



ความคงตัวของแกมมา-ไอริซานอลในน้ำมันรำข้าวที่อุณหภูมิสูง

โดย

นางสาวทิพวรรณ ยืนยงค์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2551

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ความคงตัวของแกมมา-โอรีซานอลในน้ำมันรำข้าวที่อุณหภูมิสูง

โดย

นางสาวทิพวรรณ ยืนยงค์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2551

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

STABILITY OF GAMMA-ORYZANOL IN RICE BRAN OIL AT HIGH TEMPERATURE

By

Thippawan Yuenyong

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree

MASTER OF SCIENCE

Department of Food Technology

Graduate School

SILPAKORN UNIVERSITY

2008

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร อนุมัติให้วิทยานิพนธ์เรื่อง “ ความคงตัวของแกมมา-ไอริซานอลในน้ำมันรำข้าวที่อุณหภูมิสูง ” เสนอโดย นางสาวทิพวรรณ ยืนยงค์ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริชัย ชินะตั้งกูร)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่.....เดือน..... พ.ศ.....

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

1. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปราโมทย์ คูวิจิตรจารุ
2. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรุณศรี ลีจිරจำเนียร
3. อาจารย์ ดร.ดวงใจ ถิรธรรมถาวร

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บัณฑิต อินณวงศ์)

...../...../.....

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชัยยงค์ เตชะไพโรจน์)

...../...../.....

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปราโมทย์ คูวิจิตรจารุ)

...../...../.....

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรุณศรี ลีจिरจำเนียร)

...../...../.....

..... กรรมการ

(อาจารย์ ดร.ดวงใจ ถิรธรรมถาวร)

...../...../.....

49403205 : สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

คำสำคัญ : น้ำมันรำข้าว/แกมมา-โอริซานอล/จลนพลศาสตร์/เฟอริคคลอไรด์

ทิพวรรณ ยืนยงค์ : ความคงตัวของแกมมา-โอริซานอลในน้ำมันรำข้าวที่อุณหภูมิสูง.
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ผศ.ดร.ปราโมทย์ ฤวิจิตรจารุ , ผศ.ดร.อรุณศรี ลีจิระจำเริญ และ
อ.ดร.ดวงใจ ภิรธรรมถาวร. 58 หน้า.

แกมมา-โอริซานอลเป็นสารที่มีความสามารถในการต้านการเกิดออกซิเดชันตามธรรมชาติ และพบในปริมาณสูงในรำข้าว งานวิจัยนี้ศึกษาถึงผลของการให้ความร้อนที่ 132 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 480 ชั่วโมง, 160 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 140 ชั่วโมง, 192 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 ชั่วโมง และ 222 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 50 ชั่วโมง และศึกษาความเข้มข้นของเฟอริคคลอไรด์ คือ 0, 2.5, 5.0 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (เมื่อให้ความร้อนที่ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 50 ชั่วโมง) ต่อจลนพลศาสตร์การสลายตัวของแกมมา-โอริซานอล การเปลี่ยนแปลงความสามารถในการจับอนุมูลอิสระ และการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันรำข้าว โดยศึกษาในน้ำมันรำข้าวที่ผ่านการกำจัดสารต่อต้านการเกิดออกซิเดชันตามธรรมชาติออกและเติมแกมมา-โอริซานอลบริสุทธิ์ ลงไป 3,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ผลการศึกษาพบว่า การสลายตัวของแกมมา-โอริซานอลที่อุณหภูมิต่างๆ สามารถอธิบายได้ด้วยสมการจลนพลศาสตร์อันดับที่ 1 โดยค่าพลังงานก่อกัมมันต์ของปฏิกิริยาที่คำนวณตามสมการ Arrhenius มีค่า 48.08 กิโลจูลต่อโมล จากการวัดค่าความสามารถในการจับอนุมูลอิสระ DPPH ของน้ำมันที่ผ่านการให้ความร้อนพบว่า DPPH remaining (%) จะเพิ่มขึ้นในช่วงแรกแต่หลังจากที่น้ำมันรำข้าวเกิดการออกซิเดชันมากขึ้น พบว่าค่า DPPH remaining (%) มีค่าลดลง แต่ค่าเพอร์ออกไซด์และค่าอะนิซิดีนมีการเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาในการให้ความร้อนสำหรับผลของความเข้มข้นของเฟอริคคลอไรด์นั้น พบว่าการสลายตัวของแกมมา-โอริซานอลยังสามารถอธิบายได้ด้วยสมการอันดับที่ 1 เช่นกัน โดยความเข้มข้นของเฟอริคคลอไรด์ที่สูงขึ้นจะเพิ่มอัตราการสลายตัวของแกมมา-โอริซานอลและเร่งการเพิ่มของค่าเพอร์ออกไซด์, ค่าอะนิซิดีน, ค่าคอนจูเกตไดอิน และค่าคอนจูเกตไตรอิน สำหรับการเปลี่ยนแปลงของ DPPH remaining (%) จะมีลักษณะเช่นเดียวกับผลการศึกษาในส่วนแรก

ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ปีการศึกษา 2551

ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ 1. 2. 3.

49403205 : MAJOR : FOOD TECHNOLOGY

KEY WORDS : RICE BRAN OIL/GAMMA-ORYZANOL/KINETICS/FERRIC CHLORIDE

THIPPAWAN YUENYONG : STABILITY OF GAMMA-ORYZANOL IN RICE BRAN OIL AT HIGH TEMPERATURE. THESIS ADVISORS : ASST.PROF.PRAMOTE KHUWIJITJARU,Ph.D., ASST.PROF.ARUNSRI LEEJEERAJUMNEAN,Ph.D., AND DUANGJAI THIRATHUMTHAVORN, Ph.D. 58 pp.

Gamma-oryzanol is a natural antioxidant found at high concentration in rice bran. In this study, the effects of heating at 132 °C for 480 h, 160°C for 140 h, 192°C for 60 h and 222°C for 50 h, and the effect of ferric chloride contents at 0, 2.5, 5.0 and 7.5 mg/kg (at 180°C, 50 h) on the degradation kinetics of gamma-oryzanol and radical scavenging-capacity and lipid oxidation of the heated oil were investigated. Purified rice bran oil that natural antioxidants were removed and were added with 3,000 mg/kg of gamma-oryzanol, was used. The first-order kinetic model could described the degradation reaction of the gamma-oryzanol at different temperatures and the activation energy estimated from Arrhenius equation was 48.08 kJ/mol. Determination of DPPH radical scavenging capacity of heated oil showed that DPPH remaining (%) increased at the beginning period of heating, but after the oxidation progress further, DPPH remaining (%) started to decrease with time. Peroxide value and anisidine value increased continually during heating. Degradation of gamma-oryzanol in rice bran oil added with ferric chloride could be also described by the first-order kinetic model. Ferric chloride increased the degradation rate of gamma-oryzanol and accelerated increasing of peroxide value, anisidine values, conjugated dienes and conjugated trienes values. Changing of the DPPH remaining (%) was similar to the results mentioned above.

Department of Food Technology Graduate School, Silpakorn University Academic Year 2008

Student's signature

Thesis Advisors' signature 1. 2. 3.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้เนื่องด้วย ผศ.ดร.ปราโมทย์ ฤทธิไตรการ
กราบขอบพระคุณอย่างยิ่งที่กรุณาให้คำแนะนำและคำปรึกษาที่ดี ตรวจสอบเล่มวิทยานิพนธ์จน
เสร็จสมบูรณ์ และดูแลในหลายๆ ด้านจนกระทั่งงานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.บัณฑิต อินดวงศ์ ผศ.ดร.อรุณศรี ลีจรรย์เนียร อ.ดร.ดวงใจ
ดิษฐธรรมถาวร และ ผศ.ดร.ชัยยงค์ เตชะไพโรจน์ สำหรับคำแนะนำในมุมมองที่ต่างออกไป และ
ความกรุณาในการตรวจสอบและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความถูกต้องและสมบูรณ์มากขึ้น

ขอขอบพระคุณคณาจารย์และนักวิทยาศาสตร์ภาควิชาเทคโนโลยีอาหารทุกท่านที่ให้ความ
ความรู้และอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัย

ขอขอบคุณ Professor Shuji Adachi สำหรับความกรุณาในการส่งสารแกมมา-
โอริซานอลเพื่อใช้ในการทำวิจัย และบริษัท Tsuno Rice Fine Chemical Co., Ltd ประเทศญี่ปุ่น ที่
สนับสนุนสารแกมมา-โอริซานอลอันเป็นประโยชน์สำหรับผู้วิจัย

ขอขอบคุณนักวิทยาศาสตร์ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ที่อำนวยความสะดวกในการใช้
เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวความดันสูง

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และครอบครัวอันยิ่งใหญ่ สำหรับกำลังใจที่สำคัญที่สุด ใน
การศึกษาเล่าเรียน การทำงานวิจัย การดำเนินชีวิตที่ดี และทุกๆ สิ่ง ทุกๆ อย่างตลอดมา

ขอขอบคุณ คุณกมุทกานต์ หวัดสนิท คุณทศพล สุทธาสิริทรัพย์ คุณศรันยา ลากส่งผล
คุณนุชา สายพุดกสิกร คุณจิราพร เพลินจิต คุณอัมพร เอาสูงเนิน และอีกหลายๆ ท่านที่ไม่สามารถ
กล่าวได้หมด ณ ที่นี้ สำหรับคำแนะนำ คำปรึกษา และความช่วยเหลือในหลายๆ ด้าน

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ญ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาและที่มาของงานวิจัย.....	1
วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
สมมติฐานของงานวิจัย.....	2
ขอบเขตของงานวิจัย	2
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
น้ำมันรำข้าว	3
มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำมันรำสำหรับบริโภค	7
แกมมา-โอรีซานอล.....	8
การต่อต้านการเกิดออกซิเดชันของแกมมา-โอรีซานอล.....	12
การเร่งการเกิดออกซิเดชันของเหล็ก	13
จลนพลศาสตร์	14
3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	16
วัตถุประสงค์	16
สารเคมี.....	16
อุปกรณ์และเครื่องมือ.....	17
วิธีการทดลอง.....	18
ศึกษาจลนพลศาสตร์การสลายตัวของแกมมา-โอรีซานอลใน น้ำมันรำข้าวเมื่อผ่านการให้ความร้อนสูง	18
ศึกษาผลของปริมาณเฟอร์ริกคลอไรด์ต่อการสลายตัวของแกมมา- โอรีซานอลในน้ำมันรำข้าวเมื่อผ่านการให้ความร้อนในระดับการทอด	19

บทที่	หน้า
4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผล.....	21
จลพลศาสตร์การสลายตัวของแกมมา-โอริซานอลในน้ำมันรำข้าวเมื่อผ่านการให้ความร้อนสูง.....	21
ประสิทธิภาพการกำจัดสารต่อต้านการเกิดออกซิเดชันตามธรรมชาติในน้ำมันรำข้าว.....	21
ผลของการให้ความร้อนกับน้ำมันรำข้าวต่อการลดลงของปริมาณแกมมา-โอริซานอล.....	23
ผลของการให้ความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลง DPPH radical-scavenging....	27
ผลของการให้ความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงค่าเพอร์ออกไซด์.....	28
ผลของการให้ความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงค่าอะนิซิติน.....	31
ผลของปริมาณเฟอริคคลอไรด์ต่อการสลายตัวของแกมมา-โอริซานอลในน้ำมันรำข้าวเมื่อผ่านการให้ความร้อนในระดับการทอด.....	33
ปริมาณของเฟอริคคลอไรด์ต่อการสลายตัวของแกมมา-โอริซานอล.....	33
ผลของปริมาณเฟอริคคลอไรด์ต่อการเปลี่ยนแปลง DPPH radical-scavenging.....	35
ผลปริมาณของเฟอริคคลอไรด์ต่อการเปลี่ยนแปลงค่าเพอร์ออกไซด์.....	37
ผลปริมาณของเฟอริคคลอไรด์ต่อการเปลี่ยนแปลงค่าอะนิซิติน.....	38
ผลปริมาณของเฟอริคคลอไรด์ต่อการเปลี่ยนแปลงค่าคอนจูเกตไดอินและคอนจูเกตไตรอิน.....	39
5 สรุปผลการทดลอง.....	42
บรรณานุกรม.....	43
ภาคผนวก.....	49
ภาคผนวก ก.....	50
ภาคผนวก ข.....	52
ภาคผนวก ค.....	57
ประวัติผู้วิจัย.....	58

สารบัญญัตินำ

ตารางที่		หน้า
2.1	ส่วนประกอบของรำข้าว	3
2.2	ปริมาณวิตามินและแร่ธาตุในรำข้าว	4
2.3	องค์ประกอบโดยประมาณในน้ำมันรำข้าว 100 กรัม	5
2.4	องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำมันรำข้าว	6
2.5	คุณลักษณะที่ต้องการของน้ำมันรำสำหรับบริโภค	7
2.6	ปริมาณวิตามินอี แกมมา-โอรีซานอล และไขมันในข้าวไทยพันธุ์ต่างๆ	10
4.1	คุณลักษณะของน้ำมันรำข้าวที่ผ่านและไม่ผ่านคอลัมน์อะลูมินัมออกไซด์	22
4.2	ชนิดของกรดไขมันในน้ำมันรำข้าวที่ผ่านการกำจัดสารต่อต้านการเกิด ออกซิเดชันตามธรรมชาติออก	23
4.3	ค่าคงที่อัตราการสลายตัวของแกมมา-โอรีซานอล (k) และค่าสหสัมพันธ์ (R^2) จากการวิเคราะห์หรีเกรสชัน	26
4.4	ค่าคงที่อัตราการสลายตัวของแกมมา-โอรีซานอล (k) และค่าสหสัมพันธ์ (R^2) จากการวิเคราะห์หรีเกรสชัน	35

สารบัญญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	โครงสร้างทางเคมีของแกมมา-โอริซานอล	8
2.2	โครงสร้างของสเตอรอลในน้ำมันรำข้าว	11
2.3	กลไกในการต้านออกซิเดชันของแกมมา-โอริซานอล.....	12
3.1	ชุดอุปกรณ์ในการให้ความร้อนน้ำมันรำข้าวด้วยอ่างชิลิโคน	17
4.1	HPLC โครมาโตแกรมของน้ำมันรำข้าวที่ผ่านการเติมแกมมา-โอริซานอล 3,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม.....	22
4.2	การลดลงของปริมาณแกมมา-โอริซานอลในน้ำมันรำข้าวที่อุณหภูมิ 132, 160, 192 และ 222 องศาเซลเซียส	24
4.3	ความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln C/C_0$ กับเวลาที่อุณหภูมิ 132, 160, 192 และ 222 องศาเซลเซียส.....	25
4.4	Arrhenius plot สำหรับการสลายตัวของปริมาณแกมมา-โอริซานอลในน้ำมัน รำข้าวที่อุณหภูมิ 132, 160, 192 และ 222 องศาเซลเซียส.....	27
4.5	ค่า %DPPH remaining ของน้ำมันรำข้าวที่เติมและไม่เติมแกมมา-โอริซานอล ที่อุณหภูมิ 132, 160, 192 และ 222 องศาเซลเซียส.....	29
4.6	ค่าเพอร์ออกไซด์ของน้ำมันรำข้าวที่เติมและไม่เติมแกมมา-โอริซานอลที่ อุณหภูมิ 132, 160, 192 และ 222 องศาเซลเซียส	30
4.7	ค่าอะนิซิดีนของน้ำมันรำข้าวที่เติมและไม่เติมแกมมา-โอริซานอลที่อุณหภูมิ 132, 160, 192 และ 222 องศาเซลเซียส	32
4.8	ปริมาณแกมมา-โอริซานอลในน้ำมันรำข้าวเมื่อเติมเพอริคคลอไรด์ความ เข้มข้น 0, 2.5, 5.0 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม.....	33
4.9	ความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln C/C_0$ กับความเข้มข้นของเพอริคคลอไรด์ 0, 2.5, 5.0 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	34
4.10	ความสัมพันธ์ของค่าคงที่การสลายตัวกับความเข้มข้นของเพอริคคลอไรด์ใน น้ำมันรำข้าว.....	36
4.11	การเปลี่ยนแปลงของค่า %DPPH remaining เมื่อเติมเพอริคคลอไรด์ความ เข้มข้น 0, 2.5, 5.0 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม.....	37
4.12	การเปลี่ยนแปลงของค่าเพอร์ออกไซด์เมื่อเติมเพอริคคลอไรด์ความเข้มข้น 0, 2.5, 5.0 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	38

ภาพที่	หน้า
4.13 การเปลี่ยนแปลงของค่าอะนิซิตินเมื่อเติมเฟอร์ริคคลอไรด์ความเข้มข้น 0, 2.5, 5.0 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	39
4.14 การเปลี่ยนแปลงค่าคอนจูเกตไดอินเมื่อเติมเฟอร์ริคคลอไรด์ความเข้มข้น 0, 2.5, 5.0 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	40
4.15 การเปลี่ยนแปลงค่าคอนจูเกตไตรอินเมื่อเติมเฟอร์ริคคลอไรด์ความเข้มข้น 0, 2.5, 5.0 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	41

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและที่มาของงานวิจัย

น้ำมันรำข้าว (rice bran oil) เป็นน้ำมันที่ได้รับความนิยมในการบริโภคมากในประเทศจีน อินเดีย เกาหลี ญี่ปุ่น อินโดนีเซีย ไทย และประเทศแถบแปซิฟิก เนื่องจากเป็นน้ำมันที่มีจุดเกิดควันสูง ให้กลิ่นรสของอาหารที่ดี และมีคุณค่าทางโภชนาการสูง นอกจากนี้ น้ำมันรำข้าวยังอุดมไปด้วยส่วนของไขมันที่ไม่ถูกไฮโดรไลซ์ด้วยด่าง (unsaponifiable) ถึงร้อยละ 4 ซึ่งรวมถึงสารต้านอนุมูลอิสระและสารอาหารที่มีประโยชน์ ในขณะที่น้ำมันอื่นๆ มีส่วนของไขมันที่ไม่ถูกไฮโดรไลซ์ด้วยด่างประมาณร้อยละ 1-2 ในส่วนของไขมันที่ไม่ถูกไฮโดรไลซ์ด้วยด่างในน้ำมันรำข้าวนี้อุดมไปด้วยโทโคฟีรอล, โทโคไตรอีนอล, แกมมา-โอริซานอล, ฟิโตสเตอรอล, โพลีฟีนอล และสควอลีน (Patel และ Naik, 2004; Ghosh, 2007) เนื่องจากว่าน้ำมันรำข้าวมีสารต่อต้านการเกิดออกซิเดชันในตัวเอง มีความหนืดต่ำ และดูดซับน้ำมันในระหว่างการทอดน้อย จึงลดปริมาณแคลอรีในอาหารทอด (Ghosh, 2007)

แกมมา-โอริซานอลเป็นกลุ่มของสารประกอบที่มีโครงสร้างทางเคมีเป็นสารเอสเทอร์ระหว่างกรดเฟอร์ูลิก (ferulic acid) กับหมู่สเตอรอล (sterol) หรือหมู่ไตรเทอปีนแอลกอฮอล์ (triterpene alcohols) ชนิดต่างๆ โดยเป็นสารที่มีความสามารถเป็นสารต้านการเกิดออกซิเดชันตามธรรมชาติของไขมันเช่นเดียวกับโทโคฟีรอล และโทโคไตรอีนอล (Xu และคณะ, 2001) จึงทำให้น้ำมันรำข้าวคงสภาพได้นานที่อุณหภูมิสูง คุณสมบัติทางกายภาพ เช่น สี รส รวมทั้งคุณสมบัติทางเคมีก็ไม่เปลี่ยนแปลง นอกจากนี้ยังพบว่าแกมมา-โอริซานอลมีฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ ที่มีผลต่อสุขภาพอีกหลายประการ เช่น การลดปริมาณโคเลสเตอรอลในเลือด กระตุ้นการเจริญเติบโตของร่างกาย และลดการดูดซึมโคเลสเตอรอล ทำให้ปัจจุบันผู้บริโภคให้ความสนใจกับการนำน้ำมันรำข้าวมาใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารกันมากขึ้น อย่างไรก็ตามเนื่องจากการทำหน้าที่เป็นสารต่อต้านการเกิดออกซิเดชันทำให้แกมมา-โอริซานอลถูกใช้ไปในระหว่างกระบวนการปรุงอาหาร โดยเฉพาะกระบวนการที่ใช้อุณหภูมิสูง เช่น การทอด จนทำให้ปริมาณที่เหลืออยู่อาจจะไม่เพียงพอที่จะให้ประโยชน์ต่อผู้บริโภคได้อย่างแท้จริง แต่องค์ความรู้เกี่ยวกับความคงตัวในลักษณะการศึกษาจลนพลศาสตร์ (kinetics) ของการสลายตัวของสารแกมมา-โอริซานอลนี้ยังมีไม่เพียงพอ

และยังไม่มีการศึกษาถึงปัจจัยที่เร่งการออกซิเดชัน เช่น เหล็ก (ferric) ที่มีผลต่อการสลายตัวของแกมมา-โอริซานอลในน้ำมันรำข้าวอีกด้วย

