สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การวิเคราะห์หาปริมาณกรดโอเลอิก ไลโนเลอิกและไลโนเลนิกในน้ำมันพืชบริโภคโดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟ

T107902

นางสาวขวัญชนก ศรีประเสริฐ
นางสาวจันทร์เพ็ญ รูปทอง

ว/ว
ป 9617
2550

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 107902
วัน,เดือน,ปี 8 ส.ค. 2553

b 12213111
i.....

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์
ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Determination of oleic acid, linoleic acid and linolenic acid in Edible oil by Gas Chromatography

Miss Kwanchanok Sriprasert

Miss Chunpen Rooptong

A Special Project Submitted in partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of Bachelor of Science

Department of Chemistry

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2007

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษ	การวิเคราะห์ปริมาณกรดโอเลอิก ไลโนเลอิกและไลโนเลนิกในน้ำมันพืชบริโภค โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟ
นักศึกษา	นางสาวขวัญชนก ศรีประเสริฐ นางสาวจันทร์เพ็ญ รูปทอง
ภาควิชา	เคมี คณะวิทยาศาสตร์
สาขาวิชา	เคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์
ปีการศึกษา	2550
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ. คณิตา ตังคณานุรักษ์

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ	**ลายมือชื่อ**
ประธานกรรมการ ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ	.....
กรรมการ ผศ. นงนุช เภตรานุวัฒน์	.....
กรรมการ รศ. คณิตา ตังคณานุรักษ์	.....

.....

(ผศ.ดร.ชลอ จารุสิทธิรักษ์)

หัวหน้าภาควิชาเคมี

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษ	การวิเคราะห์ปริมาณกรดโอเลอิก ไลโนเลอิกและไลโนเลนิกในน้ำมันพืชบริโภค โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟ
นักศึกษา	นางสาวขวัญชนก ศรีประเสริฐ นางสาวจันทร์เพ็ญ รูปทอง
ภาควิชา	เคมี คณะวิทยาศาสตร์
สาขาวิชา	เคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์
ปีการศึกษา	2550
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.คณิตา ตังคณานุรักษ์

บทคัดย่อ

น้ำมันพืชบริโภคมีองค์ประกอบหลักคือ กรดไขมัน ซึ่งมีทั้งกรดไขมันที่ก่อให้เกิดผลดีต่อร่างกาย และกรดไขมันที่ก่อให้เกิดผลเสียต่อร่างกาย จึงทำให้คุณภาพของน้ำมันพืชบริโภคเปลี่ยนแปลงไปตามปริมาณของกรดไขมันชนิดต่างๆที่มีอยู่ในน้ำมันพืช ดังนั้นโครงงานนี้มีจุดมุ่งหมายที่จะตรวจวัดปริมาณกรดไขมันในน้ำมันพืช โดยทำให้อยู่ในรูปของอนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันแล้วนำไปตรวจวัดด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์คือคอลัมน์ PERMABOND FFAP (25 ม. × 0.25 มม.) ตั้งอุณหภูมิแบบโปรแกรมอุณหภูมิ ใช้ฮีเลียมเป็นเฟสเคลื่อนที่ อัตราการไหล 1 มล./นาที ทำการตรวจวัดด้วยเฟลมไอออไนเซชันดีเทคเตอร์ โดยเมทิลโอเล-เอต เมทิลไลโนเลเอต เมทิลไล-โนเลเนต ใช้เวลาในการวิเคราะห์ 8.83 9.15 และ 9.59 นาที ตามลำดับ สำหรับการตรวจสอบความใช้ ได้ของวิธีวิเคราะห์พบว่า ความเที่ยงของวิธี ซึ่งบ่งบอกได้ด้วยค่าร้อยละของของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพันธ์ ซึ่งค่าร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพันธ์ของกรดไขมันในการทำซ้ำ 3.9416 , 3.5347 และ4.4838 สำหรับเมทิลโอเลเอต เมทิลไลโนเลเอต เมทิลไลโนเลเนตตามลำดับ และค่าร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพันธ์ในการทำซ้ำระหว่างวัน 3.7076, 3.364 และ3.7720 สำหรับเมทิลโอเลเอต เมทิลไลโนเลเอต เมทิลไลโนเลเนตตามลำดับ สำหรับการศึกษาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์พบว่าค่าร้อยละการคืนกลับมีค่า 99.36 92.89 และ 83.64 สำหรับเมทิลโอเลเอต เมทิลไลโนเลเอต เมทิลไลโนเลเนตตามลำดับ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์มีค่า 0.9958, 0.9962 และ 0.9975 สำหรับเมทิลโอเลเอต เมทิลไลโนเลเอต เมทิลไลโนเลเนตตามลำดับ ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดมีค่า 27.09 , 27.25 และ 29.95 สำหรับเมทิลโอเล-เอต เมทิลไลโนเลเอต เมทิลไลโนเลเนตตามลำดับและขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณโดยมีความถูกต้องและความเที่ยงที่ยอมรับได้มีค่า 34.23 , 34.03 และ 37.83 สำหรับเมทิลโอเลเอต เมทิลไลโนเลเอต เมทิลไลโนเลเนตตามลำดับ

