



รายงานการวิจัย เรื่อง

การพัฒนาวิธีการตรวจสอบแกมมาโอริซานอลและวิตามินอีในน้ำมันรำข้าวแบบรวดเร็ว
ด้วยสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้

Development of a rapid method for determination of gamma-oryzanol and vitamin E
in rice bran oil

ปราโมทย์ คูวิจิตรจรรู

ปราณิต โอปณะโสภิต

Pramote Khuwijitjaru

Praneet Opanasopit

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก

สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2557-2558

ภายใต้ชุดโครงการวิจัย เรื่อง การพัฒนาวิธีตรวจสอบอย่างรวดเร็วเพื่อวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ
ในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพด้วยเทคนิคสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้

ปีที่ดำเนินการเสร็จ พ.ศ. 2559

บทคัดย่อ

ชื่อโครงการ การพัฒนาวิธีการตรวจสอบเกมมาโอรีซานอลและวิตามินอีในน้ำมันรำข้าวแบบรวดเร็วด้วยสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้

ชื่อผู้วิจัย ปราโมทย์ คุวิจิตรจารุ¹, ปราณีต โอปณะโสภิต²

หน่วยงานที่สังกัด ¹ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม,

²ภาควิชาเทคโนโลยีเกษตรกรรม คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

แหล่งทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณแผ่นดินประจำปี 2557 และ 2558 สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีที่เสร็จ พ.ศ. 2559

ประเภทการวิจัย การวิจัยประยุกต์

สาขาวิชา สาขาเกษตรศาสตร์และชีววิทยา กลุ่มอุตสาหกรรมเกษตร

เกมมาโอรีซานอลและวิตามินอีเป็นสารต้านการเกิดออกซิเดชันตามธรรมชาติที่มีปริมาณสูงในน้ำมันรำข้าว งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการพัฒนาวิธีการตรวจสอบปริมาณเกมมาโอรีซานอลและวิตามินอี (ในรูปของแอลฟาโทโคฟีรอล) ด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (NIRS) ในน้ำมันรำข้าว โดยการเตรียมระบบจำลอง 3 ระบบคือ เฮกเซน กรดไขมันสายกลาง (MCF) และ 10% MCF ในเฮกเซน และใช้ NIRS ติดตามปริมาณเกมมาโอรีซานอลในระหว่างการให้ความร้อนใน MCF ผลการศึกษาพบว่าสมการทำนายปริมาณเกมมาโอรีซานอลที่สร้างขึ้นจากเฮกเซนให้ค่า R^2 และ RPD สูงที่สุดคือ 99.89, 63.9 mg/L โดยให้ค่า RMSECV ต่ำที่สุดคือ 4.53 mg/L ขณะที่สมการทำนายปริมาณแอลฟาโทโคฟีรอลที่สร้างขึ้นจาก 10% MCF ในเฮกเซนให้ค่า R^2 และ RPD สูงที่สุดคือ 99.33, 12.2 mg/L และมี RMSECV ที่ต่ำคือ 1.23 mg/L เมื่อนำสมการทำนายที่ได้จากทั้งสามระบบมาใช้ในการทำนายปริมาณเกมมาโอรีซานอลและแอลฟาโทโคฟีรอลในน้ำมันรำข้าวที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดจำนวน 27 ตัวอย่างพบว่าสมการทำนายปริมาณเกมมาโอรีซานอลที่สร้างขึ้นจาก 10% MCF ในเฮกเซนให้ค่า RMSEP ต่ำที่สุดคือ 225 mg/L และสมการทำนายปริมาณแอลฟาโทโคฟีรอลที่สร้างขึ้นจากเฮกเซนให้ค่า RMSEP น้อยที่สุดคือ 29.59 mg/L เมื่อนำสมการทำนายปริมาณเกมมาโอรีซานอลไปใช้ในการติดตามปริมาณเกมมาโอรีซานอลขณะให้ความร้อนที่ 180 – 220 องศาเซลเซียส พบว่าผลการทำนายมีค่า RMSEP และ bias ที่สูงมากคือ 478 ถึง 407 mg/L และ 403 ถึง 388 mg/L ตามลำดับ ทำให้ไม่สามารถนำไปใช้ในการศึกษาจลนพลศาสตร์ด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ได้ แต่การศึกษาจลนพลศาสตร์จากปริมาณที่วิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีของเหลวความดันสูงพบว่าการสลายตัวของเกมมาโอรีซานอลสามารถอธิบายได้ด้วยสมการ Weibull โดยมีค่าคงที่ของปฏิกิริยา (β) ที่อุณหภูมิ 180 200 และ 220 องศาเซลเซียสคือ 0.0331 0.0227 และ 0.0538 h^{-1} ตามลำดับ

คำสำคัญ: เกมมาโอรีซานอล แอลฟาโทโคฟีรอล สเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ จลนพลศาสตร์

Abstract

Research Title Development of a rapid method for determination of gamma-oryzanol and vitamin E in rice bran oil

Researcher Pramote Khuwijitjaru¹, Praneet Opanasopit²

Office ¹Department of Food Technology, Faculty of Engineering and Industrial technology,

²Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University

Research Grant Fiscal Year 2014 and 2015 Research and Development Institute, Silpakorn University

Year of completion 2016

Type of research Applied research

Subjects Agriculture and Biology, Sub-group: Agro-industry

γ -Oryzanol and vitamin E are natural antioxidants found in rice bran oil at high amount. This study evaluated the potential of near infrared spectroscopy (NIRS) for determining the quantity of γ -oryzanol and vitamin E (as α -tocopherol) in rice bran oil using models built from 3 different model systems i.e. hexane, medium chain fatty acids (MCF) and hexane containing 10% MCF and its application on determining the thermal degradation kinetics of γ -oryzanol in MCF. The results showed that the γ -oryzanol prediction model built from hexane gave better performance than other models with the highest R^2 and RPD of 99.89, 63.9 mg/L, respectively and lowest RMSECV of 4.53 mg/L while the α -tocopherol prediction model built from hexane containing 10% MCF gave the highest R^2 and RPD of 99.33, 12.2 mg/L, respectively and lowest RMSECV of 1.23 mg/L. The result of prediction tested with 27 commercial rice bran oil samples showed that γ -oryzanol prediction model built from hexane containing 10% MCF gave the lowest RMSEP of 225 mg/L whereas α -tocopherol prediction model built from hexane gave the lowest RMSEP of 29.59 mg/L. The result of its application on determining the thermal degradation kinetics of γ -oryzanol in MCF at 180-220°C showed that the model gave high RMSEP and bias of 478-407 mg/L and 403- 388 mg/L, respectively which could not be used for evaluating the thermal degradation kinetics. Nevertheless, the result of thermal degradation kinetics of γ -oryzanol obtained from data of high performance liquid chromatography analysis showed that thermal degradation of γ -oryzanol can be described by Weibull model with the rate constant (β) at 180, 200, and 220 °C of 0.0331 0.0227 and 0.0538 h⁻¹, respectively.

Keywords: γ -oryzanol, α -tocopherol, NIRS, kinetics

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของชุดโครงการวิจัยเรื่อง “การพัฒนาวิธีตรวจสอบอย่างรวดเร็วเพื่อวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้” ได้รับงบประมาณสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินปี พ.ศ. 2557 และ 2558

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณบริษัทสยามแพคเกจ แอนด์ ออยล์ จำกัด ในการอนุเคราะห์ตัวอย่าง caprylic/capric acid blend และบริษัท Tsuno Rice Fine Chemicals ประเทศญี่ปุ่นในการอนุเคราะห์ตัวอย่างสารแกมมาโอไรซานอลบริสุทธิ์สำหรับการทดลองในครั้งนี้ และขอขอบคุณผู้ช่วยวิจัยในโครงการ นายธิตวัฒน์ พิงส์เกล้า ในการทำวิจัยตลอดโครงการ

สารบัญ

บทคัดย่อ.....	ก
Abstract.....	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2. ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา	1
1.3. สมมติฐานของการวิจัย	2
1.4. ขอบเขตของการวิจัย.....	2
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	3
2.1. น้ำมันรำข้าว	3
2.2. แคมมาโอรีซานอล	3
2.3. การวิเคราะห์ปริมาณแคมมาโอรีซานอล.....	4
2.4. วิตามินอี	5
2.5. การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินอี.....	6
2.7. หลักการพื้นฐานของเทคนิคสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้	7
2.7.1. สเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near infrared spectroscopy; NIRS).....	7
2.7.2. รูปแบบอันตรกิริยาของตัวอย่างกับรังสีอินฟราเรดย่านใกล้.....	9
2.7.3. การปรับแต่งสเปกตรัม (Spectrum Pretreatment).....	10
2.7.4. ค่าทางสถิติที่ใช้พิจารณาการสร้างสมการ	11
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีวิจัย	14
3.1. อุปกรณ์	14
3.2. สารเคมี.....	14
3.3. ขั้นตอนและวิธีวิจัย.....	14
3.3.1. การสร้างแบบจำลองในการวิเคราะห์ปริมาณแคมมาโอรีซานอลด้วย NIRS.....	14

3.3.2. การสร้างแบบจำลองในการวิเคราะห์ปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลด้วย NIRS	15
3.2.3. การติดตามการสลายตัวของแกมมาโอรีซานอลขณะให้ความร้อนด้วย NIRS	15
บทที่ 4 ผลการทดลองและการอภิปราย	17
4.1. ปริมาณแกมมาโอรีซานอล และ แอลฟาโตโคฟีรอลในน้ำมันรำข้าว	17
4.2. ผลการสร้างสมการในการวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลด้วย NIR Spectra	17
4.3. ผลการสร้างแบบจำลองในการวิเคราะห์ปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลด้วย NIRS Spectra	22
4.3. จลนพลศาสตร์การสลายตัวของแกมมาโอรีซานอลใน MCF เมื่อผ่านการให้ความร้อนสูง	26
4.3.1. ผลการวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลด้วย HPLC.....	26
4.3.2. ผลของการให้ความร้อนต่อการลดลงของแกมมาโอรีซานอลในระบบ MCF	27
4.3.3. ผลการติดตามปริมาณแกมมาโอรีซานอลด้วย NIRS	31
บทที่ 5 สรุป	33
รายการเอกสารอ้างอิง.....	34
ภาคผนวก ก รายละเอียดตัวอย่างน้ำมันรำข้าว	38
ภาคผนวก ข วิธีวิเคราะห์ทางเคมี.....	39
1. การวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าวด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์	39
2. การวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลด้วย HPLC	39
3. การวิเคราะห์ปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลด้วย HPLC	40
ภาคผนวก ค ตารางผลการทดลอง	42
การเผยแพร่ผลงานวิจัย	51
ประวัติผู้วิจัย	52

สารบัญตาราง

ตารางที่ 2.1 การแบ่งช่วงคลื่นย่านอินฟราเรด.....	8
ตารางที่ 2.2 แนวทางการอธิบายความสามารถของสมการคาร์เบรชันด้วยค่า R.....	11
ตารางที่ 2.3 แนวทางการอธิบายความสามารถของสมการคาร์เบรชันด้วยค่า RPD	12
ตารางที่ 4.1 ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าว	17
ตารางที่ 4.2 ปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลในน้ำมันรำข้าว	17
ตารางที่ 4.3 ผลทางสถิติของสมการทำนายปริมาณแกมมาโอรีซานอลใน hexane	19
ตารางที่ 4.4 ผลทางสถิติของสมการทำนายปริมาณแกมมาโอรีซานอลใน MCF	20
ตารางที่ 4.5 ผลทางสถิติของสมการทำนายปริมาณแกมมาโอรีซานอลใน 10% MCF ใน hexane	21
ตารางที่ 4.6 ผลทางสถิติของสมการทำนายปริมาณแกมมาโอรีซานอลด้วยสมการทำนายจาก 3 ระบบ.....	22
ตารางที่ 4.7 ผลทางสถิติของสมการทำนายปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลใน hexane	23
ตารางที่ 4.8 ผลทางสถิติของสมการทำนายปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลใน MCF	24
ตารางที่ 4.9 ผลทางสถิติของสมการทำนายปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลใน 10% MCF ใน hexane	25
ตารางที่ 4.10 ผลทางสถิติของสมการทำนายปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลด้วยสมการทำนายจาก 3 ระบบ....	26
ตารางที่ 4.11 พารามิเตอร์ของสมการ Weibull ในการทำนายการลดลงของแกมมาโอรีซานอลที่อุณหภูมิ ต่างๆ.....	31
ตารางที่ 4.12 ผลทางสถิติของการติดตามปริมาณแกมมาโอรีซานอลด้วย NIRS	32
ตารางที่ ก1 รายละเอียดร่นการผลิตตัวอย่างน้ำมันรำข้าวที่ใช้ในการศึกษา.....	38
ตารางที่ ค1 ผลการทำนายปริมาณแกมมาโอรีซานอลในตัวอย่างน้ำมันรำข้าวโดยสมการทำนายที่สร้างขึ้น ด้วย MCF.....	42
ตารางที่ ค2 ผลการทำนายปริมาณแกมมาโอรีซานอลในตัวอย่างน้ำมันรำข้าวโดยสมการทำนายที่สร้างขึ้น ด้วย hexane	43
ตารางที่ ค3 ผลการทำนายปริมาณแกมมาโอรีซานอลในตัวอย่างน้ำมันรำข้าวโดยสมการทำนายที่สร้างขึ้น ด้วย 10% MCF ใน hexane	44
ตารางที่ ค4 ผลการทำนายปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลในตัวอย่างน้ำมันรำข้าวโดยสมการทำนายที่สร้างขึ้น ด้วย 10% MCF ใน hexane	45
ตารางที่ ค5 ผลการทำนายปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลในตัวอย่างน้ำมันรำข้าวโดยสมการทำนายที่สร้างขึ้น ด้วย hexane	46
ตารางที่ ค6 ผลการทำนายปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลในตัวอย่างน้ำมันรำข้าวโดยสมการทำนายที่สร้างขึ้น ด้วย MCF.....	47
ตารางที่ ค7 ผลการติดตามปริมาณแกมมาโอรีซานอลที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 180 องศาเซลเซียส	48
ตารางที่ ค8 ผลการติดตามปริมาณแกมมาโอรีซานอลที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 200 องศาเซลเซียส	49
ตารางที่ ค9 ผลการติดตามปริมาณแกมมาโอรีซานอลที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 220 องศาเซลเซียส	50

สารบัญภาพ

ภาพที่ 2.1 โครงสร้างทางเคมีของแกมมาโอริซานอลโดยที่หมู่คาร์บอกซิลิก สามารถเกิดเป็นสารประกอบเอสเทอร์กับสเตอรอล หรือ ไตรเทอร์ปีนแอลกอฮอล์	3
ภาพที่ 2.2 โครงสร้างของแกมมาโอริซานอล	4
ภาพที่ 2.3 โครงสร้างของโตโคฟีรอลและโตโคไตรอีนอล	6
ภาพที่ 2.4 ช่วงสเปกตรัมของคลื่นแสงอินฟราเรด	8
ภาพที่ 2.5 การเปลี่ยนแปลงพันธะของโมเลกุลในรูปแบบต่างๆ	8
ภาพที่ 2.6 ชนิดและตำแหน่งของความยาวคลื่นในการดูดกลืนพลังงานช่วง NIR ของหมู่ฟังก์ชัน	9
ภาพที่ 2.7 รูปแบบอันตรกิริยาของวัตถุกับรังสีอินฟราเรดย่านใกล้แบบ Transmission (ก), Transflection (ข) Reflection (ค) และ Interaction (ง)	10
ภาพที่ 4.1 ตัวอย่างสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของแกมมาโอริซานอลความเข้มข้น 100 mg/L ใน hexane, MCF และ 10% MCF ใน hexane และ 10% น้ำมันรำข้าวใน hexane	18
ภาพที่ 4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแกมมาโอริซานอลที่ได้จากการเตรียม พล็อตกับปริมาณแกมมาโอริซานอลที่ได้จากการวิเคราะห์โดยใช้ NIRS ในระบบจำลองที่สร้างจาก hexane	19
ภาพที่ 4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแกมมาโอริซานอลที่ได้จากการเตรียม พล็อตกับปริมาณแกมมาโอริซานอลที่ได้จากการวิเคราะห์โดยใช้ NIRS ในระบบจำลองที่สร้างจาก MCF	20
ภาพที่ 4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแกมมาโอริซานอลที่ได้จากการเตรียม พล็อตกับปริมาณแกมมาโอริซานอลที่ได้จากการวิเคราะห์โดยใช้ NIRS ในระบบจำลองที่สร้างจาก 10% MCF ใน hexane	21
ภาพที่ 4.5 ตัวอย่างสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของแอลฟาโตโคฟีรอลความเข้มข้น 50 mg/L ใน hexane, MCF และ hexane containing 10% MCF และ 10% น้ำมันรำข้าวใน hexane	22
ภาพที่ 4.6 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลที่ได้จากการเตรียม พล็อตกับปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลที่ได้จากการวิเคราะห์โดยใช้ NIRS ในระบบจำลองที่สร้างจาก hexane	23
ภาพที่ 4.7 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลที่ได้จากการเตรียม พล็อตกับปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลที่ได้จากการวิเคราะห์โดยใช้ NIRS ในระบบจำลองที่สร้างจาก MCF	24
ภาพที่ 4.8 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลที่ได้จากการเตรียม พล็อตกับปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลที่ได้จากการวิเคราะห์โดยใช้ NIRS ในระบบจำลองที่สร้างจาก 10% MCF ใน hexane	25
ภาพที่ 4.9 HPLC โครมาโตแกรม cycloartenyl ferulate (1), 24-methylene cycloartenyl ferulate (2), campesteryl ferulate (3) และ sitosterol ferulate (4) จากสารมาตรฐานแกมมาโอริซานอล 6000 mg/L	27
ภาพที่ 4.10 แกมมาโอริซานอลใน MCF ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 180 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 40 นาที ถึง 24 ชั่วโมง	27
ภาพที่ 4.11 แกมมาโอริซานอลใน MCF ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 200 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 นาที ถึง 24 ชั่วโมง	28
ภาพที่ 4.12 แกมมาโอริซานอลใน MCF ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 220 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที ถึง 12 ชั่วโมง	28
ภาพที่ 4.13 HPLC โครมาโตแกรมของแกมมาโอริซานอลใน MCF ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 180 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 14 ชั่วโมง 40 นาที	29

ภาพที่ 4.14 HPLC โครมาโตแกรมของแกมมาโอรีซานอลใน MCF ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 200 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 ชั่วโมง 40 นาที	29
ภาพที่ 4.15 HPLC โครมาโตแกรมของแกมมาโอรีซานอลใน MCF ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 220 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 ชั่วโมง	30
ภาพที่ 4.16 ความสัมพันธ์ระหว่าง C_t / C_0 กับเวลาที่อุณหภูมิ 220 (◆) , 200 (●) และ 180 (▲) องศาเซลเซียส โดย C_t คือความเข้มข้นของแกมมาโอรีซานอล ณ ที่เวลาใดๆ และ C_0 คือความเข้มข้นเริ่มต้นของแกมมาโอรีซานอล	31
ภาพที่ ข1 กราฟมาตรฐานของสารแกมมาโอรีซานอลบริสุทธิ์	40
ภาพที่ ข2 กราฟมาตรฐานของสารแอลฟาโทโคฟีรอล	41

บทที่ 1 บทนำ

1.1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

น้ำมันรำข้าวเป็นน้ำมันพืชที่ได้รับการยอมรับว่าเป็นน้ำมันที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย มีคุณค่าทางโภชนาการสูงทั้งจากองค์ประกอบของกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวที่เหมาะสมและการมีสารพฤกษเคมี (phytochemicals) ต่างๆ ที่มีอยู่ตามธรรมชาติของน้ำมันรำข้าว โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารแกมมาโอริซานอลซึ่งเป็นเอสเทอร์ระหว่างสารประกอบฟีนอลิกคือกรดเฟอร์ริก (feruric acid) กับสารกลุ่มไฟโตสเตอรอลชนิดต่างๆ ซึ่งมีมากกว่า 10 ชนิด สารสำคัญอีกกลุ่มหนึ่งที่เป็นที่รู้จักกันดีคือวิตามินอีซึ่งประกอบด้วยสารกลุ่มที่มีโครงสร้างของโทคอล (tocols) ได้แก่กลุ่มโทโคฟีรอล (tocopherols) และโทโคไตรอีนอล (tocotrienols) ซึ่งมีองค์ประกอบอยู่กลุ่มละสี่ชนิดคือ แอลฟา, เบตา, แกมมา และเดลตา ทั้งแกมมาโอริซานอลและวิตามินอีนอกจากทำหน้าที่เป็นสารกันหืนตามธรรมชาติให้แก่ น้ำมันรำข้าว ทำให้น้ำมันรำข้าวเป็นน้ำมันที่ไม่จำเป็นต้องเติมสารกันหืนเพิ่ม และเป็นน้ำมันที่คงตัวต่อการหืนเมื่อให้ความร้อนแล้ว สารแกมมาโอริซานอลยังมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญโดยเฉพาะการเป็นสารช่วยลดโคเลสเตอรอลในเลือดเนื่องจากมีโครงสร้างคล้ายโคเลสเตอรอลจากอาหารที่ได้จากสัตว์ ส่วนวิตามินอีนั้นเป็นวิตามินที่จำเป็นต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของร่างกาย และงานวิจัยในปัจจุบันยังพบว่าโทโคไตรอีนอลมีฤทธิ์ที่สำคัญในการต้านมะเร็งอีกด้วย

การวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอริซานอลและวิตามินอีนั้นโดยทั่วไปนิยมใช้วิธีโครมาโตกราฟี โดยเฉพาะ HPLC เมื่อใช้คอลัมน์และดีเทคเตอร์ที่เหมาะสมสามารถวัดปริมาณขององค์ประกอบของแกมมาโอริซานอลและวิตามินอีได้อย่างละเอียด แต่เป็นเทคนิคที่ต้องใช้การเตรียมตัวอย่างมากและใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในปริมาณมาก นอกจากนี้ยังมีวิธีการใช้วิธีสเปกโตรโฟโตเมตรีเพื่อการวัดปริมาณอย่างหยาบได้แต่ไม่เป็นที่นิยม เนื่องจากนำไปใช้ในกระบวนการผลิตได้ยาก จากการตรวจสอบเอกสารพบว่า การวิเคราะห์แกมมาโอริซานอลและวิตามินอีในน้ำมันรำข้าวด้วยเทคนิคสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้ยังมีการศึกษาน้อยมาก แม้ว่าเทคนิคสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้จะถูกนำมาใช้ในการตรวจสอบคุณภาพน้ำมันตามตัวบ่งชี้อื่น เช่น ค่าไอโอดีน (iodine value) ในระหว่างกระบวนการผลิตระดับอุตสาหกรรมมานานแล้วก็ตาม และเนื่องจากการทำหน้าที่เป็นสารต่อต้านการเกิดออกซิเดชันทำให้แกมมาโอริซานอลถูกใช้ไประหว่างกระบวนการปรุงอาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่งการปรุงอาหารที่อุณหภูมิสูง เช่น การทอด แต่องค์ความรู้เกี่ยวกับความคงตัวในลักษณะการศึกษาจลนพลศาสตร์ของการสลายตัวของแกมมาโอริซานอลด้วยความร้อน โดยที่แกมมาโอริซานอลไม่ได้ทำหน้าที่เป็นสารต้านการเกิดออกซิเดชันนี้ยังไม่มีการศึกษามาก่อน

โครงการนี้จึงสนใจที่จะศึกษาการนำเทคนิคสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้มาใช้ตรวจสอบปริมาณแกมมาโอริซานอลและปริมาณวิตามินอีซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในน้ำมันรำข้าว และนำเทคนิคสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้มาใช้ในการศึกษาจลนพลศาสตร์การสลายตัวของแกมมาโอริซานอลในระหว่างการทำความร้อน

1.2. ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. พัฒนาการวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอริซานอลและวิตามินอีในน้ำมันรำข้าวด้วยเทคนิคสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้
2. ศึกษาการใช้เทคนิคสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้ในการติดตามปริมาณแกมมาโอริซานอลในระหว่างให้ความร้อนใน medium chain fatty acid (MCF)

1.3. สมมติฐานของการวิจัย

1. การวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลและวิตามินอีในน้ำมันรำข้าวด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้สามารถทำได้รวดเร็วและลดการใช้สารเคมีในปริมาณมาก
2. การใช้เทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ในการติดตามปริมาณแกมมาโอรีซานอลในระหว่างให้ความร้อน MCF สามารถนำไปใช้ในการควบคุมคุณภาพในการผลิตได้อย่างอย่างรวดเร็ว

1.4. ขอบเขตของการวิจัย

1. วิเคราะห์ปริมาณด้วยวิธีมาตรฐานด้วยวิธี HPLC โดยใช้ DAD detector สำหรับแกมมาโอรีซานอล และ Fluorescence detector สำหรับวิตามินอี
2. การนำเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้มาใช้ในการติดตามปริมาณแกมมาโอรีซานอลในระหว่างการให้ความร้อนกับ MCF โดยศึกษาจลนพลศาสตร์ของแกมมาโอรีซานอล

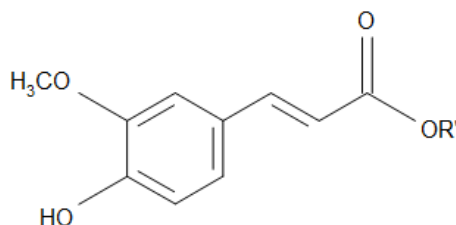
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร

2.1. น้ำมันรำข้าว

น้ำมันรำข้าวเป็นน้ำมันที่ผลิตได้จากรำข้าวซึ่งเป็นผลพลอยได้ที่สำคัญจากกระบวนการสีข้าวเปลือก โดยการสีข้าวในแต่ละครั้งจะมีรำข้าวปริมาณมากถึงร้อยละ 8-11 โดยน้ำหนักของเมล็ดข้าวเปลือก และสามารถนำมาสกัดน้ำมันรำข้าวดิบได้ร้อยละ 16-22 จากส่วนของรำข้าวและจมูกข้าว (da Silva และคณะ, 2006) โดยน้ำมันรำข้าวมีปริมาณกรดไขมันที่สำคัญได้แก่กรดโอเลอิก กรดลิโนเลอิก และปาล์มมิตกรวมประมาณร้อยละ 75-79, ลิโนเลนิกร้อยละ 1-2.7, สเตียริกร้อยละ 1-2 และไมริสติกร้อยละ 0.1-1 น้ำมันรำข้าวจึงเป็นน้ำมันที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง เนื่องจากมีสัดส่วนของกรดไขมันไม่อิ่มตัวต่อกรดไขมันอิ่มตัวเชิงเดี่ยวและกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวในสัดส่วนที่เหมาะสมตามที่องค์การอนามัยโลก (WHO) แนะนำให้บริโภค นอกจากนี้ในน้ำมันรำข้าวยังประกอบไปด้วยสารพฤกษเคมี (phytochemicals) หลายชนิด แกมมาโอริซานอล โทโคฟีรอล โทโคไตรอีนอล ไฟโตสเตอรอล และ สเตอรอลเอสเทอร์ เป็นต้น (Lerma-Garcia และคณะ, 2009; Xu และ Godber, 1999) นอกจากนี้น้ำมันรำข้าวยังมีความคงตัวในการเก็บรักษาเนื่องจากมีวิตามินอี ซึ่งเป็นสาร antioxidant ตามธรรมชาติ และคงตัวในสถานะที่มีอุณหภูมิสูงโดยมี smoke point ที่ 254 องศาเซลเซียส