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาจลนพลศาสตร์การสลายตัวของแกมมา-โอริซานอลในน้ำมันรำข้าวเมื่อผ่านการให้ความร้อนสูง

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของปริมาณเฟอริกคลอไรด์ต่อการสลายตัวของแกมมา-โอริซานอลในน้ำมันรำข้าวเมื่อผ่านการให้ความร้อนในระดับการทอด

1.3 สมมติฐานของงานวิจัย

1.3.1 อุณหภูมิในการให้ความร้อนและปริมาณของเฟอริกคลอไรด์ที่แตกต่างกันมีผลต่อการลดลงของปริมาณของแกมมา-โอริซานอล

1.3.2 การลดลงของปริมาณแกมมา-โอริซานอลสามารถอธิบายได้ด้วยสมการจลนพลศาสตร์เคมีอย่างง่าย

1.4 ขอบเขตของงานวิจัย

1.4.1 ศึกษาในน้ำมันรำข้าวที่ผ่านการกำจัดสารต่อต้านการออกซิเดชันตามธรรมชาติออกแล้ว และเติมสารแกมมา-โอริซานอลบริสุทธิ์เข้าไปใหม่ในปริมาณที่กำหนด

1.4.2 สารแกมมา-โอริซานอลเป็นสารประกอบที่มี steryl ferulate หลายชนิด โดยมีองค์ประกอบหลักเพียง 4 ชนิด ซึ่งได้แก่ cycloartenyl ferulate, 24-methylene cycloartenyl ferulate, campesteryl ferulate และ sitosteroyl ferulate ในกาวิเคราะห์หาปริมาณ แกมมา-โอริซานอลจะคิดจากปริมาณของทั้ง 4 องค์ประกอบรวมกัน

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 น้ำมันรำข้าว (Rice Bran Oil)

ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีการปลูกข้าวมากที่สุดประเทศหนึ่งในโลกโดยข้าวเป็นสินค้าทางการเกษตรที่สำคัญ ในแต่ละปีประเทศไทยสามารถผลิตข้าวเปลือกได้ประมาณ 21 ล้านตัน เป็นข้าวสารได้ 12.6 ล้านตัน และได้รำข้าวประมาณ 2 ล้านตัน ประมาณร้อยละ 70 ของรำข้าวผลิตเป็นอาหารสัตว์ และร้อยละ 15 สกัดเป็นน้ำมันรำข้าว ซึ่งส่วนใหญ่จะถูกส่งออกในรูปแบบของน้ำมันดิบ (คมสัน หุตะแพทย์, 2550) สำหรับปริมาณและองค์ประกอบในรำข้าวจะขึ้นอยู่กับชนิดของข้าว คุณภาพของข้าวเปลือก การเตรียมข้าวเปลือก ชนิดของการสีข้าว และระดับของการขัดขาว โดยองค์ประกอบของรำข้าวเป็นแหล่งของสารอาหารที่มีประโยชน์และมีน้ำมันในปริมาณที่มาก ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ส่วนประกอบของรำข้าว

ส่วนประกอบ	ปริมาณ (กรัม / 100 กรัม)
น้ำ	10.8
โปรตีน	14.3
น้ำมัน	22.8
เส้นใยอาหาร	9.2
เกลือแร่	9.2
คาร์โบไฮเดรต	33.7

ที่มา: คมสันต์ หุตะแพทย์, 2550

รำข้าวมีลักษณะเป็นผงละเอียดสีน้ำตาลอ่อนซึ่งเป็นเชื้อหุ้มผิวข้าวที่ถูกขัดออกระหว่างกระบวนการสีข้าวเปลือก รำข้าวเมื่อนำมาสกัดน้ำมันออกแล้วนอกจากจะได้น้ำมันรำข้าวที่ประกอบด้วยกรดไขมันที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงแล้วในรำข้าวยังมีวิตามินและเกลือแร่อื่นๆ อีกดังแสดงในตารางที่ 2.2 ดังนั้น จึงสามารถนำส่วนที่เป็นกากรำนี้ไปใช้ป้อนเป็นอาหารสำหรับใช้เลี้ยงสัตว์ได้อีกด้วย อย่างไรก็ตามมักพบว่ารำข้าวที่ผลิตได้มีการเสื่อมเสียอย่างรวดเร็วเนื่องจากเอนไซม์ที่ปลดปล่อยออกมาเมื่อมีการขัดสีในขั้นตอนของการกำจัดเปลือกข้าว (Cheruvanky, 2003) โดยเอนไซม์ที่พบในรำข้าวมีหลายชนิด เช่น ไลเปส (lipase), ไลพอกซีจีเนส (lipoxygenase), อะไมเลส (amylase), เลซิทีนเนส (lecitinase), เอสเทอเรส (esterase), อินเวอร์เทส (invertase), มอลเตส (maltase), เพคตินเนส (pectinase) และเพอร์ออกซิเดส (peroxidase) เป็นต้น ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดการไฮโดรไลซิสจึงเพิ่มปริมาณของกรดไขมันอิสระประมาณร้อยละ 1 ต่อชั่วโมง (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548) ดังนั้นการผลิตน้ำมันรำข้าวควรผลิตอย่างรวดเร็วหลังจากเก็บรำข้าวมาไว้แล้ว

ตารางที่ 2.2 ปริมาณวิตามินและแร่ธาตุในรำข้าว

Constituents	Content ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Vitamins	
Thiamine	10.1 - 26.9
Riboflavin	1.17 - 3.4
Niacin	241 - 590
Pyridoxine	10.3 - 32.1
Biotin	0.16 - 0.47
Vitamin A	4.2
Vitamin E	149.2
Minerals	
Calcium	140 - 1310
Phosphorus	14,800 - 28,680
Iron	130 - 530
Magnesium	8,650 - 12,300
Potassium	13,650 - 22,700

ที่มา: Salunkhe และคณะ (1992)

น้ำมันรำข้าว คือ น้ำมันพืชที่ผลิตจากน้ำมันรำข้าวดิบซึ่งสกัดจากรำข้าว จัดได้ว่าเป็นน้ำมันที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย และมีคุณค่าทางโภชนาการสูง เนื่องจากมีปริมาณของสารต่อต้านการเกิดออกซิเดชันตามธรรมชาติที่ดีโดยเฉพาะโทโคฟีรอล, โทโคไตรอีนอล, กรดเฟอรูลิก, แกมมา-โอริซานอล, ไฟโตสเตอรอล, โพลีฟีนอล และสควอลีน ซึ่งปริมาณของแกมมา-โอริซานอลนี้พบว่า มีปริมาณมากกว่าโทโคไตรอีนอลที่พบมากในน้ำมันที่ได้จากพืช ดังแสดงในตารางที่ 2.3 และนอกจากนี้ น้ำมันรำข้าวยังเป็นแหล่งของกรดไขมันที่สำคัญ ซึ่งได้แก่ โอเลอิก, ลิโนเลอิก และปาล์มมิติก รวมกันประมาณร้อยละ 75-95, ลิโนเลนิกร้อยละ 1-2.7, สเตียริกร้อยละ 1-2 และไมริสติกร้อยละ 0.1-1 ดังแสดงในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.3 องค์ประกอบ โดยประมาณในน้ำมันรำข้าว 100 กรัม

สารประกอบ	ปริมาณ	
ไขมันชนิดไตรกลีเซอไรด์	92.0-97.0	กรัม
สารประกอบที่ละลายในน้ำมัน	3-8	กรัม
โทโคฟีรอล (Tocopherol)	0.06	กรัม
โทโคไตรอีนอล (Tocotrienol)	0.07	กรัม
โอริซานอล (Oryzanol)	0.09	กรัม
อื่นๆ (Phytosterol, Triterpene, Polyphenol)	2.78-4.78	กรัม

ที่มา: คมสันต์ หุตะแพทย์ (2550)

งานวิจัยหลายชิ้น พบว่า น้ำมันรำข้าวสามารถลดโคเลสเตอรอลชนิดแอลดีแอล-โคเลสเตอรอล แต่ไม่ลดโคเลสเตอรอลชนิดเอชดีแอล-โคเลสเตอรอลซึ่งเป็นโคเลสเตอรอลที่ดีต่อสุขภาพ (Kahlon และคณะ, 1996; Rong และคณะ, 1997; Gerhardt และคณะ, 1998) ในงานวิจัยเหล่านี้กล่าวว่าสารที่มีบทบาทต่อการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว คือ แกมมา-โอริซานอล สำหรับโทโคไตรอีนอลเป็นกลุ่มของวิตามินอีที่มีความสำคัญโดยเป็นสารที่ต้านการเกิดมะเร็ง (Komiyama และคณะ, 1992 และ Nesaretnam และคณะ, 1998) และนอกจากนี้ น้ำมันรำข้าวยังไม่ผลิตสารที่ก่อให้เกิดอาการแพ้เมื่อเข้าสู่ร่างกายซึ่งไม่เหมือนกับน้ำมันชนิดอื่นๆ และมีกรดไขมันในปริมาณที่เหมาะสมเป็นอย่างมาก เช่น ปริมาณกรดไขมันที่อิ่มตัว (saturated fatty acid) กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (mono-unsaturated fatty acid) และกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (poly-unsaturated fatty acid) มีสัดส่วนเท่ากับ 18: 45: 37 หรือประมาณ 0.5: 1.2: 1 ซึ่งสอดคล้องกับข้อแนะนำขององค์การ

อนามัยโลก (WHO) ที่แนะนำให้บริโภคน้ำมันที่มีองค์ประกอบของกรดไขมันทั้ง 3 ชนิด ในสัดส่วน 1: 1.5: 1 (คมสัน หุตะแพทย์, 2550)

สำหรับการนำน้ำมันรำข้าวมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารทอดนั้น พบว่า ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความคงตัวต่อการเกิดออกซิเดชันมากกว่าเมื่อเทียบกับน้ำมันชนิดอื่น เช่น น้ำมันถั่วเหลือง (Chotimarkorn และ Silalai, 2008) เนื่องจากน้ำมันรำข้าวมีปริมาณของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนต่ำ และมีสารต้านอนุมูลอิสระในตัวเอง ซึ่งได้แก่ วิตามินอี และแกมมา-โอริซานอล และนอกจากนี้ยังสามารถเติมน้ำมันรำข้าวลงไปในการทอดเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา เช่น เติมน้ำมันรำข้าวลงไปในเนื้อหมูก่อนทำแห้งด้วยวิธี spray dry (Nanua และคณะ, 2000) การเติมน้ำมันรำข้าวร้อยละ 2 ในเนื้อวัวชิ้นรูปโดยพบว่าเนื้อวัวชิ้นรูปที่เติมน้ำมันรำข้าวมีความคงตัวต่อการเกิดออกซิเดชันมากกว่าเมื่อเทียบกับตัวอย่างไม่เติมน้ำมันรำข้าว (Kim และคณะ, 2000)

ตารางที่ 2.4 องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำมันรำข้าว

Physicochemical parameters	
Acid value	1.2
Iodine value	91.5
Saponifiable value	211.8
Unsaponifiable matter (%)	4.2
Fatty acid composition (%)	
Myristic acid (C14:0)	0.6
Palmitic acid (C16:0)	21.5
Stearic acid (C18:0)	2.9
Oleic acid (C18:1)	38.4
Linoleic acid (C18:2)	34.4
Linolenic acid (C18:3)	2.2

ที่มา: Orthoefer (1996)

2.2 มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำมันรำสำหรับบริโภค

น้ำมันที่สกัดได้โดยเฉพาะน้ำมันที่สกัดได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายมักมีสารประกอบชนิดอื่นเจือปนมาด้วย เช่น ฟอสโฟลิปิด, สารประกอบเชิงซ้อนของไขมันและโปรตีน (fat-protein complex), คาร์โบไฮเดรต, กรดไขมันอิสระ, รงควัตถุต่างๆ, แวกซ์, กลิเซอรอลที่มีจุดหลอมเหลวสูง และสารที่ให้กลิ่นต่างๆ เช่น ไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon), แอลดีไฮด์ (aldehyde) และคีโตน (ketone) เป็นต้น สิ่งเหล่านี้จำเป็นต้องกำจัดออกเพื่อให้น้ำมันให้บริสุทธิ์และใช้บริโภคได้ โดยมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำมันรำสำหรับบริโภค ได้กำหนดคุณลักษณะที่ต้องการของน้ำมันรำสำหรับบริโภค ดังแสดงในตารางที่ 2.5

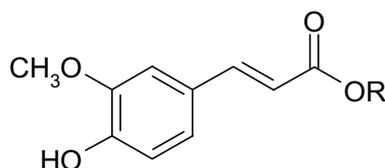
ตารางที่ 2.5 คุณลักษณะที่ต้องการของน้ำมันรำสำหรับบริโภค

ลำดับ	คุณลักษณะ	เกณฑ์ที่กำหนด
1	น้ำและสิ่งที่จะระเหยได้ (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	ไม่เกิน 0.2
2	สารที่ไม่ละลายในน้ำมัน (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	ไม่เกิน 0.05
3	ปริมาณสบู่ (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	ไม่เกิน 0.05
4	สี ใช้โลวิบอนสเกล 1 นี้้ว คิดเป็น Y+5R	ไม่เกิน 20
5	ดัชนีหักเห	1.460-1.470
6	ความถ่วงจำเพาะ	0.910-0.920
7	ค่าของไขมันที่ไม่ถูกไฮโดรไลซ์ด้วยด่าง (มิลลิกรัม KOH / กรัมไขมัน)	180-195
8	ไขมันที่ไม่ถูกไฮโดรไลซ์ด้วยด่าง(ร้อยละโดยน้ำหนัก)	ไม่เกิน 3.0
9	ค่ากรด (มิลลิกรัม KOH / กรัมไขมัน)	ไม่เกิน 0.6
10	ค่าไอโอดีน	92-115
11	ค่าเพอร์ออกไซด์ (มิลลิสมมูล/ กิโลกรัมไขมัน)	ไม่เกิน 10
12	เหล็ก (มิลลิกรัม/กิโลกรัมไขมัน)	ไม่เกิน 2.5
13	สารหนู (มิลลิกรัม/กิโลกรัมไขมัน)	ไม่เกิน 0.1
14	ทองแดง (มิลลิกรัม/กิโลกรัมไขมัน)	ไม่เกิน 0.1
15	ตะกั่ว (มิลลิกรัม/กิโลกรัมไขมัน)	ไม่เกิน 0.1

ที่มา: สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2516)

2.3 แกมมา-โอริซานอล (Gamma-oryzanol)

แกมมา-โอริซานอลค้นพบครั้งแรกในน้ำมันรำข้าวในปี ค.ศ.1954 โดยนักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่นชื่อ Tsuchiya, T. และ Kaneko, R. (Orthofer, 1996) มีลักษณะเป็นผงสีขาว หรือสีขาวปนเหลืองอ่อนๆ ละลายได้ดีในคลอโรฟอร์ม รองลงมาเป็นอีเทอร์ ละลายได้เล็กน้อยในเฮกเซน และไม่ละลายในน้ำ มีจุดหลอมเหลวสูงประมาณ 161.2 องศาเซลเซียส ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (absorption maxima) ที่ 315 291 และ 231 นาโนเมตร มีค่าการแตกตัวของหมู่ฟินอลในสารละลายเมทานอลประมาณ 0.8 (วราพร พงษ์ชรวารากุลพานิช, 2543)



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างทางเคมีของแกมมา-โอริซานอล

หมู่ R คือ กลุ่มสเตอรอลหรือกลุ่มไตรเทอปีนแอลกอฮอล์

ที่มา : Xu และ Godber (1999)

แกมมา-โอริซานอลเป็นกลุ่มของสารประกอบเอสเทอร์ระหว่างกรดเฟอร์ูลิก (ferulic acid) และสเตอรอล (sterols) หรือไตรเทอปีนแอลกอฮอล์ (triterpene alcohols) ชนิดต่างๆ (ภาพที่ 2.1) โดยแกมมา-โอริซานอลเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติเช่นเดียวกับ โทโคฟีรอล และโทโคไตรอีนอล จึงทำให้น้ำมันรำข้าวคงสภาพได้นานที่อุณหภูมิสูง คุณสมบัติทางกายภาพ เช่น สี รส รวมทั้งคุณสมบัติทางเคมีก็ไม่เปลี่ยนแปลง นอกจากนี้ยังมีรายงานวิจัย พบว่า แกมมา-โอริซานอลสามารถลดระดับโคเลสเตอรอลโดยแกมมา-โอริซานอลจะไปจับกับโคเลสเตอรอลในน้ำดี แล้วเพิ่มการขับน้ำดีเข้าไปในลำไส้และป้องกันไม่ให้มีการดูดซึมกลับเข้ามาใหม่ ลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจลดการรวมตัวของเกล็ดเลือด (platelet aggregation) และช่วยชะลอความเสื่อมของเซลล์สาเหตุของมะเร็ง ปริมาณแกมมา-โอริซานอลที่พบในน้ำมันรำข้าวมีมากกว่าวิตามินอี ประมาณ 20 เท่า ซึ่งอาจจะมีปริมาณแกมมา-โอริซานอลสูงถึง 3,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Xu และ Godber, 1999) แต่ทั้งนี้ปริมาณแกมมา-โอริซานอลยังมีความแปรปรวนอยู่มาก เช่น การตรวจสอบ

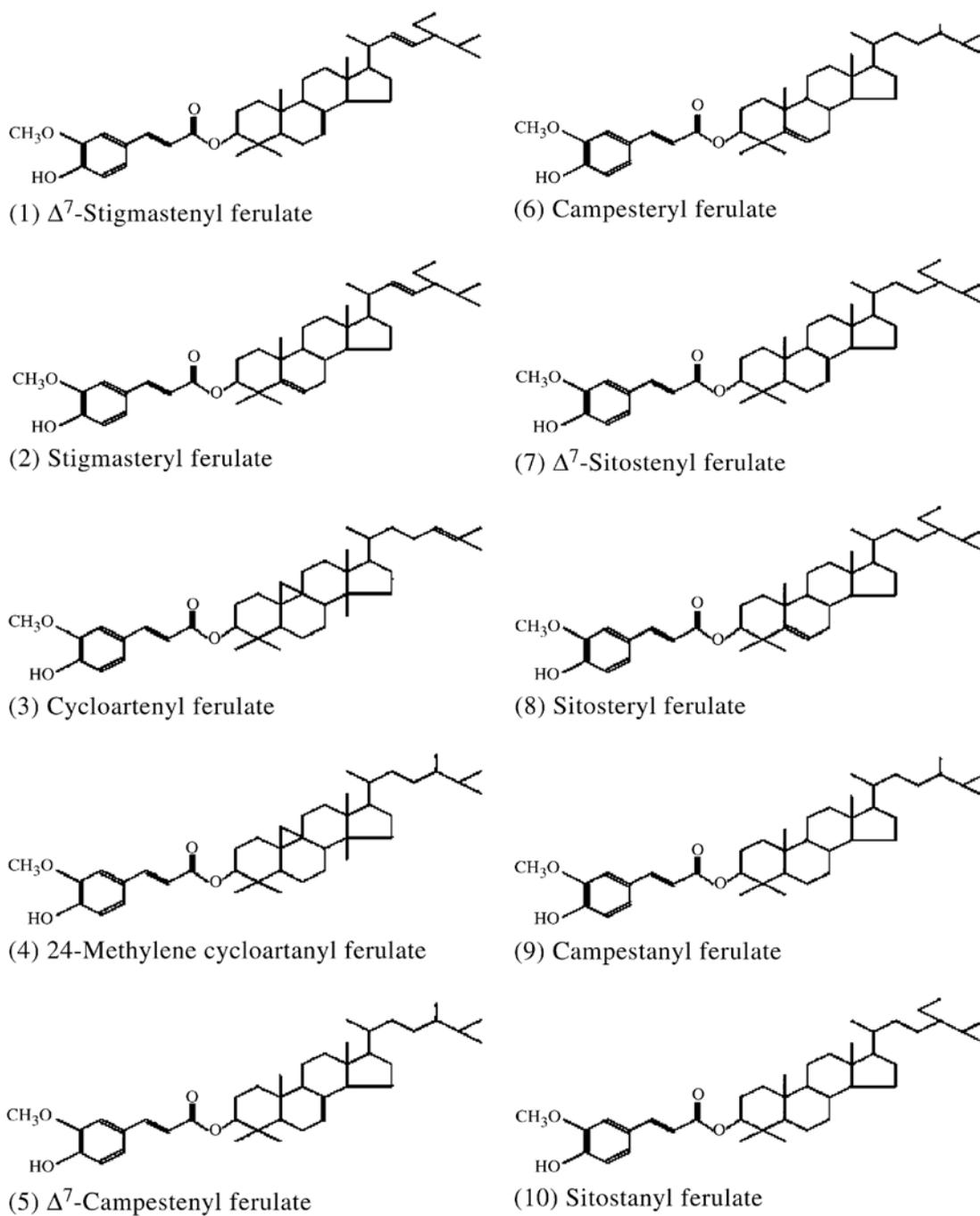
ปริมาณแกมมา-โอริซานอลในน้ำมันรำข้าวที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ที่ขายอยู่ในประเทศญี่ปุ่นมีประมาณ 1,500 -2,900 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ประเทศอินเดียพบประมาณ 1,500 -1,900 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในขณะที่ประเทศสหรัฐอเมริกาพบประมาณ 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Saska และ Rossiter, 1998) ทั้งนี้เนื่องจากถูกขจัดออกหรือสลายตัวไปในกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ (refining) ซึ่งจะมากหรือน้อยขึ้นกับความรุนแรงในกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ และความแตกต่างของกระบวนการผลิตน้ำมันรำข้าว โดย Van Hoed และคณะ (2006) รายงานว่าในขั้นตอนของการใช้ต่างหรือการทำให้เป็นกลางเป็นขั้นตอนสำคัญที่ทำให้เกิดการสูญเสียของแกมมา-โอริซานอลสูงสุด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Krishna และคณะ (2001) ที่พบว่าขั้นตอนของการกำจัดกัม และโซ ทำให้สูญเสียแกมมา-โอริซานอลเพียงร้อยละ 1.1- 5.9 แต่ในขั้นตอนของการขจัดกรดไขมันโดยใช้ต่างมีผลให้แกมมา-โอริซานอลถูกกำจัดออกไปถึงร้อยละ 93.0 – 94.6 และนอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของข้าว โดยนพมาศ และคณะ (2545) ศึกษาความแตกต่างของสายพันธุ์ข้าวในประเทศไทยต่อปริมาณของแกมมา-โอริซานอล โดยพบว่าข้าวสายพันธุ์ต่างๆ มีปริมาณของแกมมา-โอริซานอลที่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2.6

