล ซึ่งผลโครมาโทแกรมแสดงได้ดัง รูป 3.7 (ก) – (ช)



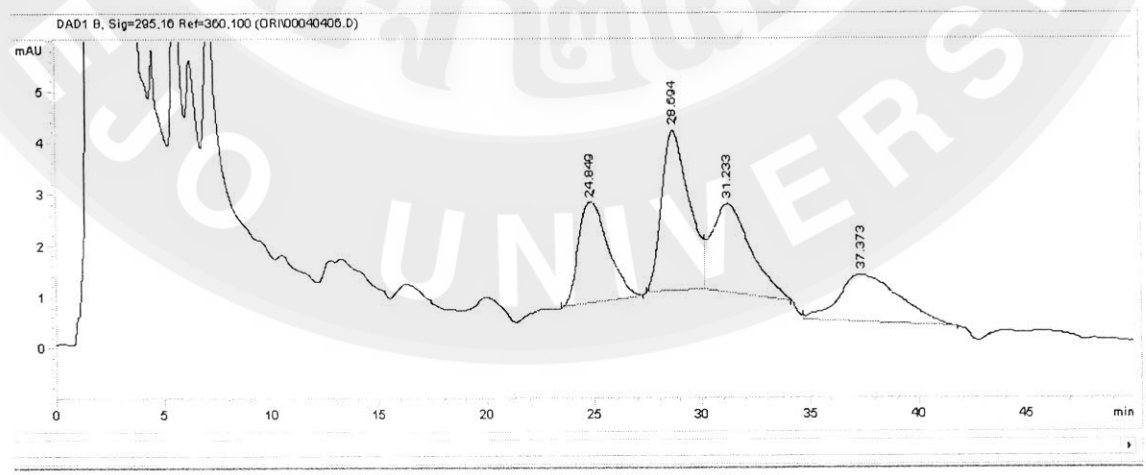
รูป 3.7 โครมาโทแกรมของ (ก) สารมาตรฐานแกมมาโอรีซานอล



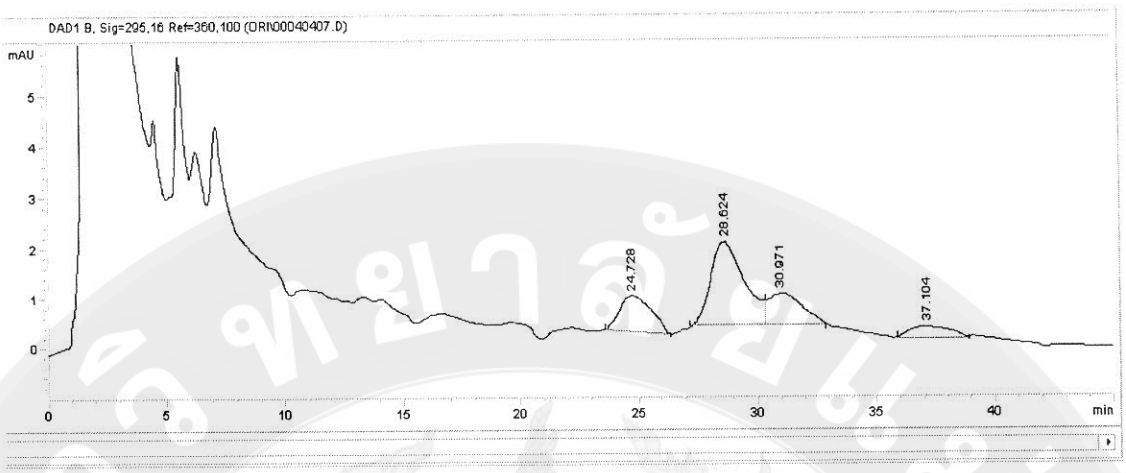
รูป 3.7 โครมาโทแกรมของ (ข) น้ำมันรำข้าวแอลฟาวัน



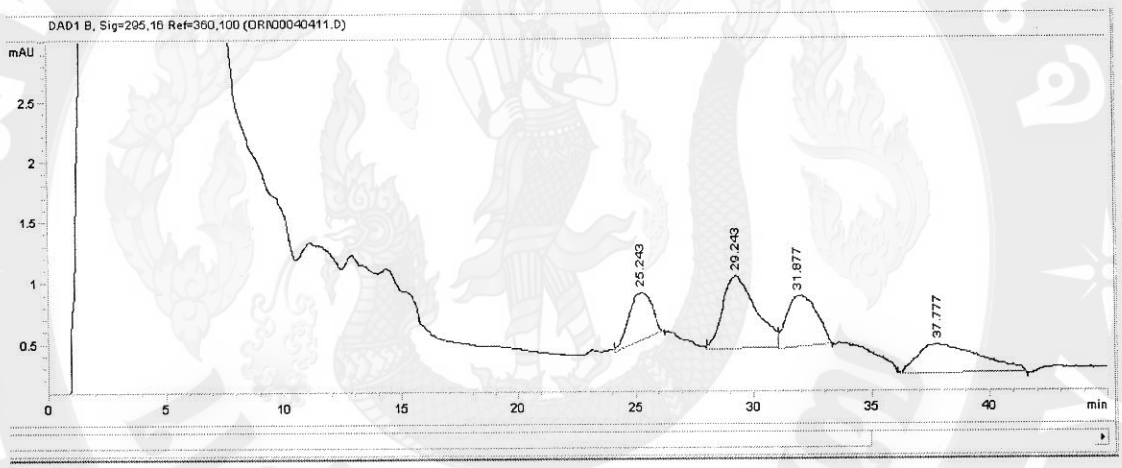
รูป 3.7 โครมาโทแกรมของ (ค) ตัวอย่างน้ำมันรำข้าวดิบพันธุ์กข 6



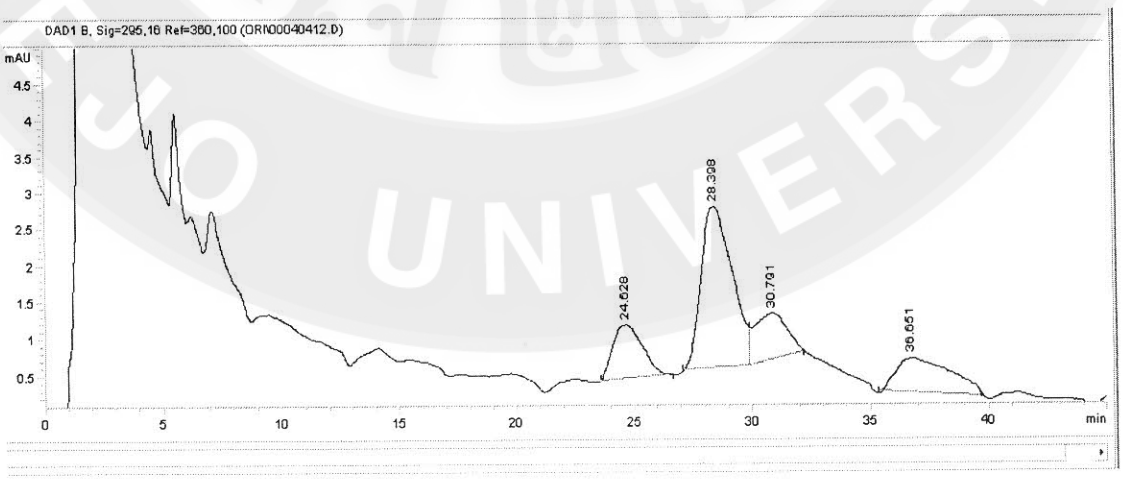
รูป 3.7 โครมาโทแกรมของ (ง) ตัวอย่างน้ำมันรำข้าวดิบพันธุ์สันป่าตอง 1



รูป 3.7 โครมาโทแกรมของ (จ) ตัวอย่างน้ำมันรำข้าวดิบพันธุ์แม่โจ้ 2

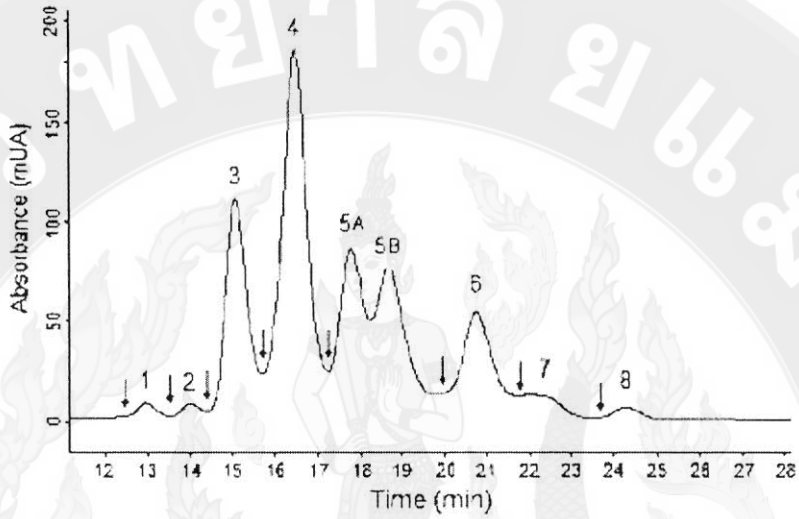


รูป 3.7 โครมาโทแกรมของ (ฉ) ตัวอย่างน้ำมันรำข้าวดิบพันธุ์แม่โจ้ 4



รูป 3.7 โครมาโทแกรมของ (ช) ตัวอย่างน้ำมันรำข้าวดิบพันธุ์แม่โจ้ 6

จากรูป 3.7 โครมาโทแกรมที่ได้มีลักษณะการแยกที่คล้ายคลึงการศึกษาของ Vanessa และคณะ [39] ที่ได้ใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูงในการวิเคราะห์แกมมาโอรีซานอลในรำข้าว ซึ่งมีรายละเอียดโครมาโทแกรมและลักษณะของโครมาโทรแกรมดัง รูป 3.8 และตาราง 3.18 ดังนี้