2.2. แกมมาโอริซานอล

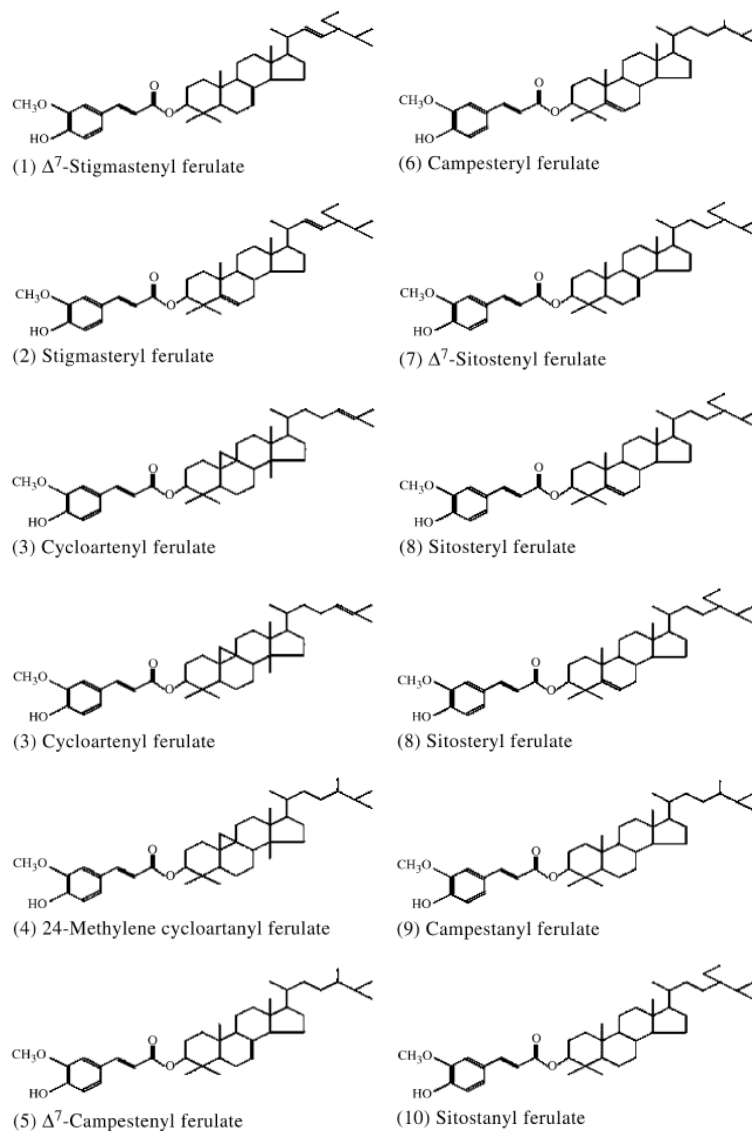
แกมมาโอริซานอลถูกพบครั้งแรกในน้ำมันรำข้าวเมื่อปี 1954 โดยนักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่นชื่อ Kaneko และ Tsuchiya โดยแกมมาโอริซานอลเป็นกลุ่มของสารประกอบเอสเทอร์ของกรดเฟอรูลิก (ferulic acid) กับสเตอรอล (sterols) หรือ ไตรเทอร์ปีนแอลกอฮอล์ (triterpene alcohol) ดังภาพที่ 2.1



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างทางเคมีของแกมมาโอริซานอลโดยที่หมู่คาร์บอกซิลิก สามารถเกิดเป็นสารประกอบเอสเทอร์กับสเตอรอล หรือ ไตรเทอร์ปีนแอลกอฮอล์
ที่มา: (Xu และ Godber, 1999)

แกมมาโอริซานอลเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติที่พบเฉพาะในน้ำมันรำข้าวเท่านั้น ซึ่งมีอนุพันธ์ทั้งหมดมากกว่า 10 ชนิด ดังตัวอย่างในภาพที่ 2.2 โดยองค์ประกอบที่พบเป็นหลักในน้ำมันรำข้าวมี 4 ชนิด คือ cycloartenyl ferulate, 24-methylene cycloartenyl ferulate, campesteryl ferulate และ sitosteroyl ferulate ประมาณร้อยละ 80 ของแกมมาโอริซานอลทั้งหมด (Xu และ Godber, 1999; Xu และคณะ, 2001) โดยงานวิจัยหลายชิ้นพบว่าน้ำมันรำข้าวสามารถลดคอเลสเตอรอลชนิด LDL แต่ไม่ลดคอเลสเตอรอลชนิด HDL ซึ่งเป็นคอเลสเตอรอลที่ดีต่อสุขภาพ ในทางอุตสาหกรรมอาหารแกมมาโอริซานอลเป็นสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติที่ดี (Akiyama และคณะ,

2005; Ismail และคณะ, 2010; Juliano และคณะ, 2005) จึงมีการทำไปใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิด เช่น เป็นสารกันหืนในน้ำมันพืช นอกจากนี้ยังพบว่าสารแกมมาโอรีซานอลสามารถป้องกันการเกิดโรคหัวใจ ความดันโลหิต (Fang และคณะ, 2003; Lai และคณะ, 2012) เบาหวาน (Chou และคณะ, 2009) และลดคอเลสเตอรอล (Wilson และคณะ, 2007) นอกจากนี้ ยังมีรายงานว่าน้ำมันรำข้าวมีสารที่ออกฤทธิ์ต้านการเกิดเนื้องอก (antitumor) เช่น โรคมะเร็ง และลดการอักเสบ (Akihisa และคณะ, 2000; Rebecca และคณะ, 2007; Shih และคณะ, 2011)



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างของแกมมาโอรีซานอล

ที่มา: Xu และ Godber (1999)

2.3. การวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอล

การวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าวที่เป็นที่นิยมและมีประสิทธิภาพคือ วิธี HPLC โดยสามารถใช้ได้ทั้ง normal phase และ reverse phase (D'Ambrosio, 2013; Lerma-Garcia และคณะ, 2009) พบว่า reverse phase HPLC มีการใช้กันอย่างแพร่หลายเนื่องจากมีการใช้ตัวทำละลายที่มีความเป็นพิษน้อย (Shammugasamy และคณะ, 2013; Vinas และคณะ, 2014a; Vinas และคณะ, 2014b) โดยสามารถแยกแกมมาโอรีซานอลได้มากถึง 10 อนุพันธ์สามารถทำได้โดยการเตรียม

ตัวอย่างน้ำมันรำข้าวจำนวน 0.2 g และเจือจางด้วยไอโซโพรพานอลในขวดปรับปริมาตร ขนาด 10 mL กรองตัวอย่างผ่าน syringe filter ขนาด 0.45 ไมครอน ฉีดตัวอย่างเข้าเครื่อง HPLC ปริมาตร 10 ไมโครลิตร เปรียบเทียบกับค่า retention time และเส้นสเปกตรัม โดยใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ประกอบไปด้วย เมทานอล/อะซิโตไนไตรล์/ไอโซโพรพานอล (อัตราส่วน 40/55/5 โดยปริมาตร) และทำการแยกด้วย คอลัมน์ Intersil ODS-3 C18 5 μm ขนาดคอลัมน์ 4.6 x 150 มิลลิเมตร ยี่ห้อ GL Science, Japan อัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่ 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ปริมาตรตัวอย่างที่ฉีดเข้าเครื่องจำนวน 10 ไมโครลิตรและตรวจวัดด้วยเครื่องตรวจวัด Diode Array Detector ที่ความยาวคลื่น 315 นาโนเมตร

นอกจากนี้ยังสามารถใช้วิธี UV-spectrophotometry (Bucci และคณะ, 2003; Bhatnagar และคณะ, 2014) ในการวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอริซานอลในน้ำมันรำข้าวโดยการชั่งตัวอย่างน้ำมันรำข้าว 0.2 กรัม แล้วละลายด้วย n-Heptane ในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 mL หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 314 นาโนเมตรแล้วคำนวณปริมาณแกมมาโอริซานอลด้วยสมการ

$$\text{ปริมาณแกมมาโอริซานอล (\%)} = 100 \times (1 / W) \times A \times (1/359)$$

โดยที่

A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

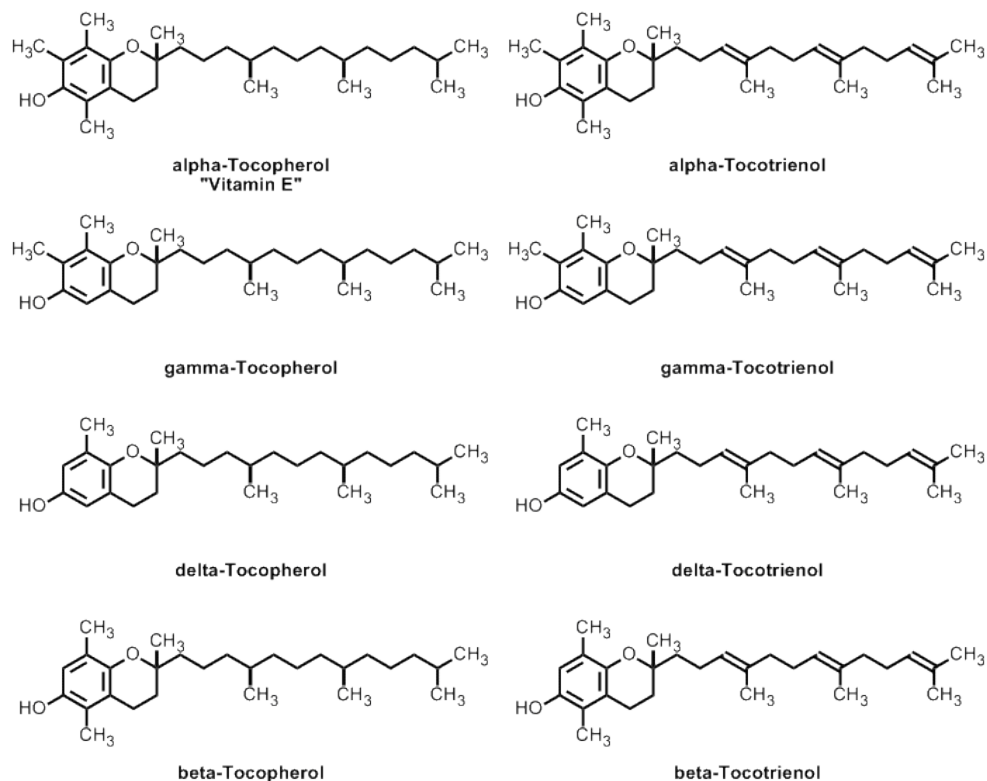
W คือ น้ำหนักของน้ำมันรำข้าว

359 คือ specific extinction ($E_{1\text{ cm}}^{1\%}$) สำหรับปริมาณแกมมาโอริซานอล

อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานการใช้เทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ในการวัดปริมาณแกมมาโอริซานอลในน้ำมันรำข้าว

2.4. วิตามินอี

วิตามินอีหมายถึงสารประกอบโทโคฟีรอลและสารอนุพันธ์อื่นๆ ที่แสดงกิจกรรมในทางชีวภาพเหมือนกับแอลฟาโทโคฟีรอล ซึ่งในธรรมชาติพบว่ามีด้วยกันทั้งหมด 8 อนุพันธ์ คือ แอลฟาโทโคฟีรอล เบตาโทโคฟีรอล แกมมาโทโคฟีรอล และเดลตาโทโคฟีรอล และแอลฟาโทโคไตรอินอล เบตาโทโคไตรอินอล แกมมาโทโคไตรอินอล และเดลตาโทโคไตรอินอล ดังภาพที่ 2.3 โดยในน้ำมันรำข้าวมีปริมาณ แกมมาโทโคไตรอินอล แอลฟาโทโคฟีรอล แอลฟาโทโคไตรอินอล และแกมมาโทโคฟีรอลสูงที่สุด (Aguilar-Garcia และคณะ, 2007) โดยวิตามินอีนอกจากจะช่วยป้องกันการเสื่อมเสียของน้ำมัน ช่วยลดคอเลสเตอรอลชนิด LDL และเพิ่มคอเลสเตอรอลชนิด HDL ซึ่งเป็นคอเลสเตอรอลชนิดดี (Gerhardt และ Gallo, 1998; Wilson และคณะ, 2002) ป้องกันการเกิดของเซลล์มะเร็ง ป้องกันการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ (Tiwari และ Cummins, 2009) ยังพบว่าโทโคไตรอินอลมีคุณสมบัติที่น่าสนใจและมีประโยชน์ด้านสุขภาพอย่างมาก



ภาพที่ 2.3 โครงสร้างของโทโคฟีรอลและโทโคไตรอีนอล

ที่มา: Combs, Jr. (2012)

2.5. การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินอี

HPLC วิธีการที่ใช้ในการการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินอีในน้ำมันรำข้าวอย่างกว้างขวาง โดยสามารถใช้ได้ทั้ง normal phase HPLC และ reverse phase HPLC โดย normal phase HPLC สามารถทำได้โดยดัดแปลงมาจาก Pinheiro-Sant'Ans และคณะ (2011) ด้วยการซึ่งตัวอย่างน้ำมันรำข้าวจำนวน 1 กรัมและเจือจางด้วยเฮกเซนในขวดปรับปริมาตร ขนาด 10 mL กรองตัวอย่างผ่าน syringe filter ขนาด 0.45 ไมครอน ฉีดตัวอย่างเข้าเครื่อง HPLC ปริมาตร 10 ไมโครลิตร เปรียบเทียบกับค่า retention time และเส้นสเปกตรัม โดยวัฏภาคเคลื่อนที่ประกอบไปด้วย เฮกเซน / ไอโซโพรพานอล อัตราส่วน 99.8/0.2 (โดยปริมาตร) ด้วยคอลัมน์ Intertsil SIL-150A 5 μ m ขนาด 4.6 x 250 มิลลิเมตร ยี่ห้อ GL Science, Japan อัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่ 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ปริมาตรตัวอย่างที่ฉีดเข้าเครื่อง HPLC จำนวน 20 ไมโครลิตรและตรวจวัดด้วยเครื่องตรวจวัด Fluorescence Detector ที่ Ex 290 nm และ Em 330 nm และ reverse phase HPLC สามารถทำได้ด้วยคอลัมน์ C18 โดยพบว่า เมื่อใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ประกอบไปด้วย 2.5 mM โซเดียมอะซิเตทบัฟเฟอร์ในเมทานอล/น้ำ อัตราส่วน 94/6 โดยปริมาตรซึ่งทำให้สามารถแยก แอลฟา เบต้า+แกมมา และ เดลต้า-โทโคฟีรอล (Delgado-Zamarreño และคณะ, 2006) และ Khan และคณะ (2010) พบว่าการแยกด้วยคอลัมน์ C18 ที่ใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ที่เป็น เมทานอล/น้ำ อัตราส่วน 99:1 (โดยปริมาตร) สามารถแยก แอลฟาโทโคฟีรอลออกจากอนุพันธ์อื่นๆของวิตามินอีและเรตินิล ซึ่งมีบางวิธีเท่านั้นที่สามารถวิเคราะห์ปริมาณวิตามินอีและแกมมาโอริซานอลได้ในคราวเดียวกัน (Diack และ Saska, 1994; Huang และ Ng, 2011; Rogers และคณะ, 1993; Yu และคณะ, 2007)

นอกจากนี้วิตามินอียังสามารถวิเคราะห์ได้ด้วยเทคนิค NIR ถึงแม้ว่าการศึกษาการใช้เทคนิค NIRS ในการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินอีจะมีอยู่น้อย เช่น ในน้ำมันมะกอก ซึ่ง Szylyk และคณะ (2005) ได้ทำการสกัดแอลฟาโทโคฟีรอลด้วยเมทานอลแล้วนำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ และยังมีการศึกษาในน้ำมันพืชที่จำหน่ายทางการค้าเช่น น้ำมันเมล็ดทานตะวัน น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันข้าวโพด น้ำมันเรพซีด (rapeseed) และน้ำมันผสมของทั้ง 5 ชนิด (Szylyk และคณะ, 2005) โดยพบว่าเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้สามารถประยุกต์ใช้ได้เป็นอย่างดี แต่ยังไม่มีการรายงานการใช้เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ในการวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอริซานอล และวิตามินอี ในน้ำมันรำข้าว และติดตามปริมาณแกมมาโอริซานอลในระหว่างการให้ความร้อน

2.6. การสลายตัวของแกมมาโอริซานอลและวิตามินอีในระหว่างการให้ความร้อนในน้ำมัน

การเกิดการออกซิเดชันของน้ำมันสำหรับบริโภคมีผลโดยตรงทำให้เกิดสี กลิ่น และรสที่เพี้ยน ผิดปกติไปจากเดิม สูญเสียคุณค่าทางโภชนาการ ลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหารเปลี่ยนแปลง ผู้บริโภคไม่ยอมรับ หรืออาจเกิดสารประกอบอื่นๆที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย ซึ่งสารต้านการเกิดออกซิเดชัน คือสารที่มีสมบัติการป้องกัน หรือช่วยให้ไขมันหืนได้ช้าลง จึงเป็นสารที่เติมลงไปในน้ำมันเพื่อชะลอหรือยับยั้งการเกิดออกซิเดชันทำให้น้ำมันคงตัว รักษาคุณลักษณะ กลิ่น และรสชาติไว้ได้นานขึ้น โดยความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารกลุ่มแกมมาโอริซานอลมาจากส่วนของกรดเพอรูลิกซึ่งมีหมู่ฟินอลเป็นองค์ประกอบโดยกรดเพอรูลิกจะมีประสิทธิภาพมากกว่าอนุพันธ์ของกรดเพอรูลิก เนื่องจากอนุพันธ์จะมีส่วนของไตรเทอร์ปีนแอลกอฮอล์ทำให้มีโครงสร้างขนาดใหญ่และเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนยากกว่ากรดเพอรูลิก (Xu และ Godber, 2001) สำหรับหน้าที่ในการต้านการเกิดออกซิเดชันสามารถอธิบายได้โดยการเกิด resonance-stabilised structure (Kochhar, 2000) ซึ่งเมื่อแกมมาโอริซานอลได้รับอิเล็กตรอนจากอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว แกมมาโอริซานอลจะมีความสามารถในการย้ายอิเล็กตรอนในโครงสร้างวงแหวนโดยการเกิด resonance ทำให้แกมมาโอริซานอลมีความเสถียรสูง ไม่เกิดการแตกตัวให้อิเล็กตรอนแล้วแกมมาจะอยู่ในสภาพที่เป็นอนุมูลอิสระเสียเอง โดยความสามารถในการเป็นสารต้านการเกิดออกซิเดชันของแกมมาโอริซานอลมีการศึกษากันอย่างกว้างขวาง โดยพบว่าสามารถต่อต้านการเกิดออกซิเดชันได้เป็นอย่างดี เมื่อเทียบกับ แอลฟาโทโคฟีรอล

2.7. หลักการพื้นฐานของเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้

2.7.1. สเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near infrared spectroscopy; NIRS)

รังสีอินฟราเรดย่านใกล้ (near infrared; NIR) เป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่จัดอยู่ในช่วงรังสีอินฟราเรด โดยสามารถแบ่งออกเป็นสามช่วงคือ อินฟราเรดย่านใกล้ อินฟราเรดย่านกลาง และอินฟราเรดย่านไกล ซึ่งรังสีอินฟราเรดย่านใกล้มีช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 800 ถึง 2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น (wave number) ระหว่าง 4000 ถึง 2500 cm^{-1} (ตารางที่ 2.1) รังสีอินฟราเรดย่านใกล้มีความถี่อยู่ระหว่างช่วงคลื่นแสงที่มองเห็นได้ (visible light) และช่วงคลื่นแสงอินฟราเรดย่านกลาง (middle infrared; MIR) ดังแสดงในภาพที่ 2.4

สเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้เป็นการศึกษาอันตรกิริยาระหว่างรังสีอินฟราเรดย่านใกล้กับโมเลกุลของสาร โดยอาศัยการตรวจวัดปริมาณแสงที่ถูกดูดกลืนในพันธะของโมเลกุลสารตัวอย่าง กล่าวคือเมื่อฉายแสงในช่วงความยาวคลื่นอินฟราเรดย่านใกล้ลงไปในตัวอย่าง รังสีอินฟราเรดที่มีพลังงานเพียงพอจะถูกดูดกลืนและทำให้เกิดการสั่นของโมเลกุลและเปลี่ยนระดับพลังงานจากสถานะพื้นไปยังสถานะ

กระตุ้น ซึ่งการสั่นประกอบไปด้วย 2 ลักษณะดังภาพที่ 2.5 คือ การยืดหด (stretching) ของพันธะ เป็นการสั่นที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความยาวระหว่างอะตอมที่สร้างพันธะกันซึ่งมีสองรูปแบบย่อยคือ แบบสมมาตร (symmetric) และแบบอสมมาตร (asymmetric) และลักษณะที่สองคือ การงอ (bending) หรือการผิดรูป (deformation) เป็นการสั่นที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงมุมพันธะ ที่มีรูปแบบปลีกย่อยอีก ได้แก่ scissoring, rocking, wagging และ twisting ซึ่งทั้งหมดนี้อาจเกิดการเคลื่อนที่อยู่ในระนาบเดียวกัน (in-plane) หรือต่างระนาบกัน (out-of-plane) ก็ได้ที่ช่วงความถี่ overtones และ combination ของหมู่ฟังก์ชัน O-H, C-H, N-H และ O=H (สุมาพร, 2555; Osborne, Fearn และ Hindle, 1993) ซึ่งเป็นโมเลกุลหลักของสารอินทรีย์ โดยปริมาณพลังงานและช่วงความยาวคลื่นที่จำเพาะต่อหมู่ฟังก์ชันนั้นเพียงเท่านั้นที่จะทำให้เกิดการสั่นของพันธะของหมู่ฟังก์ชันดังภาพภาพที่ 2.6 ด้วยเหตุนี้จึงทำให้เทคนิค NIRS สามารถวิเคราะห์สารประกอบที่มีหมู่คาร์บอน ไฮโดรเจน ออกซิเจน และไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบได้ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ

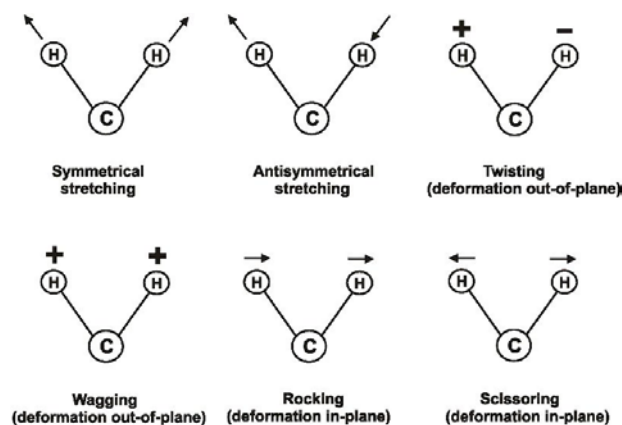
Wavenumber	50000	25000	12500	4000	400	10	cm ⁻¹
	Vacuum Ultra violet	Ultra Violet	Visible	Near Infrared	Mid Infrared	Far Infrared	Microwave
Wavelength	200	400	800	2500	25000	100000	nm

ภาพที่ 2.4 ช่วงสเปกตรัมของคลื่นแสงอินฟราเรด

ตารางที่ 2.1 การแบ่งช่วงคลื่นย่านอินฟราเรด

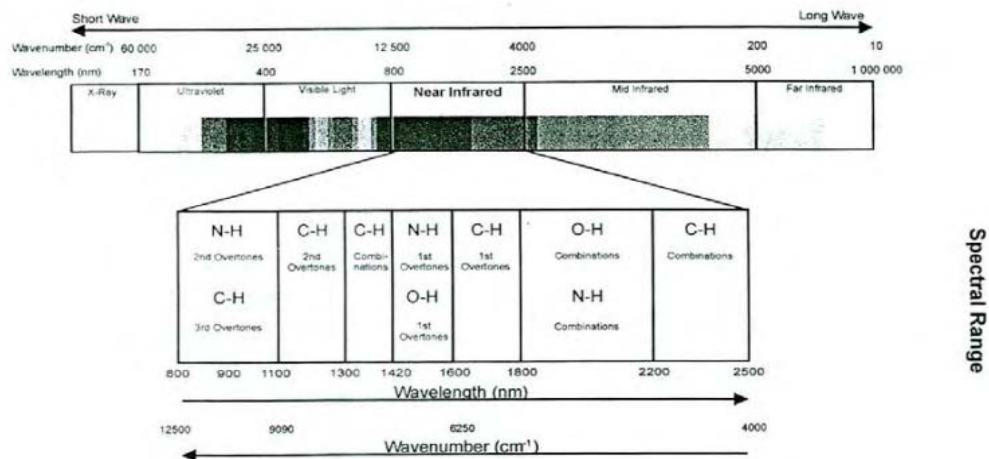
ช่วง	อันตรกิริยา	ความยาวคลื่น (nm)	เลขคลื่น (cm ⁻¹)
Near infrared (NIR)	Overtone, combination bands	800 – 2,500	12,500 – 4,000
Mid infrared (MIR)	Fundamental vibrations	2,500 – 25,000	4,000 – 400
Far infrared (FIR)	Rotations	25,000 – 100,000	400 - 10

ที่มา : สุมาพร เกษมสำราญ (2555)



ภาพที่ 2.5 การเปลี่ยนแปลงพันธะของโมเลกุลในรูปแบบต่างๆ

ที่มา : Nawrocka and Lamorska (2013)



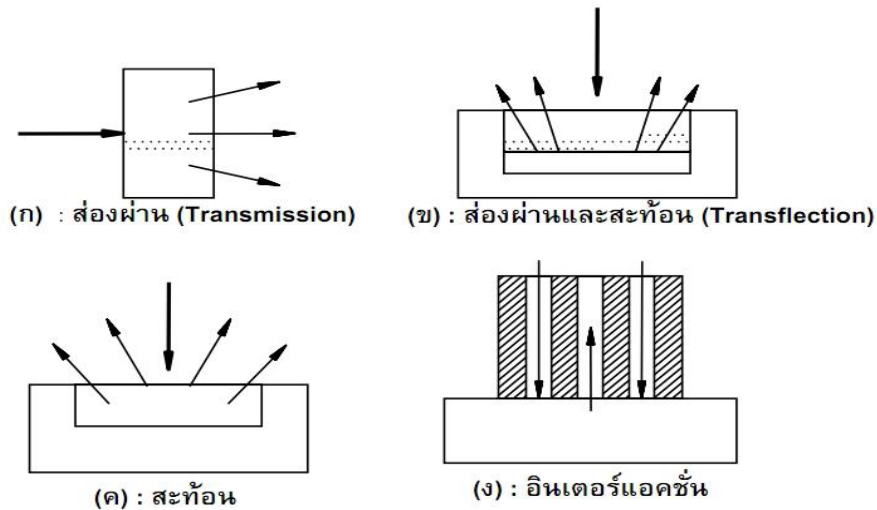
ภาพที่ 2.6 ชนิดและตำแหน่งของความยาวคลื่นในการดูดกลืนพลังงานช่วง NIR ของหมู่ฟังก์ชัน
ที่มา: Osborne, Fearn และ Hindle (1993)