Xu และ Godber (1999) แยกองค์ประกอบของแกมมา-โอริซานอลโดยวิธี HPLC และวิเคราะห์ด้วย GC/MS พบว่า อนุพันธ์แกมมา-โอริซานอลมีทั้งสิ้น 10 อนุพันธ์ ซึ่งได้แก่ delta-7-stigmasteryl ferulate, stigmasteryl ferulate, cycloartenyl ferulate, 24-methylene cycloartenyl ferulate, delta-7-campestenyl ferulate, campesteryl ferulate, delta-7-sitostenyl ferulate, sitosteryl ferulate, campestanyl ferulate และ sitostanyl ferulate (แสดงดังภาพที่ 2.2) โดยอนุพันธ์หลักของแกมมา-โอริซานอลที่พบในน้ำมันรำข้าวมี 3-4 ชนิด ซึ่งได้แก่ cycloartenyl ferulate, 24-methylene cycloartenyl ferulate , campesteryl ferulate และ sitosteryl ferulate (Xu และ Godber 1999; Lloyd และคณะ, 2000; Xu และคณะ 2001; Fang และคณะ, 2003) รวมกันคิดเป็นประมาณร้อยละ 80 ของแกมมา-โอริซานอลทั้งหมด

ตารางที่ 2.6 ปริมาณวิตามินอี แกมมา-โอริซานอลและไขมันในข้าวไทยพันธุ์ต่างๆ

Variety	Type of rice as ecosystem	Fat content	Gamma- oryzanol content ($\mu\text{g/g}$ crude oil)	Vitamin E content ($\mu\text{g/g}$ crude oil)
Non-glutinous rice				
- Goo Muang Lauang	Upland rice	17.15 \pm 0.13	1,258.33 \pm 1.88	194.11
- Pathumthani1	Lowland rice	22.73 \pm 0.14	1,530.95 \pm 1.19	263.77
- Khao Dawk Mali105	Lowland rice	21.77 \pm 0.36	1,442.99 \pm 3.44	559.70
- RD 15	Lowland rice	12.61 \pm 0.08	1,746.71 \pm 4.47	157.43
- Hawm Pitsanuloke 1	Lowland rice	19.38 \pm 0.24	1,423.51 \pm 3.68	536.67
- RD 13	Lowland rice	19.04 \pm 0.38	1,812.17 \pm 1.54	323.38
- Hawm Klong Luang 1	Lowland rice	22.26 \pm 0.18	1,327.41 \pm 3.30	310.39
- Lep Nok Pattani	Lowland rice	21.65 \pm 0.12	1,394.87 \pm 3.78	348.32
- Nahng Phaya 132	Lowland rice	22.69 \pm 0.14	1,410.65 \pm 1.98	452.32
- Chainat 1	Lowland rice	14.83 \pm 0.15	1,456.49 \pm 3.44	234.00
- Tapoa Kaow 161	Floating rice	20.56 \pm 0.36	1,046.90 \pm 2.76	284.67
- Prajinburi 1	Deep water rice	21.50 \pm 0.21	1,209.22 \pm 3.53	167.44
- RD 19	Deep water rice	20.29 \pm 0.15	1,124.19 \pm 1.78	237.83
- Plai Ngam Prajinburi	Floating rice	15.32 \pm 0.17	1,371.02 \pm 2.11	362.56
Black-glutinous rice				
- S 1	Upland rice	25.65 \pm 0.19	1,965.97 \pm 1.66	52.86
- Kham Doi Saket	Upland rice	24.41 \pm 0.24	1,890.70 \pm 2.08	48.52
White-glutinous rice				
- RD 6	Lowland rice	25.55 \pm 0.16	1,360.09 \pm 4.45	244.62
- Nahng Chalawng	Floating rice	23.14 \pm 0.37	1,063.15 \pm 2.73	276.24

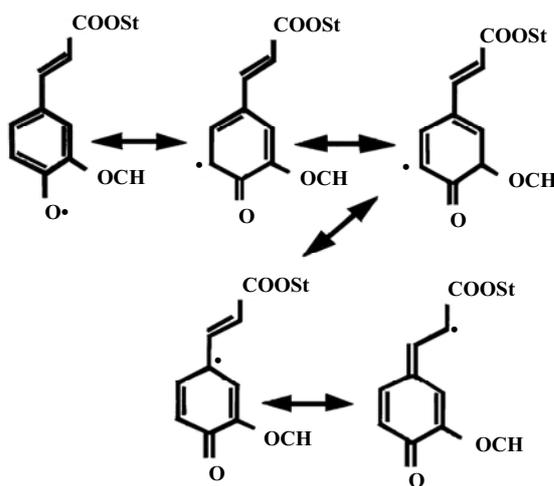
ที่มา: นพมาศ และคณะ (2545)



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างของสเตอรอลในน้ำมันรำข้าว
ที่มา: Xu และ Godber (1999)

2.4 การต่อต้านการเกิดออกซิเดชันของแกมมา-โอรีซานอล

การเกิดออกซิเดชันของน้ำมันสำหรับบริโภคมีผลโดยตรงทำให้เกิดสี กลิ่นรสที่ผิดปกติไปจากเดิม สูญเสียคุณค่าทางโภชนาการ ลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหารเปลี่ยนแปลง ผู้บริโภคไม่ยอมรับ หรืออาจเกิดสารประกอบใหม่ที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย (Nawar, 1996; Chung และคณะ, 2004; Choe และ Min, 2006) ซึ่งสารต้านการเกิดออกซิเดชัน คือ สารที่มีสมบัติป้องกัน หรือช่วยให้ไขมันเกิดการหืนได้ช้าลง จึงเป็นสารที่เติมลงในน้ำมันเพื่อชะลอหรือยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันทำให้น้ำมันคงตัว รักษาคุณลักษณะ กลิ่นและรสชาติไว้ได้นานขึ้น โดยความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารกลุ่มแกมมา-โอรีซานอลมาจากส่วนของกรดเฟอร์ูลิกซึ่งมีหมู่ฟินอลเป็นองค์ประกอบ โดยกรดเฟอร์ูลิกจะมีประสิทธิภาพมากกว่าอนุพันธ์ของกรดเฟอร์ูลิกเนื่องจากอนุพันธ์จะมีส่วนของไครเทอร์ปีนแอลกอฮอล์ทำให้มีโครงสร้างขนาดใหญ่และเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนยากกว่ากรดเฟอร์ูลิก (Xu และ Godber, 2001) สำหรับหน้าที่ในการต้านออกซิเดชันสามารถอธิบายได้โดยการเกิด resonance-stabilised structure (Kochhar, 2000) ดังแสดงในภาพที่ 2.3 ซึ่งจากภาพเมื่อแกมมา-โอรีซานอลได้รับอิเล็กตรอนจากอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว แกมมา-โอรีซานอลจะมีความสามารถย้ายอิเล็กตรอนในโครงสร้างวงแหวนโดยการเกิด resonance ทำให้แกมมา-โอรีซานอลมีความเสถียรสูงไม่เกิดการแตกตัวให้อิเล็กตรอนแล้วแกมมา-โอรีซานอลจะอยู่ในสภาพที่เป็นอนุมูลอิสระเสียเอง



St = Steryl moiety

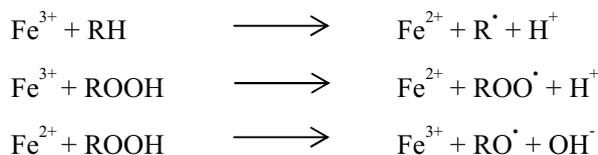
ภาพที่ 2.3 กลไกในการต้านออกซิเดชันของแกมมา-โอรีซานอล

ที่มา: Kochhar (2000)

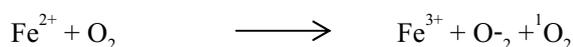
สำหรับความสามารถในการต้านการเกิดออกซิเดชันของแกมมา-โอริซานอลนี้มีการศึกษากันอย่างกว้างขวาง โดยพบว่าสามารถต้านการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันได้ดีเมื่อเทียบกับสารต่อต้านการเกิดออกซิเดชันชนิดอื่นๆ เช่น แอลฟา-โทโคฟีรอล, บีเอชเอ (butylated hydroxyanisole: BHA) และบีเอชที (butylated hydroxytoluene: BHT) (Xu และ Godber, 2001; Iqbal, 2005; Juliano และคณะ, 2005) โดยสามารถยืดช่วงของ induction period ออกไป และปรับปรุงความคงตัวต่อการต้านออกซิเดชันของน้ำมัน นอกจากนี้ Nyström และคณะ (2007) เปรียบเทียบ steryl ferulates กับโทโคฟีรอลในน้ำมันดอกทานตะวันให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 และ 180 องศาเซลเซียส พบว่า steryl ferulates มีความคงตัวในระหว่างการเกิดออกซิเดชันดีกว่าเมื่อเวลาผ่านไป 96 ชั่วโมง และ 6 ชั่วโมง ตามลำดับ แต่ไม่พบการเสริมฤทธิ์กันระหว่าง steryl ferulates และโทโคฟีรอล

2.5 การเร่งการเกิดออกซิเดชันของเหล็ก

ปฏิกิริยาออกซิเดชันจะเกิดขึ้นเร็วหรือช้าขึ้นกับปัจจัยต่างๆ เช่น แสง, อุณหภูมิ, ความเข้มข้นและชนิดของออกซิเจน, ชนิดของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบ, ชนิดและปริมาณของกรดไขมันอิสระ, ปริมาณของโมโนกลีเซอไรด์และไดกลีเซอไรด์, รงควัตถุ, ฟอสโฟลิปิด, ชนิดและปริมาณของโลหะหนัก (Jadhav และคณะ, 1996; Choe และ Min, 2006) โดยน้ำมันดิบมักมีโลหะหนัก เช่น เหล็ก ทองแดง โคบอล เป็นต้น ซึ่งโลหะหนักอาจปนเปื้อนมากับวัตถุดิบ เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตน้ำมัน และภาชนะบรรจุ แม้ปริมาณของโลหะหนักจะมีน้อย เช่น ระดับมิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ก็สามารถที่จะลดความคงตัวของน้ำมันได้ ซึ่งเมื่อกำจัดตัวเร่งปฏิกิริยาให้หมดไป การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันก็น้อยลงทำให้การเกิดกลิ่นหืนลดน้อยลงไป โดยในขั้นตอนของการทำให้น้ำมันบริสุทธิ์ก็เป็นขั้นตอนที่สามารถลดปริมาณของโลหะหนักเหล่านี้ได้ระดับหนึ่ง ดังนั้นน้ำมันที่ไม่ผ่านการทำให้เป็นน้ำมันบริสุทธิ์ก็ยังคงมีปริมาณของโลหะหนักอยู่สูง โดยโลหะหนัก เช่น เหล็ก จะมีผลไปเร่งอัตราการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันได้โดยตรงเนื่องจากเหล็กจะเป็นตัวรับไฮโดรเจนจากกรดไขมันทำให้เกิดเป็นแอลคิลฟรีเรดิคัล (alkyl free radical: R[•]) และเร่งการแตกตัวของไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydroperoxide: ROOH) โดยเหล็กจะให้อิเล็กตรอนกับไฮโดรเปอร์ออกไซด์ แล้วเปลี่ยนเป็นเปอร์ออกซีเรดิคัล (peroxy radical: ROO[•]) และแอลคอกซีเรดิคัล (alkoxy radical: RO[•]) ตามลำดับ (Choe และ Min, 2006)



นอกจากนี้เหล็กยังเป็นตัวเร่งในการเปลี่ยนสภาพของออกซิเจนให้กลายเป็น singlet ออกซิเจน โดยเป็นตัวตั้งต้นในการเกิดออกซิเดชันของน้ำมัน และสามารถสร้างสารประกอบที่ไม่ต้องการในน้ำมันในระหว่างการผลิตและการเก็บรักษา



สำหรับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจากการออกซิเดชันสามารถเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องต่อไปได้อีก เช่น รวมตัวกับอนุมูลอิสระอื่นๆ ได้เป็นสารประกอบที่ไม่มีสมบัติเป็นอนุมูลอิสระอีกต่อไป ทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนอะตอมจากตัวกลางเป็นอนุมูลอิสระชนิดใหม่ และอาจมีการย้ายไฮโดรเจนอะตอมจากอนุมูลอิสระหนึ่งไปยังอนุมูลอิสระหนึ่งได้เป็น saturated และ unsaturated molecules (นิชิยา รัตนาปนนท์, 2548) สำหรับในสถานะที่มีเหล็กเป็นตัวเร่งการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันนี้มีผลให้ความคงตัวของน้ำมันลดลง ลดช่วงของ induction period ลง และเพิ่มอัตราการออกซิเดชัน ซึ่งตรวจสอบได้จากค่าดัชนีชี้บ่ง เช่น ปริมาณของกรดไขมันอิสระ, เพอร์ออกไซด์, อะนิซิดีน, สี, ค่าคงที่ไดอิเล็กทริก (dielectric constant) และปริมาณโพลีเมอร์ไตรเอซิลกลีเซอรอล (Coscione และ Artz, 2005; Colakoglu, 2007)

2.6 จลนพลศาสตร์ (Kinetics)

คุณภาพของอาหาร เช่น สี กลิ่นรส และเนื้อสัมผัสเป็นคุณลักษณะหนึ่งที่มีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค โดยการเปลี่ยนแปลงของอาหารสามารถเกิดขึ้นทั้งในกระบวนการแปรรูปและการเก็บรักษา สำหรับการสลายตัวของสารประกอบในระบบอาหาร ณ อุณหภูมิคงที่พบว่ามักเป็นไปตามรูปแบบปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (first-order kinetics model) (Taoukis และคณะ, 1997) ซึ่งอัตราเร็วของปฏิกิริยานี้จะขึ้นกับความเข้มข้นของสารตั้งต้น แสดงได้ดังสมการ

$$-\frac{dC}{dt} = kC$$

โดย	C	คือ ความเข้มข้นของสารที่ทำปฏิกิริยา
	t	คือ เวลา
	k	คือ ค่าคงที่อัตรา

การศึกษาในเชิงจลนพลศาสตร์ส่วนใหญ่เกี่ยวข้องกับอุณหภูมิและเวลา โดยพบว่าที่อุณหภูมิต่ำสารประกอบต่างๆ มีอัตราการเปลี่ยนแปลงช้ากว่าที่อุณหภูมิสูง สำหรับการศึกษาการสลายตัวของสารต่อต้านการเกิดออกซิเดชันในน้ำมันที่อุณหภูมิสูง เช่น โทโคฟีรอล, steryl ferulate, แอลฟา-โทโคฟีรอล, แอลฟา-โทโคไตรอินอล, rosa mosqueta shell extracts และแกมมา-โอริซานอล พบว่าสารเหล่านี้จะลดลงตามระยะเวลาในการให้ความร้อน (Khuwjitjaru และคณะ, 2004; Nyström และคณะ, 2007; Romero และคณะ, 2007) ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการศึกษาทางจลนพลศาสตร์นี้สามารถใช้ในการทำนายการสลายตัวของสารในสภาวะต่างๆ ได้

นอกจากปัจจัยทางด้านอุณหภูมิและเวลาที่มีผลต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยาในทางจลนพลศาสตร์แล้วยังมีปัจจัยอื่นที่เกี่ยวข้องด้วย เช่น ความเข้มข้นของสารตั้งต้น พื้นที่ผิวสัมผัสตัวหน่วยปฏิกิริยา (inhibitor) ธรรมชาติของสาร และตัวเร่งปฏิกิริยา (catalyst) โดยตัวเร่งปฏิกิริยา คือ สารเคมีที่ช่วยทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาเร็วขึ้นเนื่องจากตัวเร่งจะช่วยในการลดพลังงานกระตุ้นโดยช่วยปรับกลไกในการเกิดปฏิกิริยาและกฎอัตราให้เปลี่ยนไป (ลัดดา มีสุข, 2548) โดยจะเข้าไปช่วยตั้งแต่เริ่มปฏิกิริยา แต่เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยาจะกลับมาเป็นสารเดิม

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุดิบ

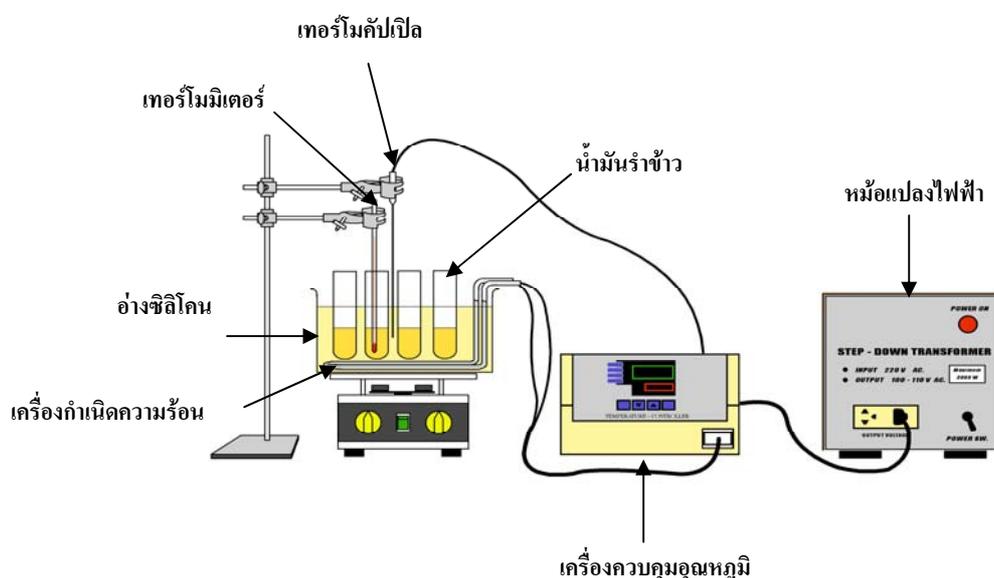
1. น้ำมันรำข้าว (ยี่ห้อกิ่ง, บริษัท น้ำมันบริโภคไทย จำกัด)
2. แกมมา-โอรีซานอล (gamma-oryzanol) (98.5%, Tsuno Rice Fine Chemical Co., Ltd, Wakayama, Japan)

3.2 สารเคมี

1. อะลูมินัมออกไซด์ (activity I, pH 7.0 ± 0.5 , Fluka, Switzerland)
2. เฟอริกคลอไรด์ (Iron (III) chloride anhydrous, 98%, Sigma-Aldrich, Germany)
3. DPPH• (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Sigma-Aldrich, Germany)
4. พารา-อะนิซีน ($\geq 98\%$, Sigma-Aldrich, Japan)
5. เฮกเซน (99.5%, Mallinckrodt chemical, USA)
6. เอทิลอะซิเตต (99.5%, Ajax Finechem, New Zealand)
7. เมทานอล (99.9%, Merck, Germany)
8. อะซิโตนไนไตรล์ (Burdick & Jackson SK chemical, Korea)
9. กรดอะซิติก (99.9%, Mallinckrodt chemical, USA)
10. คลอโรฟอร์ม (99.0-99.4%, BDH, England)
11. โพแทสเซียมไอโอไดด์ (Ajax Finechem, New Zealand)
12. โซเดียมไทโอซัลเฟต (99.5%, Ajax Finechem, New Zealand)
13. ไอโซออกเทน (99.5%, Ajax Finechem, New Zealand)
14. อะซิโตน (99.8%, Merck, Germany)