จากที่ได้กล่าวมาแล้ว บ่งชี้ว่าวิธีนี้เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพให้ผลที่เชื่อถือได้ และเมื่อวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันในน้ำมันพืชบริโภคพบว่า มีปริมาณกรดโอเลอิกอยู่ในช่วง 96.06 – 350.95 mg/g มีปริมาณกรดไลโนเลอิกอยู่ 54.93 – 462.40 mg/g และมีปริมาณกรดไลโนเลนิกอยู่ในช่วง 3.43 – 66.91 mg/g

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	Determination of oleic acid, linoleic acid and linolenic acid in edible oils by gas chromatography
Name	Miss Kwanchanok Sriprasert
	Miss Chunpen Rooptong
Department	Chemistry
Programe	Industrial Chemistry-Analytical Instrumentation
Academic Year	2007
Special Project Advisor	Assoc. Prof. Kanita Tangkananuruk

ABSTRACT

Edible oils had basis component were fatty acid which have advantage and disadvantage for health then quality of edible oils have vary follow quantity of fatty acid in edible oils. Therefore, this special project had a purpose to determine fatty acid in edible oils by derivatized fatty acid as fatty acid methyl ester and determined by gas chromatography. Chromatographic separation were performed on PERMABOND FFAP column (25 m × 0.25 mm ID) set at temperature programming, using helium as mobile phase, flowrate at 1 mL/min and detected by flam ionization detector. Methyl oleate, methyl linoleate and methyl linolenate were separated and determined at 8.83, 9.15 and 9.59 min respectively. This analytical method was validated. The repeatability were 3.9416, 3.5347 and 4.4838 for methyl oleate, methyl linoleate and methyl linolenate respectively. The reproducibility were 3.7076, 3.364 and 3.7720 for methyl oleate, methyl linoleate and methyl linolenate respectively. The percent recovery were 99.36, 92.89 and 83.64 for methyl oleate, methyl linoleate and methyl linolenate respectively. The regression coefficient (R^2) were 0.9958, 0.9962 and 0.9975 for methyl oleate, methyl linoleate and methyl linolenate respectively. The limit of detection were 27.09, 27.25 and 29.95 for methyl oleate, methyl linoleate and methyl linolenate respectively. The limit of quantitation were 34.23, 34.03 and 37.83 for methyl oleate, methyl linoleate and methyl linolenate respectively. These figures of merit indecated the validity of these method six brands of commercial edible oils were determined. The values of the quantity of oleic acid obtained were 96.06 – 350.95 mg/g, linoleic acid were 54.93 – 462.40 mg/g and linolenic were 3.43 – 66.91 mg/g

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การจัดทำโครงงานพิเศษนี้ สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี สืบเนื่องมาจากความร่วมมือ การได้รับการดูแลเอาใจใส่ ช่วยเหลือ แนะนำ และความกรุณาของทุกๆท่าน ทั้งอาจารย์ที่ปรึกษา คณะกรรมการ และผู้ที่เกี่ยวข้องแก่ผู้จัดทำ ที่กรุณาติดตาม ตรวจสอบดูแลเอาใจใส่เป็นอย่างดี และแก้ไขโครงงานพิเศษฉบับนี้จนสำเร็จไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ รศ. คณิตา ตังคณานุรักษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานที่ให้คำปรึกษา ช่วยแก้ไขปัญหา ดูแลเอาใจใส่ ให้ความช่วยเหลือในการทำโครงงานพิเศษนี้เป็นอย่างดีมาตลอด