2.7.2. รูปแบบอันตรกิริยาของตัวอย่างกับรังสีอินฟราเรดย่านใกล้

ระบบในการวัดหรือแบบวิธีการวัดที่ใช้ในสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้ที่นิยมในปัจจุบันมี 4 แบบได้แก่

1. Transmission หรือ การส่องผ่าน โดยตัวอย่างจะถูกฉายแสงด้านหนึ่ง และถูกตรวจวัดอีกด้านหนึ่งหลังจากส่องผ่านตัวอย่าง ดังภาพที่ 2.7 (ก)
2. Transflection หรือ การส่องผ่านสะท้อน กล่าวคือแสงจากแหล่งกำเนิดแสงตกจะกระทบตัวอย่างและส่องผ่านตัวอย่างลงไปตกกระทบวัตถุที่ไม่ดูดกลืนแสง แล้วเกิดการสะท้อนกลับมายังอุปกรณ์วัดแสงดังภาพที่ 2.7 (ข)
3. Reflection หรือ การสะท้อนของแสงหลังจากตกกระทบที่ผิวของตัวอย่าง และอุปกรณ์วัดแสงจะถูกติดตั้งเป็นมุมจำเพาะเช่น 45 องศา ดังภาพที่ 2.7 (ค)
4. Interaction โดยทั่วไปใช้หัววัดใยแก้วนำแสง (fiber optics probe) โดยแหล่งกำเนิดแสงจะติดตั้งขนานกันเพื่อป้องกันไม่ให้แสงจากแหล่งกำเนิดแสงเข้าสู่อุปกรณ์วัดแสงโดยตรง ทำให้อุปกรณ์วัดแสงสามารถวัดแสงที่สะท้อนกลับออกมาจากตัวอย่างได้โดยไม่มีแสงรบกวนแสงดังภาพที่ 2.7 (ง)

วิธีการวัดแต่ละแบบมีความเหมาะสมกับตัวอย่างที่แตกต่างกัน เช่นการวัดแบบส่องผ่านเหมาะสำหรับตัวอย่างที่เป็นของเหลว เนื่องจากแสงสามารถส่องผ่านตัวอย่างจากด้านหนึ่งไปยังตัวตรวจวัดที่อยู่อีกด้านหนึ่งของตัวอย่างได้ ขณะที่การวัดแบบสะท้อนกลับมักใช้กับตัวอย่างที่เป็นของแข็งเนื่องจากแสงไม่สามารถเดินทางผ่านตัวอย่างได้เป็นต้น (ศิริลักษณ์ และ อนุพันธ์, 2555)



ภาพที่ 2.7 รูปแบบอันตรกิริยาของวัตถุกับรังสีอินฟราเรดย่านใกล้แบบ Transmission (ก), Transflection (ข) Reflection (ค) และ Interaction (ง)

2.7.3. การปรับแต่งสเปกตรัม (Spectrum Pretreatment)

เมื่อทำการวัดการดูดกลืนแสง NIR ของตัวอย่างด้วยระบบการวัดที่เหมาะสมได้เป็นข้อมูลสเปกตรัมที่แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ เนื่องจากข้อมูลสเปกตรัมที่ได้ส่วนใหญ่เกิดจากการรวมตัวกันของ overtone และ combination ของกลุ่มฟังก์ชันต่างๆ ทำให้สเปกตรัมมีความซับซ้อนมาก นอกจากนี้การกระเจิงแสงจากตัวอย่างที่ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน สัญญาณรบกวนของเครื่องมือ สภาพแวดล้อมและแหล่งความแปรปรวนอื่นๆ ทำให้การระบุความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนแสงของหมู่ฟังก์ชันเฉพาะเป็นไปได้ยาก ดังนั้นเทคนิคทางคณิตศาสตร์จึงถูกนำมาใช้ในการปรับแต่งข้อมูลให้มีความเหมาะสมก่อนการนำไปสร้างสมการทำนาย (คิวลิคซ์ และ อนุพันธ์, 2555) ซึ่งเทคนิคในการปรับแต่งข้อมูลสเปกตรัมที่มีการนำมาใช้ในปัจจุบันนี้มีหลากหลายวิธี เช่น

การปรับเรียบแบบ Savitzky-Golay (Savitzky-Golay Smoothing) ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมเลือกใช้เมื่อข้อมูลมีสัญญาณรบกวนมาก รูปร่างของสเปกตรัมมียอดแหลมเป็นจำนวนมาก หรือต้องการทำให้สัญญาณเรียบและยังคงรูปร่างของสเปกตรัมเหมือนสเปกตรัมเดิม หลักการของวิธีนี้เริ่มต้นจากการกำหนดข้อมูลในช่วงความยาวคลื่น ($n=2m+1$: m คือจำนวนของจุดทั้งสองด้านของจุดศูนย์กลาง) จากนั้นนำข้อมูลสเปกตรัมในช่วงที่กำหนดมาหาสมการ polynomial โดยวิธี least square เพื่อให้ได้สมการที่ต่อเนื่องและเป็นตัวแทนของข้อมูลในช่วงดังกล่าวโดยเริ่มจากข้อมูล $2m+1$ จุดแรก สมการที่ได้จะนำมาคำนวณสเปกตรัมใหม่ที่แต่ละจุดหรือที่แต่ละความยาวคลื่นในช่วงดังกล่าว เมื่อได้สมการแล้วนำมาคำนวณค่าสเปกตรัมที่จุดศูนย์กลางช่วงแล้วนำค่าที่คำนวณไปแทนค่าสเปกตรัมเดิมที่จุดหรือความยาวคลื่นนั้น ขั้นตอนต่อไปคือเลื่อนช่วงที่เท่ากันนี้ไปทางขวา 1 จุดแล้วทำซ้ำตามขั้นตอนดังกล่าวข้างต้น จนกระทั่งช่วงความยาวคลื่นที่กำหนดไว้ถูกเลื่อนไปจนครอบคลุมความยาวคลื่นทั้งหมดหรือจุดสุดท้าย สเปกตรัมที่สร้างขึ้นใหม่จะมีจำนวนข้อมูลในส่วนต้นและส่วนท้ายหายไปเท่ากับ m จุด

การแปลงค่าด้วยวิธีอนุพันธ์ (derivative transformation) เป็นวิธีที่ใช้ประโยชน์ในการแก้ปัญหาการซ้อนทับกันของจุดยอดในสเปกตรัมและการเลื่อนขึ้นของสเปกตรัมทั้งแบบเบสไลน์ ออฟเซต (สเปกตรัมหมุนรอบแกน Y) และแบบเบสไลน์ชิฟต์เชิงเส้น (การยกตัวเป็นขั้นของเส้นสเปกตรัม) การ

คำนวณค่าอนุพันธ์อันดับสอง (second derivative) จะช่วยแยกจุดยอดที่เหลื่อมซ้อนกันออกมา โดยทำให้จุดยอดเดิมนั้นมีค่าลบสูงสุดและตรงกับจุดยอดของสเปกตรัมเริ่มต้น (จุดยอดกลับหัว)

การปรับแก้การกระเจิงแบบผลคูณ (multiplicative scatter correction; MSC) เป็นเทคนิคทางคณิตศาสตร์ที่สร้างขึ้นเพื่อลดผลที่เกิดจากการกระเจิงแสง (scattered light) ซึ่งทำให้ความชันโดยรวมของสเปกตรัมเปลี่ยนแปลง เปรียบเหมือนสเปกตรัมถูกทำให้หมุนรอบจุดที่ความยาวคลื่นต่ำสุดของสเปกตรัม ขั้นตอนในการทำ MSC ประกอบด้วยขั้นแรกคือการนำสเปกตรัมของตัวอย่างทั้งหมดมาเฉลี่ยเพื่อให้ได้สเปกตรัมเฉลี่ย จากนั้นจึงหาค่าเฉลี่ยของสเปกตรัมของแต่ละตัวอย่างให้มาตรงกับสเปกตรัมเฉลี่ย โดยการหาค่าคงที่ค่าหนึ่งมาลบออกจากสเปกตรัมเพื่อลดผลจากการเลื่อนตัวของสเปกตรัมและหาค่าคงที่อีกค่าหนึ่งมาหารสเปกตรัมเพื่อปรับความชันของสเปกตรัม หลังจากการทำ MSC เส้นสเปกตรัมใหม่จะมีรูปร่างไม่แตกต่างจากเดิมมาก

การปรับความแปรปรวนให้เป็นมาตรฐาน (standard normal variant; SNV) เป็นวิธีที่ใช้ปรับแก้ผลที่เกิดจากการกระเจิงแสงที่มักจะส่งผลเป็นแบบผลคูณต่อค่าการดูดกลืนแสง ซึ่งการทำ SNV นั้นมีลักษณะคล้ายกับการทำ MSC แตกต่างกันที่การทำ SNV นั้นไม่จำเป็นต้องใช้สเปกตรัมอ้างอิงหรือสเปกตรัมเฉลี่ยเช่นเดียวกับวิธี MSC แต่ใช้การปรับค่าการดูดกลืนแสงให้เป็นมาตรฐานเดียวกัน (normalization) คล้ายกับการคำนวณค่ามาตรฐานหรือค่า Z โดยปรับแก้ให้ค่าเฉลี่ยของสเปกตรัมมีค่าเป็นศูนย์ด้วยการนำค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างนั้นๆ มาลบออกจากค่าการดูดกลืนแสงของแต่ละความยาวคลื่นตลอดช่วง และปรับแก้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานให้เท่ากับหนึ่งโดยนำค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่คำนวณจากค่าการดูดกลืนแสงของสเปกตรัมตลอดช่วงมาหารค่าการดูดกลืนแสงของแต่ละความยาวคลื่น ซึ่งค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจะคำนวณมาจากค่าการดูดกลืนแสงของสเปกตรัมแต่ละเส้นที่ต้องการปรับแก้ของตัวอย่างนั้นๆ เองโดยอิสระ

2.7.4. ค่าทางสถิติที่ใช้พิจารณาการสร้างสมการ

ค่าสัมประสิทธิ์การอธิบาย (correlation of determination; R^2) หรือ **ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์** (correlation coefficient; R) แล้วนำมายกกำลังสอง คือ ค่าที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระ และตัวแปรตาม ซึ่ง Williams (2001) ได้ให้แนวทางการพิจารณาการยอมรับค่า R หรือ R^2 ดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 แนวทางการอธิบายความสามารถของสมการคาร์เบรชันด้วยค่า R

R	R^2	ความสามารถของกระบวนการ
± 0.5	< 0.25	ไม่ควรใช้ในการทำนาย
$\pm 0.51-0.7$	$0.26-0.49$	ความสัมพันธ์ไม่ดีพอ
$\pm 0.71-0.80$	$0.5-0.64$	การวิเคราะห์เพื่อการแบ่งระดับปริมาณอย่างหยาบ
$\pm 0.81-0.90$	$0.66-0.81$	การวิเคราะห์เพื่อแบ่งระดับปริมาณเบื้องต้น
$\pm 0.91-0.95$	$0.83-0.90$	การวิเคราะห์เพื่องานวิจัย
$\pm 0.96-0.98$	$0.92-0.996$	การวิเคราะห์เพื่อการประกันคุณภาพ
± 0.99 ขึ้นไป	$0.98 >$	ทุกงาน

ค่าเฉลี่ยกำลังสองของค่าผิดพลาดในกลุ่มสร้างสมการ (root mean square error of estimation; RMSEE) คือค่าที่บอกถึงสมการที่สร้างขึ้นนั้นสามารถนำไปใช้ในการทำนายต่อไปได้ดีหรือไม่ ค่าที่คำนวณได้ควรมีค่าน้อยเนื่องจากเป็นค่าผิดพลาด

ค่าเฉลี่ยกำลังสองของค่าผิดพลาดในกลุ่มสร้างและทดสอบสมการ (root mean square error of cross validation; RMSECV) คือค่าที่บอกถึงสมการที่สร้างขึ้นนั้นสามารถนำไปใช้ในการทำนายต่อไปได้ดีหรือไม่ ค่าที่คำนวณได้ควรมีค่าน้อยเนื่องจากเป็นค่าผิดพลาด

ค่าเฉลี่ยกำลังสองของค่าผิดพลาดในกลุ่มทดสอบสมการ (root mean square error of prediction; RMSEP) คือค่าที่บอกถึงความสามารถในการเอาสมการที่สร้างขึ้นนั้นไปใช้ในการทำนายองค์ประกอบทางเคมีว่ามีความแม่นยำสูงหรือต่ำ ถ้าค่าที่คำนวณได้มีค่าน้อยหมายถึงสมการมีความแม่นยำสูง

ค่าเฉลี่ยของผลต่างระหว่างค่าที่ได้จากวิธีมาตรฐานกับที่ได้จาก NIRS (average of different between actual value and NIRS value; Bias) คือค่าเฉลี่ยของความแตกต่างของข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐานและ NIR โดยค่าที่ได้ควรมีค่าน้อยซึ่งหมายถึงการการทำนายด้วย NIRS มีความแม่นยำเทียบเท่าการวิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐาน

ค่าอัตราส่วนของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของกลุ่มสร้างสมการต่อค่าผิดพลาดมาตรฐานในกลุ่มทดสอบสมการ (ratio of standard error of validation to the standard deviation of prediction; RPD) กล่าวคือถ้าค่าที่คำนวณได้มีค่าสูง หมายถึงค่าผิดพลาดมาตรฐานที่ทำนายได้จาก NIRS มีค่าน้อยกว่าค่าผิดพลาดมาตรฐานที่ได้จากการวิเคราะห์จริงซึ่ง Williams (2001) ได้แนะนำการใช้เกณฑ์ค่า RPD ดังแสดงในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 แนวทางการอธิบายความสามารถของสมการคาร์ิเบรชันด้วยค่า RPD

RPD	การคัดแยกกลุ่มตัวอย่าง	การประยุกต์ใช้เพื่อการวิเคราะห์เชิงปริมาณ
0.0-2.3	แย่มาก	ไม่แนะนำให้ใช้
2.4-3.0	ไม่ดีพอ	การแบ่งปริมาณอย่างหยาบ
3.1-4.9	ปานกลาง	การแบ่งระดับปริมาณ
5.0-6.4	ดี	การควบคุมคุณภาพ
6.5-8	ดีมาก	การควบคุมกระบวนการ
± 0.99 ขึ้นไป	ยอดเยี่ยม	ทุกงาน

2.8. การวิเคราะห์สารต่างๆในน้ำมันด้วย NIRS

Moreira และคณะ (2015) ได้ใช้ NIRS ในการวิเคราะห์ค่าวิกฤติต่างๆในน้ำมันพืชสำหรับการนำไปใช้ผลิตไบโอดีเซล ซึ่งประกอบไปด้วย ค่า iodine value, water content, acid number, phosphorous content, saponification, flash point และกรดไขมันได้แก่ กรดไมริสติก กรดปาล์ม มิติก กรดสเตียริก โอเลอิก ลิโนเลอิก และกรดแอลฟาไลโนเลนิก โดยพบว่าตัวแปรที่เหมาะสมในการนำมาวิเคราะห์ค่าวิกฤติต่างๆในน้ำมันพืชสำหรับการนำไปใช้ผลิตไบโอดีเซลประกอบไปด้วย water content, iodine value และกรดแอลฟาไลโนเลนิกโดยมีค่า RMSEP คือ 0.003 ppm, 0.51 g I₂/ 100 g และ 0.11% (w/w)

Pereira และคณะ (2008) พบว่าการสร้างสมการในการทำนายปริมาณความเป็นกรด (acidity), refractive index และความหนืดของน้ำมันพืช 4 ชนิดคือ น้ำมันข้าวโพด น้ำมันเมล็ดดอกทานตะวัน น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันจากเมล็ดคาโนล่า โดยสร้างจากสมการ calibration เพียงครั้งเดียวนั้น สามารถทำนายปริมาณความเป็นกรด, refractive index และความหนืดของน้ำมันพืชทั้ง 4 ชนิดได้เป็นอย่างดี โดยไม่ต้องทำการสร้างคาร์เบรชันโมเดลจากน้ำมันทุกชนิด โดยผลการทดลองให้ค่า R^2 เท่ากับ 0.94, 0.98 และ 0.96 ตามลำดับ

Kuligowski และคณะ (2012) ได้ใช้ NIRS ในการทำการวิเคราะห์ปริมาณ polymerized triacylglycerides (PTG) ในน้ำมันพืช 4 ชนิดคือ น้ำมันมะกอก น้ำมันข้าวโพด น้ำมันเมล็ดดอกทานตะวัน และน้ำมันจากเมล็ด seeds ที่ผ่านการทอด พบว่าสามารถใช้โมเดลที่สร้างจากการ calibration เพียงครั้งเดียวในการทำนายปริมาณ PTG ได้เป็นอย่างดีโดยมีค่าความคลาดเคลื่อนของการทำนายคือ 2.28% (w/w) สำหรับการทำนายน้ำมันที่ผ่านการทอดอาหารชนิดต่างๆ

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีวิจัย

3.1. อุปกรณ์

1. ชุดอุปกรณ์ให้ความร้อนและควบคุมอุณหภูมิด้วยอ่างชิลีโคนประกอบไปด้วย เครื่องควบคุมอุณหภูมิ เทอร์โมคัปเปิล อ่างชิลีโคน
2. เครื่องวิเคราะห์โครมาโตกราฟฟีของเหลวความดันสูง (HPLC) ประกอบด้วยปั๊มรุ่น LC-20AD เครื่องฉีดตัวอย่างอัตโนมัติ (autosampler) รุ่น SIL-20A เครื่องวัดสัญญาณแบบ Diode Array Detector รุ่น SPD-M20A และ เครื่องวัดสัญญาณแบบ Fluorescence Detector รุ่น RF-20A
3. เครื่อง FT-NIR spectrometer (MPA, Bruker Optics, Germany)
4. เครื่อง UV-Vis spectrophotometer (Genesys 10uv, Thermo Scientific, USA)
5. เครื่องผสมสารละลาย (Vortex-Genie 2, Scientific Industries, USA)
6. เครื่องชั่งละเอียด (Sartorius AG รุ่น ED224S, Germany)
7. เครื่องอบลมร้อน (Binder รุ่น FD 115, Germany)
8. ตู้แช่เยือกแข็ง
9. เครื่องแก้วชนิดต่างๆ

3.2. สารเคมี

1. น้ำมันรำข้าว
2. medium chain fatty acids (Caprylic/Capric acid, Siam Fat and Oil, Samutsakorn, Thailand)
3. แอลฟาโตโคฟีรอล (98.0%, Wako Pure Chemical Industries, Japan)
4. แกมมาโอรีซานอล (98.5%, Tsuno Rice Fine Chemical, Wakayama, Japan)
5. เฮกเซน (95.5%, Mallinckrodt chemical, USA)
6. เมทานอล (99.9%, Merck, Germany)
7. อะซิโตนไทรล์ (> 99.9% Burdick & Jackson SK Chemical, Korea)
8. ไอโซโพรพานอล (99.9%, Merck, Germany)
9. เฮปเทน (99.5%, Ajax Finechem, Australia)

3.3. ขั้นตอนและวิธีวิจัย

3.3.1. การสร้างแบบจำลองในการวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลด้วย NIRS

1. เตรียมสารละลายแกมมาโอรีซานอลความเข้มข้น 100-1000 มิลลิกรัมต่อลิตรในสารดังต่อไปนี้ 10 ความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 10 ตัวอย่าง
 - a. hexane
 - b. medium chain fatty acids (MCF)
 - c. hexane containing 10% MCF
2. ชั่งน้ำมันรำข้าว 1 กรัม จำนวน 27 ตัวอย่างจาก 3 ยี่ห้อ (King, King rich และ Naturel) ซึ่งมาจากรุ่นการผลิตที่ต่างกัน (ภาคผนวก ก) ละลายด้วยเฮกเซนในขวดปริมาตรขนาด 10 mL

3. นำไปวัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง NIR โดยใช้ transmission mode บรรจุตัวอย่างด้วย cuvette ขนาด path length 2 มิลลิเมตร ตลอดช่วงความยาวคลื่น 800-2500 นาโนเมตร โดยใช้ Resolution 8 และ Scan time 16 times
4. ทำการวิเคราะห์หาปริมาณแอมมาโอรีซานอลด้วย UV-Vis spectrophotometer ตามวิธีของ Bhatnagar และคณะ (2014) ดังรายละเอียดในภาคผนวก ข เพื่อใช้เป็นค่าจริงสำหรับการสร้างสมการทำนายปริมาณแอมมาโอรีซานอล
5. ปรับแต่งสเปกตรัม (pretreatment) เพื่อสร้างสมการ calibration ด้วยเทคนิค partial least squares regression และทดสอบสมการด้วยวิธี cross validation
6. ทดสอบการทำนายปริมาณแอมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าวจำนวน 27 ตัวอย่าง
7. การควบคุมเครื่อง FT-NIR อ่านค่าสเปกตรัม ปรับแต่งสเปกตรัมและการสร้างสมการทำนายด้วยโปรแกรม OPUS Spectroscopic Software Version 7

3.3.2. การสร้างแบบจำลองในการวิเคราะห์ปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลด้วย NIRS

1. เตรียมสารละลายแอลฟาโตโคฟีรอลความเข้มข้น 5-50 มิลลิกรัมต่อลิตรในสารดังต่อไปนี้ 10 ความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 10 ตัวอย่าง
 - a. hexane
 - b. MCF
 - c. hexane containing 10% MCF
2. ชั่งน้ำมันรำข้าว 1 กรัม จำนวน 27 ตัวอย่างจาก 3 ยี่ห้อ ละลายด้วยเฮกเซนในขวดปรับปริมาตร ขนาด 10 mL
3. นำไปวัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง FT-NIR โดยใช้ transmission mode บรรจุตัวอย่างด้วย cuvette ขนาด path length 2 มิลลิเมตร ตลอดช่วงความยาวคลื่น 800-2500 นาโนเมตร โดยใช้ Resolution 8 และ Scan time 16 times
4. ทำการวิเคราะห์หาปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลด้วย HPLC - Fluorescence Detector เพื่อใช้เป็นค่าจริงสำหรับการสร้างสมการทำนายปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอล
5. ปรับแต่งสเปกตรัม (pretreatment) เพื่อสร้างสมการ calibration ด้วยเทคนิค partial least squares regression และ cross validation โดยการ Optimize
6. ทำนายปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลด้วยน้ำมันรำข้าวจำนวน 27 ตัวอย่าง

3.2.3. การติดตามการสลายตัวของแอมมาโอรีซานอลขณะให้ความร้อนด้วย NIRS

1. เตรียมสารละลายแอมมาโอรีซานอลใน MCF ความเข้มข้น 6000 ppm
2. บรรจุตัวอย่าง 3 มิลลิลิตรในหลอดทดลองแบบมีฝาปิดแบบเกลียวขนาด ϕ 13 mm $\times$ 100 mm จากนั้นพ่นก๊าซไนโตรเจนเพื่อไล่อากาศในหลอดทดลองและปิดฝาให้สนิท
3. นำสารละลายตัวอย่างไปให้ความร้อนในชุดอุปกรณ์ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 180, 200, และ 220 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างและทำให้เย็นโดยทันทีเพื่อหยุดปฏิกิริยา แล้วเก็บตัวอย่างที่ -18 องศาเซลเซียสก่อนนำมาทำการวิเคราะห์ต่อไป
4. ชั่งตัวอย่างจำนวน 1 กรัม และละลายด้วยเฮกเซนในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 mL แล้วนำไปวัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง NIR โดยใช้ transmission mode บรรจุตัวอย่างด้วย cuvette ขนาด path length 2 มิลลิเมตร ตลอดช่วงความยาวคลื่น 800-2500 นาโนเมตร โดย

ใช้ Resolution 8 และ Scan 16 times เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณแกมมาโอรีซานอล โดยใช้โปรแกรม OPUS Spectroscopic Software Version 7

5. ทำการวิเคราะห์หาปริมาณแกมมาโอรีซานอลด้วย HPLC - Diode Array Detector เพื่อเปรียบเทียบกับความสามารถในการทำนายของ NIRS
6. คำนวณค่าทางจลนพลศาสตร์ (kinetics) การสลายตัวของแกมมาโอรีซานอล

บทที่ 4 ผลการทดลองและการอภิปราย

4.1. ปริมาณแกมมาโอรีซานอล และ แอลฟาโตโคฟีรอลในน้ำมันรำข้าว

น้ำมันรำข้าวที่จำหน่ายในท้องตลาดที่นำมาใช้ในการวิจัยครั้งนี้ มีทั้งหมด 3 ยี่ห้อ จากจำนวน 27 ตัวอย่างซึ่งมีปริมาณแกมมาโอรีซานอลตามที่ระบุบนฉลากตั้งแต่ 2500 ppm ถึง 6000 ppm โดยผลจากการวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลด้วยวิธีสเปกโทรโฟโตเมตตริพบว่าปริมาณเฉลี่ยอยู่ในช่วง 2760.27 - 6496.18 มิลลิกรัมต่อน้ำมันรำข้าว 1 ลิตร ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับที่ระบุบนฉลากดังแสดงในตารางที่ 4.1 และจากการวิเคราะห์ปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลด้วยวิธี HPLC พบว่าน้ำมันรำข้าวที่นำมาใช้ในการวิจัยครั้งนี้มีปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลอยู่ในช่วง 60.57 - 99.18 มิลลิกรัมต่อน้ำมันรำข้าว 1 ลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4.2 โดยน้ำมันรำข้าวมีความหนาแน่นโดยเฉลี่ย 0.9067 มิลลิกรัมต่อกรัม

ตารางที่ 4.1 ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าว

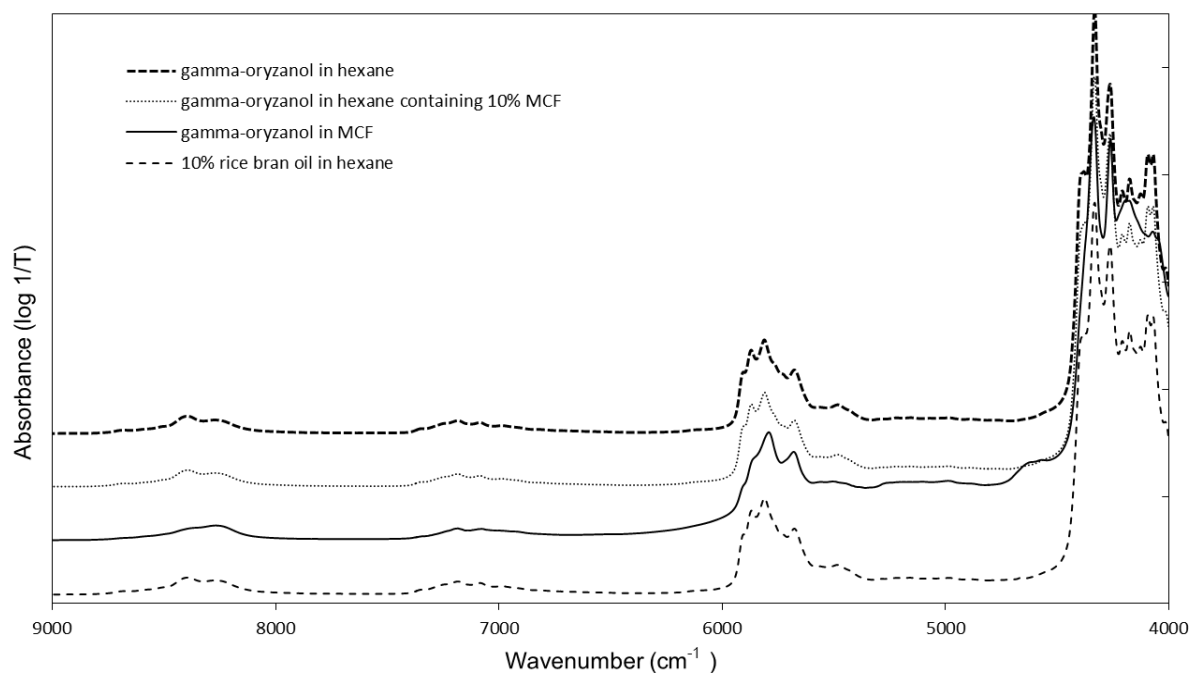
Brand	Mean (n=9) (mg/L)	SD (n=9) (mg/L)	Minimum (n=9) (mg/L)	Maximum (n=9) (mg/L)	Label (ppm)
Brand 1	2807.28	34.45	2760.27	2854.45	2500
Brand 2	5336.60	31.48	5305.10	5415.79	5000
Brand 3	6389.29	124.29	6192.26	6496.18	6000