รูป 3.8 โครมาโทแกรมของ Gamma – Oryzanol ในตัวอย่างน้ำมันรำข้าวดิบที่นำมาสกัด [41]

ตาราง 3.18 องค์ประกอบของแกมมาโอรีซานอล [41]

Peak no.	Retention time (min)	Area	Compound
3	15.1	601	Cycloartenyl ferulate
4	16.5	615	24-Methylene Cycloartenyl ferulate
5A	17.8	575	Δ^7 - Campestenyl ferulate
5B	18.7	575	Campestenyl ferulate
6	20.8	589	Δ^7 - Sitostenyl ferulate
7	22.3	589	β – Sitostenyl ferulate
8	24.3	591	Sitostenyl ferulate

จากรายละเอียดโครมาโทแกรมและลักษณะของโครมาโทแกรมดัง รูป 3.8 และตาราง 3.17 นี้มีลักษณะที่คล้ายคลึงกับผลการทดลองที่ได้ซึ่งสามารถนำรายละเอียดที่ได้มาระบุสารประกอบอนุพันธุ์ของโอรีซานอลที่ปรากฏในโครมาโทรแกรมของผลการทดลอง และคำนวณร้อยละของปริมาณสารประกอบอนุพันธุ์ได้ดังตาราง 3.19

ตาราง 3.19 ค่าเวลาของการแยกและร้อยละปริมาณสารประกอบของสารมาตรฐานแกมมาโอรีซานอล ตัวอย่างน้ำมันรำข้าวแอลฟาวัน และตัวอย่างน้ำมันรำข้าว-ดิบของข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่าง ๆ

ตัวอย่าง	Retention time	Area	Compound	ร้อยละสัดส่วนของสารประกอบ
สารมาตรฐานโอรีซานอล	25.292	2155.1	24-Methylene Cycloartenyl ferulate	32.66
	29.377	2542.4	Δ^7 - Campestenyl ferulate	38.53
	31.952	1285.5	Campestenyl ferulate	19.48
	38.212	614.8	Δ^7 - Sitostenyl ferulate	9.32
น้ำมันรำข้าวแอลฟาวัน	26.266	110.1	24-Methylene Cycloartenyl ferulate	22.99
	30.200	146.4	Δ^7 - Campestenyl ferulate	30.57
	32.940	143.4	Campestenyl ferulate	29.94
	40.433	79.0	Δ^7 - Sitostenyl ferulate	16.50
กข 6	24.885	120.3	24-Methylene Cycloartenyl ferulate	17.85
	28.837	252.3	Δ^7 - Campestenyl ferulate	37.44
	31.382	200.6	Campestenyl ferulate	29.77
	37.349	100.7	Δ^7 - Sitostenyl ferulate	14.94
สันป่าตอง 1	24.849	190.9	24-Methylene Cycloartenyl ferulate	21.98
	28.694	278.0	Δ^7 - Campestenyl ferulate	32.01
	31.233	216.6	Campestenyl ferulate	24.94
	37.373	183.0	Δ^7 - Sitostenyl ferulate	21.07

ตาราง 3.19 ค่าเวลาของการแยกและร้อยละปริมาณสารประกอบของสารมาตรฐานแกมมาโอรีซานอล ตัวอย่างน้ำมันรำข้าวแอลฟาวัน และตัวอย่างน้ำมันรำ-ข้าวดิบของข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่าง ๆ (ต่อ)

ตัวอย่าง	Retention time	Area	Compound	ร้อยละสัดส่วนของสารประกอบ
แม่โจ้ 2	24.728	66.8	24-Methylene Cycloartenyl ferulate	20.66
	28.624	164.1	Δ^7 - Campestenyl ferulate	50.74
	30.971	61.5	Campestenyl ferulate	19.02
	37.104	31.0	Δ^7 - Sitostenyl ferulate	9.59
แม่โจ้ 4	25.243	27.8	24-Methylene Cycloartenyl ferulate	16.61
	29.243	58.6	Δ^7 - Campestenyl ferulate	35.00
	31.877	36.6	Campestenyl ferulate	21.86
	37.777	44.4	Δ^7 - Sitostenyl ferulate	26.52
แม่โจ้ 6	24.628	64.6	24-Methylene Cycloartenyl ferulate	16.36
	28.398	199.3	Δ^7 - Campestenyl ferulate	50.09
	30.791	59.6	Campestenyl ferulate	15.09
	36.651	71.4	Δ^7 - Sitostenyl ferulate	18.08

จากการศึกษาการวิเคราะห์แกมมาโอรีซานอลด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูงของสารมาตรฐานแกมมาโอรีซานอล ตัวอย่างน้ำมันรำข้าวแอลฟาวัน และตัวอย่างน้ำมันรำข้าวดิบของข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่าง ๆ มีค่าเวลาของการแยกที่ใกล้เคียงกันจึงสามารถสรุปได้ว่าสารประกอบอนุพันธุ์ที่แยกมาตามช่วงเวลาต่าง ๆ ที่ใกล้เคียงกันเป็นสารประกอบอนุพันธุ์เดียวกัน และเมื่อนำค่าเวลาของการแยกมาเปรียบเทียบค่าเวลาของการแยกจากการรายงานของ Vanessa และคณะ [39] จะพบว่ามีค่าของการแยกที่แตกต่างกัน เนื่องจากในการวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอล มีสภาวะการทดลองที่แตกต่างกัน เช่น ความดัน คอลัมน์ จึงทำให้ค่าเวลาของการแยกมีค่าที่แตกต่าง ลักษณะของพีคโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานแกมมาโอรีซานอล ตัวอย่างน้ำมันรำข้าวแอลฟาวัน และตัวอย่างน้ำมันรำข้าวดิบของข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่าง ๆ เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับลักษณะของพีคโครมาโทแกรมจากการรายงานของ Vanessa และคณะ [41] สามารถระบุได้ว่ามีอนุพันธุ์ของแกมมาโอรีซานอลทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่ 24-Methylene Cycloartenyl ferulate , Δ^7 - Campestenyl ferulate, Campestenyl ferulate, Δ^7 - Sitostenyl ferulate ซึ่งสามารถนำค่า area มาคำนวณปริมาณร้อยละของสารประกอบอนุพันธุ์ชนิดต่าง ๆ มีค่าเท่ากับ ร้อยละ 16.36 – 32.66, 30.57 – 50.74, 15.09 – 29.94 และ 9.32 – 26.52 ตามลำดับ

3.8 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำมัน โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (adsorption coefficient; K) ของน้ำมันระหว่างชั้นของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้สกัดกับชั้นของรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ

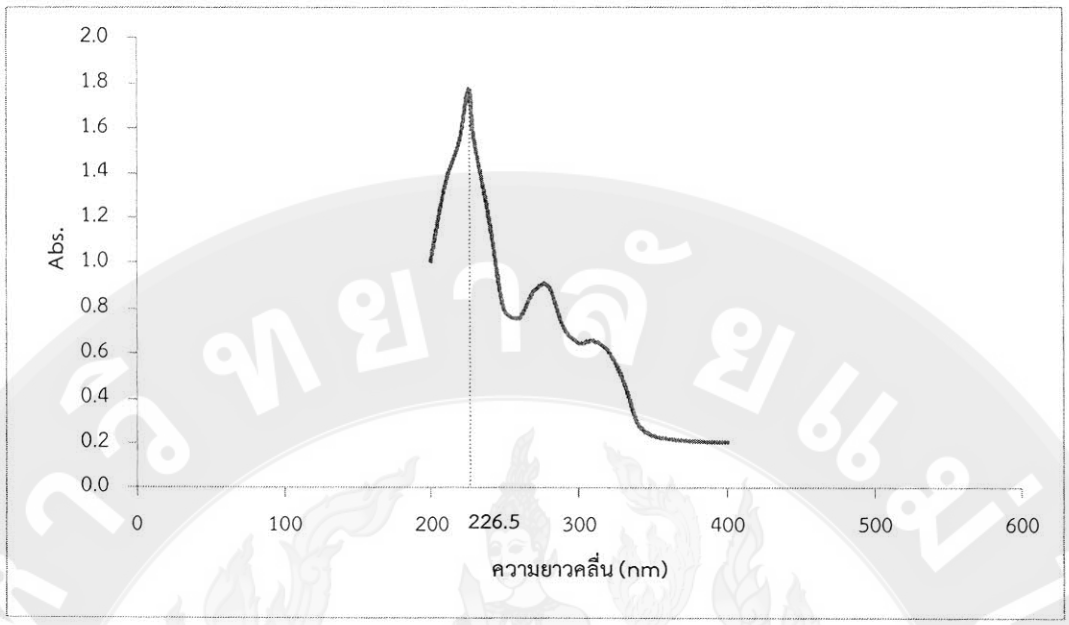
ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันในรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 จะต้องมีการสกัดน้ำมันออกมาจากรำข้าวก่อนโดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับแล้วจึงนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำมันที่มีอยู่ในรำข้าวเหนียวแต่ละสายพันธุ์ด้วยเทคนิค UV – VIS spectrophotometer แล้วจึงนำสมการทางคณิตศาสตร์มาประยุกต์ใช้ในการหาปริมาณน้ำมันทั้งหมดในรำข้าวเหนียวทุกสายพันธุ์