3.3. อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ชุดอุปกรณ์ให้ความร้อนและควบคุมอุณหภูมิด้วยอ่างชิลิโคน แสดงดังภาพที่ 3.1
2. เครื่องวิเคราะห์โครมาโตกราฟฟีของเหลวความดันสูง (HPLC) ประกอบด้วยปั๊มรุ่น 510 และ UV-detector รุ่น 486 (Waters, USA) ต่อกับ Chart recorder (Chromatopac C-R5A, Shimadzu, Japan)
3. เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV/Visible spectrophotometer) ยี่ห้อ Thermo Spectronic รุ่น Genesys 10uv, USA
4. เครื่องชั่งละเอียด ยี่ห้อ Sartorius AG รุ่น ED224S, Germany
5. เครื่องกลั่นระเหยแบบสุญญากาศ (Rotary evaporator) ยี่ห้อ Buchi รุ่น Vac V-500, USA
6. เครื่องอบลมร้อน (Hot air oven) ยี่ห้อ BINDER รุ่น FD 115, Germany
7. ตู้แช่เยือกแข็ง ตู้เย็น
8. เครื่องแก้วชนิดต่างๆ



ภาพที่ 3.1 ชุดอุปกรณ์ในการให้ความร้อนน้ำมันรำข้าวด้วยอ่างชิลิโคน

3.4 วิธีการทดลอง

1. ศึกษาจลนพลศาสตร์การสลายตัวของแกมมา-โอริซานอลในน้ำมันรำข้าวเมื่อผ่านการให้ความร้อนสูง

1.1 กำจัดสารต่อต้านการเกิดออกซิเดชันตามธรรมชาติในน้ำมันรำข้าวโดยใช้คอลัมน์อะลูมินัมออกไซด์ โดยตัดแปลงจากวิธีการของ Nyström และคณะ (2007) (แสดงรายละเอียดในภาคผนวก ก) วิเคราะห์

1. DPPH radical-scavenging capacity แสดงรายละเอียดในภาคผนวก ข 1
2. ปริมาณของแกมมา-โอริซานอลด้วยวิธีโครมาโตกราฟีของเหลวความดันสูง (High Performance Liquid Chromatography: HPLC) แสดงรายละเอียดในภาคผนวก ข 2
3. องค์กรประกอบกรดไขมันในน้ำมันด้วยวิธี Gas Chromatography–Flame Ionization Detector (GC-FID) (AOAC, 2005) โดยสถาบันอาหาร

1.2 เติมน้ำมันรำข้าว-โอริซานอลบริสุทธิ์ลงในน้ำมันรำข้าวที่ระดับความเข้มข้น 3,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และทำการวิเคราะห์ปริมาณของแกมมา-โอริซานอลที่เติมลงไปด้วยวิธี HPLC แสดงรายละเอียดในภาคผนวก ข 2

1.3 ให้ความร้อนกับน้ำมันรำข้าว โดยน้ำมันรำข้าวถูกให้ความร้อนด้วยอ่างชิลิโคน สำหรับการให้ความร้อนกับน้ำมันรำข้าวนี้ใช้วิธีการบรรจุน้ำมันรำข้าว 15 กรัม ลงในหลอดทดลองขนาด 25 x 150 เซนติเมตร จากนั้นวางลงในอ่างชิลิโคนที่ตั้งอุณหภูมิที่ต้องการไว้ โดยทำการศึกษาอุณหภูมิ 4 ระดับ คือ 132, 160, 192 และ 222 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 480, 140, 60 และ 50 ชั่วโมงตามลำดับ ซึ่งระยะเวลาดังกล่าวนี้จะทำให้ปริมาณของแกมมา-โอริซานอลลดลงต่ำกว่า 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยเก็บตัวอย่างน้ำมันรำข้าวที่ผ่านการให้ความร้อนไว้ในขวดสีชา ศึกษาการให้ความร้อน 2 ชั่วโมง และวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางเคมีของน้ำมันรำข้าว ซึ่งได้แก่

1. การวิเคราะห์ปริมาณแกมมา-โอริซานอลที่เหลืออยู่ด้วยวิธี HPLC แสดงรายละเอียดในภาคผนวก ข 2
2. การวิเคราะห์ DPPH radical-scavenging capacity แสดงรายละเอียดในภาคผนวก ข 1

3. การวิเคราะห์ค่าเพอร์ออกไซด์ของน้ำมันรำข้าว แสดงรายละเอียดในภาคผนวก

ข 3

4. การวิเคราะห์ค่าอะนิซิดีนของน้ำมันรำข้าว แสดงรายละเอียดในภาคผนวก ข 4

1.4 วิเคราะห์ข้อมูลเพื่อประเมินค่าพารามิเตอร์ทางจลนพลศาสตร์ (kinetics parameters) การสลายตัวของแกมมา-โอริซานอล เพื่อสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ด้วยโปรแกรม Microsoft Excel 2003

2. ศึกษาผลของปริมาณเพอริคคโลไรด์ต่อการสลายตัวของแกมมา-โอริซานอลในน้ำมันรำข้าวเมื่อผ่านการให้ความร้อนในระดับการทอด

2.1 ทำการกำจัดสารต่อต้านการเกิดออกซิเดชันตามธรรมชาติในน้ำมันรำข้าวโดยใช้คอลัมน์อะลูมินัมออกไซด์ เก็บสารละลายน้ำมันรำข้าวที่มีเฮกเซนผสมอยู่ไว้ในขวดสีชาเพื่อป้องกันการออกซิเดชันของน้ำมันเนื่องจากแสงและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการศึกษา

2.2 เติมสารแกมมา-โอริซานอลบริสุทธิ์ลงในน้ำมันรำข้าวให้ได้ความเข้มข้น 3,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และทำการวิเคราะห์ปริมาณของแกมมา-โอริซานอลที่เติมลงไปด้วยวิธี HPLC แสดงรายละเอียดในภาคผนวก ข 2

2.3 เติมเกลือในรูปของเพอริคคโลไรด์ปริมาณ 0, 2.5, 5.0 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมลงในน้ำมันรำข้าว

2.4 ให้ความร้อนกับน้ำมันรำข้าวโดยบรรจุน้ำมันรำข้าว 2.5 กรัม ลงในหลอดทดลองขนาด 13 x 100 มิลลิเมตร จำนวน 20 หลอด แล้ววางหลอดทดลองในตู้อบลมร้อนที่ตั้งอุณหภูมิในการให้ความร้อนแก่น้ำมันรำข้าวที่ 180 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิสำหรับอาหารทอด และสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำมันรำข้าวแต่ละช่วงห่างกัน 5 ชั่วโมง เป็นเวลา 50 ชั่วโมง เพื่อให้มีปริมาณแกมมา-โอริซานอลลดลงต่ำกว่า 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยเก็บตัวอย่างน้ำมันรำข้าวที่ผ่านการให้ความร้อนไว้ในขวดสีชา ทำการศึกษาการให้ความร้อน 2 ชั่วโมง แล้วจึงวิเคราะห์ค่าการเปลี่ยนแปลงทางเคมีซึ่งได้แก่

1. การวิเคราะห์ปริมาณแกมมา-โอริซานอลที่เหลืออยู่ ด้วยวิธี HPLC แสดงรายละเอียดในภาคผนวก ข 2
2. การวิเคราะห์ DPPH radical-scavenging capacity แสดงรายละเอียดในภาคผนวก ข 1
3. การวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ของน้ำมันรำข้าว แสดงรายละเอียดในภาคผนวก ข 3
4. การวิเคราะห์ค่าอะนิซิตินของน้ำมันข้าว แสดงรายละเอียดในภาคผนวก ข 4
5. การวิเคราะห์ค่าคอนจูเกตไดอินและค่าคอนจูเกตไตรอิน แสดงรายละเอียดในภาคผนวก ข 5

2.5 วิเคราะห์ข้อมูลเพื่อประเมินค่าพารามิเตอร์ทางจลนพลศาสตร์ (kinetics parameters) การสลายตัวของแกมมา-โอริซานอล เพื่อสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ด้วยโปรแกรม Microsoft Excel 2003

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

4.1 จลนพลศาสตร์การสลายตัวของแกมมา-โอริซานอลในน้ำมันรำข้าวเมื่อผ่านการให้ความร้อนสูง

4.1.1 ประสิทธิภาพการกำจัดสารต่อต้านการเกิดออกซิเดชันตามธรรมชาติในน้ำมันรำข้าว

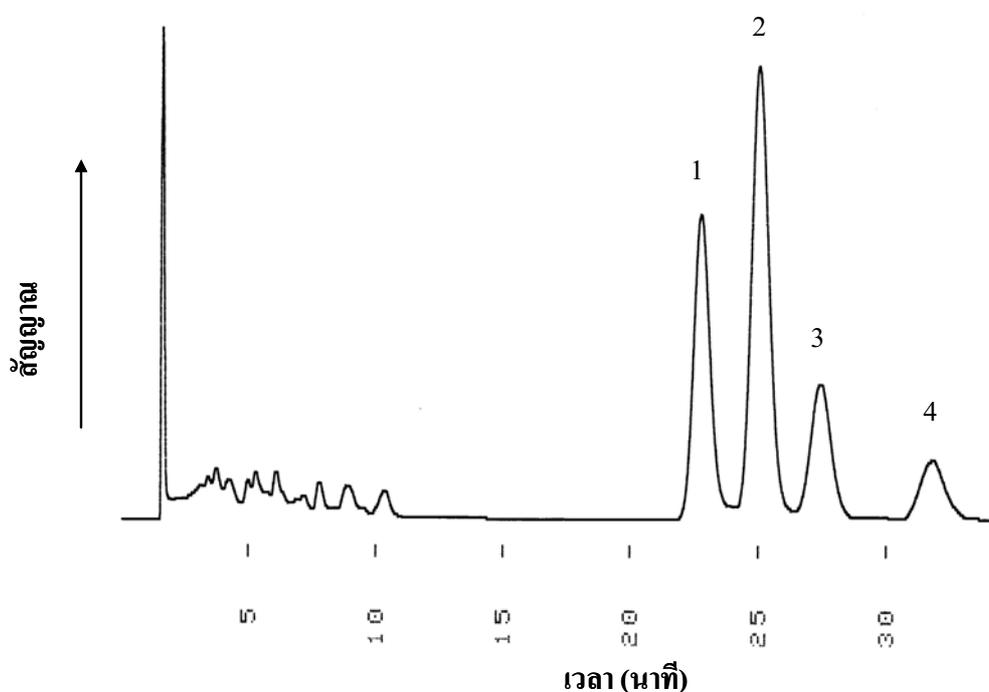
งานวิจัยนี้ศึกษาในน้ำมันรำข้าวที่ผ่านการกำจัดสารต่อต้านการเกิดออกซิเดชันตามธรรมชาติออก โดยใช้คอลัมน์อะลูมินัมออกไซด์แล้วจึงเติมสารแกมมา-โอริซานอลบริสุทธิ์ลงไป 3,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำมัน (Xu และ Godber, 1999) โดยอะลูมินัมออกไซด์ที่ใช้อยู่ในช่วงที่เป็นกลาง คือ มีค่า pH เท่ากับ 7.0 ± 0.5 ซึ่งใช้แยกสารประกอบที่มีขั้วซึ่งได้แก่ แอลดีไฮด์, คิวโนน, เอสเทอร์, แลคโตน, คีโตน และกลีเซอไรด์ สำหรับประสิทธิภาพของการกำจัดสามารถตรวจสอบได้ด้วยการทดสอบ DPPH radical-scavenging capacity ถ้าความสามารถในการจับกับอนุมูลอิสระสูงสามารถกล่าวได้ว่ามีสารต่อต้านการเกิดออกซิเดชันอยู่มาก (Brand-Williams และคณะ, 1995; Molyneux, 2004; Rossi และคณะ, 2007) จากตารางที่ 4.1 พบว่า ประสิทธิภาพในการกำจัดด้วยคอลัมน์อะลูมินัมออกไซด์นั้นสามารถกำจัดสารต่อต้านการเกิดออกซิเดชันตามธรรมชาติส่วนใหญ่ในน้ำมันรำข้าวได้ และนอกจากนี้ยังทำการตรวจสอบปริมาณของแกมมา-โอริซานอลของน้ำมันรำข้าวหลังผ่านกระบวนการ พบว่า ไม่สามารถตรวจพบแกมมา-โอริซานอลของตัวอย่าง (ตารางที่ 4.1) สำหรับประสิทธิภาพของการกำจัดสารต่อต้านการเกิดออกซิเดชันโดยใช้คอลัมน์อะลูมินัมออกไซด์นี้ Nyström และคณะ(2007) รายงานว่าน้ำมันที่ผ่านคอลัมน์อะลูมินัมออกไซด์มีปริมาณของโทโคฟีรอลต่ำกว่า 1 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำมัน และ Lampi และคณะ (1999) รายงานว่าน้ำมันที่ผ่านคอลัมน์มีปริมาณของโทโคฟีรอลต่ำกว่า 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ตารางที่ 4.1 คุณลักษณะของน้ำมันรำข้าวที่ผ่านและไม่ผ่านคอลัมน์อะลูมินัมออกไซด์

ตัวอย่าง	DPPH remaining (%)	ปริมาณของแกมมา-โอริซานอล (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)
น้ำมันรำข้าวผ่านคอลัมน์	95.15 ± 0.21	nd
น้ำมันรำข้าวไม่ผ่านคอลัมน์	15.65 ± 0.64	1,823.20 ± 18.34

nd = not detectable

เมื่อทำการวิเคราะห์แกมมา-โอริซานอลที่เติมลงไปในน้ำมันรำข้าว 3,000 มิลลิกรัม ต่อกิโลกรัมด้วย HPLC แล้ว พบว่ามีพีคของแกมมา-โอริซานอลเกิดขึ้น 4 พีค ซึ่งพีคดังกล่าวเกิดในช่วงเวลา 22-32 นาที (ภาพที่ 4.1) โดยบริษัท Tsuno Rice Fine Chemical จำกัด ประเทศญี่ปุ่น ได้ระบุแต่ละพีคว่าเป็น cycloartenyl ferulate (1), 24-methylene cycloartenyl ferulate (2), campesterol ferulate (3) และ sitosterol ferulate (4) ตามลำดับ ซึ่งอนุพันธ์ของแกมมา-โอริซานอลที่พบนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Fang และคณะ (2003) ที่รายงานไว้



ภาพที่ 4.1 HPLC โครมาโตแกรมของน้ำมันรำข้าวที่ผ่านการเติมแกมมา-โอริซานอล 3,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

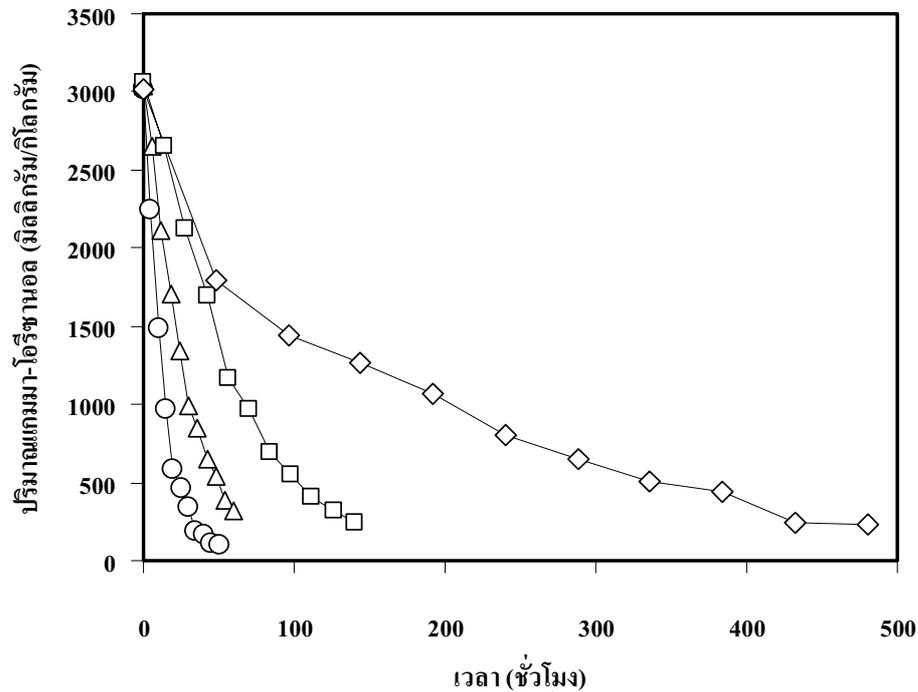
จากการวิเคราะห์หึ่งค์ประกอบกรดไขมันในน้ำมันรำข้าวที่ผ่านการกำจัดสารต่อต้านการเกิดออกซิเดชันด้วยวิธี GC FID พบว่า กรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบที่สำคัญในน้ำมันรำข้าว ได้แก่ กรดโอเลอิก, กรดลิโนเลอิก, กรดปาล์มิติก และกรดสเตียริก ซึ่งพบในอัตราส่วนร้อยละ 37.39, 30.83, 17.20 และ 2.08 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.2 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Chotimarkorn และ Silalai (2008) ที่ศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันรำข้าวชนิดที่ไม่ผ่านการกำจัดสารต่อต้านการเกิดออกซิเดชัน โดยรายงานไว้ในอัตราส่วนร้อยละ 44.1, 28.1, 20.7 และ 2.4 ตามลำดับ เช่นเดียวกับการรายงานของ Orthoefer (1996)

ตารางที่ 4.2 ชนิดของกรดไขมันในน้ำมันรำข้าวที่ผ่านการกำจัดสารต่อต้านการเกิดออกซิเดชันตามธรรมชาติออก

กรดไขมัน	ปริมาณ [ร้อยละ (โดยน้ำหนัก)]
Myristic acid (C14:0)	0.29
Palmitic acid (C16:0)	17.20
Stearic acid (C18:0)	2.08
Arachidonic acid (C20:0)	0.84
Behenic acid (C22:0)	0.24
Ligoceric acid (C24:0)	0.38
Palmitoleic acid (16:1)	0.24
Oleic acid (C18:1)	37.39
Linoleic acid (C18:2)	30.83
Linolenic acid (C18:3)	0.81

4.1.2 ผลของการให้ความร้อนกับน้ำมันรำข้าวต่อการลดลงของปริมาณแกมมา-โอริซานอล

จากภาพที่ 4.2 จะเห็นได้ว่าในทุกๆ อุณหภูมิที่ศึกษาปริมาณของแกมมา-โอริซานอลในน้ำมันรำข้าวลดลงตลอดเวลาการให้ความร้อน โดยปริมาณของแกมมา-โอริซานอลจะลดลงอย่างช้าๆ ในช่วงท้ายของการให้ความร้อน สำหรับการให้ความร้อนกับน้ำมันรำข้าวที่อุณหภูมิสูงพบว่า มีการลดลงของแกมมา-โอริซานอลอย่างรวดเร็วกว่าที่อุณหภูมิต่ำ



ภาพที่ 4.2 การลดลงของปริมาณแกมมา-โอริซานอลในน้ำมันรำข้าวที่อุณหภูมิ 132(◇), 160(□), 192(△) และ 222() องศาเซลเซียส

การลดลงของปริมาณแกมมา-โอริซานอลในน้ำมันรำข้าวเมื่อพิจารณาในทางจลนพลศาสตร์นั้น พบว่า เป็นไปตามสมการจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่ง (first-order kinetics model)

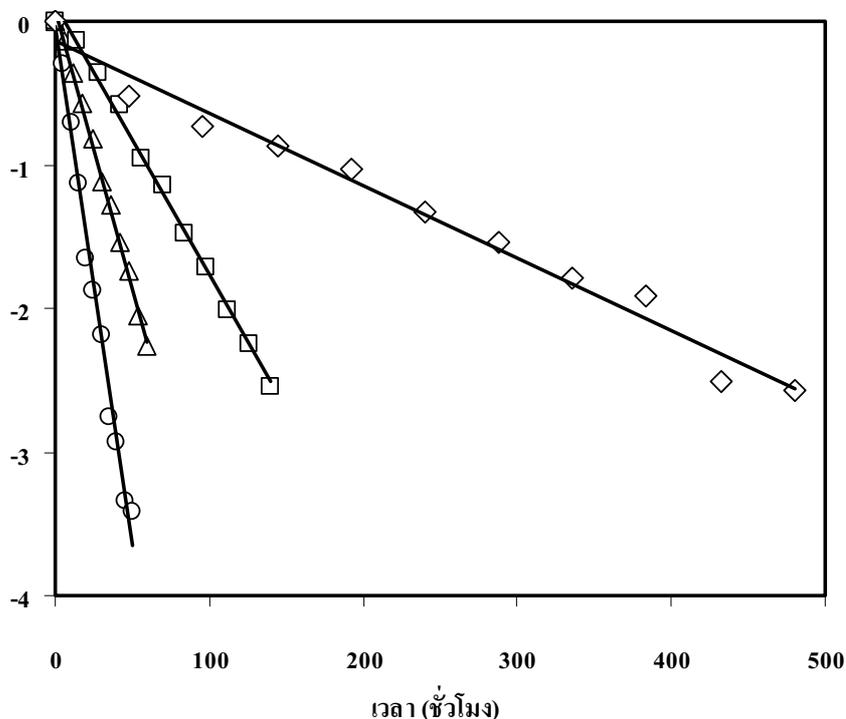
$$-\frac{dC}{dt} = kC \quad (1)$$

หรือเขียนในรูปอินทิเกรตได้เป็น

$$\ln C/C_0 = -kt \quad (2)$$

สมการดังกล่าวนี้เป็นอันดับของปฏิกิริยาที่พบได้บ่อยสำหรับการสลายตัวของสารประกอบที่อยู่ในอาหาร ณ ที่อุณหภูมิคงที่ (Taoukis และคณะ, 1997) และสอดคล้องกับการศึกษาของ Khuwijitjaru และคณะ (2004) ที่พบว่าจลนพลศาสตร์การสลายตัวของสารแกมมา-โอริซานอลในน้ำมันรำข้าวทางการค้าเป็นไปตามสมการอันดับหนึ่ง โดยผลของอุณหภูมิต่ออัตราการสลายตัวของแกมมา-โอริซานอลแสดงดังภาพที่ 4.3 และตารางที่ 4.3 ซึ่งเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการให้ความร้อนจาก 132 ถึง 222 องศาเซลเซียส มีผลให้ค่าคงที่อัตราการสลายตัวของแกมมา-โอริซานอล (k) เพิ่ม