ตารางที่ 4.2 ปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลในน้ำมันรำข้าว

Brand	Mean (n=9) (mg/L)	SD (n=9) (mg/L)	Minimum (n=9) (mg/L)	Maximum (n=9) (mg/L)
Brand 1	83.76	6.92	68.49	91.77
Brand 2	80.35	12.01	60.57	99.18
Brand 3	75.77	11.79	62.61	94.63

4.2. ผลการสร้างสมการในการวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลด้วย NIR Spectra

การสร้างสมการในการวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอล และแอลฟาโตโคฟีรอลในน้ำมันรำข้าวจากระบบจำลองทั้ง 3 ระบบคือ hexane, MCF และ 10% MCF ใน hexane นั้นได้ทำการวัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง FT-NIR โดยใช้ transmission mode บรรจุตัวอย่างด้วย quartz cuvette ซึ่งมีขนาด path length 2 มิลลิเมตร ตลอดช่วงความยาวคลื่น 800 - 2500 นาโนเมตร โดยใช้ Resolution 8 และ Scan time 16 times



ภาพที่ 4.1 ตัวอย่างสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของแกมมาโอรีซานอลความเข้มข้น 100 mg/L ใน hexane, MCF และ 10% MCF ใน hexane และ 10% น้ำมันรำข้าวใน hexane

สมการทำนายที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอล และแอลฟาโคโคฟีรอลจากแต่ละระบบจำลองนั้น สร้างขึ้นจากเทคนิค partial least square regression (PLSR) เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแกมมาโอรีซานอล หรือแอลฟาโคโคฟีรอลกับเส้นสเปกตรัมของสารตัวอย่างที่ได้จากการวัดด้วยเครื่อง FT-NIR spectrometer ดังภาพที่ 4.1 โดยการ Optimize ด้วยโปรแกรม OPUS Spectroscopy Software ซึ่งซอฟต์แวร์ดังกล่าวจะเลือกช่วงเลขคลื่นที่เหมาะสมให้โดยอัตโนมัติ และมีการปรับแต่งเส้นสเปกตรัม (Pretreatment) ด้วยวิธีต่างๆ รวม 9 วิธี คือ

- 1) ไม่มีการปรับแต่ง (No pretreatment)
- 2) First derivative (1st derivative)
- 3) Second derivative (2nd derivative)
- 4) Multiplicative scatter correction (MSC)
- 5) Vector normalization (SNV)
- 6) Straight Line Subtraction
- 7) First derivative + MSC
- 8) First derivative + SNV
- 9) First derivative + Straight Line Subtraction

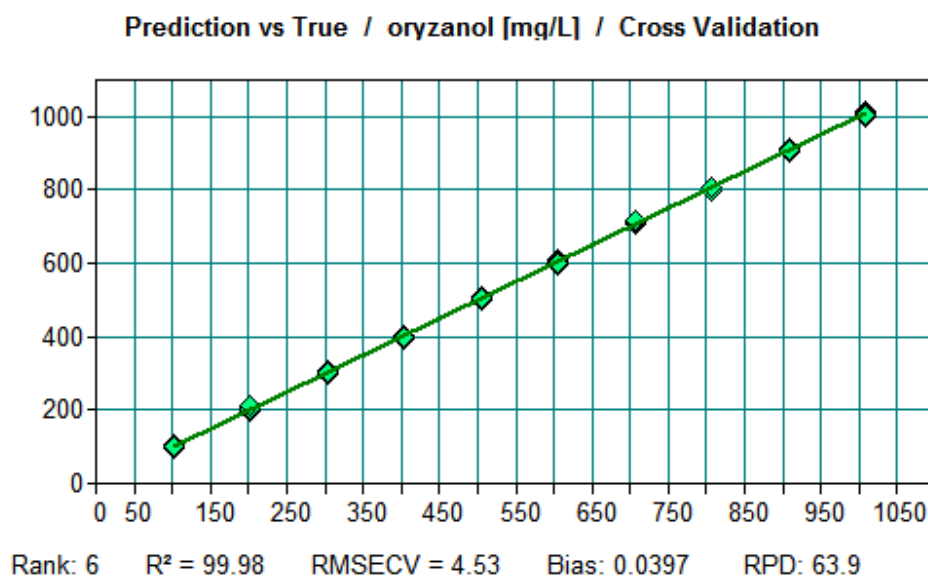
ค่าทางสถิติที่ใช้ในการตัดสินใจเลือกสมการที่ผ่านการปรับแต่งเส้นสเปกตรัมที่เหมาะสมที่สุดในการนำมาทำนายปริมาณแกมมาโอรีซานอล หรือแอลฟาโคโคฟีรอลประกอบไปด้วย ค่า R^2 ค่า RMSECV ค่า RPD และค่า Bias โดยค่า R^2 และ ค่า RPD ควรมีค่าสูง และค่า RMSECV ควรจะมีค่าต่ำ หรือเข้าใกล้ศูนย์เช่นเดียวกับ Bias เนื่องจากเป็นค่าผิดพลาด (Osborn, Fern และ Hindle, 1993)

ตารางที่ 4.3 ผลทางสถิติของสมการทำนายปริมาณแกมมาโอริซานอลใน hexane

PLS factor	Regions (cm ⁻¹)	Pretreatment	R ²	RMSECV	RPD*	BIAS
6	7502.2 - 4597.7	1 st derivative	99.98	4.53	63.9	0.0397
7	7502.2 - 4597.7	SNV	99.97	4.89	59.3	0.0761
7	7502.2 - 4597.7	MSC	99.97	4.89	59.2	0.0921
6	9403.8 - 4597.7	1 st derivative	99.97	5.06	57.3	-
5	7502.2 - 5446.3	1 st derivative	99.97	5.22	55.5	0.0605
						0.0861

*SD = 293.78

ค่าทางสถิติของสมการทำนายของแต่ละระบบนั้นแสดงดังตารางที่ 4.3-4.5 โดยสมการทำนายปริมาณแกมมาโอริซานอลที่สร้างขึ้นด้วย hexane มี PLS factor อยู่ในช่วง 5-7 factors โดยช่วงเลขคลื่นที่ใช้ในการสร้างสมการทำนายมีตั้งแต่ 9403.8 ถึง 4597.7 cm⁻¹ สมการทำนายปริมาณแกมมาโอริซานอลที่ดีที่สุดที่สร้างจาก hexane นั้นใช้วิธีการปรับแต่งสเปกตรัมโดยการทำ first derivative และใช้ช่วงเลขคลื่น 7502.2 - 4597.7 cm⁻¹ ซึ่งให้ค่า R² สูงที่สุดคือ 99.98 และให้ค่า RPD 63.9 RMSECV และ Bias ต่ำที่สุดคือ 4.53 mg/L และ 0.0397 mg/L ตามลำดับ โดยความสัมพันธ์ของปริมาณแกมมาโอริซานอลที่ได้จาก NIRS กับค่าที่ได้จากการเตรียม ข้อมูลมีการกระจายตัวบนเส้นทแยงเส้น (target line) ดังภาพที่ 4.2



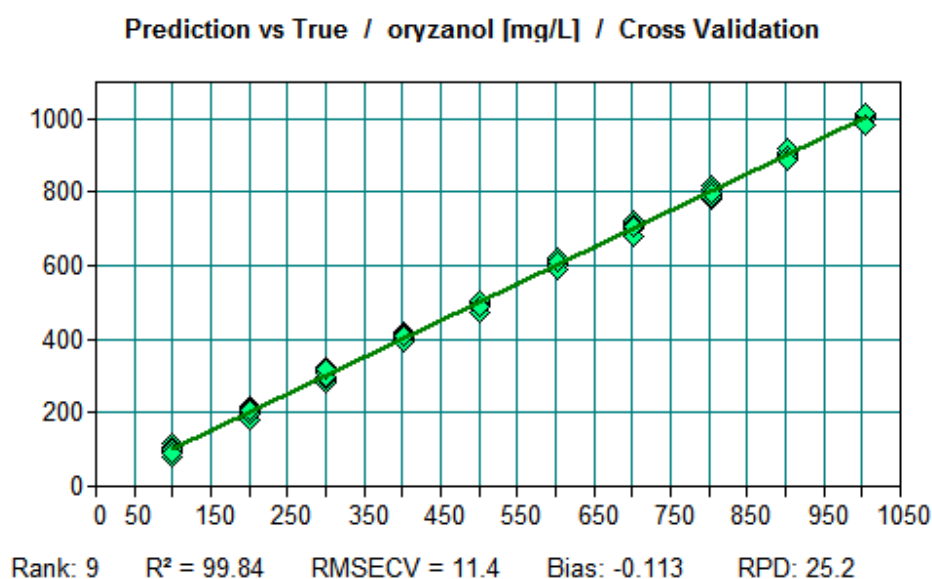
ภาพที่ 4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแกมมาโอริซานอลที่ได้จากการเตรียม พล็อตกับปริมาณแกมมาโอริซานอลที่ได้จากการวิเคราะห์โดยใช้ NIRS ในระบบจำลองที่สร้างจาก hexane

ตารางที่ 4.4 ผลทางสถิติของสมการทำนายปริมาณแกมมาโอไรซานอลใน MCF

PLS factor	Regions (cm ⁻¹)	Pretreatment	R ²	RMSECV	RPD*	BIAS
9	7502.2 - 4597.7	Straight line subtraction	99.89	11.4	25.2	-0.113
8	7502.2 - 6098.2, 5450.2 - 4597.7	SNV	99.84	11.6	24.9	-0.077
8	7502.2 - 4597.7	SNV	99.84	11.6	24.8	-0.0922
8	7502.2 - 4597.7	MSC	99.89	11.6	24.8	-0.143
6	7502.2 - 4597.7	1 st derivative + MSC	99.82	12.2	23.7	-0.0428

* SD=292.03

สมการทำนายปริมาณแกมมาโอไรซานอลที่สร้างขึ้นด้วย MCF พบว่ามี PLS factor อยู่ในช่วง 6-9 factors และเลขคลื่นตั้งแต่ 7502.0 ถึง 4597.7 cm⁻¹ โดยสมการทำนายปริมาณแกมมาโอไรซานอลที่ดีที่สุดที่สร้างจาก MCF นั้นใช้วิธีการปรับแต่งสเปกตรัมโดยการทำ straight line subtraction และใช้ช่วงเลขคลื่น 7502.2 - 4597.7 cm⁻¹ ซึ่งให้ค่า R² สูงที่สุดคือ 99.89 และให้ค่า RPD 25.2 โดยมีค่า RMSECV และ Bias ต่ำที่สุดคือ 11.4 mg/L และ -0.113 mg/L ตามลำดับ โดยความสัมพันธ์ของปริมาณแกมมาโอไรซานอลที่ได้จาก NIRS กับค่าที่ได้จากการเตรียมแสดงดังภาพที่ 4.3



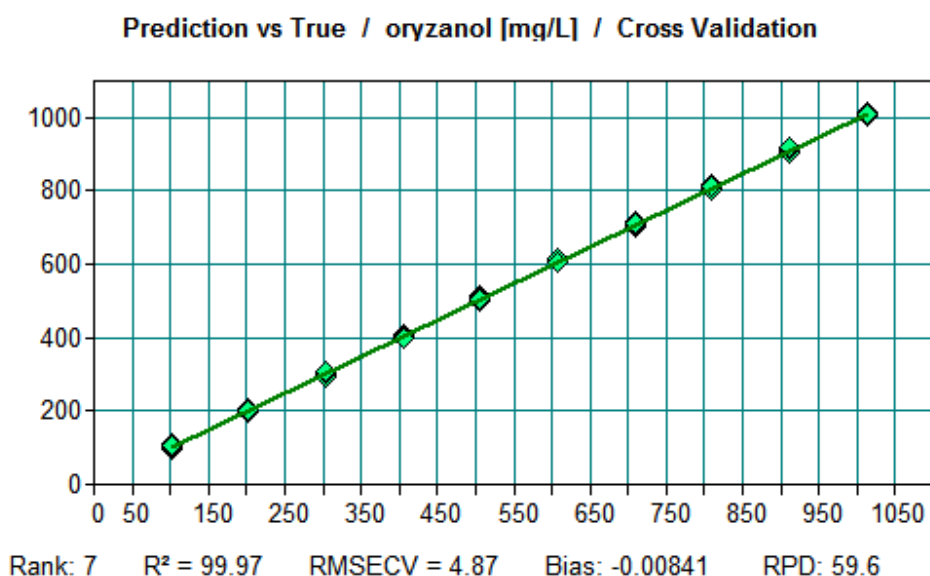
ภาพที่ 4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแกมมาโอไรซานอลที่ได้จากการเตรียม พล็อตกับปริมาณแกมมาโอไรซานอลที่ได้จากการวิเคราะห์โดยใช้ NIRS ในระบบจำลองที่สร้างจาก MCF

ตารางที่ 4.5 ผลทางสถิติของสมการทำนายปริมาณแกมมาโอริซานอลใน 10% MCF ใน hexane

PLS factor	Regions (cm ⁻¹)	Pretreatment	R ²	RMSECV	RPD*	BIAS
7	7502.2 - 4597.7	1 st derivative + MSC	99.97	4.87	59.6	-0.00841
7	7502.2 - 4597.7	1 st derivative + SNV	99.97	7.87	59.6	-0.00886
7	7502.2 - 4597.7	1 st derivative + Straight line subtraction	99.97	4.94	58.9	-0.0466
8	7502.2 - 4597.7	1 st derivative	99.97	4.96	59.6	-0.0537
9	7502.2 - 4597.7	MSC	99.97	5.04	58.6	-0.0537

*SD=294.65

สมการทำนายปริมาณแกมมาโอริซานอลที่สร้างขึ้นด้วย 10% MCF ใน hexane พบว่ามี PLS factor อยู่ในช่วง 7-9 factors และใช้ช่วงเลขคลื่น 7502.0 ถึง 4597.7 cm⁻¹ โดยสมการทำนายปริมาณแกมมาโอริซานอลที่ดีที่สุดที่สร้างจาก 10% MCF ใน hexane นั้นใช้วิธีการปรับแต่งสเปกตรัมโดยการทำ first derivative + MSC และใช้ช่วงเลขคลื่น 7502.2 - 4597.7 cm⁻¹ ซึ่งให้ค่า R² สูงที่สุดคือ 99.97 และให้ค่า RPD 59.6 โดยมีค่า RMSECV และ Bias ต่ำที่สุดคือ 4.47 mg/L และ -0.00841 mg/L ตามลำดับ ดังภาพที่ 4.4



ภาพที่ 4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแกมมาโอริซานอลที่ได้จากการเตรียม พล็อตกับปริมาณแกมมาโอริซานอลที่ได้จากการวิเคราะห์โดยใช้ NIRS ในระบบจำลองที่สร้างจาก 10% MCF ใน hexane

เมื่อเปรียบเทียบสมการทำนายปริมาณแกมมาโอริซานอลจากทั้ง 3 ระบบพบว่า สมการทำนายที่สร้างขึ้นจาก hexane ให้ค่า R² และ RPD สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสมการทำนายที่สร้างจาก MCF และ 10% MCF ใน hexane และเมื่อนำสมการทำนายปริมาณแกมมาโอริซานอลไปทดลองทำนายปริมาณแกมมาโอริซานอลในตัวอย่างน้ำมันรำข้าวที่มีจำหน่ายในท้องตลาดจำนวน 27 ตัวอย่าง (ดังตารางแนบท้ายในภาคผนวก ค) พบว่าสมการทำนายปริมาณแกมมาโอริซานอลที่สร้างจาก 10% MCF ใน hexane ให้ค่า RMSEP น้อยที่สุดคือ 225 mg/L รองลงมาคือ MCF และ hexane คือ 806 mg/L และ

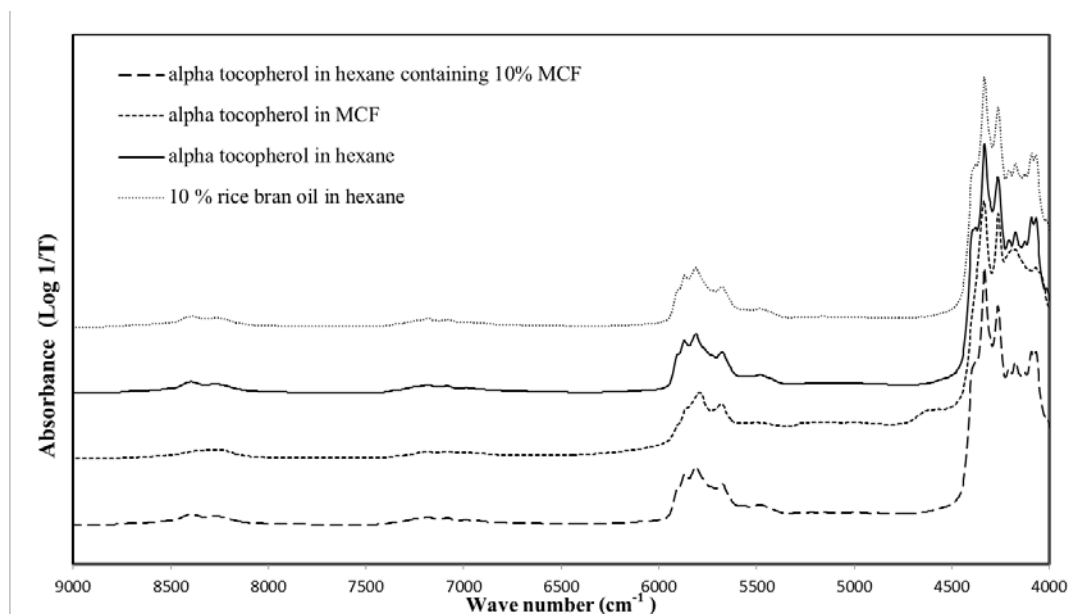
12500 mg/L ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.6 อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการทำนายยังมีความแม่นยำค่อนข้างต่ำซึ่งแสดงให้เห็นว่า MCF ยังไม่สามารถทดแทนน้ำมันในน้ำมันรำข้าวได้ โดยแนวทางในการปรับปรุงประสิทธิภาพการทำนายอาจจะใช้น้ำมันชนิดอื่น เช่น น้ำมันปาล์มที่โดยทั่วไปไม่พบแกมมาโอริซานอลในการสร้างสมการทำนาย Kaewson and Sirisomboon (2014a; 2014b) ได้ใช้ NIRS ในการวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอริซานอลในข้าวกล้องงอกรายงานวิธีที่เหมาะสมที่สุดที่ใช้ในการปรับแต่งสเปกตรัมจากการ optimize คือ first derivative + SNV ซึ่งใช้ช่วงเลขคลื่นตั้งแต่ 9403.8 ถึง 7498.3 cm^{-1} และ 6102 ถึง 4597.7 cm^{-1} โดยมีค่า R^2 0.934 และ RMSECV 0.88×10^{-4} mg/100g

ตารางที่ 4.6 ผลทางสถิติของการทำนายปริมาณแกมมาโอริซานอลด้วยสมการทำนายจาก 3 ระบบ

ระบบ	จำนวนตัวอย่าง	RMSEP	BIAS	SEP	RPD	Offset
hexane	27	12500	-12500	256	0.6	12182.9
MCF	27	806	805	39.2	3.91	-697.59
10% MCF	27	225	-213	72.9	2.1	201.864

4.3. ผลการสร้างแบบจำลองในการวิเคราะห์ปริมาณแอลฟาโทโคฟีรอลด้วย NIRS Spectra

สเปกตรัมของแอลฟาโทโคฟีรอลในระบบจำลองทั้ง 3 ระบบคือ hexane, MCF และ 10% MCF ใน hexane ที่ได้จากการวัดด้วยเครื่อง FT-NIR spectrometer แสดงดังภาพที่ 4.5



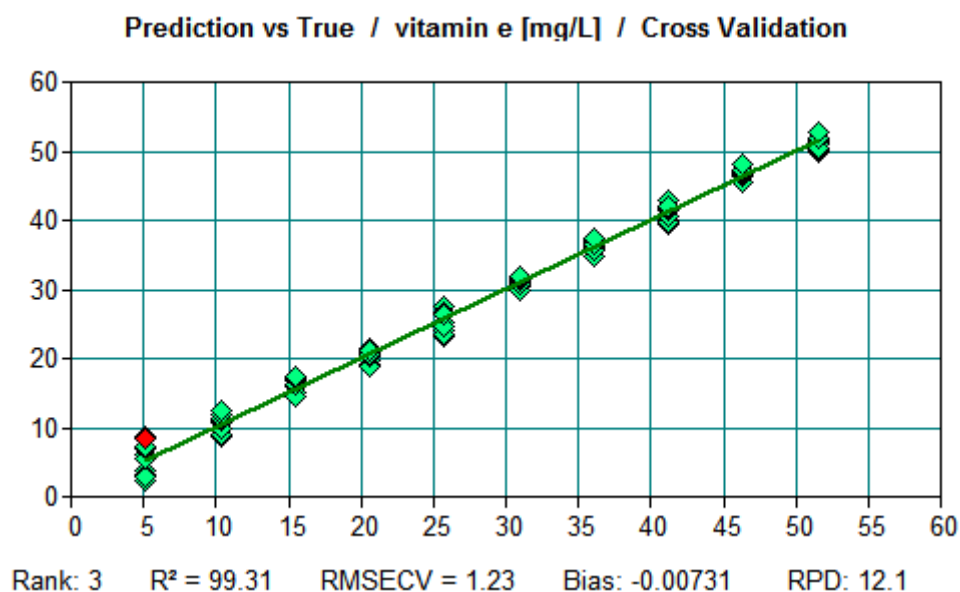
ภาพที่ 4.5 ตัวอย่างสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของแอลฟาโทโคฟีรอลความเข้มข้น 50 mg/L ใน hexane, MCF และ hexane containing 10% MCF และ 10% น้ำมันรำข้าวใน hexane

ตารางที่ 4.7 ผลทางสถิติของสมการทำนายปริมาณแอลฟาโทโคฟีรอลใน hexane

PLS factor	Regions (cm ⁻¹)	Pretreatment	R ²	RMSECV	RPD*	BIAS
3	9403.8 - 6098.2	1 st derivative+ SNV	99.31	1.23	12.1	-0.00731
3	9403.8 - 6098.2	1 st derivative+ MSC	99.31	1.23	12.1	-0.00725
5	9403.8 - 5446.3	1 st derivative + Straight line subtraction	99.31	1.23	12	-0.000779
4	9403.8 - 5446.3	2 nd derivative	99.31	1.23	12	-0.00224
3	9403.8 - 6098.2	2 nd derivative	99.3	1.24	12	0.000429

*SD=11.87

สมการทำนายปริมาณแอลฟาโทโคฟีรอลที่สร้างขึ้นด้วย hexane พบว่ามี PLS factor อยู่ในช่วง 3-5 factors (ตารางที่ 4.7) และเลขคลื่นตั้งแต่ 9403.8 ถึง 5446.3 cm⁻¹ โดยสมการทำนายปริมาณแอลฟาโทโคฟีรอลที่ดีที่สุดที่สร้างจาก hexane นั้นใช้วิธีการปรับแต่งสเปกตรัมโดยการทำ first derivative + SNV และใช้ช่วงเลข 9403.8 ถึง 6098.2 cm⁻¹ ซึ่งให้ค่า R² สูงที่สุดคือ 99.31 และให้ค่า RPD 12.1 โดยมีค่า RMSECV และ Bias ต่ำที่สุดคือ 1.23 mg/L และ -0.00731 mg/L ตามลำดับ โดยความสัมพันธ์ของปริมาณแอลฟาโทโคฟีรอลที่ได้จาก NIRS กับค่าที่ได้จากการเตรียมแสดงดังภาพที่ 4.6



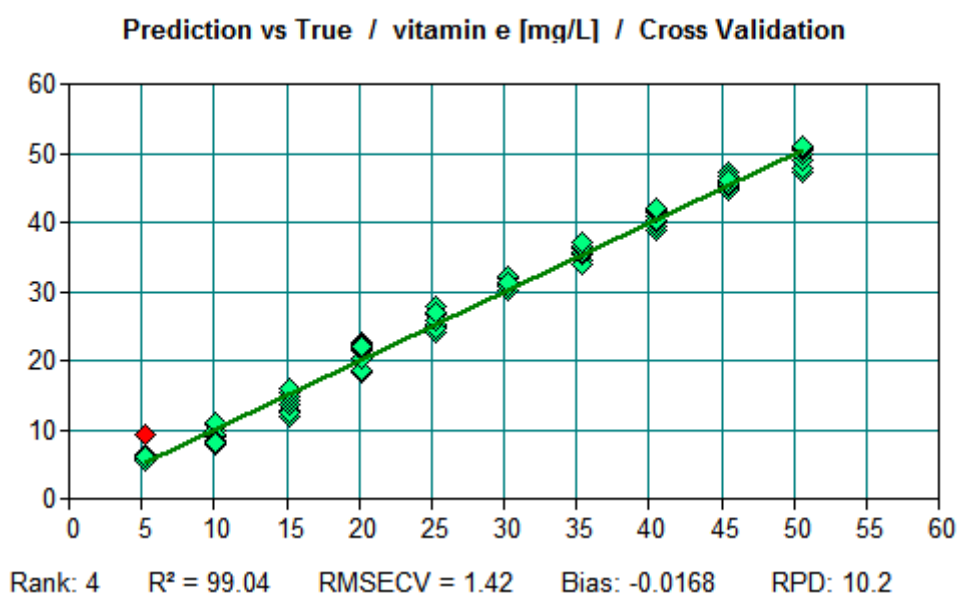
ภาพที่ 4.6 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลฟาโทโคฟีรอลที่ได้จากการเตรียม พล็อตกับปริมาณแอลฟาโทโคฟีรอลที่ได้จากการวิเคราะห์โดยใช้ NIRS ในระบบจำลองที่สร้างจาก hexane

ตารางที่ 4.8 ผลทางสถิติของสมการทำนายปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลใน MCF