3.8.1 การศึกษาหาความยาวคลื่นสูงสุดของน้ำมันในรำข้าว

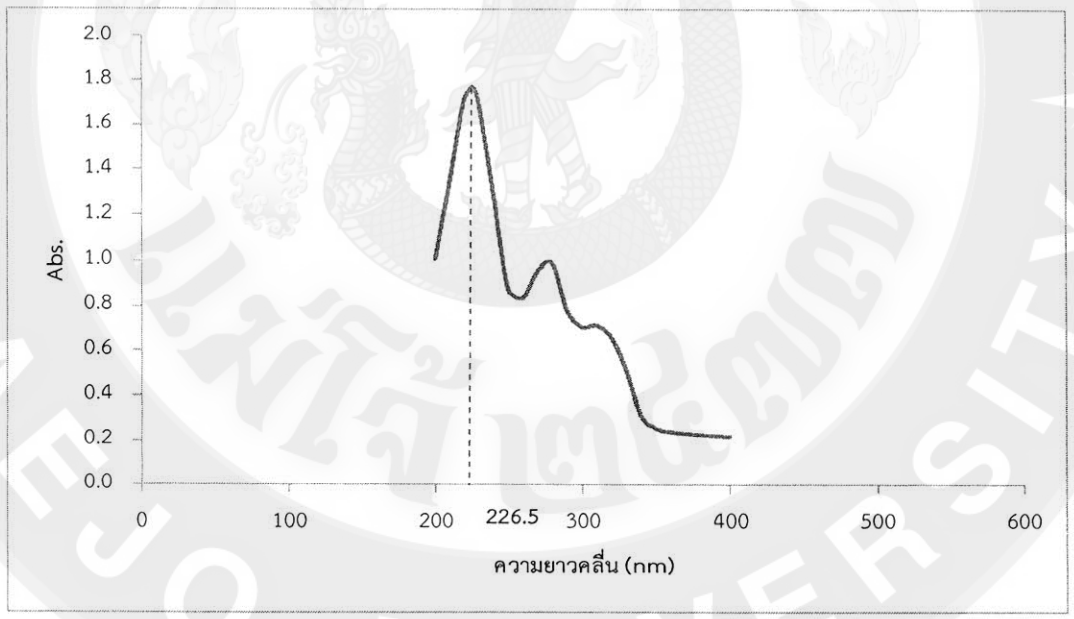
การทดลองนี้เป็นการวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันในรำข้าวข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่าง ๆ จะต้องมีการศึกษาความยาวคลื่นที่ดูดกลืนสูงสุดของน้ำมันที่ละลายในตัวทำละลายเพื่อการศึกษาเชิงปริมาณที่ถูกต้องและแม่นยำ ในการศึกษาหาความยาวคลื่นสูงสุดของน้ำมันในรำข้าวนี้ได้ใช้น้ำมันรำข้าวแอลฟาวันละลายในตัวทำละลายต่าง ๆ ได้แก่ เฮกเซน และปิโตรเลียมอีเทอร์ ซึ่งผลการดูดกลืนแสงของน้ำมันในรำข้าวที่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ แสดงดังตาราง 3.20 และรูป 3.9

ตาราง 3.20 ความยาวคลื่นที่ดูดกลืนสูงสุดของน้ำมันในตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

ตัวทำละลาย	ความยาวคลื่นสูงสุด (nm)	
	การทดลอง	Lilitchan (2008) [27]
เฮกเซน	226.5	210.0
ปิโตรเลียม	226.5	-



รูป 3.9 การดูดกลืนแสงสูงสุดของน้ำมันที่ละลายในตัวทำละลาย (ก) เฮกเซน



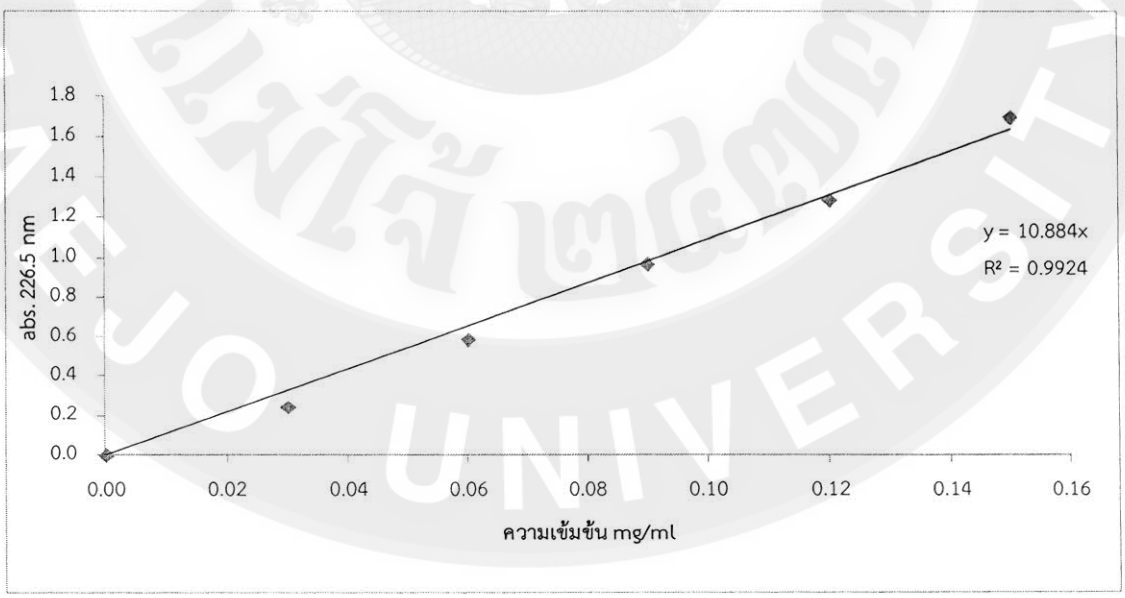
รูป 3.9 การดูดกลืนแสงสูงสุดของน้ำมันที่ละลายในตัวทำละลาย (ข) ปิโตรเลียมอีเทอร์

จากการศึกษาความยาวคลื่นที่ดูดกลืนแสงสูงสุดของน้ำมันในน้ำมันรำข้าวที่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ทั้ง 2 ชนิด คือ เอกเซนและปิโตรเลียมอีเทอร์ พบว่ามีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่เท่ากัน ได้แก่ 226.5 nm ซึ่งได้ค่าการดูดกลืนแสงที่ใกล้เคียงกับ Lilitchan และคณะ [27] เนื่องจากในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ มีสภาวะการทดลองรวมทั้งประสิทธิภาพของเครื่องที่ใช้แตกต่างกัน จึงต้องพิจารณาถึงชนิดตัวทำละลายเพื่อให้การศึกษาที่ถูกต้อง

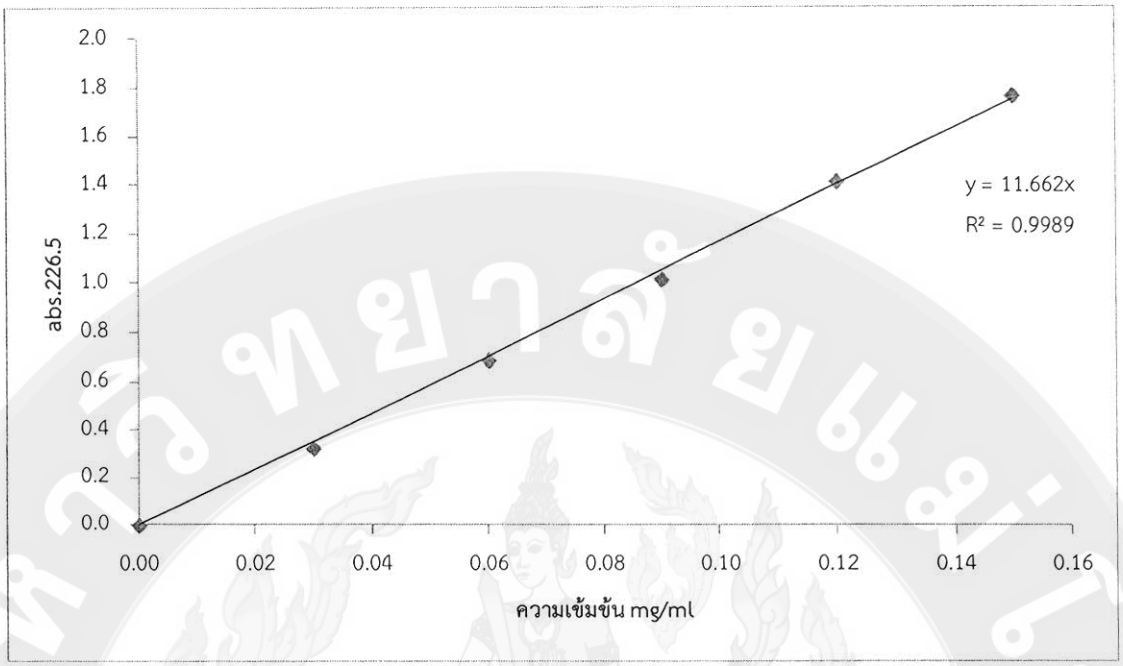
ในขั้นตอนต่อไปทำการศึกษาการวิเคราะห์น้ำมันในน้ำมันรำข้าวเมื่อละลายในตัวทำละลายแต่ละชนิดด้วยเทคนิค UV – VIS spectrophotometer ดังนั้นจึงต้องสร้างกราฟมาตรฐานน้ำมันที่ละลายด้วยตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด

3.8.2 การสร้างกราฟมาตรฐานน้ำมันเทคนิค UV – VIS spectrophotometer

การสร้างกราฟมาตรฐานสามารถทำได้โดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แล้วนำไปวัดค่าการความยาวคลื่นที่ดูดกลืนแสงสูงสุด โดยเทียบกับ blank และนำผลที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ทำการวัด ในการทดลองนี้ได้สร้างกราฟมาตรฐานน้ำมันที่ละลายในตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ เฮกเซน และ ปิโตรเลียมอีเทอร์ โดยวัดที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ 226.5 และ 226.5 nm ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดสำหรับการวิเคราะห์น้ำมันในตัวทำละลายแต่ละชนิด ผลการศึกษาแสดงดัง รูป 3.10