ขึ้น ทั้งนี้เมื่อวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ (R^2) ของสมการรีเกรสชัน (ตารางที่ 4.3) แสดงให้เห็นว่า สมการอันดับหนึ่งสามารถอธิบายการสลายตัวของแกมมา-โอริซานอลได้เป็นอย่างดี โดยปฏิกิริยาหลักที่ทำให้เกิดการสลายตัวของแกมมา-โอริซานอลในน้ำมันรำข้าวที่อุณหภูมิสูง คือ การเกิดออกซิเดชันของน้ำมันรำข้าว จึงทำให้ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นเนื่องจากการเกิดออกซิเดชัน เช่น สารประกอบไฮโดรเพอร์ออกไซด์แตกตัวเป็นสารประกอบชนิดอื่นๆ เช่น แอลคอกซีแรดดิคอล (RO \cdot), เพอร์ออกซีแรดดิคอล (ROO \cdot) และแอลคิลพีแรดดิคอล (R \cdot) ของกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนในน้ำมันรำข้าว (Decker, 1998; Min, 1998) จับกับแกมมา-โอริซานอลจึงส่งผลให้แกมมา-โอริซานอลลดลง ซึ่งผลการศึกษาดังกล่าวนี้สอดคล้องกับผลศึกษาของ Rossi และคณะ (2007) ที่พบว่า ปริมาณของโทโคฟีรอล และโทโคไตรอีนอลของน้ำมันปาล์มในระหว่างการทอดเฟรนช์ฟรายจะลดลงตามเวลาในการทอดที่นานขึ้น และการศึกษาของ Nissiotis และ Tasioula-Margari (2002) ที่รายงานการลดลงของอนุพันธ์ hydroxytyrosol, อนุพันธ์ tyrosol และแอลฟา-โทโคฟีรอล ในน้ำมันมะกอกตามเวลาในการให้ความร้อนที่เพิ่มขึ้น



ภาพที่ 4.3 ความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln C/C_0$ กับเวลาที่อุณหภูมิ 132(\diamond), 160(\square), 192(\triangle) และ 222(\circ) องศาเซลเซียส โดย C คือ ความเข้มข้นของแกมมา-โอริซานอล ณ ที่เวลาต่างๆ และ C_0 คือ ความเข้มข้นเริ่มต้นของแกมมา-โอริซานอล

ตารางที่ 4.3 ค่าคงที่อัตราการสลายตัวของแกมมา-โอริซานอล (k) และค่าสหสัมพันธ์ (R^2) จากการวิเคราะห์รีเกรสชัน

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	k (h^{-1})	R^2
132	0.0051	0.9814
160	0.0188	0.9963
192	0.0386	0.9973
222	0.0722	0.9904

เมื่อเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า logarithm ของค่าคงที่อัตราของปฏิกิริยา ($\ln k$) กับส่วนกลับของอุณหภูมิสัมบูรณ์ ($1/T$) (ภาพที่ 4.4) พบว่า ได้ลักษณะความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงซึ่งเป็นไปตามสมการ Arrhenius คือ

$$\ln k = \ln k_0 - E_a/RT \quad (3)$$

โดยที่ k คือ ค่าคงที่อัตรา

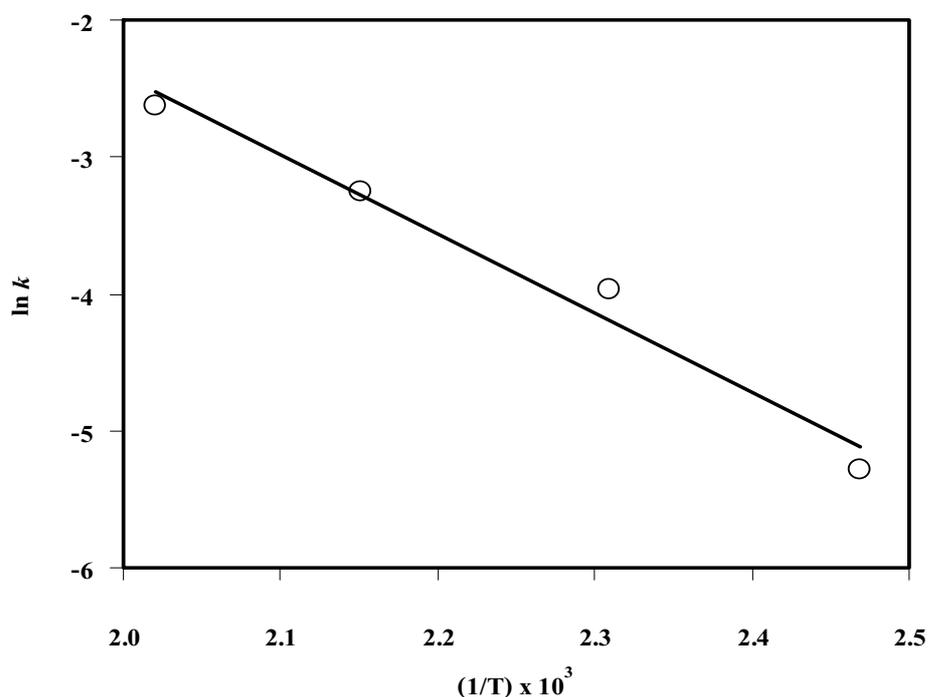
k_0 คือ ค่าของ Pre-exponential factor

E_a คือ ค่าพลังงานกระตุ้น หรือพลังงานก่อกัมมันต์ (Activation energy)
(จูล/ โมล)

R คือ ค่าคงที่ของก๊าซในอุดมคติ มีค่าเท่ากับ 8.314 จูล/ เคลวิน/ โมล

T คือ อุณหภูมิสัมบูรณ์ (มีหน่วยเป็นเคลวิน)

จากสมการความสัมพันธ์ Arrhenius เมื่อคำนวณค่าพลังงานกระตุ้นจากค่าความชันของการวิเคราะห์รีเกรสชันในภาพที่ 4.4 แล้วพบว่า ค่าพลังงานกระตุ้นมีค่าเท่ากับ 48.08 กิโลจูล/โมล และมีค่า k_0 เท่ากับ $9.46 \times 10^3 \text{ h}^{-1}$ ซึ่งค่าพลังงานกระตุ้นดังกล่าวนี้มีค่าใกล้เคียงกับ Khuwijitjaru และคณะ (2004) ที่รายงานการสลายตัวของแกมมา-โอริซานอลในน้ำมันรำข้าวทางการค้า คือ 40.76 กิโลจูล/โมล และ Campanella และคณะ (2008) รายงานค่าพลังงานกระตุ้นการสลายตัวของสาร โพลีฟีนอลในน้ำมันมะกอกเนื่องจากความร้อน คือ 38 กิโลจูล/โมล



ภาพที่ 4.4 Arrhenius plot สำหรับการสลายตัวของปริมาณแกมมา-โอริซานอลในน้ำมันรำข้าวที่ อุณหภูมิ 132, 160, 192 และ 222 องศาเซลเซียส

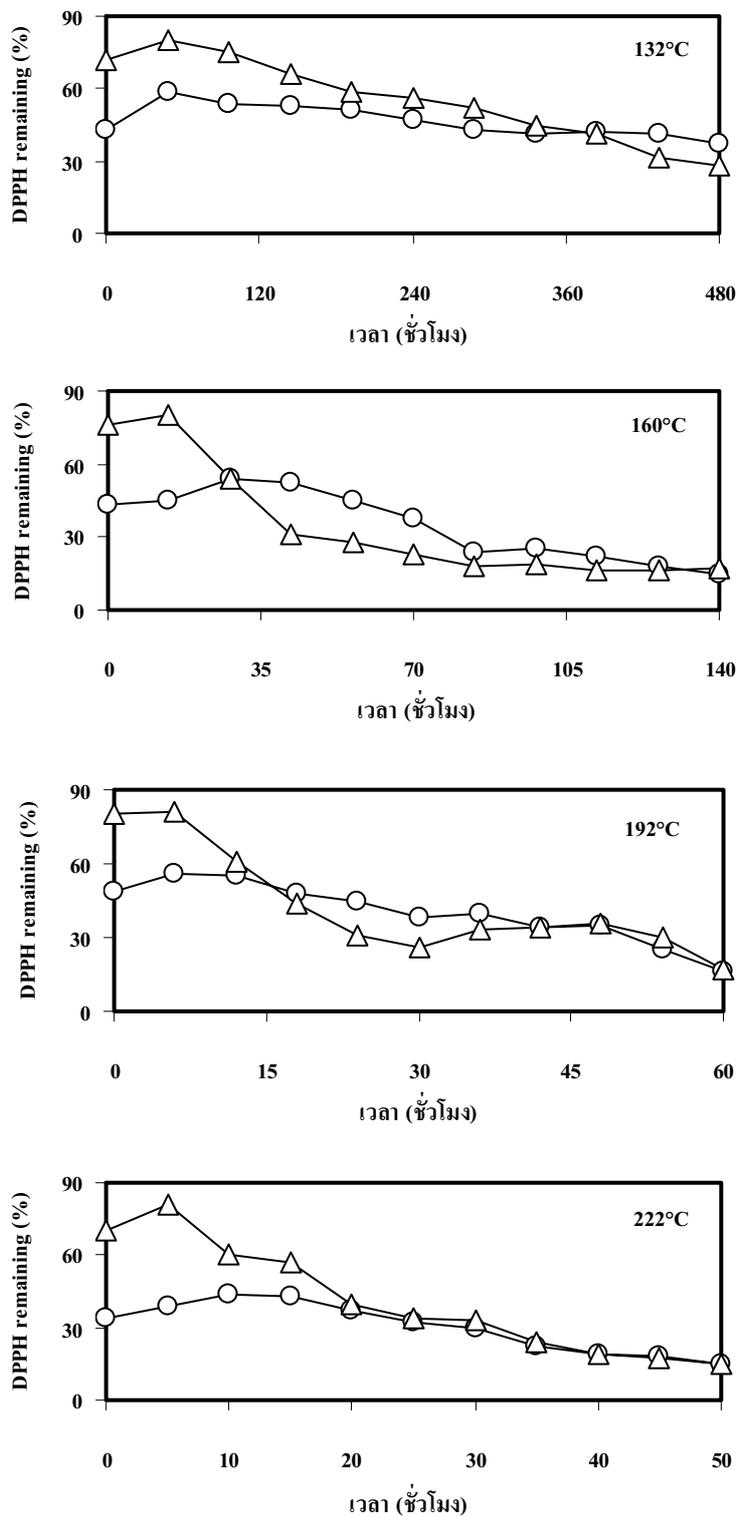
4.1.3 ผลของการให้ความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลง DPPH radical scavenging

จากภาพที่ 4.5 พบว่า ค่า %DPPH remaining ของน้ำมันรำข้าวทุกๆ อุณหภูมิมีรูปแบบในการเปลี่ยนแปลงที่เหมือนกัน กล่าวคือ มีค่าเพิ่มขึ้นในช่วงแรกของการให้ความร้อนจากนั้นค่าจะลดลง และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างน้ำมันรำข้าวที่เดิมและไม่เติมแกมมา-โอริซานอลที่อุณหภูมิและเวลาเดียวกัน พบว่า ช่วงแรกในการให้ความร้อนตัวอย่างน้ำมันรำข้าวเติมแกมมา-โอริซานอลมีค่า %DPPH remaining ต่ำกว่าตัวอย่างน้ำมันรำข้าวไม่เติมแกมมา-โอริซานอล แต่หลังจากนั้นค่า %DPPH remaining ของน้ำมันรำข้าวที่ไม่เติมแกมมา-โอริซานอลจะลดลงต่ำกว่าหรือใกล้เคียงกัน โดยที่อุณหภูมิ 132, 160, 192 และ 222 องศาเซลเซียส มีค่า %DPPH remaining ของน้ำมันรำข้าวเติมแกมมา-โอริซานอลสูงสุดที่เวลา 48, 28, 6 และ 5 ชั่วโมง ตามลำดับ และมีค่า %DPPH remaining สูงสุดของน้ำมันรำข้าวไม่เติมแกมมา-โอริซานอลที่เวลา 48, 14, 6 และ 5 ชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งผลจากการศึกษานี้เป็นไปในทำนองเดียวกับที่ Lee และคณะ (2007) รายงานไว้ในการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันหมู, น้ำมันถั่วเหลือง, น้ำมันข้าวโพด, น้ำมันมะกอก, น้ำมันคาโนลา และน้ำมันคาโนลาเติมแอลฟา-โทโคฟีรอล สำหรับช่วงเริ่มต้นของการให้ความร้อนมี

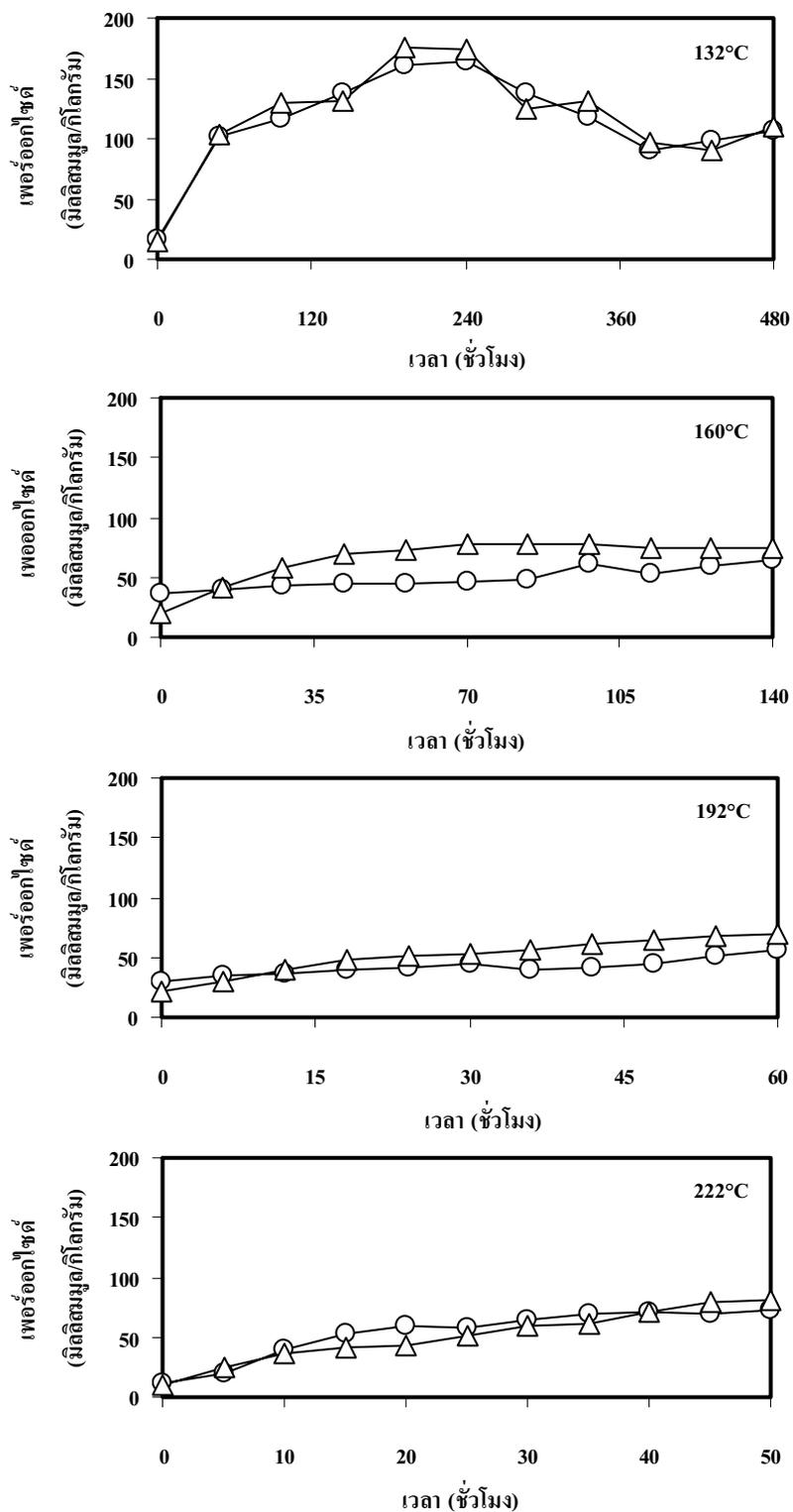
ปริมาณของแกมมา-โอริซานอลอยู่สูงจึงมีผลไปลดค่า %DPPH remaining จากนั้นเมื่อให้ความร้อนกับน้ำมันนานขึ้นแกมมา-โอริซานอลถูกใช้ไปในการจับกับอนุมูลอิสระจึงส่งผลให้ค่า %DPPH remaining เพิ่มขึ้น สำหรับการลดลงของค่า %DPPH remaining หลังจากการให้ความร้อนกับน้ำมันรำข้าวนานขึ้น เกิดเนื่องจากการเกิดอนุมูลอิสระมากขึ้นเกินกว่าที่แกมมา-โอริซานอลจะจับได้หมด โดยอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะจับกับอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวใน DPPH จึงส่งผลให้มีค่า %DPPH remaining ลดลง (Lee และคณะ, 2007)

4.1.4 ผลของการให้ความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงค่าเพอร์ออกไซด์

การเปลี่ยนแปลงค่าเพอร์ออกไซด์ของน้ำมันข้าวเมื่อผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 132, 160, 190 และ 222 องศาเซลเซียส แสดงไว้ในภาพที่ 4.6 โดยสารประกอบเพอร์ออกไซด์เป็นดัชนีที่ชี้บ่งการเกิดออกซิเดชันของไขมันและน้ำมัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งช่วงแรกของการเกิดออกซิเดชัน (Choe และ Min, 2007) จากผลการศึกษา พบว่า เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการให้ความร้อนนานขึ้นมีผลให้ค่าเพอร์ออกไซด์ของทุกๆ อุณหภูมิเพิ่มขึ้น โดยสารประกอบไฮโดรเพอร์ออกไซด์จะไม่คงตัวที่อุณหภูมิสูงจึงสามารถแตกตัวเป็นสารประกอบชนิดอื่นได้ เช่น แอลดีไฮด์, คีโตน, เอสเทอร์, แอลกอฮอล์ และไฮโดรคาร์บอนสายสั้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Nawar (1984) ซึ่งอ้างโดย Choe และ Min (2007) และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างน้ำมันรำข้าวเต็มและไม่เต็มแกมมา-โอริซานอล พบว่าตัวอย่างน้ำมันรำข้าวไม่เต็มแกมมา-โอริซานอลมีค่าเพอร์ออกไซด์ที่ใกล้เคียงหรือสูงกว่าตัวอย่างน้ำมันเต็มแกมมา-โอริซานอลเล็กน้อย จึงสามารถกล่าวได้ว่าสารแกมมา-โอริซานอลที่เติมในน้ำมันรำข้าวมีประสิทธิภาพในการต้านการเกิดออกซิเดชันที่อุณหภูมิสูงได้เพียงเล็กน้อย โดยแกมมา-โอริซานอลอาจถูกออกซิไดซ์ไปในระหว่างการให้ความร้อน