PLS factor	Regions (cm ⁻¹)	Pretreatment	R ²	RMSECV	RPD*	BIAS
4	7502.2 - 5446.3	1 st derivative+Straight line subtraction	99.04	1.42	10.2	-0.0168
5	7502.2 - 5446.3	1 st derivative	99.03	1.43	10.1	-0.0227
4	9403.8 - 5446.3	1 st derivative+Straight line subtraction	98.96	1.48	9.82	-0.0165
4	7502.2 - 6098.2	SNV	98.93	1.5	9.69	-0.0187
3	7502.2 - 5446.3	1 st derivative + SNV	98.82	1.51	9.62	-0.0167

*SD=14.59

สมการทำนายปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลที่สร้างขึ้นด้วย MCF พบว่ามี PLS factor อยู่ในช่วง 3-5 factors (ตารางที่ 4.8) เช่นเดียวกับสมการทำนายที่สร้างขึ้นจาก hexane และใช้ช่วงคลื่นตั้งแต่ 9403.8 ถึง 5446.3 cm⁻¹ โดยสมการทำนายปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลที่ดีที่สุดที่สร้างจาก MCF นั้นปรับแต่งเสปกตรัมโดยการทำ first derivative + Straight line subtraction ในช่วงเลขคลื่น 7502.2 ถึง 5446.3 cm⁻¹ ซึ่งให้ค่า R² สูงที่สุดคือ 99.04 และให้ค่า RPD 10.2 โดยมีค่า RMSECV และ Bias ต่ำที่สุดคือ 1.42 mg/L และ -0.0168 mg/L ตามลำดับ โดยความสัมพันธ์ของปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลที่ได้จาก NIRS กับค่าที่ได้จากการเตรียมแสดงดังภาพที่ 4.7



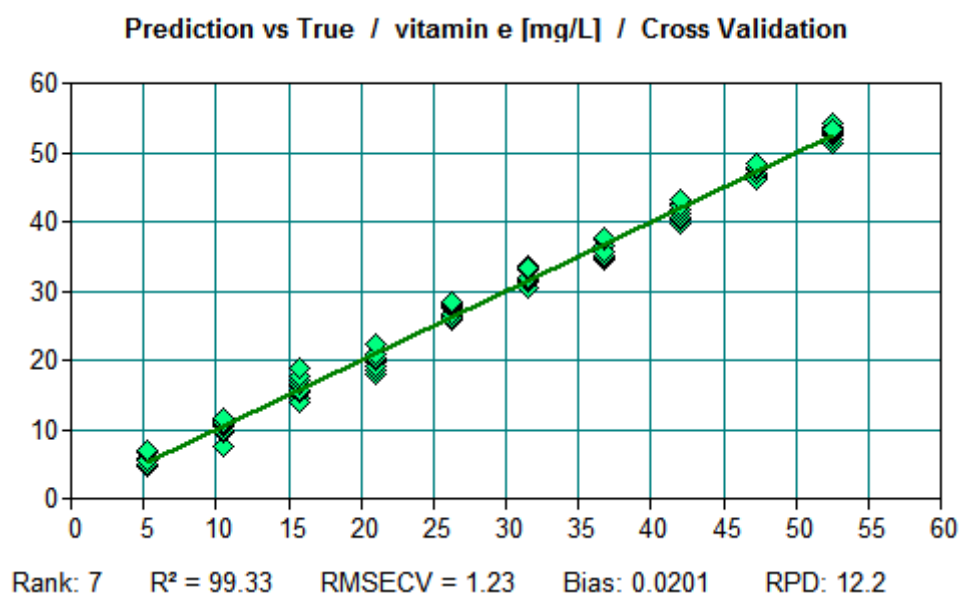
ภาพที่ 4.7 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลที่ได้จากการเตรียม พล็อตกับปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลที่ได้จากการวิเคราะห์โดยใช้ NIRS ในระบบจำลองที่สร้างจาก MCF

ตารางที่ 4.9 ผลทางสถิติของสมการทำนายปริมาณแอลฟาโทโคฟีรอลใน 10% MCF ใน hexane

PLS factor	Regions (cm ⁻¹)	Pretreatment	R ²	RMSECV	RPD*	BIAS
7	7502.2 – 6800.2, 5450.0 – 4597.7	SNV	99.33	1.23	12.2	0.0201
7	7502.2 – 6098.2, 5450.2 – 4597.7	SNV	99.32	1.24	12.1	0.0224
7	7502.2 – 6098.2, 5450.2 – 5022	SNV	99.31	1.25	12.1	0.0387
7	7502.2 – 6800.2, 5450.2 – 5022	SNV	99.29	1.26	11.9	0.0305
5	5450.2 – 5022	SNV	99.27	1.28	11.7	0.024

*SD=15.16

สมการทำนายปริมาณแอลฟาโทโคฟีรอลที่สร้างขึ้นด้วย 10% MCF ใน hexane มี PLS factor ตั้งแต่ 5-7 factors (ตารางที่ 4.9) โดยมีจำนวนสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสมการทำนายที่สร้างขึ้นจาก hexane และ MCF ใช้ช่วงคลื่นตั้งแต่ 7502.2 ถึง 4597.7 cm⁻¹ โดยสมการทำนายปริมาณแอลฟาโทโคฟีรอลที่ดีที่สุดที่สร้างจาก 10% MCF ใน hexane นั้นปรับแต่งเสปคตรัมโดยการทำให้ SNV ในช่วงเลขคลื่นสองช่วงคือ 7502.2 – 6800.2 และ 5450.0 – 4597.7 cm⁻¹ ซึ่งให้ค่า R² สูงที่สุดคือ 99.33 และให้ค่า RPD 12.2 mg/L โดยมีค่า RMSECV และ Bias ต่ำที่สุดคือ 1.23 mg/L และ 0.0201 mg/L ตามลำดับ โดยความสัมพันธ์ของปริมาณแอลฟาโทโคฟีรอลที่ได้จาก NIRS กับค่าที่ได้จากการเตรียมแสดงดังภาพที่ 4.8



ภาพที่ 4.8 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลฟาโทโคฟีรอลที่ได้จากการเตรียม พล็อตกับปริมาณแอลฟาโทโคฟีรอลที่ได้จากการวิเคราะห์โดยใช้ NIRS ในระบบจำลองที่สร้างจาก 10% MCF ใน hexane

ตารางที่ 4.10 ผลทางสถิติของการทำนายปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลด้วยสมการทำนายจาก 3 ระบบ

ระบบ	จำนวนตัวอย่าง	RMSEP	BIAS	SEP	RPD
hexane	27	29.59	-17.8	24	0.0461
MCF	27	2740	-2740	53.9	0.0206
10% MCF	27	639	-637	49.3	0.0225

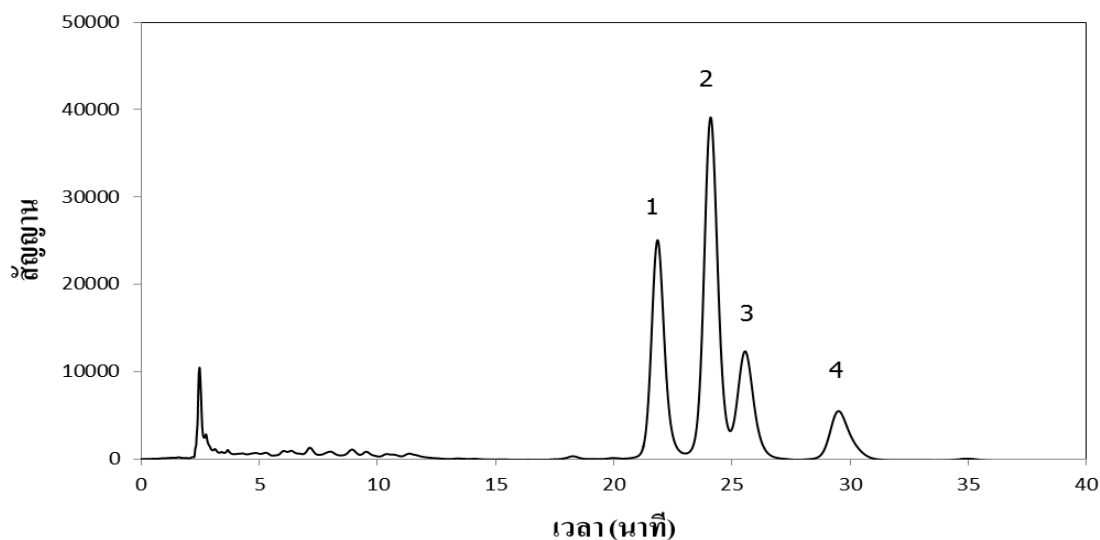
เมื่อเปรียบเทียบสมการทำนายปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลจากทั้ง 3 ระบบ พบว่า สมการทำนายที่สร้างขึ้นจาก 10% MCF ใน hexane ให้ค่า R^2 และ RPD สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสมการทำนายที่สร้างจาก MCF และ hexane และเมื่อนำสมการทำนายปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลไปทดลองทำนายปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลในตัวอย่างน้ำมันรำข้าวที่มีจำหน่ายในท้องตลาดจำนวน 27 ตัวอย่าง (ดังตารางแนบท้ายในภาคผนวก ค) พบว่าสมการทำนายปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลที่สร้างจาก hexane ให้ค่า RMSEP น้อยที่สุดคือ 29.59 mg/L รองลงมาคือ 10% MCF ใน hexane และ MCF คือ 639 mg/L และ 2740 mg/L ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.10

Szlyk และคณะ (2005) ได้ทำการทดลองสกัดแอลฟาโตโคฟีรอลจากน้ำมันต่างๆกัน 5 ชนิดด้วยเอทานอลแล้วนำมาวิเคราะห์ปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลด้วย NIRS ที่ช่วงคลื่น 6500 ถึง 4500 cm^{-1} โดยใช้สมการ calibration สร้างขึ้นจากสารมาตรฐานแอลฟาโตโคฟีรอลในเอทานอล ซึ่งผลการทดลองพบว่า การวิเคราะห์ปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลด้วย NIRS มีความสอดคล้องกับปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลที่วิเคราะห์ด้วย HPLC โดยพบว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่เครื่องสามารถตรวจพบได้ (detection limit) คือ 0.12 mg/mL และปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดปริมาณได้ (quantification limit) คือ 0.40 mg/mL

4.3. จลนพลศาสตร์การสลายตัวของแกมมาโอรีซานอลใน MCF เมื่อผ่านการให้ความร้อนสูง

4.3.1. ผลการวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลด้วย HPLC

งานวิจัยนี้ทำการศึกษาการสลายตัวของแกมมาโอรีซานอลใน medium chain fatty acids (MCF) ที่ได้จากการจากน้ำมันมะพร้าวโดยไม่มีการเติมสารต่อต้านการเกิดออกซิเดชัน โดยเติมสารแกมมาโอรีซานอลบริสุทธิ์ลงไป 6000 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อทำการวิเคราะห์แกมมาโอรีซานอลที่เป็นสารมาตรฐานแล้วพบว่า มีพีคของแกมมาโอรีซานอลเกิดขึ้น 4 พีค ซึ่งพีคดังกล่าวเกิดในช่วงเวลา 20-30 นาที ดังภาพ 4.9 โดยจากงานวิจัยที่ผ่านมา (Khuwijitjaru และคณะ, 2009) ระบุได้ว่าแต่ละพีคเป็น cycloartenyl ferulate (1), 24-methylene cycloartenyl ferulate (2), campesteryl ferulate (3) และ sitosteryl ferulate (4) ตามลำดับ ซึ่งอนุพันธ์ของสารแกมมาโอรีซานอลที่พบนี้เป็นอนุพันธ์หลักที่พบได้ในปริมาณมากสอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมา เช่น Shammugasamy และคณะ (2013) และ Vinas และคณะ (2014a; 2014b) เป็นต้น



ภาพที่ 4.9 HPLC โครมาโตแกรม cycloartenyl ferulate (1), 24-methylene cycloartenyl ferulate (2), campesteryl ferulate (3) และ sitosteryl ferulate (4) จากสารมาตรฐาน แกมมาโอริซานอล 6000 mg/L

4.3.2. ผลของการให้ความร้อนต่อการลดลงของแกมมาโอริซานอลในระบบ MCF

ลักษณะปรากฏของแกมมาโอริซานอลใน MCF ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างๆแสดงดังภาพที่ 4.13-4.15 พบว่าสีของ MCF มีความเข้มเพิ่มขึ้นเมื่อมีการให้ความร้อนที่นานขึ้นในทุกอุณหภูมิ



ภาพที่ 4.10 แกมมาโอริซานอลใน MCF ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 180 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 40 นาที ถึง 24 ชั่วโมง

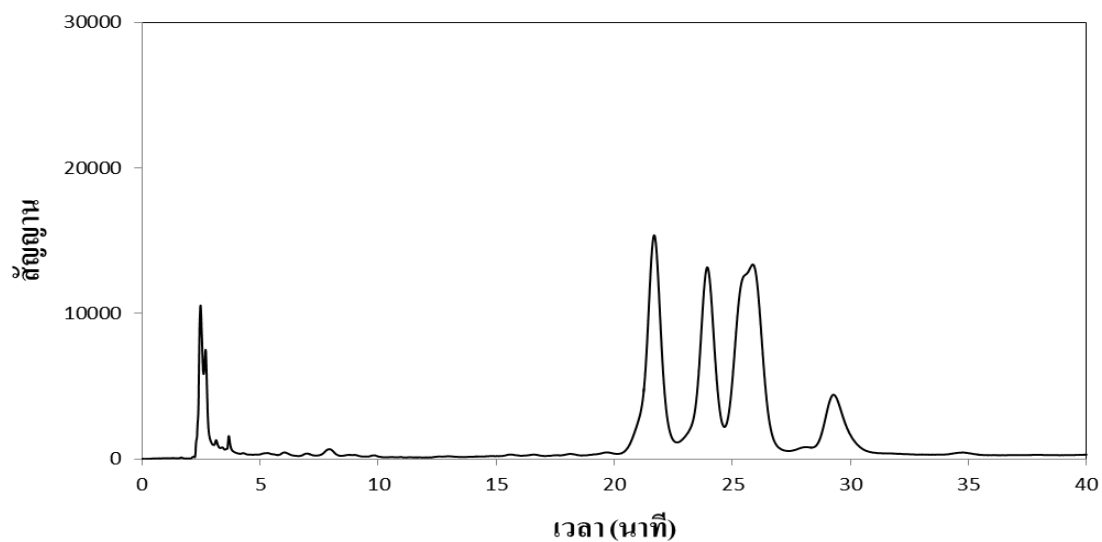


ภาพที่ 4.11 แกมมาโอริซานอลใน MCF ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 200 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 นาที ถึง 24 ชั่วโมง

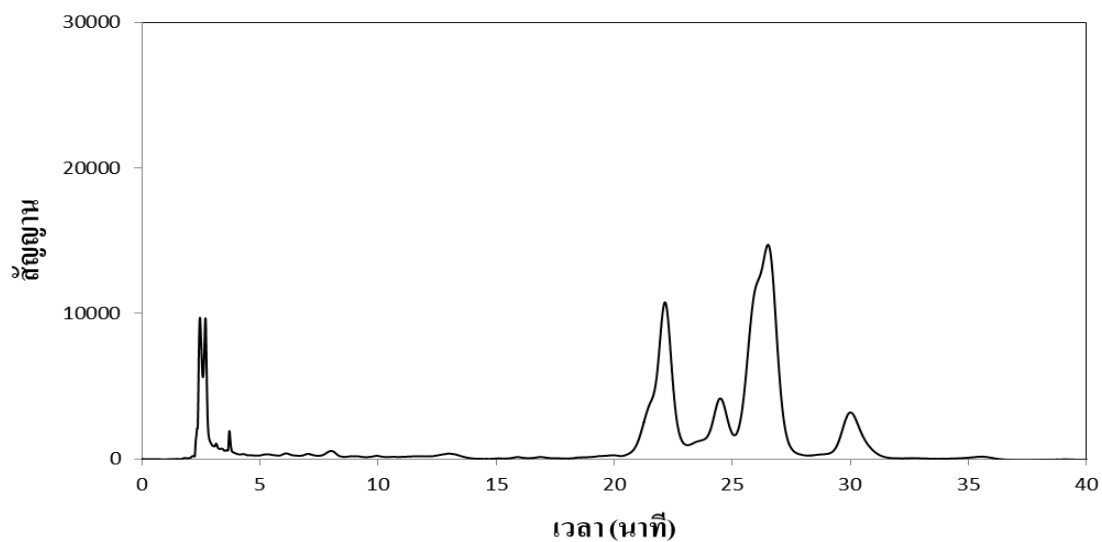


ภาพที่ 4.12 แกมมาโอริซานอลใน MCF ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 220 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที ถึง 12 ชั่วโมง

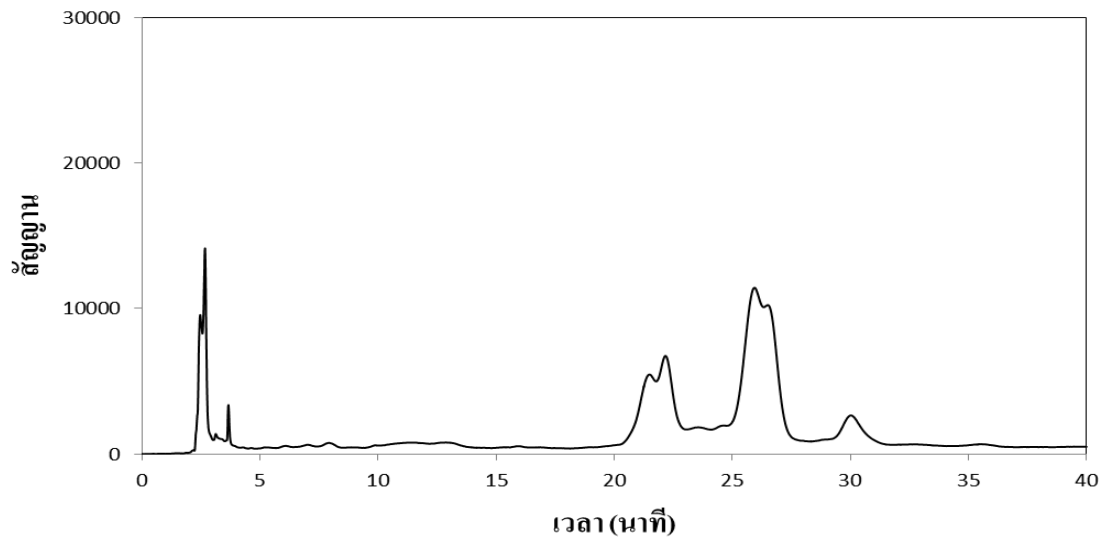
เมื่อตรวจสอบโครมาโตแกรมของแกมมาโอริซานอลที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 180 200 และ 220 ในเวลาใกล้เคียงกันคือ 14, 10 และ 12 ชั่วโมง พบว่าที่ 180 องศาเซลเซียสยังสามารถเห็นพิกของแกมมาโอริซานอลทั้ง 4 พิกได้อย่างชัดเจนแม้ว่าปริมาณของ 24-methylene cycloartenyl ferulate ลดลง (ภาพที่ 4.13) และที่ 200 องศาเซลเซียสมีปริมาณของ cycloartenyl ferulate และ 24-methylene cycloartenyl ลดลงอย่างมากแต่ยังสามารถมองเห็นพิกได้ (ภาพที่ 4.14) และที่ 220 องศาเซลเซียสมีปริมาณของ cycloartenyl ferulate และ sitosteryl ferulate ลดลงอย่างเห็นได้ชัดเจน และยังมีปริมาณของ campesteryl ferulate มากที่สุด โดยไม่มีพิกของ 24-methylene cycloartenyl ferulate ปรากฏให้เห็น (ภาพที่ 4.14) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Khuwijitjaru และคณะ (2009) ที่พบว่า campesteryl ferulate สามารถทนความร้อนได้ดีกว่าองค์ประกอบอื่นๆ



ภาพที่ 4.13 HPLC โครมาโทแกรมของแกมมาไอรีซานอลใน MCF ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 180 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 14 ชั่วโมง 40 นาที



ภาพที่ 4.14 HPLC โครมาโทแกรมของแกมมาไอรีซานอลใน MCF ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 200 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 ชั่วโมง 40 นาที



ภาพที่ 4.15 HPLC โครมาโทแกรมของแกมมาโอริซานอลใน MCF ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 220 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 ชั่วโมง

จากภาพที่ 4.16 จะเห็นได้ว่าที่ทุกๆ อุณหภูมิที่ศึกษา ปริมาณของแกมมาโอริซานอลใน MCF ลดลงตลอดระยะเวลาในการให้ความร้อน โดยปริมาณของแกมมาโอริซานอลลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงแรกของการให้ความร้อน แล้วจึงลดลงอย่างช้าๆในช่วงท้าย และที่อุณหภูมิสูงพบว่าการลดลงอย่างรวดเร็วกว่าที่อุณหภูมิต่ำ

การลดลงของปริมาณแกมมาโอริซานอลใน MCF นั้นเมื่อพิจารณาในทางจลนพลศาสตร์ พบว่าไม่สามารถอธิบายด้วยสมการจลนพลศาสตร์ที่ใช้ทั่วไป (สมการอันดับศูนย์ หนึ่งและสอง) แต่สามารถอธิบายได้ด้วยสมการ Weibull คือ

$$f(t) = \frac{C_t}{C_0} = \exp(-\beta t^\alpha)$$

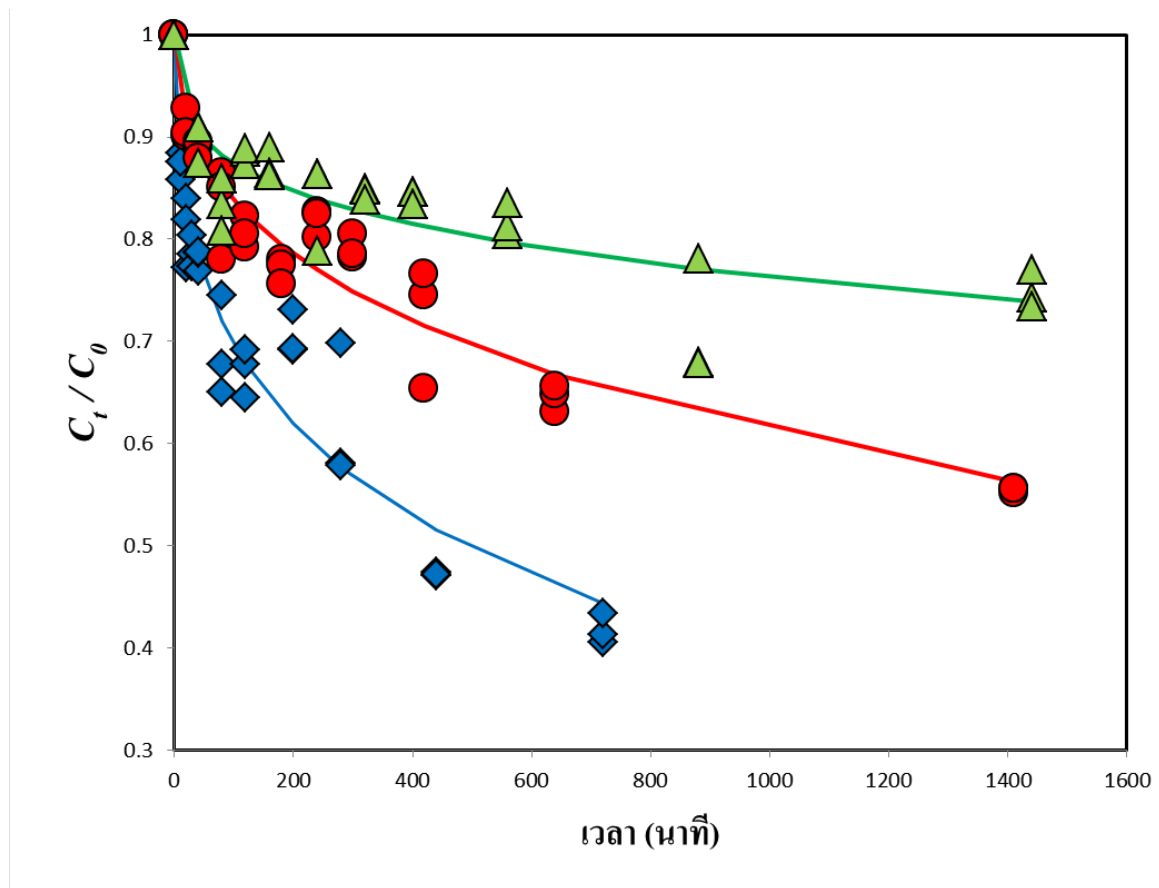
โดย C_t คือปริมาณแกมมาโอริซานอลที่เวลาใดๆ

C_0 คือปริมาณแกมมาโอริซานอลที่เวลา $t = 0$

β คือพารามิเตอร์ที่แสดงค่าคงที่อัตรา (h^{-1})

α คือพารามิเตอร์ที่แสดงลักษณะของกราฟ (shape factor)

โดยผลของอุณหภูมิต่อการสลายตัวของแกมมาโอริซานอลแสดงดังภาพที่ 4.16 ซึ่งเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการให้ความร้อนจาก 180 ถึง 220 องศาเซลเซียสมีผลให้ค่าคงที่การสลายตัว (β) ของแกมมาโอริซานอลมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ดังตารางที่ 4.11 และจากการศึกษาจลนพลศาสตร์การสลายตัวของแกมมาโอริซานอลทำให้สามารถสรุปได้ว่าแกมมาโอริซานอลมีความคงตัวที่อุณหภูมิสูงโดยมีครึ่งชีวิต (half-life) มากกว่า 24 ชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับ Khuwijitjaru และคณะ (2009) ที่พบว่าครึ่งชีวิตของแกมมาโอริซานอลในน้ำมันรำข้าวระหว่างการให้ความร้อนมีระยะเวลาประมาณ 26 ชั่วโมง แต่ในงานวิจัยของ Khuwijitjaru และคณะ (2009) พบว่าการลดลงของแกมมาโอริซานอลในน้ำมันรำข้าวเป็นไปตามสามารถจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่ง



ภาพที่ 4.16 ความสัมพันธ์ระหว่าง C_t / C_0 กับเวลาที่อุณหภูมิ 220 (◆) , 200 (●) และ 180 (▲) องศาเซลเซียส โดย C_t คือความเข้มข้นของแกมมาโอรีซานอล ณ ที่เวลาใดๆ และ C_0 คือความเข้มข้นเริ่มต้นของแกมมาโอรีซานอล

ตารางที่ 4.11 พารามิเตอร์ของสมการ Weibull ในการทำนายการลดลงของแกมมาโอรีซานอลที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	β (h^{-1})	α
180	0.0331	0.3041
200	0.0227	0.4457
220	0.0538	0.4126

4.3.3. ผลการติดตามปริมาณแกมมาโอรีซานอลด้วย NIRS

สมการการทำนายปริมาณแกมมาโอรีซานอลที่เหมาะสมที่สุดคือสมการทำนายปริมาณแกมมาโอรีซานอลที่สร้างจาก 10% MCF ใน hexane และเมื่อนำไปใช้ในการติดตามปริมาณแกมมาโอรีซานอลผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 180 – 220 องศาเซลเซียส พบว่าผลการทำนายมีค่า RMSEP และ BIAS ที่สูงมากคือ 478 ถึง 407 mg/L และ 403 ถึง 388 mg/L ดังตารางที่ 4.12 ทำให้ไม่สามารถนำไปใช้ในการศึกษาจลนพลศาสตร์ได้ (ตารางแนบท้ายในภาคผนวก ค) ซึ่งอาจเกิดจากการให้ความร้อนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบของ MCF