รูป 3.10 กราฟมาตรฐานน้ำมันที่วิเคราะห์โดยในตัวทำละลายอินทรีย์ (ก) เฮกเซน



รูป 3.10 กราฟมาตรฐานน้ำมันที่วิเคราะห์โดยในตัวทำละลายอินทรีย์ (ข) ปิโตรเลียมอีเทอร์

กราฟมาตรฐานน้ำมันและสมการเส้นตรงที่ได้จากการวิเคราะห์สารน้ำมันที่ละลายในตัวทำละลายอิทรีย์ชนิดต่างๆ ที่ได้นี้ จะถูกนำไปใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำมัน โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (adsorption coefficient; K) ของแกมมาโอรีซานอลระหว่างชั้นของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้สกัดกับชั้นของรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ

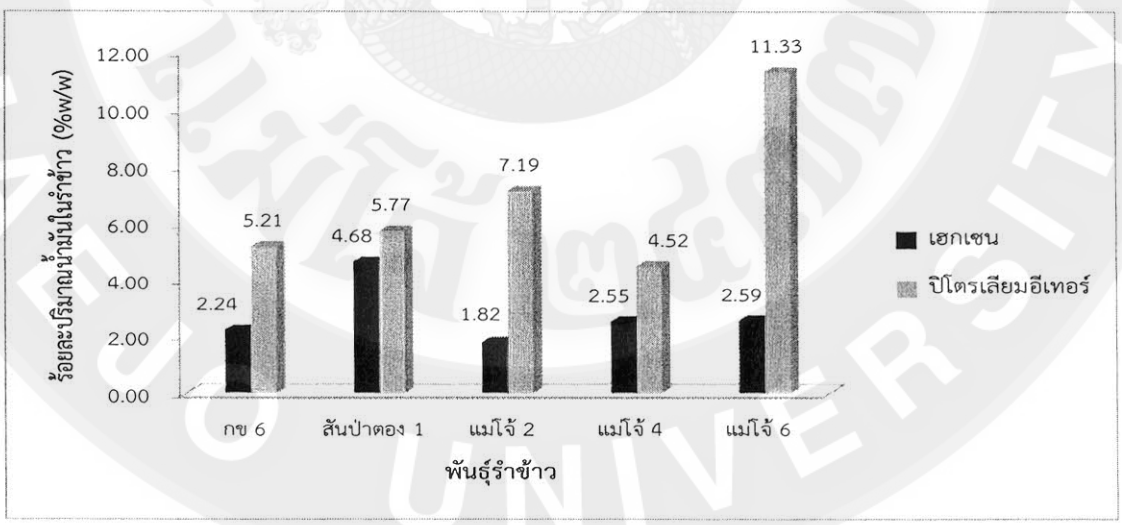
3.8.3 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำมัน โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (adsorption coefficient; K) ของน้ำมันระหว่างชั้นของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้สกัดกับชั้นของรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ

ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันในรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่าง ๆ ได้แก่ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 2 ชนิด คือ เฮกเซน และปิโตรเลียมอีเทอร์ โดยทำการสกัดนานเป็นเวลา 7 นาที ที่อุณหภูมิห้อง แล้วไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค UV – VIS spectrophotometer แล้วนำมาคำนวณผลโดยการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานน้ำมันซึ่งสามารถคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ ปริมาณน้ำมัน และร้อยละปริมาณน้ำมันแสดงตาราง 3.21

ตาราง 3.21 การหาปริมาณน้ำมันในรำข้าวสายพันธุ์ต่าง ๆ โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ

สายพันธุ์รำข้าว	เฮกเซน			ปิโตรเลียมอีเทอร์		
	ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ	ปริมาณน้ำมัน (mg)	น้ำมัน (%w/w)	ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ	ปริมาณน้ำมัน (mg)	น้ำมัน (%w/w)
กข 6	15.55	20.23	2.24	0.66	47.11	5.21
สันป่าตอง 1	0.57	41.98	4.68	0.50	51.77	5.77
แม่โจ้ 2	2.07	16.52	1.82	0.38	65.16	7.19
แม่โจ้ 4	7.47	23.15	2.55	0.19	40.98	4.52
แม่โจ้ 6	7.57	23.46	2.59	0.18	102.35	11.33

จากการวิเคราะห์น้ำมันโดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (adsorption coefficient; K) ของน้ำมันระหว่างชั้นของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้สกัดกับชั้นของรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและปิโตรเลียมอีเทอร์โดย เมื่อนำค่าวัดการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณจากสมการที่ 1.3 แล้วคำนวณหาปริมาณน้ำมันในรำข้าว สายพันธุ์ต่างๆ จะได้ผลการทดลองดังรูป 3.11



รูป 3.11 ปริมาณน้ำมันที่มีอยู่ในรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่ละลายในตัวทำละลายเฮกเซนและปิโตรเลียมอีเทอร์

จากรูป 3.11 แสดงผลการเปรียบเทียบการสกัดแกมมาโอรีซานอลในรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและปิโตรเลียมอีเทอร์ที่เวลาต่างๆ พบว่าปิโตรเลียมอีเทอร์สามารถสกัดปริมาณที่มากกว่าเฮกเซนในบางสายพันธุ์ซึ่งขึ้นอยู่กับความเหมาะสมของตัวทำละลายกับสายพันธุ์ของรำข้าว เมื่อนำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์น้ำมัน(โดยน้ำหนักแห้ง)ของรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนจากรำข้าวสายพันธุ์ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 มีปริมาณ 2.24, 4.68, 1.82, 2.55 และ2.59 ตามลำดับ และเปอร์เซ็นต์น้ำมัน(โดยน้ำหนักแห้ง)ของรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ ที่สกัดด้วยตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์จากรำข้าวสายพันธุ์ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 มีปริมาณ 5.21, 5.77, 7.19, 4.52 และ 11.33 ตามลำดับ ซึ่งผลการทดลองที่ได้มีค่าน้อยกว่าแหล่งข้อมูลอ้างอิง จากการรายงานผล Lilitchan และคณะ [27] ได้ศึกษาวิธีการสกัดสำหรับวิเคราะห์หา total lipid และแกมมาโอรีซานอลในรำข้าวที่มีความว่องไว พบว่าในรำข้าวที่สกัดด้วยเฮกเซนมีปริมาณน้ำมันในรำข้าวอยู่ในช่วงร้อยละ 18.2 – 21.2

3.9 การเปรียบเทียบปริมาณของน้ำมันที่ได้จากวิธี Soxhlet method กับการใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ

จากการวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันในรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 โดยใช้วิธี Soxhlet method กับการใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ทั้ง 2 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน และปิโตรเลียมอีเทอร์ แสดงผลดังตาราง 3.22 และตาราง 3.23 ตามลำดับ

ตาราง 3.22 ปริมาณน้ำมันที่ได้จาก Soxhlet method กับการใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน

สายพันธุ์รำข้าว	น้ำมันในรำข้าว (%W/W)	
	Soxhlet method	adsorption coefficient method
กข 6	24.18	2.24
สันป่าตอง 1	19.84	4.68
แม่โจ้ 2	28.20	1.82
แม่โจ้ 4	24.16	2.55
แม่โจ้ 6	30.78	2.59

ตาราง 3.23 ปริมาณน้ำมันที่ได้จาก Soxhlet method กับการใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับที่สกัดด้วยตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์

สายพันธุ์รำข้าว	น้ำมันในรำข้าว (%W/W)	
	Soxhlet method	adsorption coefficient method
กข 6	12.22	5.21
สันป่าตอง 1	32.62	5.77
แม่โจ้ 2	40.70	7.19
แม่โจ้ 4	23.51	4.52
แม่โจ้ 6	18.00	11.33

จากตาราง 3.22 และตาราง 3.23 เมื่อเปรียบเทียบปริมาณของน้ำมันที่ได้จากทั้ง 2 วิธี จะพบว่าปิโตรเลียมอีเทอร์สามารถสกัดปริมาณที่มากกว่าเฮกเซนในบางสายพันธุ์ซึ่งขึ้นอยู่กับความเหมาะสมของตัวทำละลายกับสายพันธุ์ของรำข้าว เมื่อนำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์น้ำมัน(โดยน้ำหนักแห้ง)ของรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนจากรำข้าวสายพันธุ์ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 มีปริมาณ 2.24, 4.68, 1.82, 2.55 และ2.59 ตามลำดับ และเปอร์เซ็นต์น้ำมัน(โดยน้ำหนักแห้ง)ของรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ ที่สกัดด้วยตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์จากรำข้าวสายพันธุ์ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 มีปริมาณ 5.21, 5.77, 7.19, 4.52 และ 11.33 ตามลำดับ เมื่อนำผลการทดลองของเปอร์เซ็นต์น้ำมัน (โดยน้ำหนักแห้ง) ของรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆมาเปรียบเทียบกับการสกัดโดยใช้ Soxhlet มีปริมาณน้ำมันที่มากกว่า ทั้งนี้เนื่องจากการสกัดโดยใช้ Soxhlet มีการให้ความร้อนที่สูงกว่าและเป็นการสกัดแบบต่อเนื่อง ทำให้ตัวทำละลายสัมผัสสารที่ต้องการสกัดหลายครั้ง จึงสามารถสกัดสารที่ต้องการออกมาได้มาก

3.10 การศึกษาค่าไอโอดีน (Iodine number หรือ I.V.)