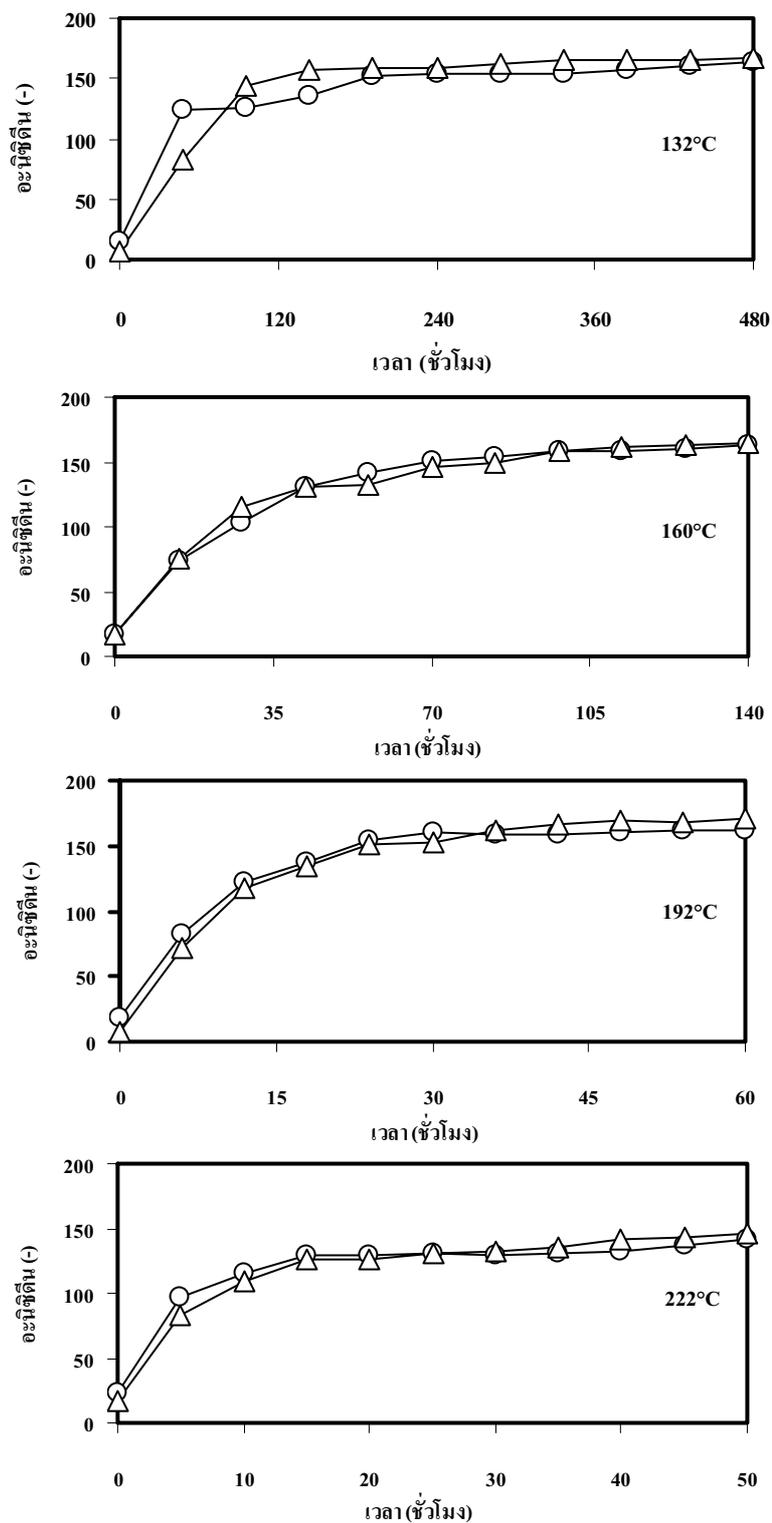
ภาพที่ 4.5 ค่า %DPPH remaining ของน้ำมันรำข้าวที่เติม (O) และไม่เติม (Δ) แกมมา-โอรีซานอล ที่อุณหภูมิ 132, 160, 192 และ 222 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 4.6 ค่าเพอร์ออกไซด์ของน้ำมันรำข้าวที่เติม (O) และไม่เติม (Δ) แกมมา-โอริซานอลที่ อุณหภูมิ 132, 160, 192 และ 222 องศาเซลเซียส

4.1.5 ผลของการให้ความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงค่าอะนิซิติน

การเปลี่ยนแปลงค่าอะนิซิตินของน้ำมันข้าวเมื่อผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 132, 160, 192 และ 222 องศาเซลเซียส แสดงไว้ในภาพที่ 4.7 สำหรับการวิเคราะห์ค่าอะนิซิตินนั้นเป็นการวัดปริมาณผลิตภัณฑ์อันดับสองที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและน้ำมัน โดยวิเคราะห์ในรูปของสารประกอบ 2-alkenals (Nawar, 1996) ซึ่งค่าอะนิซิตินสามารถใช้เป็นดัชนีในการบ่งชี้ถึงระดับของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน หรือการเกิดกลิ่นหืนของผลิตภัณฑ์ได้เนื่องจากสารประกอบเหล่านี้มีค่า threshold value ต่ำ โดย 2-alkenals มีค่า 0.04-2.5 ppm (Choe และ Min, 2006) สำหรับผลิตภัณฑ์อันดับที่สองที่เกิดขึ้นนั้นเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของสารประกอบเพอร็อกไซด์ที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาออกซิเดชัน จากภาพที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงค่าอะนิซิตินของน้ำมันรำข้าวมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อเพิ่มระยะเวลาและอุณหภูมิในการให้ความร้อนเนื่องจากการให้ความร้อนกับน้ำมันรำข้าวที่อุณหภูมิสูงเป็นสถานะที่เร่งหรือก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจึงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่าอะนิซิตินอย่างรวดเร็ว จากนั้นค่าจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวอาจเป็นเพราะผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นเนื่องจากการออกซิเดชันเกิดการระเหยไป เมื่อพิจารณาระหว่างตัวอย่างน้ำมันรำข้าวเดิมและไม่เติมแกมมา-โอริซานอล พบว่ามีค่าอะนิซิตินที่ใกล้เคียงกัน โดยน้ำมันรำข้าวไม่เติมแกมมา-โอริซานอลมีค่าสูงกว่าเล็กน้อย ซึ่งผลการศึกษาดังกล่าวนี้คล้ายกับการเปลี่ยนแปลงค่าเพอร็อกไซด์

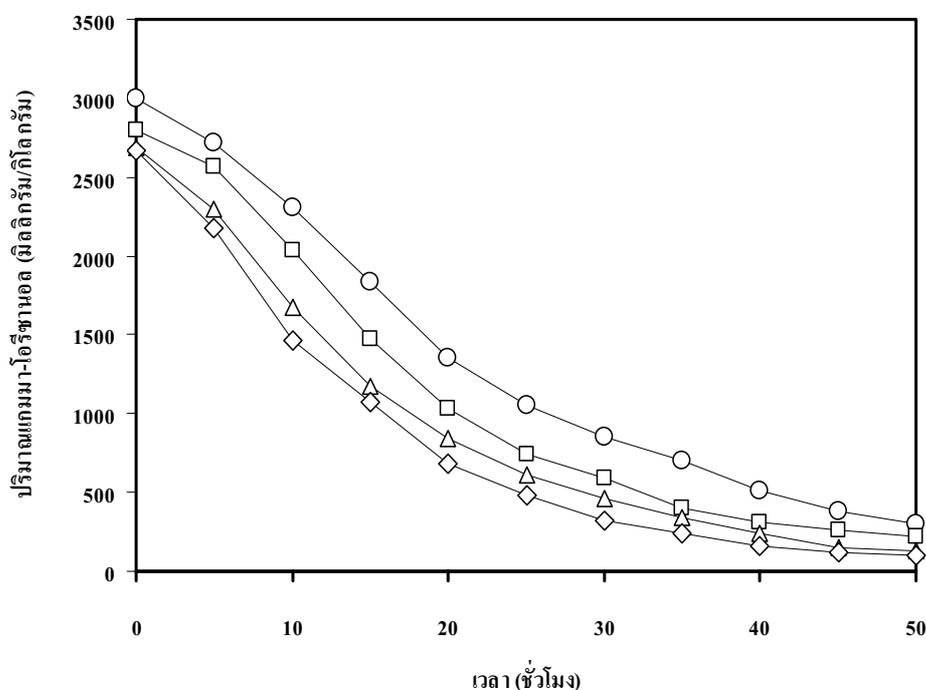


ภาพที่ 4.7 ค่าอะนิซีตินของน้ำมันรำข้าวที่เติม (O) และไม่เติม (Δ) แกมมา-โอริซานอลที่อุณหภูมิ 132, 160, 192 และ 222 องศาเซลเซียส

4.2 ผลของปริมาณเฟอริคคลอไรด์ต่อการสลายตัวของแกมมา-โอริซานอลในน้ำมันรำข้าวเมื่อผ่าน การให้ความร้อนในระดับการทอด

4.2.1 ปริมาณของเฟอริคคลอไรด์ต่อการสลายตัวของแกมมา-โอริซานอล

การศึกษาในส่วนนี้จะทำการศึกษาในน้ำมันรำข้าวที่ผ่านการกำจัดสารต่อต้านการ เกิดออกซิเดชันตามธรรมชาติออกโดยใช้คอลัมน์อะลูมินัมออกไซด์แล้วจึงเติมสารแกมมา-โอริซานอลบริสุทธิ์ลงไปเช่นเดียวกับการศึกษาในส่วนแรก สำหรับสถานะที่ใช้ในการศึกษาส่วนนี้ ได้แก่ ความเข้มข้นของเหล็กในรูปของเฟอริคคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 4 ระดับ คือ 0 (ตัวอย่าง ควบคุม), 2.5, 5.0 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำมัน โดยจะทำการให้ความร้อนกับน้ำมันรำข้าวที่ อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เนื่องจากเป็นอุณหภูมิของอาหารทอดโดยทั่วไป และให้ความร้อนเป็น เวลา 50 ชั่วโมง ซึ่งพบว่า เฟอริคคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 0, 2.5, 5.0 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำมัน มีปริมาณของแกมมา-โอริซานอลลดลงถึงร้อยละ 90 สำหรับผลของปริมาณเฟอริคคลอไรด์ ต่อการสลายตัวของแกมมา-โอริซานอลแสดงไว้ในภาพที่ 4.8



ภาพที่ 4.8 ปริมาณแกมมา-โอริซานอลในน้ำมันรำข้าวเมื่อเติมเฟอริคคลอไรด์ความเข้มข้น 0 (), 2.5 (), 5.0 (Δ) และ 7.5 (\diamond) มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ตารางที่ 4.4 ค่าคงอัตราที่อัตราการสลายตัวของแกมมา-โอรีซานอล (k) และค่าสหสัมพันธ์ (R^2) จาก การวิเคราะห์รีเกรสชัน

ความเข้มข้นของเฟอริคคลอไรด์ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	k (h^{-1})	R^2
0	0.0480	0.9925
2.5	0.0558	0.9911
5.0	0.0630	0.9968
7.5	0.0700	0.9965

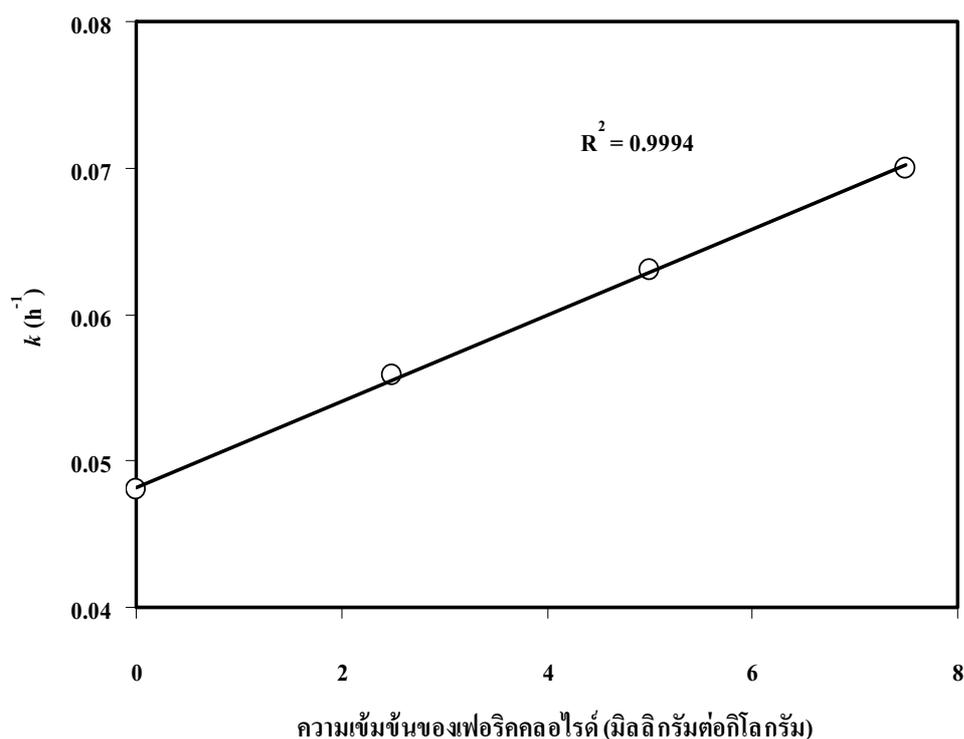
จากตารางที่ 4.4 เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเฟอริคคลอไรด์จะทำให้ค่าคงที่ของอัตราการสลายตัวของแกมมา-โอรีซานอลเพิ่มขึ้น โดยผลการศึกษาดังกล่าวนี้มีความสอดคล้องกับ Coscione และ Artz (2005) ที่พบว่าความเข้มข้นของเหล็กเฟอริคสเตียเรทในช่วง 0.5 ถึง 1.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีผลให้เกิดการออกซิเดชันน้ำมันถั่วเหลืองมากขึ้น ซึ่งตรวจสอบจากค่าอะนิซิดีน, ปริมาณของกรดไขมันอิสระ, ค่าสี, ไตรกลีเซอรอลโพลีเมอร์ และค่าคงที่ไดอิเล็กทริก (dielectric constant) ที่เพิ่มขึ้น ซึ่ง Decker และ Hultin (1992) กล่าวว่าปฏิกิริยาหลักที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของน้ำมันเนื่องจากโลหะหนัก คือ การเกิดออกซิเดชันของน้ำมันโดยโลหะหนักจะมีผลไปลด induction period ลงและเพิ่มอัตราการเกิดออกซิเดชัน โดยเป็นตัวกลางในการไฮโดไลซิสของเพอร์ออกไซด์ให้เกิดเป็นอนุมูลอิสระที่มากขึ้นจึงมีผลไปเร่งให้เกิดออกซิเดชันในน้ำมัน

ความสัมพันธ์ระหว่างค่าคงที่อัตราการสลายตัวของแกมมา-โอรีซานอลในน้ำมันรำข้าวกับความเข้มข้นของเฟอริคคลอไรด์นั้นแสดงดังภาพที่ 4.10 จากภาพ พบว่ามีความสัมพันธ์ในเชิงเส้นตรง แสดงให้เห็นว่าอัตราการสลายตัวของแกมมา-โอรีซานอลในสถานะที่มีเฟอริคคลอไรด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยานี้มีลักษณะการเปลี่ยนแปลงตามความเข้มข้นของเฟอริคคลอไรด์ที่สูงขึ้น

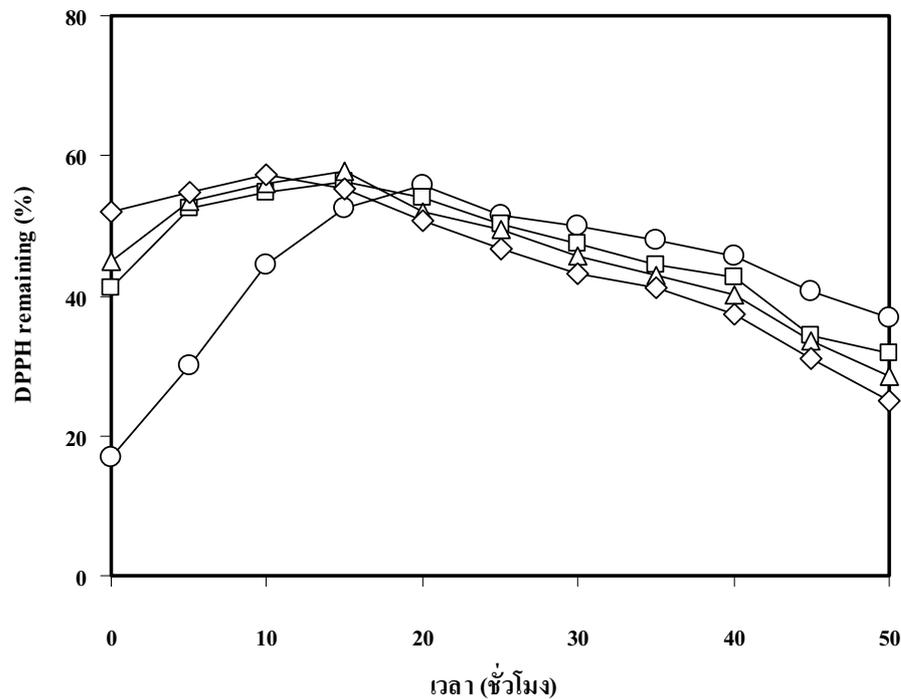
4.2.2 ผลของปริมาณเฟอริคคลอไรด์ต่อการเปลี่ยนแปลง DPPH radical scavenging

การเปลี่ยนแปลงค่า %DPPH remaining ของน้ำมันรำข้าวแต่ละความเข้มข้นของเฟอริคคลอไรด์ แสดงดังภาพที่ 4.11 จากภาพ พบว่าการเปลี่ยนแปลงค่า %DPPH remaining มีลักษณะที่คล้ายคลึงกัน กล่าวคือ มีค่าเพิ่มขึ้นในช่วงแรกของการให้ความร้อน แต่หลังจากที่น้ำมันรำข้าวเกิดการออกซิเดชันค่า %DPPH remaining จะลดลง ซึ่งค่า %DPPH remaining สูงสุดที่ความเข้มข้น 0, 2.5, 5.0 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำมัน คือ 20, 15, 15 และ 10 ชั่วโมง ตามลำดับ

และเมื่อให้ความร้อนกับน้ำมันรำข้าวมากขึ้น พบว่า ที่ความเข้มข้นของเฟอริคคลอไรด์ 7.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีค่า %DPPH remaining น้อยกว่าที่ความเข้มข้น 5.0, 2.5 และ 0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ทั้งนี้เป็นผลมาจากความเข้มข้นของเฟอริคคลอไรด์ที่ความเข้มข้นสูงสามารถเร่งให้อัตราการเกิดออกซิเดชันในน้ำมันรำข้าวให้สูงขึ้น ดังนั้น จึงเป็นผลให้ค่า %DPPH remaining ลดลง สำหรับค่า %DPPH remaining ที่เวลาเริ่มต้นของการให้ความร้อน (0 ชั่วโมง) พบว่า มีค่าแตกต่างกันโดยน้ำมันรำข้าวที่ความเข้มข้นของเฟอริคคลอไรด์ 0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีค่าต่ำกว่าที่ความเข้มข้น 2.5, 5.0 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากเฟอริคคลอไรด์ที่เติมลงไป ในน้ำมันรำข้าวสามารถเร่งการสลายตัวของแกมมา-โอริซานอลโดยตรงจึงส่งผลให้ค่า %DPPH remaining ที่เวลาเริ่มต้นของการให้ความร้อนมีค่าที่แตกต่างกัน ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวนี้มีลักษณะที่คล้ายกับการลดลงของปริมาณแกมมา-โอริซานอล



ภาพที่ 4.10 ความสัมพันธ์ของค่าคงที่การสลายตัวกับความเข้มข้นของเฟอริคคลอไรด์ในน้ำมันรำข้าว

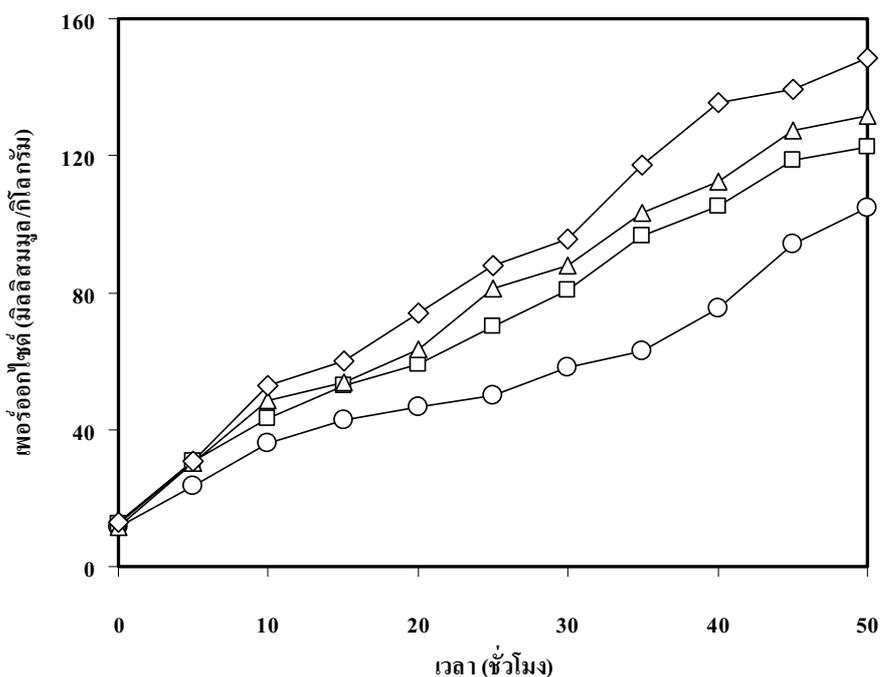


ภาพที่ 4.11 การเปลี่ยนแปลงของค่า %DPPH remaining เมื่อเติมเฟอร์ริกคลอไรด์ความเข้มข้น 0 (), 2.5 (), 5.0 (△) และ 7.5 (◇) มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