ตารางที่ 4.12 ผลทางสถิติของการติดตามปริมาณแกมมาไอรีซานอลด้วย NIRS

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	จำนวนตัวอย่าง	RMSEP	BIAS	SEP	RPD	Offset
180	30	407	388	123	0.31	-24.782
200	30	403	397	67.5	1.02	-356.865
220	30	478	403	261	0.349	-236.713

บทที่ 5 สรุป

การศึกษาในครั้งนี้แสดงถึงความเป็นไปได้ในการนำเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้มาใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าวได้ ซึ่งนอกจากนี้ยังช่วยลดเวลาในการเตรียมตัวอย่างและเพิ่มความรวดเร็วในการวิเคราะห์ ซึ่งจะมีประโยชน์อย่างมากในการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำมันรำข้าว โดยผลการศึกษาที่ได้ยังต้องมีการพัฒนาและเพิ่มเติมเพื่อให้เทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้สามารถวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลได้แม่นยำยิ่งขึ้น แม้ว่าเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณแอลฟาโคโคฟีรอลในน้ำมันรำข้าวไม่สามารถทำนายปริมาณแอลฟาโคโคฟีรอลในน้ำมันรำข้าวได้ เช่นเดียวกับในการติดตามปริมาณแกมมาโอรีซานอลเมื่อผ่านการให้ความร้อนสูง

งานวิจัยนี้ยังแสดงให้เห็นถึงผลของการให้ความร้อนกับแกมมาโอรีซานอลที่อุณหภูมิระดับเดียวกับการทอดคือ 180 200 และ 220 ซึ่งพบว่า จลนพลศาสตร์การสลายตัวของแกมมาโอรีซานอลเมื่อให้ความร้อนที่ระดับเดียวกับการทอดสามารถอธิบายได้ด้วยสมการ Weibull โดยแกมมาโอรีซานอลยังมีความคงตัวที่อุณหภูมิสูง

รายการเอกสารอ้างอิง

- สุมาพร เกษมสำราญ, 2555, “หลักการพื้นฐานของสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้” ใน เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้และการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม (นครปฐม: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์)
- ศิวลักษณ์ ปฐวิรัตน์ และ อนุพันธ์ เทอดวงศ์วรกุล, 2555, “เครื่องมือและอุปกรณ์สเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้” ใน เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้และการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม (นครปฐม: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์)
- Aguilar-Garcia, C., Gavino, G., Baragaño-Mosqueda, M., Hevia, P., Gavino, V. C. 2007. Correlation of tocopherol, tocotrienol, gamma-oryzanol and total polyphenol content in rice bran with different antioxidant capacity assays. *Food Chemistry*. 102: 1228-1232.
- Akihisa, T., Yasukawa, K., Tamaura, T., Ukiya, M., Kimura, Y., Shimizu, N., Takido, M. 2000. Triterpene alcohol and sterol ferulates from rice bran and their anti-inflammatory effects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48: 2313-2319.
- Akiyama, Y., Hori, K., Takahashi, T., Yoshiki, Y. 2005. Free radical scavenging activities of gamma-oryzanol constituents. *Food Science and Technology Research*. 11: 295-297.
- Bhatnagar, A. S., Prabhakar, D. S., Prasanth Kumar, P. K., Raja Rajan, R. G., Gopala Krishna, A. G. 2014. Processing of commercial rice bran for the production of fat and nutraceutical rich rice brokens, rice germ and pure bran. *LWT-Food Science and Technology*. 58: 306-311.
- Bucci, R., Magri, A. D., Magri, A. L., Marini, F. 2003. Comparison of three spectrophotometric methods for the determination of gamma-oryzanol in rice bran oil. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 375(8): 1254-1259.
- Chen, M. H., Bergman, C. J. 2005. A rapid procedure for analyzing rice bran tocopherol, tocotrienol and gamma-oryzanol contents. *Journal of Food composition and Analysis*. 18: 139-151.
- Chou, T. W., Ma, C. Y., Cheng, H. H., Chen, Y. Y., Lai, M. H. 2009. A rice bran oil diet improves lipid abnormalities and suppress hyperinsulinemic responses in rats with streptozotocin/nicotinamide-induced type 2 diabetes. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*. 45(1): 29-36.
- Combs Jr, G. F. 2012. *The vitamins* (Fourth Edition). San Diego: Academic Press.
- D'Ambrosio, M. 2013. Performances of CN-columns for the analysis of gamma-oryzanol and its p-coumarate and caffeate derivatives by normal phase HPLC and a validated method of quantitation. *Food Chemistry*. 138: 2079-2088.
- da Silva, M. A., Sanches, C., Amante, E. R. 2006 Prevention of hydrolytic rancidity in rice bran. *Journal of Food Engineering*. 75: 487-491.
- Delgado-Zamarreño, M.M., Bustamante-Rangel, M., García-Jiménez, M., Sánchez-Pérez, A. and Carabias-Martínez, R. 2006. Off-line coupling of pressurized liquid extraction

- and LC/ED for the determination of retinyl acetate and tocopherols in infant formulas. *Talanta*. 70: 1094-1099
- Diack, M., Saska, M. 1994. Separation of vitamin E and gamma-oryzanols from rice bran by normal-phase chromatography. *Journal of American Oil Chemists' Society*. 71: 1211-1217.
- Fang, N. B., Yu, S. G., 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(11): 3260-3267.
- Gerhardt, A. L., Gallo, N. B. 1998. Full-fat rice bran and oat bran similarly reduce hypercholesterolemia in humans. *The Journal of Nutrition*. 128: 865-869.
- Huang, S., Ng, L. 2011. An improved high-performance liquid chromatographic method for simultaneous determination of tocopherols, tocotrienols and gamma-oryzanol in rice. *Journal of Chromatography A*. 1218: 4709-4713.
- Ismail, M., AL-Naqeeb, G., Mamat, W. A. A., Ahmad, Z. 2010. Gamma-oryzanol rich fraction regulates the expression of antioxidant and oxidative stress related genes in stressed rat's liver. *Nutrition & Metabolism*. 7: 1-13.
- Juliano, C., Cossu, M., Alamanni, M. C., 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.
- Kaewsorn, K., Sirisomboon, P. 2014a. Determination of the gamma-aminobutyric acid content of germinated brown rice by near infrared spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*. 22: 45-54.
- Kaewsorn, K., Sirisomboon, P. 2014b. Study on evaluation of gamma oryzanol of germinated brown rice by near infrared spectroscopy. *Journal of Innovative Optical Health Science*. 7.
- Khan, A., Khan, M.I., Iqbal, Z., Shah, Y., Ahmad, L. and Watson, D. G. 2010. An optimized and validated RP-HPLC/UV detection method for simultaneous determination of all-trans-retinol (vitamin A) and α -tocopherol (vitamin E) in human serum: Comparison of different particulate reversed-phase HPLC columns. *Journal of Chromatography B*. 878: 2339-2347.
- Khuwijitjaru, P., Yuenyong, T., Pongsawatmanit, R., Adachi, S. 2009. Degradation kinetics of gamma-oryzanol in antioxidant-stripped rice bran oil during thermal oxidation. *Journal of Oleo Science*. 58: 491-497.
- Kochhar, S. P. 2000. Stabilisation of frying oils with natural antioxidative components. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 102: 552-559.
- Kuligowski, J., Carrion, D., Quintas, G., Garrigues, S., de la Guardia, M. 2012. Direct determination of polymerized triacylglycerides in deep-frying vegetable oil by near infrared spectroscopy using partial least squares regression. *Food Chemistry*. 131: 353-359.

- Lai, M. H., Chen, Y. T., Chen, Y. Y., Chang, J. H., Cheng, H. H. 2012. Effects of rice bran oil on the blood lipids profiles and insulin resistance in type 2 diabetes patients. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*. 51(1): 15–18.
- Lerma-Garcia, M. J., Herrero-Martinez, J. M., Simó-Alfonso, E. F., Mendonça, C. R. B., Ramis-Ramos, G. 2009. Composition, industrial processing and applications of rice bran γ -oryzanol. *Food Chemistry*. 115: 389–404.
- Lu, W., Niu, Y., Yang, H., Sheng, Y., Shi, H., Yu, L. 2014. Simultaneous HPLC quantification of five major triterpene alcohol and sterol ferulates in rice bran oil using a single reference standard. *Food Chemistry*. 148: 329–334.
- Miller, A., Engel, K. H. 2006. Content of gamma-oryzanol and composition of steryl ferulates in brown rice (*Oryza sativa* L.) of European origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54(21): 8127–8133.
- Moreira, S. A., Sarraguça, J., Saraiva, D. F., Carvalho, R., Lopes, J. A. 2015. Optimization of NIR spectroscopy based PLSR models for critical properties of vegetable oils used in biodiesel production. *Fuel*. 150: 697–704.
- Nawrocka, A., Lamorska, J. 2013. Determination of food quality by using spectroscopic methods, in *Advances in Agrophysical Research*, Grundas, S., Stepniewski, A. (eds), Poland: Intech.
- Osborn, B. G., Fearn, T., Hindle, P. H. 1993. *Practical NIR Spectroscopy with Application in Food and Beverage Analysis*. New York, John Wiley & Son, Inc.
- Pereira, A. F. C., Pontes, M. J. C., Neto, F. F. G., Santos, S. B. S., Galvão, Araújo, M. C. U. 2008. NIR spectrometric determination of quality parameters in vegetable oils using iPLS and variable selection. *Food Research International*. 41: 341–348.
- Pinheiro-Sant’Ana, H. M., Guinazi, M., da Silva Oliveira, D., Lucia, C. M. D., de Lazzari Reis, B., Brandão, S. C. C. 2011. Method for simultaneous analysis of eight vitamin E isomers in various foods by high performance liquid chromatography and fluorescence detection. *Journal of Chromatography A*. 1218: 8496–8502.
- Rebecca, S., Alicia, A., Na, H., Zhimin, X., Lima, M. 2007. Fractionation of the rice bran layer and quantification of vitamin E, oryzanol, protein, and rice bran saccharide. *Journal of Biological Engineering*. 1: 9–13.
- Rogers, E., Rice, S., Nicolosi, R., Carpenter, D., McClelland, C., Romanczyk, L. J. 1993. Identification and quantitation of gamma-oryzanol components and simultaneous assessment of tocopherols in rice bran oil. *Journal of American Oil Chemists’ Society*. 70: 301–307.
- Shammugasamy, B., Ramakrishnan, Y., Ghazali, H. M., Muhammad, K. 2013. Combination of saponification and dispersive liquid–liquid microextraction for the determination of tocopherols and tocotrienols in cereals by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 1300: 31–37.

- Shih, C. K., Ho, C. J., Li, S. C., Yang, S. H., Hou, W. C., Cheng, H. H. 2011. Preventive effects of rice bran oil on 1,2-dimethylhydrazine/dextran sodium sulphate-induced colon carcinogenesis in rats. *Food Chemistry*. 126(2): 562–567.
- Szlyk, E., Szydlowska-Czernial, A., Kowalczyk-Marzec, A. 2005. NIR spectroscopy and partial least-squares regression for determination of natural α -tocopherol in vegetable oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 6980–6987.
- Tiwari, U., Cummins, E. 2009. Nutritional importance and effect of processing on tocopherols in cereals. *Trends in Food Science & Technology*. 20: 511–520.
- Vinas, P., Bravo-Bravo, M., Lopez-García, I., Pastor-Belda, M., Hernandez- Cordoba, M. 2014a. Pressurized liquid extraction and dispersive liquid-liquid microextraction for determination of tocopherols and tocotrienols in plant foods by liquid chromatography with fluorescence and atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry detection. *Talanta*. 119: 98–104.
- Vinas, P., Pastor-Belda, M., Campillo, N., Bravo-Bravo, M., Hernandez- Cordoba, M. 2014b. Capillary liquid chromatography combined with pressurized liquid extraction and dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of vitamin E in cosmetic products. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 94: 173–179.
- Williams, P. C., Implementation of near infrared technology, in near infrared technology in the agricultural and food industries, 2nd edition, Ed by P.C. Williams and K.H. Norris. American Association of cereal Chemists, St Paul, USA. P 163-165 (2001)
- Wilson, T. A., Idreis, H. M., Taylor, C. M., Nicolosi, R. J. 2002. Whole fat rice bran reduces the development of early aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic hamsters compared with wheat bran. *Nutrition Research*. 22: 1319–1332.
- Wilson, T. A., Nicolosi, R. J., Woolfrey, B., Kritchevsky, D. 2007. Rice bran oil and γ -oryzanol reduce plasma lipid and lipoprotein cholesterol concentrations and aortic cholesterol ester accumulation to a greater extent than ferulic acid in hypercholesterolemic hamsters. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 18: 105–112.
- Xu, Z., 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., Hua, N., Godber, J. S. 2001. Antioxidant activity of tocopherols, tocotrienols, and γ -oryzanol components from rice bran against cholesterol oxidation accelerated by 2,2'-azobis(2-methylpropionamide) dihydrochloride. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49: 2077-2081.
- Yu, S., Nehus, Z. T., Badger, T. M., Fang, N. 2007. Quantification of vitamin E and γ -oryzanol components in rice germ and bran. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55: 7308–7313.

ภาคผนวก ก รายละเอียดตัวอย่างน้ำมันรำข้าว

ตารางที่ ก1 รายละเอียดฐานการผลิตตัวอย่างน้ำมันรำข้าวที่ใช้ในการศึกษา

ยี่ห้อ	วันผลิต	วันหมดอายุ	จำนวน (ขวด)
Naturel	-	Best before 26/04/2016	3
Naturel	-	Best before 26/05/2016	3
Naturel	-	Best before 26/05/2016	3
King	MFG 26/08/14	26/08/16	3
King	MFG 29/08/14	29/08/16	3
King	MFG 06/09/14	06/09/16	3
King rich	MFG 03/09/14	03/09/16	3
King rich	MFG 13/09/14	13/09/16	3
King rich	MFG 23/09/14	23/09/16	3

ภาคผนวก ข วิธีวิเคราะห์ทางเคมี

1. การวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าวด้วยสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

ใช้วิธีจาก Bhatnagar และคณะ (2014)

1. ชั่งตัวอย่างน้ำมันรำข้าว 0.2 กรัม
 2. ละลายด้วย n-Heptane ในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 mL
 3. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 314 นาโนเมตร
 4. คำนวณปริมาณแกมมาโอรีซานอลด้วยสมการที่ 1
- $$\% \text{ แกมมาโอรีซานอล} = 100 \times (1 / W) \times A \times (1/359)$$

โดยที่

A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

W คือ น้ำหนักของน้ำมันรำข้าว

359 คือ specific extinction ($E^{1\%}_{1\text{ cm}}$) สำหรับปริมาณแกมมาโอรีซานอล

2. การวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอรีซานอลด้วย HPLC

ดัดแปลงจาก Pinheiro-Sant'Ana และคณะ (2011)

สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์

1. คอลัมน์: Intertsil ODS-3 C18 5 μ m ขนาด 4.6 x 150 มิลลิเมตร ยี่ห้อ GL Science, Japan
2. วัฏภาคเคลื่อนที่: เมทานอล / อะซิโตนไตรล์ / ไอโซโพรพานอล อัตราส่วน 40/55/5 (โดยปริมาตร)
3. อัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่: 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที
4. ปริมาตรตัวอย่างที่ฉีด: 10 ไมโครลิตร
5. เครื่องตรวจวัด: Diode Array Detector ที่ความยาวคลื่น 315 นาโนเมตร

สารละลายมาตรฐานแกมมาโอรีซานอล

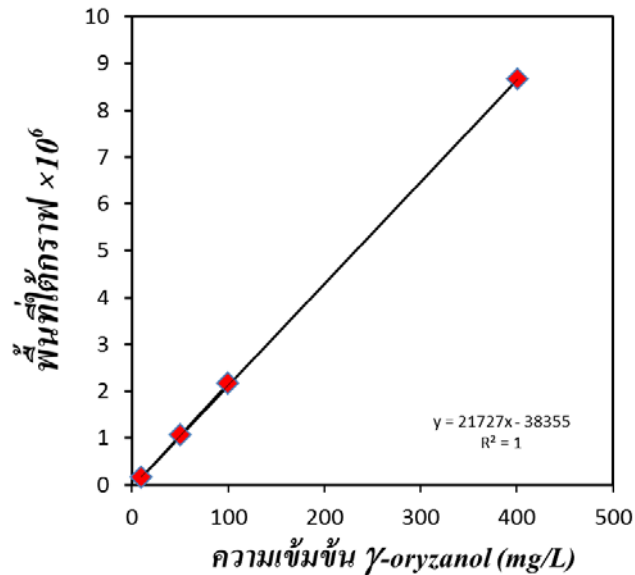
1. ชั่งสารแกมมาโอรีซานอลบริสุทธิ์ 0.0400 กรัม ละลายด้วยไอโซโพรพานอล ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ซึ่งคือความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร
2. นำสารละลายมาตรฐานแกมมาโอรีซานอล 400 มิลลิกรัมต่อลิตร มาเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 10 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

การเตรียมกราฟมาตรฐานแกมมาโอรีซานอล

1. นำสารละลายมาตรฐานแกมมาโอรีซานอลความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร กรองผ่าน syringe filter (PTFE ขนาด 0.45 ไมครอน) ฉีดตัวอย่าง 10 ไมโครลิตรเข้าเครื่อง HPLC คงค้างเป็นเวลา 40 นาที และบันทึกพื้นที่ใต้กราฟ
2. ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1 โดยเปลี่ยนเป็นความเข้มข้น 10 50 100 และ 400 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ และทำการบันทึกพื้นที่ใต้กราฟ
3. นำค่าพื้นที่ใต้กราฟและความเข้มข้นไปเขียนกราฟมาตรฐานของแกมมาโอรีซานอลและหาความสัมพันธ์ในรูปของสมการเส้นตรง

วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่างจำนวน 0.2 g และเจือจางด้วยไอโซโพรพานอลในขวดปรับปริมาตร ขนาด 10 mL
2. กรองตัวอย่างผ่าน syringe filter ขนาด 0.45 ไมครอน ฉีดตัวอย่างเข้าเครื่อง HPLC ปริมาตร 10 ไมโครลิตร เปรียบเทียบกับค่า retention time และเส้นสเปกตรัม
3. คำนวณปริมาณแกมมาโอริซานอลจากกราฟมาตรฐานของแกมมาโอริซานอล



ภาพที่ ข1 กราฟมาตรฐานของสารแกมมาโอริซานอลบริสุทธิ์

3. การวิเคราะห์ปริมาณแอลฟาโตโคฟีรอลด้วย HPLC

ดัดแปลงจาก Lu และคณะ (2014)

สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์

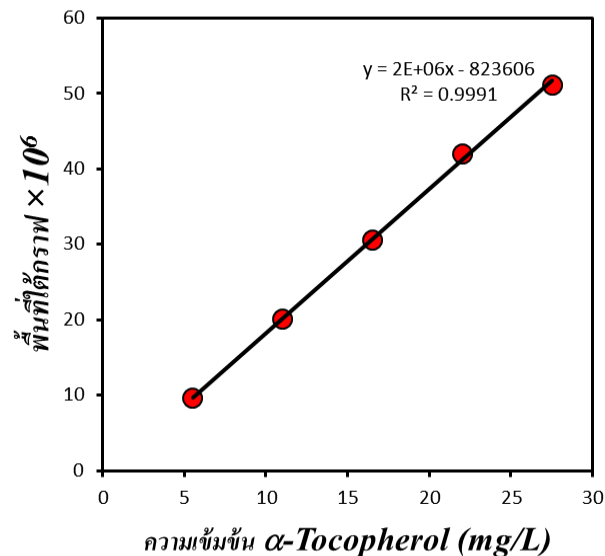
1. คอลัมน์: Intertsil SIL-150A 5 μ m ขนาด 4.6 x 250 มิลลิเมตร ยี่ห้อ GL Science, Japan
2. วัฏภาคเคลื่อนที่: เฮกเซน / ไอโซโพรพานอล / กรดแอสซิติค อัตราส่วน 99.7/0.2/0.1 (โดยปริมาตร)
3. อัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่: 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที
4. ปริมาตรตัวอย่างที่ฉีด: 20 ไมโครลิตร
5. เครื่องตรวจวัด: Fluorescence Detector ที่ Ex 290 nm และ Em 330 nm

สารละลายมาตรฐานแกมมาโอริซานอล

1. ชั่งสารแอลฟาโตโคฟีรอลบริสุทธิ์ 0.0400 กรัม ละลายด้วยเฮกเซน ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ซึ่งคือความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร
2. นำสารละลายมาตรฐานแอลฟาโตโคฟีรอล 400 มิลลิกรัมต่อลิตร มาเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 5 10 15 20 และ 25 มิลลิกรัมต่อลิตร

การเตรียมกราฟมาตรฐานแอลฟาโตโคฟีรอล

1. นำสารละลายมาตรฐานแอลฟาโทโคฟีรอลความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร กรองผ่าน syringe filter (PTFE ขนาด 0.45 ไมครอน) ฉีดตัวอย่างปริมาตร 20 ไมโครลิตรเข้าเครื่อง HPLC คงค้างเป็นเวลา 40 นาที และบันทึกพื้นที่ใต้กราฟ
2. ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1 โดยเปลี่ยนเป็นความเข้มข้น 10 15 20 และ 25 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ และทำการบันทึกพื้นที่ใต้กราฟ
3. นำค่าพื้นที่ใต้กราฟและความเข้มข้นไปเขียนกราฟมาตรฐานของแอลฟาโทโคฟีรอล และหาความสัมพันธ์ในรูปของสมการเส้นตรง



ภาพที่ ข2 กราฟมาตรฐานของสารแอลฟาโทโคฟีรอล

วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่างน้ำมันรำข้าวจำนวน 1 กรัมและเจือจางด้วยเฮกเซนในขวดปรับปริมาตร ขนาด 10 mL
2. กรองตัวอย่างผ่าน syringe filter ขนาด 0.45 ไมครอน ฉีดตัวอย่างเข้าเครื่อง HPLC ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เปรียบเทียบกับค่า retention time และเส้นสเปกตรัม

ภาคผนวก ค ตารางผลการทดลอง

ตารางที่ ค1 ผลการทำนายปริมาณแกมมาโอริซานอลในตัวอย่างน้ำมันรำข้าวโดยสมการทำนายที่สร้างขึ้นด้วย MCF

Sample Name	ระบบ	TRUE	Prediction	Unit
1	MCF	277.71	12549	mg/L
2	MCF	277.13	12442	mg/L
3	MCF	276.03	12553	mg/L
4	MCF	279.14	12492	mg/L
5	MCF	281.31	12537	mg/L
6	MCF	281.34	12616	mg/L
7	MCF	283.6	12454	mg/L
8	MCF	284.85	12740	mg/L
9	MCF	285.44	13255	mg/L
10	MCF	647.56	13232	mg/L
11	MCF	644.34	13179	mg/L
12	MCF	649.62	13165	mg/L
13	MCF	620.03	12790	mg/L
14	MCF	629.71	12728	mg/L
15	MCF	619.23	12823	mg/L
16	MCF	644.52	13560	mg/L
17	MCF	646.32	13351	mg/L
18	MCF	649.03	13616	mg/L
19	MCF	533.53	13040	mg/L
20	MCF	530.51	13163	mg/L
21	MCF	534.06	13046	mg/L
22	MCF	533.28	13410	mg/L
23	MCF	532.17	13047	mg/L
24	MCF	532.01	13082	mg/L
25	MCF	533.25	13077	mg/L
26	MCF	541.58	13104	mg/L
27	MCF	532.56	13181	mg/L

ตารางที่ ค2 ผลการทำนายปริมาณแก๊สมาโอรีซานอลในตัวอย่างน้ำมันรำข้าวโดยสมการทำนายที่สร้างขึ้นด้วย hexane

Sample Name	ระบบ	TRUE	Prediction	Unit
1	hexane	277.71	-498.74	mg/L
2	hexane	277.13	-496.62	mg/L
3	hexane	276.03	-494.75	mg/L
4	hexane	279.14	-468.14	mg/L
5	hexane	281.31	-478.96	mg/L
6	hexane	281.34	-489.35	mg/L
7	hexane	283.6	-446.55	mg/L
8	hexane	284.85	-459.49	mg/L
9	hexane	285.44	-494.59	mg/L
10	hexane	647.56	-182.98	mg/L
11	hexane	644.34	-167.01	mg/L
12	hexane	649.62	-191.96	mg/L
13	hexane	620.03	-235.37	mg/L
14	hexane	629.71	-253.18	mg/L
15	hexane	619.23	-259.59	mg/L
16	hexane	644.52	-178.2	mg/L
17	hexane	646.32	-184.05	mg/L
18	hexane	649.03	-207.51	mg/L
19	hexane	533.53	-278.54	mg/L
20	hexane	530.51	-266.19	mg/L
21	hexane	534.06	-280.44	mg/L
22	hexane	533.28	-281.96	mg/L
23	hexane	532.17	-280.11	mg/L
24	hexane	532.01	-275.39	mg/L
25	hexane	533.25	-249.86	mg/L
26	hexane	541.58	-268.24	mg/L
27	hexane	532.56	-276.26	mg/L

ตารางที่ ค3 ผลการทำนายปริมาณแกมมาโอริซานอลในตัวอย่างน้ำมันรำข้าวโดยสมการทำนายที่สร้างขึ้นด้วย 10% MCF ใน hexane

Sample		ระบบ	TRUE	Prediction	Unit
Name					
1	10% MCF ใน hexane		277.71	475.17	mg/L
2	10% MCF ใน hexane		277.13	375.52	mg/L
3	10% MCF ใน hexane		276.03	458.65	mg/L
4	10% MCF ใน hexane		279.14	449.52	mg/L
5	10% MCF ใน hexane		281.31	484.44	mg/L
6	10% MCF ใน hexane		281.34	494.85	mg/L
7	10% MCF ใน hexane		283.6	423.11	mg/L
8	10% MCF ใน hexane		284.85	521.66	mg/L
9	10% MCF ใน hexane		285.44	730.75	mg/L
10	10% MCF ใน hexane		647.56	811.57	mg/L
11	10% MCF ใน hexane		644.34	818.27	mg/L
12	10% MCF ใน hexane		649.62	810.46	mg/L
13	10% MCF ใน hexane		620.03	754.31	mg/L
14	10% MCF ใน hexane		629.71	817.64	mg/L
15	10% MCF ใน hexane		619.23	806.15	mg/L
16	10% MCF ใน hexane		644.52	962.5	mg/L
17	10% MCF ใน hexane		646.32	904.95	mg/L
18	10% MCF ใน hexane		649.03	997.85	mg/L
19	10% MCF ใน hexane		533.53	695.14	mg/L
20	10% MCF ใน hexane		530.51	735.73	mg/L
21	10% MCF ใน hexane		534.06	707.5	mg/L
22	10% MCF ใน hexane		533.28	840.64	mg/L
23	10% MCF ใน hexane		532.17	728.15	mg/L
24	10% MCF ใน hexane		532.01	760.63	mg/L
25	10% MCF ใน hexane		533.25	736.62	mg/L
26	10% MCF ใน hexane		541.58	737.6	mg/L
27	10% MCF ใน hexane		532.56	791.7	mg/L