ค่าไอโอดีนเป็นค่าที่บอกปริมาณไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว ถ้าไอค่าโอดีนสูงแสดงว่ามีกรดไขมันอิ่มตัวมาก หรือเป็นค่าที่บอกถึงน้ำหนักเป็นกรัมของไอโอดีนที่ทำปฏิกิริยาพอดีกับน้ำหนักหนึ่งร้อยกรัม และยังแสดงว่าน้ำมันชนิดนั้นเป็นชนิดที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงหรือต่ำ ในการทดลองนี้ใช้สารละลายของวิจ (wij solution) ซึ่งเป็นสารละลายไอโอดีนละลายอยู่ในกรดอะซิติค และมีไอโอดีนโมโนคลอไรด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา จะได้ผลการทดลองดังตาราง 3.24

ตาราง 3.24 ค่าไอโอดีนของน้ำมันรำข้าวเหนียวแต่ละสายพันธุ์

ตัวอย่างพันธุ์รำข้าว	ค่าไอโอดีน
กข 6	2.07
สันป่าตอง 1	1.51
แม่โจ้ 2	8.05
แม่โจ้ 4	7.10
แม่โจ้ 6	10.87

ค่าไอโอดีนที่ได้จากการทดลอง แสดงดังตาราง 3.24 พบว่าน้ำมันที่สกัดได้จากรำละเอียดของข้าวสายพันธุ์ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 มีค่าไอโอดีน 2.07, 1.51, 8.05, 7.15, และ 10.87 ตามลำดับ เมื่อนำค่าไอโอดีนเทียบกับมาตราฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำมันรำข้าวสำหรับบริโภคได้กำหนดคุณลักษณะที่ต้องการของน้ำมันรำข้าวสำหรับบริโภค [28] พบว่าไอโอดีน ของน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการทดลองมีค่าน้อยกว่าข้อมูลอ้างอิง ซึ่งจากแหล่งข้อมูลได้กำหนดค่าไอโอดีน (iodine value Wijs) ไว้ที่ 92 - 115 สาเหตุหนึ่งที่ทำให้ค่าไอโอดีนมีค่าน้อยเป็นเพราะน้ำมันรำข้าวเหนียวแต่ละสายพันธุ์เป็นน้ำมันดิบยังไม่ได้ผ่านขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์และอีกสาเหตุหนึ่งเป็นเพราะผลจากอายุและสภาวะการเก็บรักษาน้ำมัน

3.11 การศึกษาค่าเพอร์ออกไซด์ (Peroxide value; P.V.)

ค่าเปอร์ออกไซด์ คือ จำนวนมิลลิสมมูลของเปอร์ออกไซด์ออกซิเจนต่อไขมันหรือน้ำมัน 1 กิโลกรัม ซึ่งเป็นค่าที่บอกปริมาณเปอร์ออกไซด์ที่มีอยู่ในไขมันหรือน้ำมัน การหาเปอร์ออกไซด์โดยการชั่งน้ำหนักให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน เติมตัวทำละลายผสมลงไป จากนั้นเติมสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์และน้ำกลั่น แล้วไตเตรทสารละลายด้วยสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต ผลการทดลองดังตาราง 3.25

ตาราง 3.25 ค่าเปอร์ออกไซด์ของน้ำมันรำข้าวเหนียวแต่ละสายพันธุ์

ตัวอย่างพันธุ์รำข้าว	ค่าเปอร์ออกไซด์
กข 6	23.41
สันป่าตอง 1	11.93
แม่โจ้ 2	25.35
แม่โจ้ 4	24.80
แม่โจ้ 6	40.55

ค่าเปอร์ออกไซด์ที่ได้จากการทดลอง แสดงดังตาราง 3.25 พบว่าน้ำมันที่สกัดได้จากรำละเอียดของข้าวสายพันธุ์ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 มีค่าไอโอดีน 2.07, 1.51, 8.05, 7.15, และ 10.87 ตามลำดับ เมื่อนำค่าไอโอดีนเทียบกับมาตราฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำมันรำข้าวสำหรับบริโภคได้กำหนดคุณลักษณะที่ต้องการของน้ำมันรำข้าวสำหรับบริโภค [28] พบว่ามีค่าเปอร์ออกไซด์มีค่าที่มากกว่าข้อมูลอ้างอิง ซึ่งจากแหล่งข้อมูลได้กำหนดค่าเปอร์ออกไซด์ (peroxide value) ไม่เกิน 10 มิลลิกรัมสมมูลย์ต่อหนึ่งกิโลกรัมน้ำมัน เนื่องจากสารเปอร์ออกไซด์จะเกิดขึ้นในไขมันหรือน้ำมันอย่างช้าๆ ในระหว่างที่ไขมันหรือน้ำมันถูกเก็บไว้ให้สัมผัสกับอากาศ เรียกว่าเกิด oxidative rancidity ได้ง่าย

สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้จะมุ่งเน้นศึกษาวิธีการสกัดและวิธีการวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลและน้ำมันในรำข้าวเหนียวบางสายพันธุ์ได้แก่ กข 6 สันป่าตอง 1 แม่โจ้ 2 แม่โจ้ 4 และแม่โจ้ 6 โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (adsorption coefficient: K) โดยเปรียบเทียบกับการสกัดโดยใช้ soxhlet apparatus

รำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ ถูกทำการอบแห้งเพื่อไล่ความชื้นจากรำข้าวก่อนเนื่องจากความชื้นในรำข้าวจะเป็นอุปสรรคในการสกัดน้ำมันเพื่อวิเคราะห์สารที่สนใจ จากการทดลองหาความชื้นในรำข้าวสายพันธุ์ต่าง ๆ พบว่ามีค่าร้อยละของความชื้นเฉลี่ยที่ใกล้เคียงกันอยู่ในช่วงร้อยละ 9 – 11 (โดยน้ำหนักแห้ง) ซึ่งความชื้นจะขึ้นอยู่กับความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ (relative humidity)

จากนั้นนำรำข้าวเหนียวที่อบแห้งมาสกัดน้ำมันโดยใช้ soxhlet extraction apparatus พบว่าตัวทำละลาย คือ ปิโตรเลียมอีเทอร์สามารถสกัดน้ำมันจากรำข้าวสายพันธุ์ที่ได้ศึกษาได้ในช่วง 12.22 – 40.70% (โดยน้ำหนักแห้ง) ส่วนตัวทำละลายเฮกเซนสามารถสกัดน้ำมันได้ในช่วง 19.84 – 30.78% (โดยน้ำหนักแห้ง)

จากนั้นวิเคราะห์หาแกมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าวดิบที่สกัดได้ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง (TLC) พบว่า น้ำมันรำข้าวจากท้องตลาดมีส่วนประกอบของ โมโนกลีเซอไรด์ ไดกลีเซอไรด์ ไตรกลีเซอไรด์ และแกมมาโอรีซานอล ส่วนน้ำมันรำข้าวดิบที่สกัดได้ประกอบไปด้วย โนกลีเซอไรด์ ไดกลีเซอไรด์ และไตรกลีเซอไรด์ แต่ปรากฏจุดของแกมมาโอรีซานอลที่ไม่เด่นชัดมากอาจเนื่องจากตัวอย่างน้ำมันรำข้าวดิบมีปริมาณแกมมาโอรีซานอลค่อนข้างต่ำ

ดังนั้นจึงทำการสกัดและวิธีการวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในรำข้าวเหนียว โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับเปรียบเทียบกับการใช้ soxhlet extraction โดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ 2 ชนิดได้แก่ เฮกเซน และปิโตรเลียมอีเทอร์ โดยการสกัดค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ ทำการสกัดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลาต่างๆ คือ 3, 5 และ 7 นาที พบว่า เวลาในการสกัดและตัวทำละลายอินทรีย์มีผลต่อการสกัดและวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอล และพบว่าปริมาณแกมมาโอรีซานอลในรำข้าวเหนียวแต่ละสายพันธุ์นั้นมีค่าที่แตกต่างกันซึ่งขึ้นอยู่กับลักษณะทางพันธุกรรมของข้าวแต่ละชนิด [33]

เมื่อนำผลการทดลองจากการวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ที่ศึกษาโดย soxhlet method และการใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ พบว่า เปอร์เซ็นต์แกมมาโอรีซานอลในน้ำมันจากการสกัดด้วยค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ มีปริมาณที่สูงกว่าที่ได้จากการสกัดด้วย soxhlet method ประกอบกับตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีสภาพขั้วสูงจะสามารถสกัดปริมาณแกมมาโอรีซานอลที่มีอยู่ในส่วนต่างๆ ของน้ำมันในรำข้าวออกมาได้หมดรวมถึงสารอื่นๆ ที่มีขั้วออกมาด้วยไม่ว่าจะเป็นส่วน neutral lipids หรือ complex lipids การเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมในการหา

ปริมาณแกมมาโอรีซานอล ดังนั้นในการวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของแกมมาโอรีซานอลในตัวอย่างน้ำมันรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่างๆ ตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุดในการวิเคราะห์ความเข้มข้นของแกมมาโอรีซานอล ได้แก่ ปิโตรเลียมอีเทอร์ และทำการสกัดโดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ ซึ่งใช้ปริมาณตัวอย่าง ตัวทำละลาย และเวลาการสกัดที่น้อยกว่า soxhlet method

การวิเคราะห์แกมมาโอรีซานอลด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง โดยการนำตัวอย่างโดยการนำตัวอย่างน้ำมันรำข้าวดิบจากข้าวเหนียวดิบสายพันธุ์ที่ศึกษา ที่สกัดโดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูบซับสกัดมีปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นตัวทำละลายที่อุณหภูมิห้อง โดยมีสารมาตรฐานแกมมาโอรีซานอล และน้ำมันรำข้าวที่มีแกมมาโอรีซานอลสูง 5,000 ppm (ยี่ห้อแอลฟาวัน) เป็นตัวเปรียบเทียบ พบว่า สารมาตรฐานแกมมาโอรีซานอล ตัวอย่างน้ำมันรำข้าวแอลฟาวัน และตัวอย่างน้ำมันรำข้าวดิบของข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่าง ๆ มีค่าเวลาของการแยกที่ใกล้เคียงกันจึง สามารถระบุได้ว่ามีอนุพันธุ์ของแกมมาโอรีซานอลทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่ 24-Methylene Cycloartenyl ferulate , Δ^7 - Campestenyl ferulate, Campestenyl ferulate, Δ^7 - Sitostenyl ferulate

ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันในรำข้าวเหนียวสายพันธุ์ที่ศึกษา โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับเปรียบเทียบกับการใช้ soxhlet extraction โดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ 2 ชนิดได้แก่ เฮกเซน และปิโตรเลียมอีเทอร์ โดยการสกัดค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ ทำการสกัดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 นาที พบว่า ตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุดในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำมัน ได้แก่ ปิโตรเลียมอีเทอร์ และทำการสกัดโดยใช้ soxhlet extraction เนื่องจากการสกัดโดยใช้ soxhlet มีการให้ความร้อนที่สูงกว่าและเป็นการสกัดแบบต่อเนื่อง ทำให้ตัวทำละลายสัมผัสสารที่ต้องการสกัดหลายครั้ง จึงสามารถสกัดสารที่ต้องการออกมาได้มาก

เมื่อน้ำน้ำมันรำข้าวดิบจากข้าวเหนียวสายพันธุ์ที่ได้ทำการศึกษามาตรวจสอบคุณภาพด้วยค่าไอโอดีนและค่าเปอร์ออกไซด์ พบว่า ค่าไอโอดีนมีค่าต่ำกว่าเมื่อเทียบด้วยมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำมันรำข้าวสำหรับบริโภค [28] และค่าค่าเปอร์ออกไซด์มีค่าที่สูงกว่ามาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำมันรำข้าวสำหรับบริโภค เนื่องจากน้ำมันรำข้าวดิบเป็นน้ำมันที่ยังไม่ได้ผ่านขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์ และอีกสาเหตุหนึ่งเป็นเพราะผลจากอายุและสภาวะการเก็บรักษาน้ำมัน

เอกสารอ้างอิง

[1] ข้าวเหนียวหนักท้องชาวไทย. เดลินิวส์. มิถุนายน 4, 2551.

[2] วิภา สุโรจนะเมธากุล, คุณค่าของรำข้าว. *วราสารสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.* 2547, **34**, 16–19.

[3] Orthoefer, F.T, Rice Bran Oil : Healthy Lipid Source`, *Food technology*. 1996, 62-64.

[4] Nakayama, S. and worker, C., Comparative effects of two forms of Gamma-oryzanol in different sterol compositions of hyperlipidemia induced by cholesterol diet in rats. *Jpn. J. Pharmacol,* 1987, **44**, 135-143.

[5] ประโยชน์ของข้าวและข้าวกล้อง. http://www.thaihealth.or.th/healthcontent/article/10192. (accessed May 5,2012).

[6] จุไรทิพย์ หวังสินทวีกุล, *มหัศจรรย์ของความเป็นข้าว*, ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, 2549.

[7] น้ำมันรำข้าวและจมูกข้าว. http://www.google.co.th/imgres?imgurl=http://2.bp. blog - spot.com/_u3gNWfXmg3U/Szl7u-Pfohl. (accessed May 5, 2012).

[8] พันธุ์รำข้าว. http://www.panyathai.or.th/wiki/index.php/พันธุ์กข_6. (accessed May 6, 2012).

[9] องค์ความรู้เรื่องข้าว. http://www.brrd.in.th/rkb/data_002/a2/rice_xx203_ricebreed_San_pah_tawng_1.html. (accessed May 6, 2012).

[10] ข้าวเหนียวหอม ผลจากปรับปรุงพันธุ์ด้วยโมเลกุล, http://www.thairath.co.th/content/edu /230770. (accessed May 6, 2012).

[11] น้ำมันบริโภคไทย. http://www.thaiedibleoil.com/thai/product_process.php.(accesse May 6, 2012).

[12] ศลิษา โชคเหมาะ, *การพัฒนาวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในรำข้าวและผลของแกมมาโอรีซานอลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าของกรดของน้ำมันรำข้าว*, วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาเทคโนโลยีชีวเคมี, คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, 2546.

[13] United Nation, 1985, The Storage of Rice Bran, In Rice : an Under Utilized Raw Material, *United Nation Industrial Development Organization*, Vienna, 1985, 216 - 251.

[14] Barber, S. and Benedito de Barbre C., Basic and Applied Research Needs for Optimizing Utilization of Rice Bran as Food and Feed`, Proceedings of the Rice By-Products Utilization of International Conference, *Institute of Agrochemistry and Food Technology*, New York, 1974, 1 - 99.

[15] Makherjee, R.K. and Bhattacharya, M. Distribution of oil in the Bran Layers of Slended, Medium and Shot Grain Varieties of Rice, and Effect of Parboiling. *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, 1978, **55**, 463 - 464.

[16] Salunkhe, D.K., Chavan, J.K., Adsule, R.N. and Kadam, S.S., World Oilseeds Chemistry Technology and Utilization, *Van Nostrand Reinhold*, New York, 1992, 424 - 448.

[17] รำข้าวที่มีคุณภาพคุณค่าต่อสุขภาพ. *วารสารศูนย์บริการวิชาการ*, 2548, **13**, 4-9.

[18] Raghuram, T. et al., Studies on hypolipidemic effect of dietary rice bran oil inhuman subject, *Nutr. Rep. In*., 1989, **38**, 927 - 935.

[19] มนฤดี เชาวรัตน์, *รีเอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมันอิสระในรำข้าวและไฮโดรไลซิสน้ำมันรำข้าว,* วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, 2540. 4-39.

[20] น้ำมันรำข้าว. http://th.wikipedia.org/wiki/น้ำมันรำข้าว. (accessed May 6, 2012).

[21] การใช้น้ำมันพืช. http://www.horapa.com/content.php?Category=Tips&No=760. (accessed May 6, 2012).

[22] Xu, Z. and Godber, J.S., Antioxidant activities of major components of gamma– oryzanol in rice bran oil`, *J. Agr., Food .Chem. Soc.,* 2001, **47**, 2724-2728.

[23] ประโยชน์ของโอรีซานอล.http://www.marketingoemoffice.com/index.php. (accessed May 7, 2012).

[24] ประโยชน์ของสารแกมมาโอไรซานอล. http://www.rice-bran-germ-oil.com. (accessed May 7, 2012).

[25] Diack, M. and Saska, M., Separation of vitamin E and gamma-oryzanol from rice bran oil normal - phase chromatography, *J. Am. Oil. Chem. Soc.,* **71**, 1211 – 1217.

[26] Forster, A. and Harper, A.J., Physical Refining. *J. Am. Oil. Chem. Soc*, 1983, **60**, 256 - 271.

[27] Lilitchan, S., Tangprawat, C., Aryusuk K., Krisnangkura, S., Chokmoh, S. and Krisnangkura, K., Partial extraction method for the rapid analysis of total lipids and gamma - oryzanol contents in rice bran`, *Food. Chem.*, 2008, **106**, 752-759.

[28] สำนักงานมาตราฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำมันรำข้าวสำหรับบริโภค มอก.44 - 2516, ประเทศไทย, 2516.

[29] Preparative Thin-layer Chromatography (TLC). e-book.ram.edu/e-book/c/CM328/CM328-5.pdf. (accessed May 7, 2012).

[30] แม้น อมรสิทธิ์ และคณะ, *หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ*, บริษัทชวนพิมพ์ 50 จำกัด, กรุงเทพฯ, 2553, หน้า 59-123.

[31] เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์. http://www.il.mahidol.ac.th/e-media/color-light/ page4_2.html. (accessed May 7, 2012).

[32] High Performance Liquid Chromatography (HPLC). e-book.ram.edu/e-book/f/FY473(51)/FY473-10.pdf. (accesse May 7, 2012).

[33] Lerma-Garcia, M.J., Herrero-Martinez J.M., Simo-Alfonso E.F., Carlr Mendonca R.B. and Ramis-Ramos G., *food. Chem.*, 2009, **115**, 389-404.

[34] ดำเนิน กาละดี และคณะ, *การสะสมสารแกมมาโอไรซานอลในเมล็ดข้าวเหนียวดำ*, คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2546

[35] Hu, W., Well, J.H., Shin, T. and Godber, J.S., Comparison of isopropanol and hexane for extraction of vitamin E and oryzanol from stabilized rice bran`, *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, 1996, **73**, 653–1656.

[36] Khuwijitjaru, P., Taengtieng, N.; Changprasit, S., Degradation of gamma - oryzanol in rice bran oil during heating : An analysis using derivative UV - spectrophotometry. *Silpakorn universityinternational journal*, 2004, **106**, 154 -165.

[37] Krishna, A.G.G., Khatoon, S., Shiela, P.M., Sarmandal, C.V., Indira, T.N. and Mishra, A., Effect of refining of crude rice bran oil on the retention of oryzanol in the refined oil, *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, 2001, **78**, 127 - 131.

[38] Huang, S.H. and Ng, L.T. An improved high-performance liquid chromatographic method for simultaneous determination of tocopherols, tocotrienols and gamma-oryzanol in rice, *Journal of chromatography A*, 2011, **1218**, 4709-4713.

[39] Pestana, V.R., Zambiazi, R.C., Mendonca, C.R.B., Bruscatto, M.H., Lerma-Garcia, M.J., and Ramis-Ramos, G., Quality changes and tocopherols and gamma - oryzanol concentrations in rice bran oil during the refining process, *J Am Oil Chem Soc.* 2008, **85**, 1013-1019.

[40] พจนทิพย์ อิ่มสงวน และคณะ,*การสกัดสารแอลฟาโทโคฟีรอลและแกมมาโอรีซานอลจากรำข้าว* , คณะวิศวกรรมศาสตร์, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

[41] นพมาศ มนัสวรากุล, *การสำรวจปริมาณแกมมาโอรีซานอลและวิตามินอีในข้าวไทยสายพันธุ์ต่างๆ*, วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, 2545, 82-123.