4.2.3 ผลของปริมาณเฟอร์ริกคลอไรด์ต่อการเปลี่ยนแปลงค่าเปอร์ออกไซด์

จากภาพที่ 4.12 พบว่า ปริมาณของสารประกอบเปอร์ออกไซด์ของน้ำมันรำข้าวเริ่มต้นมีค่าไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการให้ความร้อนกับน้ำมันรำข้าวมากขึ้นมีผลให้สารประกอบเปอร์ออกไซด์มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องในทุกๆ ความเข้มข้นของเฟอร์ริกคลอไรด์ โดยที่ความเข้มข้น 7.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีอัตราการเพิ่มของค่าเปอร์ออกไซด์สูงสุด รองลงมา คือ 5.0, 2.5 และ 0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และเมื่อพิจารณาเวลาสุดท้ายของการให้ความร้อน พบว่า มีค่าเปอร์ออกไซด์เท่ากับ 148.37, 131.87, 122.57 และ 104.61 มิลลิสมมูลต่อกิโลกรัมน้ำมัน ตามลำดับ โดยการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันเนื่องจากเฟอร์ริกคลอไรด์ พบว่า เฟอร์ริกคลอไรด์เป็นตัวที่เปลี่ยนสารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์ไปอยู่ในรูปของเปอร์ออกซีแรดดิคัล (Colakoglu, 2007) แต่อย่างไรก็ตามจากการรายงานของ Min (1998) กล่าวว่าอัตราการแตกตัวของสารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์นั้นจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของ RO^{\cdot} และ OH^{\cdot} ได้เร็วกว่ารูปของ ROO^{\cdot} และ H^{\cdot} ทั้งนี้เนื่องจากว่าพลังงานในการกระตุ้นของพันธะ O-O (44 กิโลแคลอรี/โมล) มีค่าน้อยกว่าพันธะ O-H (90 กิโลแคลอรี/โมล) ซึ่งการเพิ่มขึ้นของค่าเปอร์ออกไซด์นี้สอดคล้องกับการศึกษา Keceli

และ Gordon (2001) ที่กล่าวว่าเฟอริคคลอไรด์นั้นสามารถเร่งให้เกิดการออกซิเดชันของน้ำมันมะกอก โดยพบว่า มีผลให้ค่าเพอร์ออกไซด์และค่าคอนจูเกตไดอินเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม และการศึกษาของ Coscione และ Artz (2005) และ Colakoglu (2007) ซึ่งตรวจสอบได้จากค่าดัชนีชี้บ่ง เช่น ปริมาณของ กรดไขมันอิสระ, ค่าคงที่ไดอิลีกทริก, เพอร์ออกไซด์, อะนิซิดีน, ซี, และปริมาณโพลีเมอร์ไครเอซิล

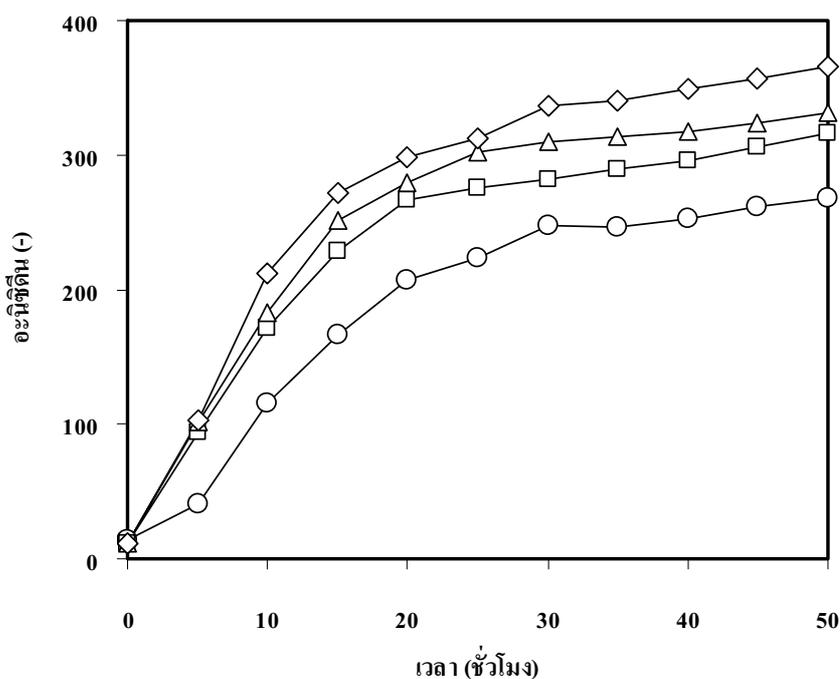


ภาพที่ 4.12 การเปลี่ยนแปลงของค่าเพอร์ออกไซด์เมื่อเติมเฟอริคคลอไรด์ความเข้มข้น 0 (), 2.5 (), 5.0 (△) และ 7.5 (◇) มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

4.2.4 ผลของปริมาณเฟอริคคลอไรด์ต่อการเปลี่ยนแปลงค่าอะนิซิดีน

การเปลี่ยนแปลงของค่าอะนิซิดีนในแต่ละความเข้มข้นของเฟอริคคลอไรด์แสดงดังภาพที่ 4.13 จากภาพ พบว่า เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการให้ความร้อนกับน้ำมันรำข้าวเวลานั้น ค่าอะนิซิดีนของทุกความเข้มข้นของเฟอริคคลอไรด์มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยช่วงแรกมีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งเหตุผลที่เป็นเช่นนี้ เนื่องจากผลิตภัณฑ์อันดับหนึ่งที่เกิดจากการออกซิเดชัน (สารประกอบไฮโดรเพอร์ออกไซด์) มีความคงตัวต่ำจึงเกิดการสลายหรือแตกตัวไปเป็นสารประกอบพวกแอลดีไฮด์ (aldehydes) ได้ง่าย จึงส่งผลให้มีค่าอะนิซิดีนสูง และนอกจากนี้

เมื่อพิจารณาที่ความเข้มข้นของเฟอร์ริคคลอไรด์ พบว่า ที่ความเข้มข้น 7.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีอัตราการเพิ่มของค่าอะนิซีตินสูงสุด รองลงมา คือ 5.0, 2.5 และ 0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งผลการทดลองนี้คล้ายกับการเปลี่ยนแปลงค่าเพอร์ออกไซด์

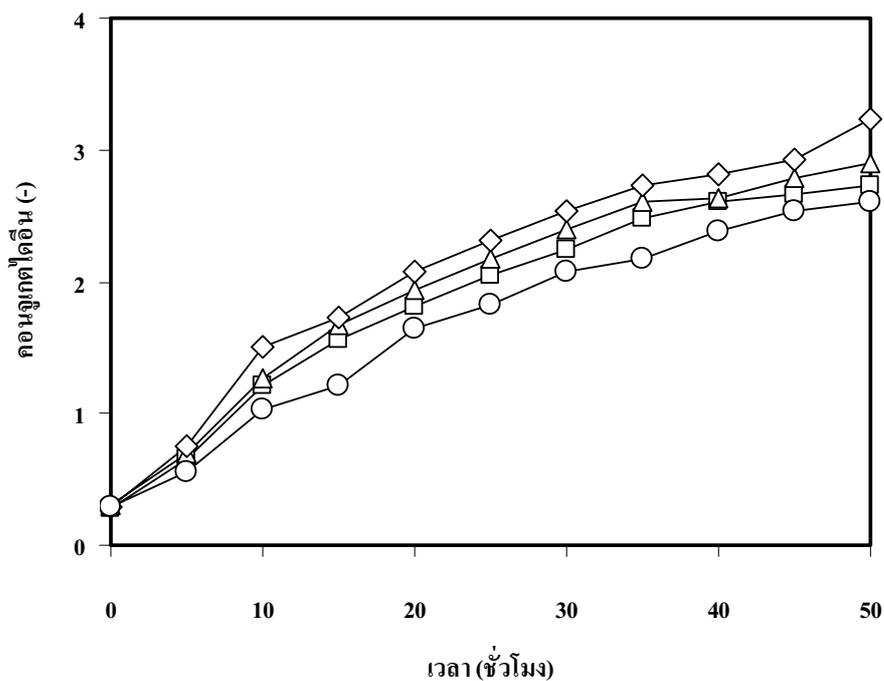


ภาพที่ 4.13 การเปลี่ยนแปลงของค่าอะนิซีตินเมื่อเติมเฟอร์ริคคลอไรด์ความเข้มข้น 0 (○), 2.5 (□), 5.0 (△) และ 7.5 (◇) มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

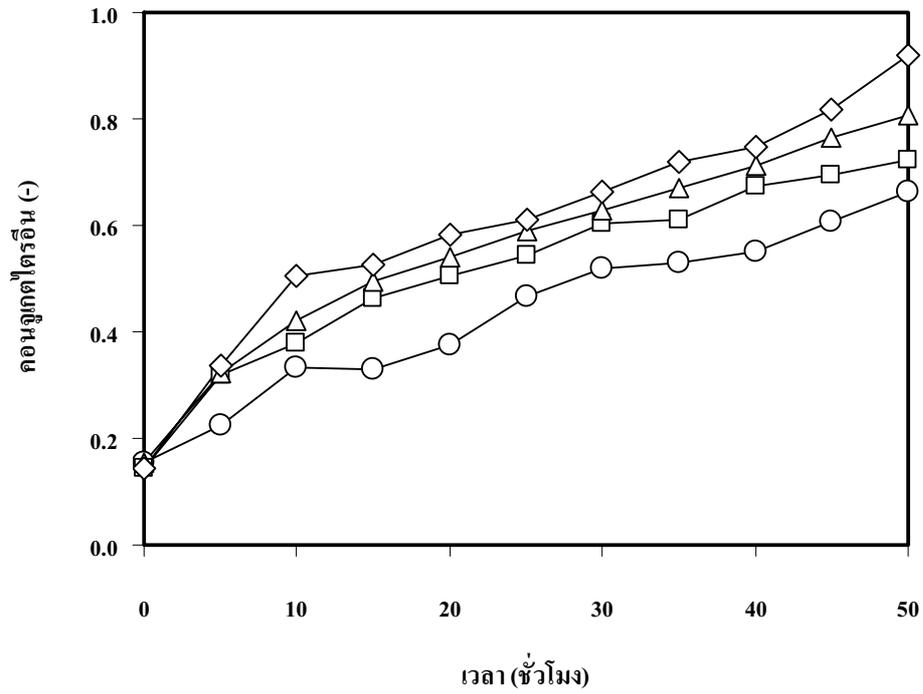
4.2.5 ผลของปริมาณเฟอร์ริคคลอไรด์ต่อการเปลี่ยนแปลงค่าคอนจูเกตไดอินและคอนจูเกตไตรอิน

จากภาพที่ 4.14 และภาพที่ 4.15 พบว่า การเปลี่ยนแปลงของค่าคอนจูเกตไดอิน และคอนจูเกตไตรอินมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการให้ความร้อนและความเข้มข้นของเฟอร์ริคคลอไรด์เพิ่มขึ้น โดยพบว่าอัตราการเปลี่ยนแปลงของค่าทั้ง 2 มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม เมื่อพิจารณาที่ความเข้มข้นของเฟอร์ริคคลอไรด์ 7.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่า มีอัตราการเปลี่ยนแปลงมากที่สุด รองลงมา คือ 5.0 และ 2.5 ตามลำดับ ซึ่งดัชนีชี้วัดของทั้ง 2 ค่านี้ เป็นดัชนีชี้วัดการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันรำข้าวได้เป็นอย่างดี (Nawar, 1996) โดยค่าคอนจูเกตไดอินเป็นค่าที่ชี้บ่งการเกิดของสารประกอบเพอร์ออกไซด์ในช่วงแรกของการเกิดออกซิเดชัน สอดคล้องกับการศึกษาของ Jeon และคณะ (2002) ที่พบว่า การเพิ่มขึ้นของค่าคอนจูเกตไดอินและค่าเพอร์ออกไซด์ในปลาเฮอริง

(herring) และปลาค็อด (cod) ที่เคลือบด้วยสารไลโคซานมีรูปแบบการเปลี่ยนแปลงที่เหมือนกัน และการรายงานของ Zuta และคณะ (2007) ในผลิตภัณฑ์น้ำมันปลาแมคเคอเรลที่เติมแอลฟา-โทโคฟีรอล และการรายงานของ Kul s และ Ackman (2001) ที่รายงานการเปลี่ยนแปลงของค่าคอนจูเกตไดอินและค่าเพอร์ออกไซด์ในน้ำมันปลาที่เติมโทโคฟีรอล สำหรับคอนจูเกตไตรอินเป็นค่าที่ชี้บ่งการเกิดของผลิตภัณฑ์อันดับที่สองเนื่องจากการเกิดออกซิเดชัน ซึ่งได้แก่ คอนจูเกตคีโตไดอิน (conjugated ketodienes) และไดอินอล (Dienals) (Paquot และ Hautfenne, 1987) สำหรับการเปลี่ยนแปลงของค่าคอนจูเกตไดอินและคอนจูเกตไตรอินมีแนวโน้มคล้ายกับการเปลี่ยนแปลงของค่าเพอร์ออกไซด์และค่าอะนิซิติน ตามลำดับ ดังนั้นจึงเป็นข้อมูลในการสนับสนุนว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการให้ความร้อนกับน้ำมันรำข้าว และเพิ่มปริมาณของเฟอร์ริคคลอไรด์นั้นมีผลไปเร่งการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันรำข้าวขึ้น จึงส่งผลให้ค่าคอนจูเกตไดอินและคอนจูเกตไตรอินสูงขึ้น



ภาพที่ 4.14 การเปลี่ยนแปลงค่าคอนจูเกตไดอินเมื่อเติมเฟอร์ริคคลอไรด์ความเข้มข้น 0 (○), 2.5 (□), 5.0 (△) และ 7.5 (◇) มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม



ภาพที่ 4.15 การเปลี่ยนแปลงค่าคอรูเกตไทรอินเมื่อเติมเฟอร์ริกคลอไรด์ความเข้มข้น 0 (), 2.5 (), 5.0 (△) และ 7.5 (◇) มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของการให้ความร้อนกับน้ำมันรำข้าวที่อุณหภูมิ 4 ระดับ คือ 132, 160, 192 และ 222 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 480, 140, 60 และ 50 ชั่วโมง ตามลำดับ ต่อจลนพลศาสตร์การสลายตัวของแกมมา-โอริซานอลในน้ำมันรำข้าว พบว่า การสลายตัวของแกมมา-โอริซานอลสามารถอธิบายได้ด้วยสมการจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่ง (first-order kinetics model) และการเปลี่ยนแปลงของค่าคงที่อัตราการสลายตัวเป็นไปตามสมการความสัมพันธ์ของ Arrhenius โดยมีค่าพลังงานกระตุ้นเท่ากับ 48.08 กิโลจูล/โมล สำหรับความสามารถในการเป็นสารต่อต้านการเกิดออกซิเดชันของแกมมา-โอริซานอลเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันรำข้าวไม่เติมแกมมา-โอริซานอลในทุกอุณหภูมิ พบว่า มีแนวโน้มที่ไม่แตกต่างกันมาก โดยแกมมา-โอริซานอลสามารถต้านการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันรำข้าวได้เพียงช่วงแรกของการให้ความร้อน ซึ่งสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของค่า DPPH remaining (%) แต่หลังจากที่น้ำมันรำข้าวเกิดการออกซิเดชันมากขึ้น พบว่า ค่า DPPH remaining (%) มีค่าลดลง ค่าเพอร์ออกไซด์และค่าอะนิซิดีนมีการเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการให้ความร้อน สำหรับผลของปริมาณเฟอริคคลอไรด์ต่อการสลายตัวของแกมมา-โอริซานอลทั้ง 4 ความเข้มข้น ได้แก่ 0, 2.5, 5.0 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่า จลนพลศาสตร์การสลายตัวของแกมมา-โอริซานอลในสถานะแรงนี้เป็นไปตามสมการอันดับที่หนึ่งเช่นกัน โดยความเข้มข้นของเฟอริคคลอไรด์ที่สูงขึ้นจะเร่งให้เกิดการสลายตัวของแกมมา-โอริซานอลได้ และเร่งการเพิ่มขึ้นของค่าเพอร์ออกไซด์, ค่าอะนิซิดีน, ค่าคอนจูเกตไดอิน และค่าคอนจูเกตไตรอิน สำหรับค่า DPPH remaining (%) จะมีการเปลี่ยนแปลงเช่นเดียวกับผลการศึกษาในส่วนแรก โดยค่าสุดท้ายจะแปรผกผันกับความเข้มข้นของเฟอริคคลอไรด์

บรรณานุกรม

- คมสัน หุตะแพทย์. 2550. น้ำมันรำข้าวคุณค่าดั้งทอง. เกษตรกรรมธรรมชาติ 10: 28-36.
- นพมาศ มั่นสุวรรณกุล. 2545. การสำรวจปริมาณแกมมา-โอรีซานอลและวิตามินอีในข้าวไทยสายพันธุ์ต่างๆ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- นิธิยา รัตนาปนนท์. 2548. วิทยาศาสตร์การอาหารของไขมันและน้ำมัน. โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.
- ลัดดา มีสุข. 2548. เคมีทั่วไป เล่ม 2 ฉบับรวบรัด. โรงพิมพ์สยามอักษรสยามการพิมพ์, กรุงเทพฯ.
- วราพร พงษ์ธรรวาทกุลพานิช. 2543. การวิเคราะห์เอกลักษณ์และปริมาณโทโคฟีรอลและโอโรซานอลในกระบวนการผลิตน้ำมันรำข้าว. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2516. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม; น้ำมันรำสำหรับบริโภค. มอก. 44-2516.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th edition, vol. 2, Gaithersburg, Md.: AOAC.
- AOAC. 2005. Official Methods of Analysis of AOAC International. 18th edition, Arlington, Va.: AOAC.
- AOCS. 1990. AOCS Official and Tentative Methods of the American Oil Chemists' Society. 4th edition, Champaign. IL: AOCS Press.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT—Food Science and Technology 28: 25-30.
- Campanella, L., Nuccilli, A., Tomassetti, M. and Vecchio, S. 2008. Biosensor analysis for the kinetic study of polyphenols deterioration during the forced thermal oxidation of extra-virgin olive oil. Talanta 74: 1287–1298.
- Cheruvanky, R. 2003. Phytochemical products: rice bran, pp. 347-376. In Johnson, I.T. and Williamson, G. eds. Phytochemical functional foods. Boca Raton; Cambridge, CRC Press; Woodhead Publishing.
- Choe, E. and Min, D.B. 2006. Mechanisms and factors for edible oil oxidation. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 5: 169-186.

- Choe, E. and Min, D.B. 2007. Chemistry of deep-fat frying oils. *Journal of Food Science* 72: 77-86.
- Chotimarkorn, C. and Silalai, N. 2008. Addition of rice bran oil to soybean oil during frying increases the oxidative stability of the fried dough from rice flour during storage. *Food Research International* 41: 308–317.
- Chung, H.F., Colakoglu, A.S. and Min, D.B. 2004. Relationship among headspace oxygen, peroxide value and conjugated diene content of soybean oil oxidation. *Journal of Food Science* 69: 83-88.
- Colakoglu, A.S. 2007. Oxidation kinetics of soybean oil in the presence of monoolein, stearic acid and iron. *Food Chemistry* 101: 724–728.
- Coscione, A.R. and Artz, W.E. 2005. Vegetable oil stability at elevated temperatures in the presence of ferric stearate and ferrous octanoate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 2088-2094.
- Decker, E.A. 1998. Antioxidant mechanisms, pp. 397- 401. *In* Akoh, K. and Min, D.B. eds. *Food lipids*. New York, Marcel Dekker.
- Decker, E.A. and Hultin, H.O. 1992. Lipid oxidation in muscle foods via redox iron, pp. 33–54. *In* St. Angelo, A.J. ed. *Lipid oxidation in foods*. New York, ACS Press.
- Fang, N., Yu, S. and Badger, T.M. 2003. Characterization of triterpene alcohol and sterol ferulates in rice bran using LC-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 3260–3267.
- Gerhardt, A.L. and Gallo N.B. 1998. Full fat rice bran and oat bran similarly reduced hypercholesterolemia in humans. *The Journal of Nutrition* 128: 865-869.
- Ghosh, M. 2007. Review on recent trends in rice bran oil processing. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 84: 315–324.
- Iqbal, S., Bhangar, M.I. and Anwar, F. 2005. Antioxidant properties and components of some commercially available varieties of rice bran in Pakistan. *Food Chemistry* 93: 265–272.
- Jadhav, S.J., Nimbalkar, S.S., Kulkarni, A.D. and Madhavi, D.L. 1996. Lipid oxidation in biological and food systems, pp. 5–64. *In* Madhavi, D.L, Deshpande, S.S and Salunkhe, D.K. eds. *Food antioxidants*. New York, Marcel Dekker.