ตารางที่ ค4 ผลการทำนายปริมาณแอลฟาโทโคฟีรอลในตัวอย่างน้ำมันรำข้าวโดยสมการทำนายที่สร้างขึ้นด้วย 10% MCF ใน hexane

Sample Name	ระบบ	TRUE	Prediction	Unit
1	10% MCF ใน hexane	8.42	654.54	mg/L
2	10% MCF ใน hexane	10.08	659.68	mg/L
3	10% MCF ใน hexane	7.99	666.75	mg/L
4	10% MCF ใน hexane	7.47	714.01	mg/L
5	10% MCF ใน hexane	7.71	750.2	mg/L
6	10% MCF ใน hexane	7.76	725.16	mg/L
7	10% MCF ใน hexane	7.7	699.17	mg/L
8	10% MCF ใน hexane	6.27	738.71	mg/L
9	10% MCF ใน hexane	7.58	700.92	mg/L
10	10% MCF ใน hexane	7.47	581.05	mg/L
11	10% MCF ใน hexane	5.96	579.1	mg/L
12	10% MCF ใน hexane	5.95	584.34	mg/L
13	10% MCF ใน hexane	8.72	584.82	mg/L
14	10% MCF ใน hexane	7.96	588.55	mg/L
15	10% MCF ใน hexane	8.25	594.06	mg/L
16	10% MCF ใน hexane	5.73	594.54	mg/L
17	10% MCF ใน hexane	6.27	627.8	mg/L
18	10% MCF ใน hexane	6.58	613.57	mg/L
19	10% MCF ใน hexane	6.51	636.58	mg/L
20	10% MCF ใน hexane	7.9	639.77	mg/L
21	10% MCF ใน hexane	6.56	641.39	mg/L
22	10% MCF ใน hexane	5.52	634.29	mg/L
23	10% MCF ใน hexane	6.64	642.81	mg/L
24	10% MCF ใน hexane	7.73	633.98	mg/L
25	10% MCF ใน hexane	8.11	635.92	mg/L
26	10% MCF ใน hexane	9.16	641	mg/L
27	10% MCF ใน hexane	8.1	648.16	mg/L

ตารางที่ ค5 ผลการทำนายปริมาณแอลฟาโทโคฟีรอลในตัวอย่างน้ำมันรำข้าวโดยสมการทำนายที่สร้างขึ้นด้วย hexane

Sample Name	ระบบ	TRUE	Prediction	Unit
1	hexane	8.42	45.409	mg/L
2	hexane	10.08	44.698	mg/L
3	hexane	7.99	46.154	mg/L
4	hexane	7.47	48.478	mg/L
5	hexane	7.71	60.399	mg/L
6	hexane	7.76	55.832	mg/L
7	hexane	7.7	56.182	mg/L
8	hexane	6.27	58.588	mg/L
9	hexane	7.58	58.79	mg/L
10	hexane	7.47	-18.685	mg/L
11	hexane	5.96	-11.853	mg/L
12	hexane	5.95	-6.1355	mg/L
13	hexane	8.72	-6.3565	mg/L
14	hexane	7.96	-3.6596	mg/L
15	hexane	8.25	0.13281	mg/L
16	hexane	5.73	3.9467	mg/L
17	hexane	6.27	4.7808	mg/L
18	hexane	6.58	9.7024	mg/L
19	hexane	6.51	16.247	mg/L
20	hexane	7.9	17.429	mg/L
21	hexane	6.56	20.725	mg/L
22	hexane	5.52	23.062	mg/L
23	hexane	6.64	23.897	mg/L
24	hexane	7.73	30.823	mg/L
25	hexane	8.11	31.445	mg/L
26	hexane	9.16	33.068	mg/L
27	hexane	8.1	36.87	mg/L

ตารางที่ ค6 ผลการทำนายปริมาณแอลฟาโทโคฟีรอลในตัวอย่างน้ำมันรำข้าวโดยสมการทำนายที่สร้างขึ้นด้วย MCF

Sample Name	ระบบ	TRUE	Prediction	Unit
1	MCF	8.42	2652	mg/L
2	MCF	10.08	2656.6	mg/L
3	MCF	7.99	2673.5	mg/L
4	MCF	7.47	2661.5	mg/L
5	MCF	7.71	2659.9	mg/L
6	MCF	7.76	2666.7	mg/L
7	MCF	7.7	2788.6	mg/L
8	MCF	6.27	2671.3	mg/L
9	MCF	7.58	2787.8	mg/L
10	MCF	7.47	2777.5	mg/L
11	MCF	5.96	2786.8	mg/L
12	MCF	5.95	2789.7	mg/L
13	MCF	8.72	2759.2	mg/L
14	MCF	7.96	2755.2	mg/L
15	MCF	8.25	2749.7	mg/L
16	MCF	5.73	2790.4	mg/L
17	MCF	6.27	2775.6	mg/L
18	MCF	6.58	2785.4	mg/L
19	MCF	6.51	2786.1	mg/L
20	MCF	7.9	2788.8	mg/L
21	MCF	6.56	2786.6	mg/L
22	MCF	5.52	2787	mg/L
23	MCF	6.64	2782.2	mg/L
24	MCF	7.73	2783.2	mg/L
25	MCF	8.11	2789.2	mg/L
26	MCF	9.16	2776.4	mg/L
27	MCF	8.1	2780.8	mg/L

ตารางที่ ค7 ผลการติดตามปริมาณแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 180 องศาเซลเซียส

ตัวอย่างที่	เวลาในการให้ความร้อน (นาท)	TRUE	Prediction	Unit
1	10	573.838	242.05	mg/L
2	10	564.618	242.72	mg/L
3	10	571.887	243.04	mg/L
4	20	526.851	208.65	mg/L
5	20	539.097	225.75	mg/L
6	20	541.37	220.46	mg/L
7	30	566.808	235.1	mg/L
8	30	556.047	227.45	mg/L
9	30	557.632	221.84	mg/L
10	40	624.563	269.9	mg/L
11	40	542.412	208.46	mg/L
12	40	610.446	275.14	mg/L
13	80	496.344	170.05	mg/L
14	80	552.025	205.9	mg/L
15	80	549.743	202.51	mg/L
16	120	541.126	186.14	mg/L
17	120	534.892	196.08	mg/L
18	120	534.361	-11.078	mg/L
19	200	546.677	165.78	mg/L
20	200	531.051	148.76	mg/L
21	200	530.884	177.94	mg/L
22	280	508.544	128.2	mg/L
23	280	516.797	117.94	mg/L
24	280	532.136	-338.22	mg/L
25	440	523.332	183.68	mg/L
26	440	527.812	240.69	mg/L
27	440	426.444	-58.357	mg/L
28	720	486.905	-127.9	mg/L
29	720	481.243	139.54	mg/L
30	720	491.291	-115.83	mg/L

ตารางที่ ค8 ผลการติดตามปริมาณแกมมาไอรีซานอลที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 200 องศาเซลเซียส

ตัวอย่างที่	เวลาในการให้ความร้อน (นาท)	TRUE	Prediction	Unit
1	20	574.751	211.97	mg/L
2	20	585.119	201.05	mg/L
3	20	571.049	203.69	mg/L
4	40	560.155	171.41	mg/L
5	40	565.965	194.85	mg/L
6	40	570.251	200.39	mg/L
7	80	497.123	-227.63	mg/L
8	80	578.896	196.15	mg/L
9	80	535.47	142.69	mg/L
10	120	543.379	164.4	mg/L
11	120	568.297	186.9	mg/L
12	120	505.01	97.95	mg/L
13	180	501.203	97.528	mg/L
14	180	557.825	116.35	mg/L
15	180	478.847	107.49	mg/L
16	240	507.5	125.17	mg/L
17	240	533.203	132.24	mg/L
18	240	522.557	135.04	mg/L
19	300	496.899	95.216	mg/L
20	300	504.27	97.539	mg/L
21	300	497.35	118.09	mg/L
22	420	473.293	68.382	mg/L
23	420	418.573	58.062	mg/L
24	420	489.694	64.274	mg/L
25	640	402.345	14.392	mg/L
26	640	414.051	26.859	mg/L
27	640	419.34	4.045	mg/L
28	1410	360.8	-51.361	mg/L
29	1410	354.27	23.708	mg/L
30	1410	380.315	79.88	mg/L

ตารางที่ ค9 ผลการติดตามปริมาณแกมมาโอรีซานอลที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 220 องศาเซลเซียส

ตัวอย่างที่	เวลาในการให้ความร้อน (นาท)	TRUE	Prediction	Unit
1	10	568.31	182.65	mg/L
2	10	546.993	181.16	mg/L
3	10	552.49	172.23	mg/L
4	20	532.306	149.9	mg/L
5	20	521.305	141.26	mg/L
6	20	486.836	140.93	mg/L
7	30	505.892	117.03	mg/L
8	30	527.554	138.93	mg/L
9	30	547.742	173.78	mg/L
10	40	492.814	81.824	mg/L
11	40	503.878	120.51	mg/L
12	40	500.748	122.26	mg/L
13	80	435.187	122.05	mg/L
14	80	430.593	40.519	mg/L
15	80	486.249	100.87	mg/L
16	120	408.613	31.571	mg/L
17	120	429.102	172.24	mg/L
18	120	438.194	16.5	mg/L
19	200	459.497	85.328	mg/L
20	200	460.077	-1309.2	mg/L
21	200	478.255	113.05	mg/L
22	280	384.517	59.382	mg/L
23	280	367.181	43.546	mg/L
24	280	459.678	137.34	mg/L
25	440	314.15	-19.321	mg/L
26	440	311.423	58.306	mg/L
27	440	308.065	-44.548	mg/L
28	720	256.548	-62.752	mg/L
29	720	280.421	-2.4872	mg/L
30	720	278.647	-74.151	mg/L

การเผยแพร่ผลงานวิจัย

Thitiwat Pungseeklao, Praneet Opanasopit, and Pramote Khuwijitjaru. 2016. Development of a Method for Quantitative Determination of g-Oryzanol using Near Infrared Spectroscopy. Food and Applied Bioscience Journal 4(2) 107-115.

Thitiwat Pungseeklao, Praneet Opanasopit, and Pramote Khuwijitjaru. 2016. Development of a Method for Quantitative Determination of g-Oryzanol using Near Infrared Spectroscopy. International Conference on Food and Applied Bioscience, February 4-5, 2016. Chiangmai, Thailand. (Poster)

ประวัติผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย นายปราโมทย์ คูวิจิตรจารุ (Pramote Khuwjitjaru)
ตำแหน่งทางวิชาการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์
สถานที่ทำงานปัจจุบัน ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม
โทรศัพท์ 034-219361 โทรสาร 034-272194 e-mail: kpramote@su.ac.th

ประวัติการศึกษา

- ปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เกียรตินิยมอันดับสอง) สาขาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยศิลปากร ปีที่จบ 2539
- ปริญญาโท Master of Agricultural Science, Kyoto University ประเทศญี่ปุ่น ปีที่จบ 2544
- ปริญญาเอก Doctor of Agricultural Science, Kyoto University ประเทศญี่ปุ่น ปีที่จบ 2547

รางวัลเกี่ยวกับงานวิจัยที่ได้รับ

ปี พ.ศ.	ชื่อรางวัล	หน่วยงานที่ให้
2559	Visiting Research Fellowship	Graduate School of Agriculture, Kyoto University ประเทศญี่ปุ่น
2558	รางวัลผู้มีผลงานวิจัยดีเด่น	คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยี อุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร
2558	รางวัลผลงานวิจัยดี	สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร
2558	JSFE Award for Outstanding Young Researcher	Japan Society for Food Engineering ประเทศญี่ปุ่น
2557	JSPS Invitation Fellowship Program for Research in Japan (Short-Term)	Japan Society for the Promotion of Science (JSPS) ประเทศญี่ปุ่น
2556	JASSO Follow-up Research Fellowship	JASSO ประเทศญี่ปุ่น
2554	JSPS Invitation Fellowship Program for Research in Japan (Short-Term)	Japan Society for the Promotion of Science (JSPS) ประเทศญี่ปุ่น
2553	JOS Editor's Award 2010	Japan Oil Chemists Society ประเทศญี่ปุ่น

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารวิชาการ (2012-2016)

1. Klinchongkon, K.; Chanthong, N.; Ruchain, K.; Khuwjitjaru, P.; Adachi, S., Effect of ethanol addition on subcritical water extraction of pectic polysaccharides from passion fruit peel. Journal of Food Processing and Preservation, doi: 10.1111/jfpp.13138.
2. Klinchongkon, K.; Khuwjitjaru, P.; Wiboonsirikul, J.; Adachi, S., Extraction of oligosaccharides from passion fruit peel by subcritical water treatment. Journal of

- Food Process Engineering, doi:10.1111/jfpe.12269.
3. Soisangwan, N.; Gao, D.-M.; Kobayashi, T.; Khuwijitjaru, P.; Adachi, S., Production of lactulose from lactose in subcritical aqueous ethanol. *Journal of Food Process Engineering* 2016, DOI: 10.1111/jfpe.12413.
 4. Khuwijitjaru, P.; Koomyart, I.; Kobayashi, T.; Adachi, S., Hydrolysis of konjac flour under subcritical water conditions. *Chiang Mai Journal of Science* (in press).
 5. Khuwijitjaru, P.; Kobayashi, T.; Adachi, S., Degradation kinetics of trisaccharides comprising glucose residues in subcritical water. *Journal of Carbohydrate Chemistry* 2016, 35, 286-299.
 6. Wiboonsirikul, J.; Watanabe, Y.; Omori, A.; Khuwijitjaru, P.; Adachi, S., Antioxidative properties of stearyl ascorbate in a food matrix system. *Journal of Oleo Science* 2016, 65, 487-492.
 7. Watanabe, Y.; Khuwijitjaru, P.; Hamai, Y.; Wiboonsirikul, J.; Adachi, S., Antioxidative property of acyl ascorbate in cookies containing iron. *Japan Journal of Food Engineering* 2016, 17, 77 - 81.
 8. Tamiya, S.; Koomyart, I.; Kobayashi, T.; Shiga, H.; Yoshii, H.; Khuwijitjaru, P.; Adachi, S., Preparation of liquid and solid seasonings with shrimp-like flavor from Isada krill under subcritical water conditions by steam injection. *Food Science and Technology Research* 2016, 22, 317-323.
 9. Soisangwan, N.; Gao, D.-M.; Kobayashi, T.; Khuwijitjaru, P.; Adachi, S., Kinetic analysis for the isomerization of cellobiose to cellobiulose in subcritical aqueous ethanol. *Carbohydrate Research* 2016, 433, 67-72.
 10. Rungpichayapichet, P.; Mahayothee, B.; Nagle, M.; Khuwijitjaru, P.; Müller, J., Robust NIRS models for non-destructive prediction of fruit ripeness and quality in mango. *Postharvest Biology and Technology* 2016, 111, 31-40.
 11. Mahayothee, B.; Koomyart, I.; Khuwijitjaru, P.; Siriwongwilaichat, P.; Nagle, M.; Müller, J., Phenolic compounds, antioxidant activity, and medium chain fatty acids profiles of coconut water and meat at different maturity stages. *International Journal of Food Properties* 2016, 19, 2041-2051.
 12. Koomyart, I.; Nagamizu, H.; Khuwijitjaru, P.; Kobayashi, T.; Shiga, H.; Yoshii, H.; Adachi, S., Using severity factor as a parameter to optimize krill treatment under subcritical water conditions. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 2016, 80, 11, 2192-2197.
 13. Koomyart, I.; Nagamizu, H.; Khuwijitjaru, P.; Kobayashi, T.; Shiga, H.; Yoshii, H.; Adachi, S., Direct treatment of Isada krill under subcritical water conditions to produce seasoning with shrimp-like flavor. *Food Technology and Biotechnology* 2016, 54, 2, 335-341.
 14. Khuwijitjaru, P., Utilization of plant-based agricultural waste by subcritical water treatment *Japan Journal of Food Engineering* 2016, 17, 33-39.
 15. Wiboonsirikul, J.; Nakata, Y.; Kobayashi, T.; Khuwijitjaru, P.; Adachi, S., Degradation of

- disaccharides containing two glucose units in subcritical water. *Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering* 2015, 10, 681-686.
16. Rungpichayapichet, P.; Mahayothee, B.; Khuwijitjaru, P.; Nagle, M.; Müller, J., Non-destructive determination of β -carotene content in mango by NIR spectroscopy compared with colorimetric measurements. *Journal of Food Composition and Analysis* 2015, 38, 32-41.
 17. Koomyart, I.; Nagamizu, H.; Khuwijitjaru, P.; Kobayashi, T.; Shiga, H.; Yoshii, H.; Adachi, S., Compositions, flavour and antiradical properties of products from subcritical water treatment of raw Isada krill. *International Journal of Food Science and Technology* 2015, 50, 1632-1639.
 18. Koomyart, I.; Nagamizu, H.; Khuwijitjaru, P.; Kobayashi, T.; Shiga, H.; Yoshii, H.; Adachi, S., Subcritical water treatment for producing seasoning from semidried Isada krill. *Journal of Food Process Engineering* 2014, 37, 567-574.
 19. Khuwijitjaru, P.; Suaylam, B.; Adachi, S., Degradation of caffeic acid in subcritical water and on-line HPLC-DPPH assay of degradation products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2014, 62, 1945-1949.
 20. Khuwijitjaru, P.; Pokpong, A.; Klinchongkon, K.; Adachi, S., Production of oligosaccharides from coconut meal by subcritical water treatment. *International Journal of Food Science and Technology* 2014, 49, 1946-1952.
 21. Khuwijitjaru, P.; Plernjit, J.; Suaylam, B.; Samuhaseneetoo, S.; Pongsawatmanit, R.; Adachi, S., Stability of some phenolic compounds in subcritical water and radical scavenging activity of their degradation products. *Can. J. Chem. Eng.* 2014, 92, 810-815.
 22. Wiboonsirikul, J.; Mori, M.; Khuwijitjaru, P.; Adachi, S., Properties of extract from okara by its subcritical water treatment. *International Journal of Food Properties* 2013, 16, 974-982.
 23. Wanpen, C.; Ngampanya, B.; Pruksasri, S.; Jaturapiree, P.; Khuwijitjaru, P., The effect of ultrasonic pretreatment on inulin extraction from Jerusalem artichoke tuber. *KMUTT Research and Development Journal* 2013, 36, 261-270.
 24. Murayama, Y.; Wiboonsirikul, J.; Khuwijitjaru, P.; Kobayashi, T.; Adachi, S., Antioxidant characteristics of extracts from cereal residues by their subcritical water treatment. *Journal of Oleo Science* 2012, 61, 465-468.
 25. Khuwijitjaru, P.; Watsanit, K.; Adachi, S., Carbohydrate content and composition of product from subcritical water treatment of coconut meal. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 2012, 18, 225-229.
 26. Khuwijitjaru, P.; Sayputikasikorn, N.; Samuhasaneetoo, S.; Penroj, P.; Siri Wongwilaichat, P.; Adachi, S., Subcritical water extraction of flavoring and phenolic compounds from cinnamon bark (*Cinnamomum zeylanicum*). *Journal of Oleo Science* 2012, 61, 349-355.

ผู้ร่วมโครงการวิจัย ปราณีต โอปนะโสภิต
ตำแหน่งทางวิชาการ รองศาสตราจารย์
สถานที่ทำงานปัจจุบัน ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร
 วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม 73000
 โทรศัพท์ 0 3425 5800 โทรสาร 0 3425 5801
 E-mail: opanasopit_p@su.ac.th

ประวัติการศึกษา

- ปริญญาตรี ภ.บ. (เกียรตินิยม) เภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ปีที่จบ 2535
- ปริญญาโท ภ.ม. เภสัชอุตสาหกรรม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีที่จบ 2537
- ปริญญาเอก Ph.D. (Pharmaceutical Technology) Kyoto University ประเทศญี่ปุ่น
 ปีที่จบ 2545

รางวัลเกี่ยวกับงานวิจัยที่ได้รับ

ปี พ.ศ.	ชื่อรางวัล	หน่วยงานที่ให้
2543	รางวัลนักเรียนที่มีผลงานวิจัยดีเด่นในงาน Millennial world congress of pharmaceutical sciences. San Francisco, USA.	ผู้จัดการประชุม Millennial World Congress of Pharmaceutical Sciences
2548	รางวัลศิษย์เก่าดีเด่น ด้านวิชาการในวาระครบรอบ 20 ปี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร	คณะเภสัชศาสตร์ม.ศิลปากร และชมรม ศิษย์เก่าคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัย ศิลปากร
2550	รางวัลผลงานวิจัยดีประจำปี 2550	สถาบันวิจัยและพัฒนามหาวิทยาลัย ศิลปากร
2551	รางวัลผลงานวิจัยดีพิมพ์ดีเด่น ประจำปี 2551 (Nagai Award Thailand 2008) ในสาขา Pharmaceutical Sciences ในงานการประชุม เสนอผลงานวิจัยทางเภสัชศาสตร์ประจำปี 2551 (ครั้งที่ 25) ในวันที่ 2 ธันวาคม 2551	คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย
2552	รางวัลผลงานวิจัยดีประจำปี 2552	สถาบันวิจัยและพัฒนามหาวิทยาลัย ศิลปากร
2552	รางวัลนักศึกษาเก่าดีเด่น ประเภทผู้ส่งเสริม การศึกษาวิชาการ ประจำปี 2552 ในวันที่ 12 ตุลาคม 2552	สถาบันวิจัยและพัฒนามหาวิทยาลัย ศิลปากร
2552	รางวัลนักวิจัยรุ่นใหม่ดีเด่น สาขาวิทยาศาสตร์ ชีวภาพ ประจำปี 2552 เรื่อง “นาโนเทคโนโลยี สำหรับนำส่งยาหรือสารชีวภาพสู่เป้าหมาย” ในงาน ประชุม “นักวิจัยรุ่นใหม่ พบ...เมธีวิจัยอาวุโส” ระหว่างวันที่ 15-17 ตุลาคม 2552	สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา (สกอ) และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว)
2552	รางวัลผลงานวิจัยดี สาขาวิทยาศาสตร์เคมีและเภสัช	สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ปี พ.ศ.	ชื่อรางวัล	หน่วยงานที่ให้
	ประจำปี 2552 เรื่อง “การพัฒนาระบบตัวพาสนิคใหม่สำหรับนำส่งยีนโดยใช้อนุพันธ์ของโคโคซาน”	
2557	รางวัลผลงานวิจัยดีประจำปี 2557	สถาบันวิจัยและพัฒนามหาวิทยาลัยศิลปากร
2558	รางวัลผลงานวิจัยเงินทุนช่วยเหลือการวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จากมูลนิธิไทรเรเพื่อการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ ประเทศไทย ครั้งที่ 22 พ.ศ. 2558 เรื่อง Natural product-based drug discovery and development for treatment of anticancer drug-induced toxicity	มูลนิธิไทรเรเพื่อการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ประเทศไทย
2559	รางวัล FAPA Ishidate Award ปี 2016 สาขา Pharmaceutical Research	The Federation of Asian Pharmaceutical Associations (FAPA)

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารวิชาการ (2012-2016)

1. Prasert Akkaramongkolporn, Tanasait Ngawhirunpat, Praneet Opanasopit. Evaluating polarcirlex resin as direct compression filler for theophylline tablets. *Int J Pharm Pharm Sci*, (2012) 4(1), 478-481.
2. Todsapon Nitanan, Praneet Opanasopit, Prasert Akkaramongkolporn, Theerasak Rojanarata, Tanasait Ngawhirunpat, Pitt Supaphol. Effects of processing parameters on morphology of electrospun polystyrene nanofibers. *The Korean Journal of Chemical Engineering*. (2012) 29(2) 173-181. (IF 0.8).
3. Akhayacatra Chinsriwongkul, Ponwanit Chareanputtakhun, Tanasait Ngawhirunpat, Theerasak Rojanarata, Warisada Sila-on, Uracha Ruktanonchai and Praneet Opanasopit. Nanostructured lipid carriers (NLC) for parenteral delivery of an anticancer drug. *AAPS PharmSciTech*, (2012) March 13 (1) 150-158. (IF 1.211).
4. Natthan Charernsriwilaiwat, Praneet Opanasopit, Theerasak Rojanarata and Tanasait Ngawhirunpat. In vitro antioxidant activities of chitosan aqueous solution: effect of salt form. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. (2012) 11 (2): 235-242 (IF 0.5).
5. Natthan Charernsriwilaiwat, Praneet Opanasopit, Theerasak Rojanarata, Tanasait, Ngawhirunpat. Lysozyme-loaded, electrospun chitosan-based nanofiber mats for wound healing. *Int. J. Pharm.* (2012) 427 (2012) 379– 384. (IF 3.607).
6. Wipada Samprasit, Praneet Opanasopit, Prasert Akkaramongkolporn, Tanasait Ngawhirunpat, Kaewnapa Wongsermsin, and Suwannee Panomsuk. Preparation and evaluation of taste-masked dextromethorphan oral disintegrating tablet. *Pharmaceutical Development and Technology*, 2012, 17(3): 315–320. (IF 1.107)

7. Kaewnapa Wongsermsin, Praneet Opanasopit, Tanasait Ngawhirunpat and Prasert Akkaramongkolporn. Preparation and characterization of a novel mixed functional cationic exchange copolymer microsphere as drug carrier. *Advanced Materials Research*. 2012, Vols. 476-478, 2288-2291.
8. N. Worachun, P. Opanasopit, T. Rojanarata, T. Ngawhirunpat. Development of ketoprofen microemulsion for transdermal drug delivery. *Advanced Materials Research*. 506 (2012) pp 441-444.
9. W. Samprasit, P. Opanasopit, T. Rojanarata, T. Ngawhirunpat, P. Akkaramongkolporn. The influence of cyclodextrin and pH on the solubility of ketoprofen. *Advanced Materials Research*. 506 (2012) pp 433-436
10. N. Charensriwilaiwat, P. Opanasopit, T. Rojanarata, T. Ngawhirunpat. Preparation of chitosan-thiamine pyrophosphate/polyvinyl alcohol blend electrospun nanofibers. *Advanced Materials Research*. 506 (2012) pp 118-121.
11. J. Kowapradit, P. Opanasopit, T. Rojanarata, T. Ngawhirunpat, A. Apirakaramwong, W. Sajomsang. Application of methylated n-(4-n,n dimethylaminocinnamyl) chitosan for oral protein drug delivery. *Advanced Materials Research*. 506 (2012) pp 465-468.
12. Duangjit, P. Opanasopit , T. Rojanarata, T. Ngawhirunpat. Effect of surfactants on characteristic and in vitro release of meloxicam loaded in deformable liposomes. *Advanced Materials Research*. 506 (2012) pp 457-460.
13. N. Wonglertnirant, S. Tipwichai, P. Opanasopit, T. Rojanarata, S. Panomsuk, T. Ngawhirunpat. Development of acrylic matrix type ketoprofen patch. *Advanced Materials Research*. 506 (2012) pp 533-536
14. P. Chareanputtakhun, T. Rojanarata, P. Opanasopit, T. Ngawhirunpat. Development of NLCs for topical at ras applications. *Advanced Materials Research*. 506 (2012) pp 162-165.
15. O. Paecharoenchai, N. Niyomtham, A. Apirakaramwong, B. Yingyongnarongkul, P. Opanasopit. effect of acyl chain length of spermine derivatives on transfection efficiency. *Advanced Materials Research*. 506 (2012) pp 445-448
16. T. Nitanan, P. Akkaramongkolporn, T. Rojanarata, T. Ngawhirunpat, P. Opanasopit. Effect of crosslinking time on ion exchange capacity of polystyrene nanofiber ion exchangers. *Advanced Materials Research*. 506 (2012) 437-440.
17. T. Suksamran, T. Rojanarata, T. Ngawhirunpat, S. Panomsuk, P. Opanasopit. Chitosan coated alginate microparticles for oral vaccine delivery. *Advanced Materials Research*. 2012, 506: 469-472.
18. S. Plianwong, K. Su-utha, P. Opanasopit, T. Ngawhirunpat, T. Rojanarata. Factors Influencing The Morphology of Cellulose Acetate Electrospun Fiber Mats. *Advanced Materials Research* Vol. 506 (2012) pp 242-245
19. S. Panomsuk, S. Indis, P. Panyasaroj, S. Chootrakulwattana, P. Opanasopit, T. Rojanarata. Oral Bases Containing Centella asiatica Extract: Formulations and