The Adsorption Coefficient (K) for Determination of Total Lipid and Gamma Oryzanol Content in Rice Bran Varieties from the Northern of Thailand

Anakhaorn Srisaipet, Supalak Daungnate, and Jariyaporn Nukua
Department of chemistry Faculty of Science Maejo University, Chiang Mai, Thailand
Email: anakhaorn@mju.ac.th

Abstract—**This research has studied the extraction and analyzation of gamma- oryzanol and total lipid in new rice bran glutinous varieties which were analyzed by the developed technique. The adsorption coefficient (K) of a solute between a solid phase and a solvent phase were studied in the solid-liquid extraction which is defined by the solid-liquid equilibrium condition used to determine the oil extracted in short time so the operation of extraction time been considered. The percentage of oil extracted (% dry weight) is highly increase when time of extraction at 10 minute (30°C) and then it shown slowly increasing rate. From the K values, it was estimate that about 16.52-41.98 mg/g dry basis of the lipid and 1.15-2.96 mg/g dry basis of the gamma oryzanol were extract by heaxane. Sanphatong 1 had highest total lipid and gamma oryzanol while the lowest content was found in Maejo 2.**

Index Terms—**adsorption coefficient, rice bran, gamma oryzanol, total lipid**

I. Introduction

Rice (*Oryza sativa* Linn.) production is a significant crop in Thailand and Asian countries. Rice bran, a by-product of rice processing, contains 16-22% lipids, which makes the extraction of rice bran oil (RBO) profitable [1]. RBO is a valuable cooking oil, consumed specially in east [2]. RBO presents unique health benefits, it present a large amount of nutraceutical compounds are gamma oryzanol, a complex mixture of ferrulate esters with sterols and triterprene alcohols and tocopherols/ tocotrienols [3], as well as other compounds which found at lower centration, such as lecithin, carotenoild, long chain alcohol and squalene [4]. The commercial production of RBO was estimated to be about 783 thousand tons, being usually extracted with hexane [2].

Extraction and pressing are the two commonly used methods for separation of oil from raw materials. Many researchers have investigated on the use of super critical extraction and enzyme for enhancing oil extractability [5]. The requirement for a special apparatus is drawback for super critical but it is not required for direct solvent extraction which the advantages of the method and it is not time-consuming but if the extraction solvent capacity is lower, this method must use a large volume of solvent.

Recently, the use of direct solvent extraction has been reported for determination of RBO and gamma oryzanol contents in rice bran [6]. Hexane has been used as the solvent for rice bran extraction by many researchers and industrialists due to the capability, high oil extractability (98%) and easy operation [5].

Solid - liquid extraction is an alternative extraction which uses the rapid equilibrium extraction principle or to be defined as solid – liquid equilibrium (SLE). SLE is described by the distribution or adsorption coefficient (K) of a solute between solid and solvent phase. The adsorption coefficient is the proportion of solute concentration in liquid phase and solid phase at equilibrium state [4] as shown in equation 1,where C_m is concentration of solute in solvent phase and A_s is amount of solute adsorbed by one gram of the adsorbent (rice bran).

$$K = \frac{C_m}{A_s} \tag{1}$$

In the term of C_m can be expanded to ratio of the amount of solute in solvent phase (M_m) with the volume of the solvent (V_m) and the ratio of the amount of solute in solid phase (M_s) with weight of rice bran (g_s) is definition of A_s. The adsorption coefficient can be rewrite in equation 2.

$$K = \left(\frac{M_m}{V_m}\right)\left(\frac{G_s}{M_s}\right) \tag{2}$$

Considering the equation found that if K, M_m, V_m and G_s are known, Eq. (2) can be used to determination of the target term M_s which is the amount of solute in solid phase (rice bran).

In the principle of the adsorption coefficient, it is defined by the solid-liquid extraction in equilibrium condition. Therefore, determination of equilibrium time in the extraction is an important. In this work, the solid - liquid extraction via the adsorption coefficient (K) by solving two simultaneous equations was used to quantify total lipid and γ-oryzanol from the rice bran of new

Manuscript received May 1, 2013; revised July 3, 2013.

©2013 Engineering and Technology Publishing
doi: 10.12720/jomb.2.3.173-176

glutinous rice varieties from the northern of Thailand and then the qualitative of γ-oryzanol has been done by HPLC.

II. Materials and Methods

A. Materials

Rice brans has been collected and stored in the same conditions. The moisture content of the bran was determined by drying at 105 °c until the weight constant. All samples were analyzed in duplicate

Gamma oryzanol were supplied by the Vegetable Oil Refinery (Bangkok, Thailand). Petroleum ether, 2-propanol, 2-butanol, *n*-hexane and Ethyl acetate in analytical grade were purchase from LabScan (Bangkok, Thailand). Acetronitrile and Methanol in HPLC grade were purchase from Fisher Chemicals (UK).

B. Study of Equilibrium Time

The primary optimum operation in rice bran oil extraction was studied. The weight of dried rice bran is 1 g. used to extract with 5 ml of hexane in screw cap test tube. The reactions were mixed all the time at 30°C and 60°C and taking the sampling reaction to analysis on time.

C. Determination of Total Lipid and γ-Oryzanol by Solid - Liquid Extraction Via the Adsorption Coefficient (K)

Exactly 1.0 g dried bran was weight into two screw cap test tube and extracted with the same type of solvent in 4 and 8 ml for the first and second tube, respectively. Extraction was done by mixing the substance on vortex mixer for 5 min. at room temperature. Centrifugation was used to separate the bran from miscella for 10 min at 4,000 rpm. The two of supernatants was collected and measured the absorbance U-100 UV-VIS spectrophotometer (HITACHI, Japan). Quantification of lipid and γ-oryzanol in the extracts were determined by standard curve. The total lipid and γ-oryzanol were calculated by the adsorption coefficient which was described by solving two simultaneous equations. Expanding Eq.(2)

$$K = \left(\frac{x}{V}\right)\left(\frac{w}{y-x}\right) \quad (3)$$

where x is the amount (g) of lipid or γ-oryzanol in the extract, y is the total amount (g) of lipid or γ-oryzanol in the bran. V is the volume (ml) of the extraction solvent and w is the weight of the extraction bran.

The terms K and y in Eq. (3) are unknowns, thus the two equations are necessary for salvation equation. It was done by double the volume (ml) of the extraction solvent in the second extraction ($V_2 = 2V_1$) and x_1, x_2 are the amount of solute in the two extraction. Equation (4) and (5) are the result of substituting these values into Eq. (3).

$$K_1 = \left(\frac{X_1}{V_1}\right)\left(\frac{w}{y-x_1}\right) \quad (4)$$

and

$$K_2 = \left(\frac{X_2}{V_2}\right)\left(\frac{w}{y-x_2}\right) \quad (5)$$

In this work, assuming the different amount of extraction solvent does not affect in changing the K value resulting in $K_1 = K_2$ (Eq. (6)) and rearranging it the Eq.(7) is obtained.

$$\left(\frac{x_1}{V_1(y-x_1)}\right) = \left(\frac{x_2}{V_2(y-x_2)}\right) \quad (6)$$

$$y = \frac{x_1 x_2}{2x_1 - x_2} \quad (7)$$

Finally, Equation 7 used to calculate the total amount of lipid or γ-oryzanol in the bran and the K value is gained when the y value was substituted in Eq.(4) and (5).

D. HPLC Analysis

The composition of γ-oryzanol was determined by HPLC using acetronitrile/methanol (90:10) solvent system as mobile phase and C18 (Hewlett Packard) HPLC column (150 mm x 4.0 mm i.d.).

III. Result and Disscussion

A. Study of Equilibrium Time

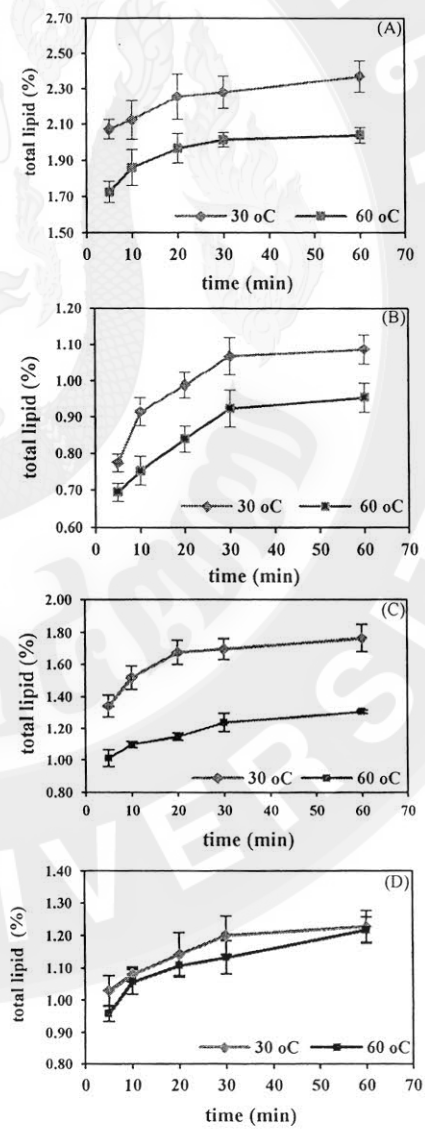


Figure 1. Illustration of total lipid quantity extracted from different rice bran varieties at anytime. (A) Sanphatong 1, (B) Maejo 2, (C) Maejo 4 and (D) Maejo 6.

©2013 Engineering and Technology Publishing

Due to the study of solid-liquid extraction by adsorption coefficient must be educated in equilibrium condition system. The extraction time for equilibrium condition is very necessary. The percentage of total lipid extracted was determined experimentally by extracting the dried bran in 3 times in anytime of hexane as organic solvent at 30°C and 60°C (the moisture content of rice bran show in range 9.34-10.29%). The amounts of lipid in each extraction time and temperature measured by UV spectrophotometers at 210 nm have been showed in Fig. 1. The percentage of oil extracted (% dry weight) is highly increase when time of extraction at 10 minute and then it shown slowly increasing rate. Therefore, The study of adsorption coefficient extraction technique in equilibrium state system will use extraction time at 10 min which is equilibrium time of the extraction system.