- Joel, Y.J., Kamil, J.Y.V.A. and Shahidi, F. 2002. Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and atlantic cod. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 5167-5178.
- Juliano, C., Cossu, M., Alamanni, M.C. and Piu, L. 2005. Antioxidant activity of gamma-oryzanol: Mechanism of action and its effect on oxidative stability of pharmaceutical oils. *International Journal of Pharmaceutics* 299: 146-154.
- Kahlon, T.S., Chow, I., Chiu, M.M., Hudson, C.A. and Sayre, R.N. 1996. Cholesterol-lowering by rice bran and rice bran oil unsaponifiable matter in hamsters. *Cereal Chemistry* 73: 69-71.
- Keceli, T. and Gordon, M.H. 2001. The antioxidant activity and stability of the phenolic fraction of green olives and extra virgin olive oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 81: 1391-1396.
- Keceli, T. and Gordon, M.H. 2002. Ferric ions reduce the antioxidant activity of the phenolic fraction of extra virgin olive oil. *Journal of Food Science* 67: 943-947.
- Khuwijitjaru, P., Taengtieng, N. and Changprasit, S. 2004. Degradation of gamma-oryzanol in rice bran oil during heating: An analysis using derivative UV-spectrophotometry. *Silpakorn University International Journal* 4: 154-165.
- Kim, J.S., Godber, J.S. and Prinyawiwatkul, W. 2000. Restructured beef roasts containing rice bran oil and fiber influences cholesterol oxidation and nutritional profile. *Journal of Muscle Food* 11: 111-127.
- Komiyama, K., Hayashi, M., Cha, S. and Yamaoka, M. 1992. Antitumor and antioxidant activity of tocotrienols, pp 152-159. *In* Ong, S.H. and Packer, L. eds. *Lipid-soluble antioxidants, biochemistry and clinical applications*. Basel; Switzerland, Birkhauser Verlag.
- Korchhar, S.P. 2000. Stabilization of frying oils with natural antioxidative components. *European Journal of Lipid Science and Technology* 102: 552-559.
- Krishna, A.G.G., Khatoon, S., Shiela, P.M., Sarmandal, C.V., Indira, T.N. and Mishra, A. 2001. Effect of refining of crude rice bran oil on the retention of oryzanol in refined oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 78: 127-131.

- Kulås, E. and Ackman, R.G. 2001. Different tocopherols and the relationship between two methods for determination of primary oxidation products in fish oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 1724–1729.
- Lampi, A.M., Dimberg, L.H. and Kamal-Eldin, A. 1999. A study on the influence of fucosterol on thermal polymerization of purified high oleic sunflower triacylglycerols. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 79: 573-579.
- Lee, J.M., Chung, H., Chang, P.S. and Lee, J.H. 2007. Development of a method predicting the oxidative stability of edible oils using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). *Food Chemistry* 103: 662–669.
- Lloyd, B.J., Siebenmorgan, T.J. and Beers, K.W. 2000. Effect of commercial processing on antioxidants in rice bran. *Cereal Chemistry* 77: 551-555.
- Min, D.B. 1998. Lipid oxidation of edible oils, pp. 283-296. *In* Akoh, C.C. and Min, D.B. eds. *Food lipids*. New York, Marcel Dekker.
- Molyneux, P. 2004. The use of stable free radical diphenylpicryl hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal Science Technology* 26: 211-219.
- Nanua, J.N., McGregor, J.U. and Godber, J.S. 2000. Influence of high-oryzanol rice bran oil on the oxidative stability of whole milk powder. *Journal of Dairy Science* 83: 2426–2431.
- Nawar, W.W. 1984. Chemical changes in lipids produced by thermal processing. *Journal of Chemical Education* 61: 299-302.
- Nawar, W.W. 1996. Lipids, pp. 225–320. *In* Fennema, O.R. ed. *Food chemistry*. New York, Marcel Dekker.
- Nesaretnam, K., Stephen, R., Dils, R. and Darbre, P. 1998. Tocotrienols inhibit the growth of human breast cancer cells irrespective of estrogen receptor status. *Lipids* 33: 461-469.
- Nissiotis, M. and Tasioula-Margari, M. 2002. Changes in antioxidant concentration of virgin olive oil during thermal oxidation. *Food Chemistry* 77: 371-376.
- Nyström, L., Achrenius, T., Lampi, A.M., Moreau, R.A. and Piironen, V. 2007. A comparison of the antioxidant properties of steryl ferulates with tocopherol at high temperatures. *Food Chemistry* 101: 947-954.
- Orthofer, F.T. 1996. Rice bran oil: Healthy lipid source. *Food Technology* 50: 62-64.

- Paquot, C. and Hautfenne, A. 1987. IUPAC Method 2.505. Evidence of purity and deterioration from ultraviolet spectrometry. *In* Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives, 7th edition, Oxford, Blackwell Science.
- Patel, M. and Naik, N. 2004. Gamma-oryzanol from rice bran oil – A review. *Journal of Scientific and Industrial Research* 63: 569-578.
- Recknagel, R.D. and Glende, E.A. 1984. Spectrophotometric detection of lipid conjugated dienes. *Methods in enzymology* 105: 331–337. United States, Academic Press.
- Romero, N., Robert, P., Masson, L., Ortiz, J., González, K., Tapia, K. and Dobaganes, C. 2007. Effect of α -tocopherol, α -tocotrienol and rosa mosqueta shell extract on the performance of antioxidant-stripped canola oil (*Brassica sp.*) at high temperature. *Food Chemistry* 104: 383–389.
- Rong, N.L., Ausman, M. and Nicolosi, R.J. 1997. Oryzanol decreases cholesterol absorption and aortic fatty streaks in hamsters. *Poultry Science* 32: 303-307.
- Rossi, M., Alamprese, C. and Ratti, S. 2007. Tocopherols and tocotrienols as free radical-scavengers in refined vegetable oil and their stability during deep-fat frying. *Food Chemistry* 102: 812-817.
- Salunkhe, D.K., Chavan, J.K., Adsule, R.N. and Kadam, S.S. 1992. *World Oilseeds: Chemistry, Technology and Utilization*. New York, Van Nostand Reinhold.
- Saska, M. and Rossiter, G.J. 1998. Recovery of γ -oryzanol in rice bran oil with silica-based continuous chromatography. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 75: 1421-1427.
- Taoukis, P.S., Labuza, T.P. and Saguy, I.S. 1997. Kinetics of food deterioration and shelf-life prediction, pp.361-403. *In* Valentas, K.J., Rotstein, E. and Singh, R.P. eds. *Handbook of food engineering practice*. Boca Raton, CRC Press.
- Van Hoed, V., Depaemelaerea, G., Vila Ayala, J., Santiwattanac, P., Verh ea, R. and De Greyt, W. 2006. Influence of chemical refining on the major and minor components of rice bran oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 83: 315-326.
- Xu, Z. and Godber, J.S. 1999. Purification and Identification of components of γ -oryzanol in rice bran oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 2724-2728.

- Xu, Z. and Godber, J.S. 2001. Antioxidant activities of major components of γ -oryzanol from rice bran using a linoleic acid model. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 78: 645-649.
- Xu, Z., Hua, N. and Samuel Godber, J. 2001. Antioxidant activity of tocopherols, tocotrienols, and γ -oryzanol components from rice bran against cholesterol oxidation accelerated by 2,2'-azobis (2-methylpropionamidine) dihydrochloride. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 2077-2081.
- Zuta, P.C., Simpson, B.K., Zhao, X. and Leclerc, L. 2007. The effect of α -tocopherol on the oxidation of mackerel oil. *Food Chemistry* 100: 800–807.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีกําจัดสารต่อต้านการเกิดออกซิเดชันตามธรรมชาติในน้ำมันรำข้าว ดัดแปลงจากวิธีการของ Nyström และคณะ (2007)

สารเคมี

1. อะลูมินัมออกไซด์ (ชนิด activity I, pH 7.0 ± 0.5 , Fluka, Switzerland)
2. เฮกเซน (99.5%, Mallinckrodt chemical, USA)

วิธีการ

1. บรรจุ glass wools ลงในคอลัมน์แก้ว ขนาด 48 x 3 เซนติเมตร
2. เติมเฮกเซนปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในคอลัมน์เพื่อทำความสะอาด glass wools แล้วปล่อยเฮกเซนออกมา จากนั้นเติมเฮกเซนปริมาตร 25 มิลลิลิตร ลงในคอลัมน์
3. บรรจุอะลูมินัมออกไซด์ 200 กรัม ลงในคอลัมน์พร้อมกับเฮกเซนปริมาตร 165 มิลลิลิตร ขณะบรรจุต้องเคาะข้างๆ คอลัมน์เพื่อไม่ให้เกิดช่องว่างภายในคอลัมน์ ปล่อยไว้ 12 ชั่วโมงเพื่อให้อะลูมินัมออกไซด์เกิดการจับกันอย่างแน่นหนา
4. ปล่อยเฮกเซนออกมาจากคอลัมน์ปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วจึงหุ้มคอลัมน์ด้วยอะลูมินัมฟอยล์
5. ผสมน้ำมันรำข้าว 100 กรัมกับเฮกเซนปริมาตร 100 มิลลิลิตร ผ่านคอลัมน์ด้วยอัตราการไหล 2.5 มิลลิลิตรต่อนาที ชะคอลัมน์ด้วยเฮกเซนปริมาตร 200 มิลลิลิตร ระวังอย่าให้คอลัมน์ปราศจากเฮกเซน
6. เก็บสารละลายน้ำมันรำข้าวที่มีเฮกเซนผสมอยู่ไว้ในขวดสีชาเพื่อป้องกันการออกซิเดชันของน้ำมันเนื่องจากแสง และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการศึกษา



ภาพ ก. การกำจัดสารต่อต้านการเกิดออกซิเดชันด้วยคอลัมน์อะลูมิเนียมออกไซด์

ภาคผนวก ข
วิธีการวิเคราะห์

ข 1. การวิเคราะห์ DPPH radical scavenging capacity ดัดแปลงจากวิธีการของ Brand-Williams และคณะ (1995) และ Rossi และคณะ (2007)

สารเคมี

1. เอทิลอะซิเตต
2. สารละลาย DPPH• (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ความเข้มข้น 6×10^{-5} โมลาร์ เตรียมโดยชั่งสาร DPPH• 0.0237 กรัม ละลายด้วยเอทิลอะซิเตต ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชา

วิธีการ

1. บีบน้ำมันรำข้าวปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เติมลงในสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 6×10^{-5} โมลาร์ ปริมาตร 3.9 มิลลิลิตร
2. ตัวอย่างทิ้งไว้ 90 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์
3. วัดการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ไม่ผ่านการเติมแกมมา-โอรีซานอล (ตัวอย่างควบคุม) ณ เวลาเดียวกับตัวอย่างที่ศึกษา
4. ใช้เอทิลอะซิเตตเป็น blank ในการวัดค่าการดูดกลืนแสง

การคำนวณ

$$\text{DPPH remaining (\%)} = (A_s / A_0) \times 100$$

โดยที่ A_0 = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ไม่ผสมน้ำมันรำข้าว
 A_s = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ผสมน้ำมันรำข้าว

ข 2. การวิเคราะห์ปริมาณแกมมา-โอรีซานอลด้วย HPLC ใช้วิธีของ Xu และ Godber (1999)

สารเคมี

1. เมทานอล
2. อะซิโตไนไตรล์
3. กรดอะซิติก
4. อะซิโตน

สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์

1. คอลัมน์: Inertsil ODS-3 C18 ยี่ห้อ GL Sciences, Japan ขนาด 4.6 x 250 มิลลิเมตร
2. วัฏภาคเคลื่อนที่: เมทานอล/ อะซิโตไนไตรล์/ กรดอะซิติก อัตราส่วน 55/42/3 (โดยปริมาตร)
3. อัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่: 1.8 มิลลิลิตรต่อนาที
4. ปริมาตรตัวอย่างที่ฉีด: 20 ไมโครลิตร (μl)
5. เครื่องตรวจวัด: เครื่องยูวี-ดีเทกเตอร์ (UV-Detector) ที่ความยาวคลื่นแสง 330 นาโนเมตร

สารละลายมาตรฐานแกมมา-โอรีซานอล

1. ชั่งสารแกมมา-โอรีซานอลบริสุทธิ์ 0.0400 กรัม ละลายด้วยเมทานอล/ อะซิโตไนไตรล์ / กรดอะซิติก อัตราส่วน 55/42/3 (โดยปริมาตร) ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ซึ่งคือ ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร
2. นำละลายมาตรฐานแกมมา-โอรีซานอล 400 มิลลิกรัมต่อลิตร มาเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 200, 100, 50 และ 25 มิลลิกรัมต่อลิตร

การเตรียมกราฟมาตรฐานแกมมา-โอรีซานอล

1. นำสารละลายมาตรฐานแกมมา-โอรีซานอลความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร กรองผ่าน syringe filter (ไนลอนขนาด 0.45 ไมครอน) ฉีดตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร เข้าเครื่อง HPLC คู่ค่าสัปดาห์ของเวลาตามสภาวะที่กำหนด และพื้นที่ที่ได้กราฟ
2. ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1 โดยเปลี่ยนความเข้มข้นเป็น 50, 100, 200 และ 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และทำการบันทึกพื้นที่ที่ได้กราฟ
3. นำค่าพื้นที่ที่ได้กราฟและความเข้มข้นไปเขียนกราฟมาตรฐานของแกมมา-โอรีซานอล หาความสัมพันธ์ในรูปของสมการเส้นตรง

วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่างน้ำมันรำข้าวประมาณ 0.5 กรัม ปรับปริมาตรด้วยอะซิโตนให้ได้ปริมาตร 5 มิลลิลิตร
2. กรองตัวอย่างผ่านแผ่นกรองไนลอนขนาด 0.45 ไมครอน ฉีดตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร เข้าเครื่อง HPLC ดูค่าคงค้างของเวลาตามสภาวะที่กำหนด
3. คำนวณปริมาณของแกมมา-โอริซานอลจากกราฟมาตรฐานของแกมมา-โอริซานอลบริสุทธิ์

ข 3. การวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide Value; P.V.) วิธีการ Iodometric method 965.33 (AOAC, 2000)

สารเคมี

1. สารละลายกรดอะซิติก: คลอโรฟอร์ม อัตราส่วน 3: 2 โดยปริมาตร
2. สารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์อิ่มตัว เตรียมโดยละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ในน้ำกลั่นต้มประมาณ 10 มิลลิลิตร จนโพแทสเซียมไอโอไดด์อิ่มตัวเหลือเป็นเกร็ดเล็กๆ เก็บในขวดสีชา ทดสอบประสิทธิภาพโดยการเติมสารกรดอะซิติก: คลอโรฟอร์ม ประมาณ 0.5–30 หยด จากนั้นเติมสารละลายน้ำแข็งประมาณ 2-3 หยด ถ้าสารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินให้หยดสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จนไม่เปลี่ยนสีอีกมากกว่า 1 หยด (เตรียมใหม่ทุกครั้ง)
3. สารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ โดยชั่งสาร โซเดียมไทโอซัลเฟต 2.482 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร (เตรียมใหม่ทุกครั้ง)
4. สารละลายน้ำแข็ง ชั่ง starch solution 1 กรัม ละลายในน้ำเย็นให้พอเป็นของเหลวข้น ต้มให้ความร้อน 1 นาที พร้อมกับคน แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างน้ำมันรำข้าว 5.00 ± 0.30 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร สำหรับการศึกษายในส่วนของการเติมเพอริคลอไรด์จะใช้ตัวอย่างน้ำมันรำข้าว 1.00 ± 0.10 กรัม
2. เติมสารผสมของกรดอะซิติก: คลอโรฟอร์มในอัตราส่วน 3:2 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร เขย่าจนน้ำมันละลาย เก็บไว้ในที่มืด 10 นาที

3. เติมสารละลายอิมตัวของโพแทสเซียมไอโอไดด์ 1 มิลลิลิตร เขย่าเป็นเวลา 1 นาที แล้วเติมน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร
4. ไตเตรตด้วยสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จนสีเหลืองจางลง จากนั้นเติมน้ำแป้งลงไป 0.5 มิลลิลิตร ไตเตรตต่อจนสีน้ำเงินจางหายไป บันทึกปริมาณสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตความเข้มข้น 0.1 โมลาร์
5. ทำ blank ควบคุม โดยใช้ น้ำกลั่นแทนน้ำมันรำข้าว

การคำนวณ

$$PV \text{ (meq./kg)} = [(S \times M) \times 1000] / W$$

โดยที่ S = ปริมาตรโซเดียมไทโอซัลเฟต (มิลลิลิตร) ของตัวอย่าง – ปริมาตร
โซเดียมไทโอซัลเฟต (มิลลิลิตร) ของ blank
M = ความเข้มข้นของโซเดียมไทโอซัลเฟต (โมลาร์)
W = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

ข 4. การวิเคราะห์ค่าพาราอะนิซีดีน (*p*-Anisidine Value; *p*-A.V.) ใช้วิธีการ Ti la-64 (AOCS, 1990)

สารเคมี

1. ไอโซออกเทน (iso-octane)
2. สารละลายพาราอะนิซีดีน (*p*-anisidine) ร้อยละ 0.25 เตรียมโดยชั่งสารพาราอะนิซีดีน 0.125 กรัม ละลายในกรดอะซิติก ปรับปริมาตรจนครบ 50 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างน้ำมันรำข้าว 0.10 ± 0.20 กรัม ปรับปริมาตรด้วยไอโซออกเทนให้ได้ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร
2. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร (A_1) ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์
3. ปิเปตตัวอย่าง 5 มิลลิลิตร เติมพาราอะนิซีดีน ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร
4. เก็บตัวอย่างเป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 350 นาโนเมตร (A_2)

การคำนวณ

$$p-AV = 25 \times [(1.2 \times A_2 - A_1)] / W$$

โดยที่ A_1 = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างก่อนเติมพารา-อะนิซีน

A_2 = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างหลังเติมพารา-อะนิซีน

W = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

ข 5. การวิเคราะห์ค่าคอนจูเกตไดอิน (Conjugated dienes; C.D.) และคอนจูเกตไตรอิน (Conjugated trienes; C.T) ใช้วิธีการของ Recknagel และ Glende (1984)

สารเคมี

1. ไอโซ-ออกเทน

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างน้ำมันรำข้าว 0.05 กรัม ปรับปริมาตรด้วยไอโซ-ออกเทนให้ได้ 25 มิลลิลิตร (stock solution)
2. ปิเปตตัวอย่าง 600 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรด้วยไอโซ-ออกเทนให้ได้ปริมาตร 5 มิลลิลิตร
3. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 234 นาโนเมตร (คอนจูเกตไดอิน) และที่ความยาวคลื่น 268 นาโนเมตร (คอนจูเกตไตรอิน) ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

การคำนวณ

$$C.D./C.T. = (A / C) \times d$$

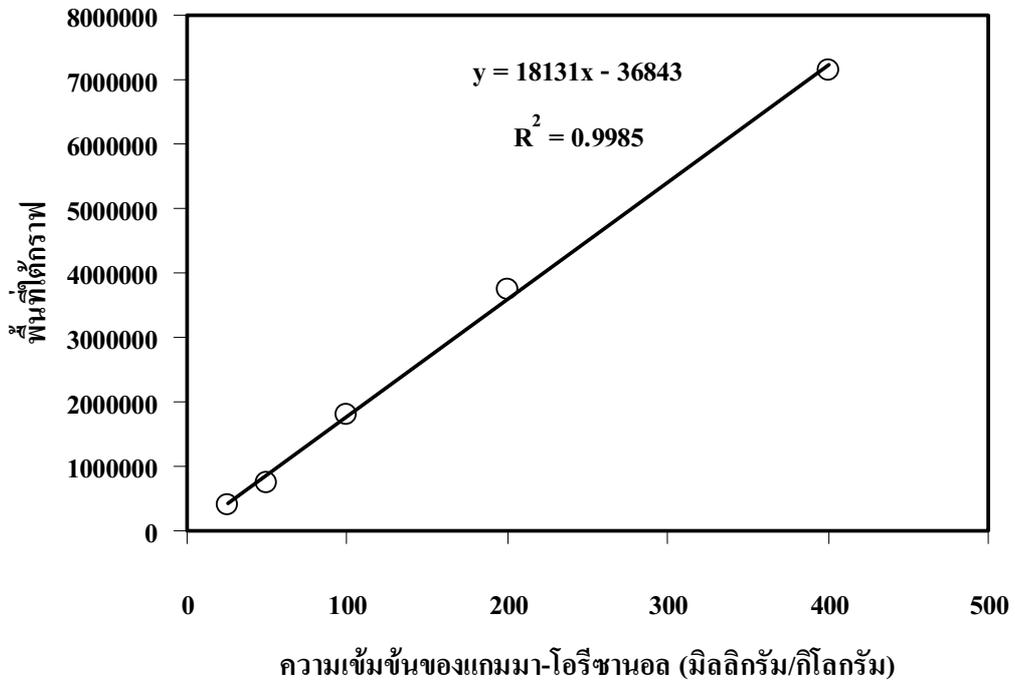
โดยที่ A = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

C = ความเข้มข้นของตัวอย่าง (กรัม/ลิตร)

d = ความกว้างของ cuvette (เซนติเมตร)

ภาคผนวก ค

กราฟมาตรฐานของสารแกมมา-โอรีซานอลบริสุทธิ์



ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาวทิพวรรณ ยืนยงค์
ที่อยู่	32/2ม . 2 ต. ท่ากระดาน อ. ศรีสวัสดิ์ จ. กาญจนบุรี 71250
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2548	สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม
พ.ศ. 2549	ศึกษาต่อระดับปริญญาโท สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ผลงานทางวิชาการ	
พ.ศ. 2551	Submitted manuscript เรื่อง "Degradation kinetics of gamma-oryzanol in purified rice bran oil during thermal oxidation" ในวารสาร Journal of the American Oil Chemists' Society