Evaluations. *Advanced Materials Research* Vol. 506 (2012) pp 501-504

20. A. Apirakaramwong, P. Pamonsinlapatham, S. Techaarpornkul, P. Opanasopit, S. Panomsuk, W. Soksawatmaekhin. Mechanisms of Cellular Uptake with Chitosan/DNA Complex in Hepatoma Cell Line. *Advanced Materials Research*. Vol. 506 (2012) pp 485-488
21. Prasert Akkaramongkolporn, Tanasait Ngawhirunpat and Praneet Opanasopit. Evaluation of a Weakly Cationic Exchange Poly(Methacrylic Acid-Co-Divinylbenzene) Resin as Filler-Binder for Direct Compression Tablets. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. (2012) 13 (3): 371-378 (IF 0.82)
22. Jariya Kowapradit, Auayporn Apirakaramwong, Tanasait Ngawhirunpat, Theerasak Rojanarata, Warayuth Sajomsang and Praneet Opanasopit. Methylated N-(4-N,N-dimethylaminobenzyl) chitosan coated liposomes for oral protein drug delivery. *Eur. J. Pharm. Sci.* (2012) 47, 359-366. (IF 3.291).
23. Thirapit Subongkot, Sureewan Duangjit, Theerasak Rojanarata, Praneet Opanasopit, Tanasait Ngawhirunpat. Ultradeformable liposomes with terpenes for delivery of hydrophilic Compound. *Journal of Liposome Research*. 2012, 22(3): 254-262 (IF 1.823)
24. Tanasait Ngawhirunpat, Supinya Thipwichai, Praneet Opanasopit, Theerasak Rojanarata and Suwannee Panomsuk. Development and Evaluation of Ketoprofen Acrylic Transdermal Patches. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. (2012) August; 13 (4): 553-560. (IF 0.82)
25. Samarwadee Plianwong, Areerut Sripattanaporn, Kwanrutai Waewsang, Parin Buacheen, Praneet Opanasopit, Tanasait Ngawhirunpat, Theerasak Rojanarata. Operator care and eco-concerned development of a fast, facile and economical assay for basic nitrogenous drugs based on simplified ion-pair mini-scale extraction using safer solvent combined with drop-based spectrophotometry. *Talanta* 98 (2012) 220-225. impact factor 3.794
26. Orapan Paecharoenchai, Nattisa Niyomtham, Auayporn Apirakaramwong, Tanasait Ngawhirunpat, Theerasak Rojanarata, Boon-ek Yingyongnarongkul and Praneet Opanasopit. Effect of cationic lipids structure on gene transfection mediated by cationic liposomes. *AAPS PharmSciTech*. 2012, 13 (4) December, 1302-1308. (IF 1.432).
27. Tittaya Suksamran, Jariya Kowapradit, Tanasait Ngawhirunpat, Theerasak Rojanarata, Warayuth Sajomsang, Tasana Pitaksuteepong and Praneet Opanasopit. Oral Methylated N-aryl chitosan derivatives for inducing immune responses to ovalbumin. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. (2012) 12 (6): 899-908. (IF 0.82)
28. Orapan Paecharoenchai, Auayporn Apirakaramwong, Tanasait Ngawhirunpat, Theerasak Rojanarata, Boon-ek Yingyongnarongkul and Praneet Opanasopit.

- Cationic niosomes composed of spermine-based cationic lipid mediate high gene transfection. *Journal of Drug Targeting*. (2012) Nov;20(9):783-92. (IF 2.696).
29. Sureewan Duangjit, Yasuko Obata, Hiromu Sano, Shingo Kikuchi, Yoshinori Onuki, Praneet Opanasopit, Tanasait Ngawhirunpat, Yoshie Maitani, and Kozo Takayama. Menthosomes, novel ultradeformable vesicles for transdermal drug delivery: optimization and characterization. *Biol Pharm Bull*. 2012;35(10):1720-8. (2012:IF 1.657).
 30. Warayuth Sajomsang, Pattarapond Gonil, Uracha Rungsardthong Ruktanonchai, Maleenart Petchsangai, Praneet Opanasopit, Satit Puttipipatkachorn. Effects of molecular weight and pyridinium moiety on water-soluble chitosan derivatives for mediated gene delivery. *Carbohydrate polymers*. (2013) 91(2):508-17. (2012:IF 3.628).
 31. Thirapit Subongkot, Nanthida Wonglertnirant, Pucharee Songprakhon, Theerasak Rojanarata, Praneet Opanasopit, Tanasait Ngawhirunpat. Visualization of ultradeformable liposomes penetration pathways and their skin interaction by confocal laser scanning microscopy. *Int J Pharm*. 441 (2013) 151– 161 (2012: IF 3.350).
 32. Duangjit S, Opanasopit P, Rojanarata T, Ngawhirunpat T. Evaluation of Meloxicam-Loaded Cationic Transfersomes as Transdermal Drug Delivery Carriers. *AAPS PharmSciTech*. 2013 Mar;14(1):133-40. (2012: IF 1.432).
 33. Todsapon Nitanan, Prasert Akkaramongkolporn, Theerasak Rojanarata, Tanasait Ngawhirunpat, Praneet Opanasopit. Thermally crosslinkable poly (styrene sulfonic acid-co-maleic acid) (PSSA-MA)/polyvinyl alcohol (PVA) ion exchange fibers. *Polymer bulletin*. (2013) April 70:1431-1444. (2012: IF 1.532)
 34. Tittaya Suksamran, Tanasait Ngawhirunpat, Theerasak Rojanarata, Warayuth Sajomsang, Tasana Pitaksuteepong, Praneet Opanasopit. Methylated N-(4-N,N-dimethyl aminocinnamyl) chitosan-coated electrospray OVA-loaded microparticles for oral vaccination. *Int. J. Pharm*. May 448 (2013) 19– 27 (2012: IF 3.350).
 35. Todsapon Nitanan, Prasert Akkaramongkolporn, Theerasak Rojanarata, Tanasait Ngawhirunpat, Praneet Opanasopit. Neomycin-loaded poly(styrene sulfonic acid-co-maleic acid) (PSSA-MA)/polyvinyl alcohol (PVA) ion exchange nanofibers for wound dressing materials. *Int. J. Pharm*. May 448 (2013) 71– 78 (2012: IF 3.350).
 36. Theerasak Rojanarata, Samarwadee Plianwong, Kosit Su-uta, Praneet Opanasopit, Tanasait Ngawhirunpat. Electrospun cellulose acetate nanofibers as thin layer chromatographic media for eco-friendly screening of steroids adulterated intraditional medicine and nutraceutical products. *Talanta*. Oct 115(2013)208–213. (2012:IF 3.794)
 37. Plianwong S, Opanasopit P, Ngawhirunpat T, Rojanarata T. Fast, facile and ethidium bromide-free assay based on the use of adsorption indicator for the estimation of

- polyethylenimine to nucleic acid ratio of complete polyplex assembly for gene delivery. *Talanta*. 2013 Oct 15;115:241-5. (2012:IF 3.794)
38. Todsapon Nitanan, Prasert Akkaramongkolporn, Tanasait Ngawhirunpat, Theerasak Rojanarata, Suwannee Panomsuk and Praneet Opanasopit. Fabrication and evaluation of cationic exchange nanofibers for controlled drug delivery systems. *Int J. Pharm.* June 450 (2013) 345– 353 (2012:IF 3.350).
 39. Tonglairoum P, Chaijaroenluk W, Rojanarata T, Ngawhirunpat T, Akkaramongkolporn P, Opanasopit P. Development and characterization of propranolol selective molecular imprinted polymer composite electrospun nanofiber membrane. *AAPS PharmSciTech*. 2013 Jun;14(2):838-46. (2012:IF 1.584).
 40. Samarwadee Plianwong, Praneet Opanasopit, Tanasait Ngawhirunpat, and Theerasak Rojanarata. Chitosan Combined with Poly-L-arginine as Efficient, Safe, and Serum-Insensitive Vehicle with RNase Protection Ability for siRNA Delivery. *BioMed Research International*. 2013, June Article ID 574136, 9 p. (2012:IF 2.436)
 41. Winotapun W, Opanasopit P, Ngawhirunpat T, Rojanarata T. One-enzyme catalyzed simultaneous plant cell disruption and conversion of released glycoside to aglycone combined with in situ product separation as green one-pot production of genipin from gardenia fruit. *Enzyme Microb Technol*. 2013 Jul 10;53(2):92-6. (2012:IF 2.367)
 42. Natthan Charernsriwilaiwat, Theerasak Rojanarata, Tanasait Ngawhirunpat, Monrudee Sukma and Praneet Opanasopit. Electrospun chitosan—based nanofiber mats loaded with *Garcinia mangostana* extracts. *Int J Pharm*. 2013. Aug.452; 333– 343 (2013:IF 3.458).
 43. Praneet Opanasopit, Warisada Sila-on, Theerasak Rojanarata. Tanasait Ngawhirunpat. Fabrication and properties of capsicum extract-loaded PVA and CA nanofiber patches. *Pharmaceutical Development and Technology*. 2013; Sep-Oct. 15(5) 1140-1147. (2012:IF 1.333).
 44. Thisirak Woraphatphadung, Jariya Kowapradit, Tanasait Ngawhirunpat, Theerasak Rojanarata and Praneet Opanasopit. Effect of salt forms of chitosan on in vitro permeability enhancement in intestinal epithelial cells (Caco-2). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. August 2013; 12 (4): 495-501. (2013 IF 0.5)
 45. Tanasait Ngawhirunpat, Narumon Worachun, Praneet Opanasopit, Theerasak Rojanarata, and Suwannee Panomsuk. Cremophor RH40-PEG 400 microemulsions as transdermal drug delivery carrier for ketoprofen. *Pharmaceutical Development and Technology*. 2013, 18(4): 798–803 (2013IF 1.333)
 46. Wipada Samprasit, Theerasak Rojanarata, Prasert Akkaramongkolporn, Tanasait Ngawhirunpat, Warisada Sila-on, Praneet Opanasopit. Improvement of drug loading into ion exchange resin by cyclodextrin inclusion complex. *Drug Development and*

- Industrial Pharmacy*. 2013, Nov;39(11):1672-80. (IF 2013 = 1.539).
47. Sureewan Duangjit, Praneet Opanasopit, Theerasak Rojarata, Yasuko Obata, Yoshinori Oniki, Kozo Takayama and Tanasait Ngawhirunpat. The Role of Deformable Liposome Characteristics on Skin Permeability of Meloxicam: Optimal Transfersome as Transdermal Delivery Carriers. *The Open Conference Proceedings Journal*, 2013, 4, 87-92
 48. Orapan Paecharoenchai, Lesheng Teng, Bryant C Yung, Lirong Teng, Praneet Opanasopit and Robert J Lee. Nonionic surfactant vesicles for delivery of RNAi therapeutics. *Nanomedicine*. 2013;8 (11):1865–1873. (IF 5.26)
 49. Ponwanit Chareanputtakhun, Praneet Opanasopit, Theerasak Rojanarata and Tanasait Ngawhirunpat. All-trans retinoic acid (ATRA)-loaded lipid nanoparticles as a dermal drug delivery carrier. *Pharmaceutical Development and Technology*. 2014 Mar;19(2):164-72. (2013 IF 1.333)
 50. Prasopchai Tonglairoum, Tudduo Chuchote, Tanasait Ngawhirunpat, Theerasak Rojanarata, and Praneet Opanasopit. Encapsulation of plai oil/2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complexes in polyvinylpyrrolidone (PVP) electrospun nanofibers for topical application. *Pharmaceutical Development and Technology*. 2014; 19(4):430-437. (IF 1.333)
 51. Sureewan Duangjit, Yasuko Obata, Hiromu Sano, Yoshinori Onuki, Praneet Opanasopit, Tanasait Ngawhirunpat, Tsubasa Miyoshi, Satoru Kato, and Kozo Takayama. Comparative Study of Novel Ultradeformable Liposomes: Mentosomes, Transfersomes and Liposomes for Enhancing Skin Permeation of Meloxicam. *Biol. Pharm. Bull.* (2014).37(2) 239-247 (2013 IF 1.849)
 52. Ponwanit Charoenputtakun, Boonnada Pamornpathomkul, Praneet Opanasopit, Theerasak Rojanarata, and Tanasait Ngawhirunpat. Terpene Compositated Lipid Nanoparticles for Enhanced Dermal Delivery of All-trans-Retinoic Acids. *Biol Pharm Bull*. 2014 Jul 1;37(7):1139-48. (2013 IF 1.849)
 53. Warayuth Sajomsang, Pattarapond Gonil, Uracha Rungsardthong Ruktanonchai, Maleenart Petchsangai, Praneet Opanasopit, Satit Puttipipatkachorn. Effect of N-pyridinium positions of quaternized chitosan on transfection efficiency in gene delivery system. *Carbohydrate Polymers*. 104 (2014) 17–22. (2013:IF 3.479).
 54. Natthan Charernsriwilaiwat, Theerasak Rojanarata, Tanasait Ngawhirunpat and Praneet Opanasopit. Electrospun chitosan/polyvinyl alcohol nanofiber mats for wound healing. *International Wound Journal*. 2014; 11:215–222. (IF 2013= 1.6).
 55. Todsapon Nitanan, Prasert Akkaramongkolporn, Theerasak Rojanarata, Tanasait Ngawhirunpat, Praneet Opanasopit. Optimization of the production process for polystyrene nanofiber ion exchangers. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2014; 13 (2): 191-197. (2013 IF 0.5)

56. Orapan Paecharoenchai, Nattisa Niyomtham, Tanasait Ngawhirunpat, Theerasak Rojanarata, Boon-ek Yingyongnarongkul and Praneet Opanasopit. Non-ionic surfactant vesicles composed of novel spermine-derivative cationic lipids as an effective gene carrier in vitro. *AAPS PharmSciTech*. 2014 Jun;15(3):722-30. (2013:IF 1.584).
57. Siraprapa Chansatidkosol, Praneet Opanasopit, Tanasait Ngawhirunpat, Prasert Akkaramongkolporn. Polacrilin resin as multifunctional direct compression filler for paracetamol tablets optimized by box-behnken design. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. Vol 6, Suppl 2, 804-807 2014.
58. Sureewan Duangjit, Boonnada Pamornpathomkul, Praneet Opanasopit, Theerasak Rojanarata, Yasuko Obata, Kozo Takayama, Tanasait Ngawhirunpat. Role of the charge, carbon chain length, and content of surfactant on the skin penetration of meloxicam-loaded liposomes. *Int J Nanomedicine*. 2014 Apr 29;9:2005-2017. (2013:IF 3.463).
59. Thirapit Subongkot, Boonnada Pamornpathomkul, Theerasak Rojanarata, Praneet Opanasopit, Tanasait Ngawhirunpat. Investigation of the mechanism of enhanced skin penetration by ultradeformable liposomes. *Int J Nanomedicine*. 2014 Jul 25;9:3539-50. (2013:IF 3.463).
60. Ponwanit Charoenputtakun, Boonnada Pamornpathomkul, Praneet Opanasopit, Theerasak Rojanarata, and Tanasait Ngawhirunpat. Terpene Compositated Lipid Nanoparticles for Enhanced Dermal Delivery of All-trans-Retinoic Acids. *Biol Pharm Bull*. 2014 Jul 1;37(7):1139-48. (IF 1.849).
61. Pattarapond Gonil, Warayuth Sajomsang, Uracha Rungsardthong Ruktanonchai, Preeyawis Na Ubol, Alongkot Treetong, Praneet Opanasopit, and Satit Puttipipatkachorn. Synthesis and Fluorescence Properties of N-Substituted 1-Cyanobenz[f]isindole Chitosan Polymers and Nanoparticles for Live Cell Imaging. *Biomacromolecules*. 2014 Aug 11;15(8):2879-88. (IF 5.788).
62. Maleenart Petchsangsa, Theerasak Rojanarata, Praneet Opanasopit, and Tanasait Ngawhirunpat. The combination of microneedles with electroporation and sonophoresis to enhance hydrophilic macromolecule skin penetration. *Biol Pharm Bull*. 2014 Aug 1;37(8):1373-82. (IF 1.849).
63. Duangjit S, Opanasopit P, Rojanarata T, Takayama J, Takayama K, Ngawhirunpat T. Bootstrap Resampling Technique to Evaluate the Reliability of the Optimal Liposome Formulation: Skin Permeability and Stability Response Variables. *Biol Pharm Bull*. 2014. Sep 37(9) 1543-1549 (IF 1.849).
64. Nattisa Niyomtham, Nuttapon Apiratikul, Kanyarat Chanchang, Praneet Opanasopit and Boon-ek Yingyongnarongkul. Synergistic Effect of Cationic Lipids with Different Polarheads, Central Core Structures and Hydrophobic Tails on Gene Transfection Efficiency. *Biol Pharm Bull*. 2014. Sep 37(9) 1534-1542 (IF 1.849).

65. Prasopchai Tonglairoum, Tanasait Ngawhirunpat, Theerasak Rojanarata, Ruchadaporn Kaomongkolgit and Praneet Opanasopit. Fast acting-clotrimazole composited PVP/HP β CD nanofibers for oral candidiasis application. *Pharm Res.* 2014. 31:1893–1906. (2013 IF 4.346)
66. Samprasit W, Opanasopit P, Sukma M, Kaomong-Kolgit R. Antibacterial activity of *Garcinia mangostana* extracts on oral pathogens. *Minerva Stomatol.* 2014 Jul-Aug;63(7-8):249-57.
67. Weecharangsan W, Opanasopit P, Yingyongnarongkul BE, Kewsuwan P, Lee RJ. Co-delivery of plasmid DNA and antisense oligodeoxyribonucleotide into human carcinoma cells by cationic liposomes. *Curr Pharm Biotechnol.* 2014;15(9):790-799.
68. Rangsimawong W, Opanasopit P, Rojanarata T, Ngawhirunpat T. Terpene-Containing PEGylated Liposomes as Transdermal Carriers of a Hydrophilic Compound. *Biol Pharm Bull.* 2014 Dec 1;37(12):1936-43.
69. Tonglairoum P, Ngawhirunpat T, Rojanarata T, Kaomongkolgit R, Opanasopit P. Fabrication of a novel scaffold of clotrimazole-microemulsion-containing nanofibers using an electrospinning process for oral candidiasis applications. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2015; 126:18-25. (2013 ค่า 4.287)
70. Tidjarat S, Winotapun W, Opanasopit P, Ngawhirunpat T, Rojanarata T. Uniaxially aligned electrospun cellulose acetate nanofibers for thin layer chromatographic screening of hydroquinone and retinoic acid adulterated in cosmetics. *J Chromatogr A.* 2014 Nov 7;1367:141-7.
71. Prasert Akkaramongkolporn, Nistakan Pattarakan, Praneet Opanasopit, Tanasait Ngawhirunpat, Theerasak Rojanarata. Evaluation of Anionic Exchange Resins as Potential Tablet Disintegrants. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research.* 2014; 13 (10): 1585-1592. (IF 0.8).
72. Niyomtham N, Apiratikul N, Suksen K, Opanasopit P, Yingyongnarongkul BE. Synthesis and in vitro transfection efficiency of spermine-based cationic lipids with different central core structures and lipophilic tails. *Bioorg Med Chem Lett.* 2015 Feb 1;25(3):496-503. 2.331
73. Samprasit W, Kaomongkolgit R, Sukma M, Rojanarata T, Ngawhirunpat T, Opanasopit P. Mucoadhesive electrospun chitosan-based nanofibre mats for dental caries prevention. *Carbohydr Polym.* 2015 Mar 6;117:933-40. (3.916)
74. Thisirak Woraphatphadung, Warayuth Sajomsang, Pattarapond Gonil, Somsak Saesoo, Praneet Opanasopit Synthesis and characterization of pH-responsive N-naphthyl-N,O-succinyl chitosan micelles for oral meloxicam delivery. *Carbohydrate Polymers* 121 (2015) 99–106 (3.916)
75. Wipada Samprasit, Prasert Akkaramongkolporn, Tanasait Ngawhirunpat, Theerasak Rojanarata, Ruchadaporn Kaomongkolgit, Praneet Opanasopit. Fast releasing oral electrospun PVP/CD nanofiber mats of taste-masked meloxicam *International*

Journal of Pharmaceutics. 487 (2015) 213–222. (IF 3.785).

76. Wipada Samprasit, Prasert Akkaramongkolporn, Tanasait Ngawhirunpat, Theerasak Rojanarata, and Praneet Opanasopit. Formulation and evaluation of meloxicam oral disintegrating tablet with dissolution enhanced by combination of cyclodextrin and ion exchange resins. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2015 Jun;41(6):1006-16 (IF 2013 = 1.539).
77. Prasopchai Tonglairoum, Tanasait Ngawhirunpat, Theerasak Rojanarata, Suwanee Panomsuk, Ruchadaporn Kaomongkolgit, Praneet Opanasopit, Fabrication of mucoadhesive chitosan coated polyvinylpyrrolidone/cyclodextrin/clotrimazole sandwich patches for oral candidiasis. *Carbohydrate Polymers* 132 (2015) 173–179.
78. Wipada Samprasit, Theerasak Rojanarata, Prasert Akkaramongkolporn, Tanasait Ngawhirunpat and Praneet Opanasopit. Reused cyclodextrin as a new way to deliver and enhance drug loading onto ion exchange resin. *Pharmaceutical Development and Technology*. 2015; 20(7): 827–838.
79. Prasopchai Tonglairoum, Tanasait Ngawhirunpat, Theerasak Rojanarata, Praneet Opanasopit. Lysozyme-immobilized electrospun PAMA/PVA and PSSA-MA/PVA ion-exchange nanofiber for wound healing. *Pharmaceutical Development and Technology*. 2015; 20(8): 976–983.
80. Prasopchai Tonglairoum and Praneet Opanasopit. Effect of Nutrient Formulations on Permeation of Proteins and Lipids through Porcine Intestine In vitro. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* July 2015; 14 (7): 1161-1166
81. Michael T. Cook, Sarah A. Schmidt, Eunyoung Lee, Wipada Samprasit, Praneet Opanasopit, and Vitaliy V. Khutoryanskiy. Synthesis of mucoadhesive thiol-bearing microgels from 2-(acetylthio) ethylacrylate and 2-hydroxyethylmethacrylate: novel drug delivery systems for chemotherapeutic agents to the bladder. *Journal of Materials Chemistry B*. 2015,3, 6599-6604 (4.726)
82. Wipada Samprasit, Theerasak Rojanarata, Prasert Akkaramongkolporn, Tanasait Ngawhirunpat, Ruchadaporn Kaomongkolgit, Praneet Opanasopit. Fabrication and In Vitro/In Vivo Performance of Mucoadhesive Electrospun Nanofiber Mats Containing alfa-Mangostin. *AAPS PharmSciTech*. 2015
83. Rangsimawong W, Opanasopit P, Rojanarata T, Ngawhirunpat T. Mechanistic study of decreased skin penetration using a combination of sonophoresis with sodium fluorescein-loaded PEGylated liposomes with d-limonene. *Int J Nanomedicine*. 2015 Dec 15;10:7413-23.
84. Woraphatphadung T, Sajomsang W, Gonil P, Treetong A, Akkaramongkolporn P, Ngawhirunpat T, Opanasopit P. pH-Responsive polymeric micelles based on amphiphilic chitosan derivatives: Effect of hydrophobic cores on oral meloxicam delivery. *Int J Pharm*. 2016 Jan 30;497(1-2):150-60.
85. Duangjit S, Chairat W, Opanasopit P, Rojanarata T, Panomsuk S, Ngawhirunpat T.

- Development, Characterization and Skin Interaction of Capsaicin-Loaded Microemulsion-Based Nonionic Surfactant. *Biol Pharm Bull.* 2016;39(4):601-10.
86. Duangjit S, Chairat W, Opanasopit P, Rojanarata T, Ngawhirunpat T. Application of Design Expert for the investigation of capsaicin-loaded microemulsions for transdermal delivery. *Pharmaceutical Development and Technology.* 2016; 21(6): 698–705.
 87. Worranan Rangsimawong, Praneet Opanasopit, Theerasak Rojanarata, Sureewan Duangjit, and Tanasait Ngawhirunpat. Skin Transport of Hydrophilic Compound-Loaded PEGylated Lipid Nanocarriers: Comparative Study of Liposomes, Niosomes, and Solid Lipid Nanoparticles. *Biol. Pharm. Bull.* 39, 1254–1262 (2016).
 88. Natthan Charernsriwilaiwat, Theerasak Rojanarata, Tanasait Ngawhirunpat and Praneet Opanasopit. Aligned electrospun polyvinyl pyrrolidone/poly-caprolactone blend nanofiber mats for tissue engineering. *International Journal of Nanoscience.* 2016;15(1) 1650005 (1-7).
 89. Prasopchai Tonglairoum, Tanasait Ngawhirunpat, Theerasak Rojanarata, Ruchadaporn Kaomongkolgit and Praneet Opanasopit. Fabrication and evaluation of nanostructured herbal oil/hydroxypropyl- β -cyclodextrin/polyvinylpyrrolidone mats for denture stomatitis prevention and treatment. *AAPS PharmSciTech.* 2016;17 (6):1441-1449.
 90. Prasopchai Tonglairoum, Ruairi P. Brannigan, Praneet Opanasopit, Vitaliy V. Khutoryanskiy. Maleimide-bearing nanogels as novel mucoadhesive materials for drug delivery. *J. Mater. Chem. B*, 2016, 4, 6581-6587.
 91. Opanasopit P, Leksantikul L, Niyomtham N, Rojanarata T, Ngawhirunpat T, Yingyongnarongkul B. Cationic niosomes an effective gene carrier composed of novel spermine-derivative cationic lipids: effect of central core structures. *Pharmaceutical Development and Technology.* 2015 Dec 27:1-10.
 92. Prasopchai Tonglairoum, Thisirak Woraphatphadung, Tanasait Ngawhirunpat, Theerasak Rojanarata, Prasert Akkaramongkolporn, Warayuth Sajomsang and Praneet Opanasopit. Development and evaluation of N-naphthyl-N, O-succinyl chitosan micelles containing clotrimazole for oral candidiasis treatment. *Pharmaceutical Development and Technology.* 2016.
 93. Rangsimawong W, Opanasopit P, Rojanarata T, Panomsuk S, Ngawhirunpat T. Influence of sonophoresis on transdermal drug delivery of hydrophilic compound-loaded lipid nanocarriers. *Pharm Dev Technol.* 2016 Aug 4:1-27.