B. *Total Lipid and Gamma Oryzanol*

For the simultaneous analysis the amount of the total lipids and gamma oryzanol are studied by adsorption coefficient technique which been investigated in equilibrium condition (10 minutes). The total lipids and γ-oryzanol obtained from extraction of rice bran via hexane (% dried weight basis) were quantified by UV spectrophotometric method at 210 nm for total lipid and 314 nm for gamma oryzanol which the data to show in Table I. The external standard calibration curves are linear between 0-150 ppm for total lipids and 0-20 ppm for gamma oryzanol. The regression coefficients are more than 0.999. Total lipid contents were in range 16.52-41.98 mg/g dry basis which agreement with other report [7], [8]. The highest total lipid and gamma oryzanol content was found in Sanphatong 1 while the lowest was observed in Maejo 2. The differences were probably due to the difference in rice varieties including to growth period, the milling techniques and stabilization techniques [9], [10].

The data in Table I indicate that the high values of gamma oryzanol in dry rice bran to establish at the high value of total lipid too but it doesn't relate to the K value. It doesn't found the relationship between Gamma oryzanol and lipid content with the K value due to in each system had been the unity equilibrium.

TABLE I. QUANTITATIVE DETERMINATION OF TOTAL LIPIDS AND GAMMA ORYZANOL IN DIFFERENT RICE BRAN VARIETIES USING THE ADSORPTION COEFFICIENT WITH HEXANE

Rice bran varieties	Moisture (%w/w)	Total lipid (mg/g dry basis)	Gamma oryzanol (mg/g dry basis)	K
Sanphatong 1	10.29	41.98	2.96	3.18
Maejo 2	9.32	16.52	1.15	14.19
Maejo 4	9.34	23.15	2.32	7.70
Maejo 6	9.64	23.46	1.88	0.92

C. *The Composition of γ-Oryzanol*

In order to identify the gamma oryzanol components of crude RBO extracted by hexane using the adsorption coefficient were analyzed by UV-Vis detector. A typical chromatogram of gamma oryzanol in a crude RBO sample is shown in Fig. 2. Retention times and identification of the components are shown in Table II. The composition shows that the 24-methylene Cycloartenyl ferulate, Δ^7-Campestenyl ferulate, Campestenyl ferulate and Δ^7-Sitostenyl ferulate. The patterns of chromatogram were in good agreement with reported in literature [1], [11], [12,].

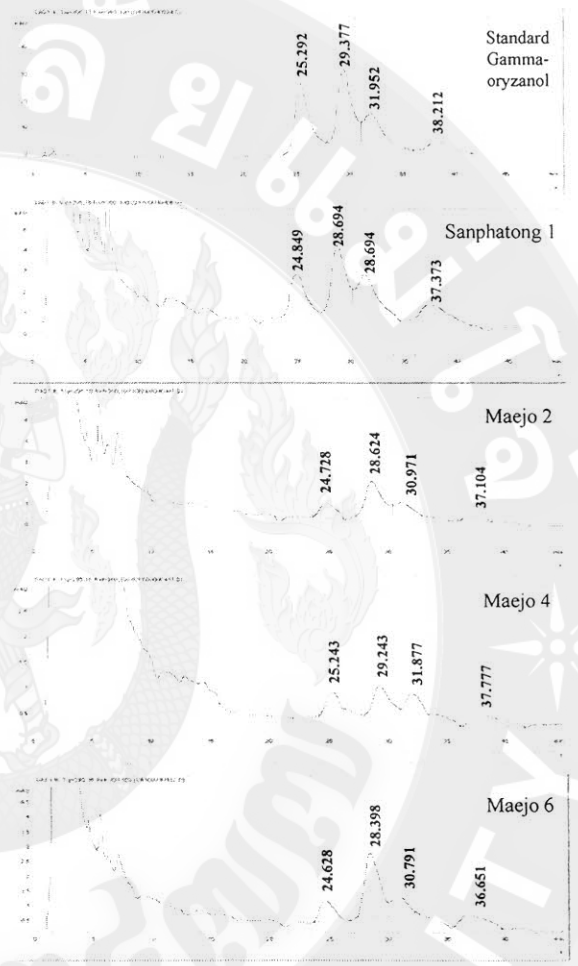


Figure 2. Chromatograms of HPLC of the standard Gamma-oyzanol and hexane extracts of the typical rice bran verities

TABLE II. ANALYSIS OF GAMMA ORYZANOL COMPOUND IN RBO EXTRACTED

Compound	Rice bran varieties /Retention time (min)				
	Standard Oryzanol	Sanpha-tong 1	Maejo2	Maejo4	Maejo6
24-methylene -Cycloartenyl ferulate	25.292	24.849	24.728	25.243	24.628
Δ^7-Campestenyl ferulate	29.377	28.694	28.624	29.243	28.398
Campestenyl ferulate	31.952	31.233	30.971	31.877	30.791
Δ^7- Sitostenyl ferulate	38.212	37.373	37.104	37.777	36.651

IV. CONCLUSIONS

©2013 Engineering and Technology Publishing

The solid – liquid extraction by adsorption coefficient method can be used for determination of total lipid and γ-oryzanol in rice bran. The method is simple, quickly and the consumption of solvents was largely reduced. It was found that the optimization of equilibrium time is important for these extract technique to accuracy and save time consuming. For the determination and analyzation of gamma oryzanol and total lipid in rice bran using extraction by adsorption coefficient, the amount of the both extracted and gamma oryzanol composition are closely with previous reported.

ACKNOWLEDGMENT

The authors wish to thank Asst.Prof. Varaporn Sangtong, Maejo University, Chiang Mai, Thailand for rice bran verities supplied. Financial support by National Research Council of Thailand and also Thanks Assoc. Prof. Kanit Krisnangkura are gratefully suggestion.

REFERENCES

[1] V. R. Pestana, R. C. Zambiazi, C. R. B. Mendonca, and M. H. Bruscatto, *et al.*, "Quality changes and tocopherols and γ-oryzanol concentrations in rice bran oil during the refining process," *Journal of the American Oil Chemists' Socity*, vol. 85, pp. 1013–1019, October 2008.

[2] L. Danielski, C. Zetzl, H. Hense, and G. Brunner, "A process line for the production of raffinated rice oil from rice bran," *Journal of Supercritical Fluids*, vol. 34, pp. 133–141, 2008.

[3] C. E. C. Rodriguges, M. M. Onoyama, and A. J. A. Meirelles, "Optimization of rice bran oil deacidification process by liquid-liquid extraction," *Journal of Food Engineering*, vol. 73, pp. 370-378, April 2006.

[4] M. J. L. Garcia, J. M. H. Martinez, E. F. S. Alfonso, C. R. B. Mendonca, *et al.*, "Composition industrial processing and applications of rice bran γ-oryzanol," *Food Chemistry*, vol. 115, pp. 389–404, 2009.

[5] B. M. W. P. K. Amarasinghe, M. P. M. Kumarasiri, and N. C. Gangodavilage, "Effect of method of stabilization on aqueous extraction of rice bran oil," *Food and Bioproducts Processing*, vol. 87, pp. 108–114, 2009.

[6] S. Lilitchan, C. Tangprawat, K. Ayusuk, S. Krisnakgkura, *et al.*, "Partial extraction method for the rapid analysis of total lipids and γ-oryzanol contents in rice bran," *Food Chemistry*, vol. 106, pp. 752–759, June 2008.

[7] T. K. Yoshida, T. Asada, and K. Kasai, "Subcellular particles isolate from aleurone layer of rice seeds," *Archives of Biochemistry and Biophysics*, vol. 155, pp. 136-143, 1973.

[8] J. G. N Amissah, W. O. Ellis, I. Oduro, and J. T. Manful, "Nutrient composition of bran from new rice varieties under study in Ghana," *Food Control*, vol. 14, pp. 21-24, January 2003.

[9] S. Iqbal, M. I. Bhanger, and F. Anwar, "Antioxidant properties and components of some commericially available varieties of rice bran in Pakistan," *Food Chemistry*, vol. 93, pp. 265-272, November 2003.

[10] C. A. Rohrer and T. J. Siebenmorgen, "Nutraceutical concentrations within the bran of various rice hernel thickness fractgion," *Biosystems Engineering*, vol. 88, pp. 453-460, 2004.

[11] A. G. G. Krishna, S. Khatoon, P. M. Shiela, C. V. Sarmandal, *et al.*, "Effect of refining of crude rice bran oil on the retention of oryzanol in refined oil," *Journal of the American Oil Chemists' Socity*, vol. 78, pp. 127–131, 2001.

[12] J. Y. Cho, H. J. Lee, G. A. Kim, G. D. Kim, *et al.*, "Quantitative analyses of individual γ-Oryzanol (Steryl Ferulates) in conventional and organic brown rice (Oryza sativa L.)," *Journal of cereal Science*, vol. 55, pp. 337–373, May 2012.

Anakhaorn Srisaipet was born in Thailand on 12 June 1977 and graduated in the degree of doctoral of Phillsophy (Biochemical Technology), School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangkok, Thailand in 2007.

Nowadays, she is a lecturer at Department of chemistry Faculty of Science Maejo University, Chiang Mai, Thailand. The fields of her interested research are lipid and enzyme technology.

Supalak Daungnate was born in Thailand and graduated in the Bachelor degree of Science (chemistry) from Department of chemistry Faculty of Science Maejo University, Chiang Mai, Thailand.

Jariyaporn Nukua was born in Thailand and graduated in the Bachelor degree of Science (chemistry) from Department of chemistry Faculty of Science Maejo University, Chiang Mai, Thailand.

©2013 Engineering and Technology Publishing