ขอขอบพระคุณ ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำและผศ.นงนุช เภตรานุวัฒน์ อาจารย์คณะกรรมการตรวจสอบโครงงานพิเศษที่ให้ความกรุณาแก้ไขโครงงานพิเศษให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น และ เจ้าหน้าที่ภาคเคมีทุกท่านที่คอยช่วยเหลือให้การทำโครงงานพิเศษนี้ดำเนินไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องธุรการ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาเคมี รวมทั้งแม่บ้านที่ได้คอยให้ความช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกในทุกๆด้าน

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อคุณแม่ผู้เป็นที่รักและเคารพอย่างสูง พี่น้องทุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือสนับสนุนด้านทุนทรัพย์ และคอยเป็นกำลังใจให้ความเข้าใจเสมอมา ตลอดจนเพื่อน ๆ ทุกคน รุ่นพี่ นักศึกษาปริญญาโท ที่คอยช่วยเหลือ ให้คำปรึกษา ให้กำลังใจมาโดยตลอด พร้อมทั้งให้ข้อเสนอแนะ ที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่ง

นางสาวขวัญชนก ศรีประเสริฐ
นางสาวจันทร์เพ็ญ รูปทอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย		**ก**
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ		**ข**
กิตติกรรมประกาศ		**ค**
สารบัญ		**ง**
สารบัญตาราง		**ฉ**
สารบัญรูป		**ช**
บทที่ 1	**บทนำ**	1
	1.1 ความเป็นมาของโครงงานพิเศษ	2
	1.2 วัตถุประสงค์	2
	1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
	1.4 ขั้นตอนการวิจัยและวิธีดำเนินงาน	2
	1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2	**ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**	4
	2.1 น้ำมันพืช	4
	2.2 กรดไขมัน	7
บทที่ 3	**วิธีการดำเนินงานวิจัย**	14
	3.1 สารเคมีและอุปกรณ์	14
	3.2 วิธีการดำเนินงานวิจัย	14
บทที่ 4	**ผลการทดลองและการอภิปราย**	19
	4.1 กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน	19
	4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันที่มีอยู่ในน้ำมันพืชบริโภค	22
	4.3 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี	23
บทที่ 5	**สรุปและข้อเสนอแนะ**	26
เอกสารอ้างอิง		28
ภาคผนวก		
	ภาคผนวก ก. แสดงผลการวิเคราะห์	29
	ภาคผนวก ข. แสดงผลการทดลอง	45
	ภาคผนวก ค. เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ	53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 2.1	แสดงคุณสมบัติของน้ำมันพืชชนิดต่างๆ	6
ตารางที่ 2.2	แสดงปริมาณกรดไขมันชนิดต่างๆ	12
ตารางที่ 4.1	แสดงความเข้มข้น (mg/L) และพื้นที่ใต้พีกของสารมาตรฐาน เมทิลโอเลเอต	19
ตารางที่ 4.2	แสดงความเข้มข้น (mg/L) และพื้นที่ใต้พีกของสารมาตรฐาน เมทิลไลโนเลเอต	20
ตารางที่ 4.3	แสดงความเข้มข้น (mg/L) และพื้นที่ใต้พีกของสารมาตรฐาน เมทิลโอเลเนต	21
ตารางที่ 4.4	แสดงผลการวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมัน ในน้ำมันพืชบริโภค	22
ตารางที่ 4.5	แสดงค่าเฉลี่ยของร้อยละของการเบี่ยงเบน มาตรฐานสัมพัทธ์ของการตรวจวัดสารมาตรฐาน	23
ตารางที่ 4.6	แสดงค่าเฉลี่ยของร้อยละของการเบี่ยงเบน มาตรฐานสัมพัทธ์ ของการตรวจวัดสารตัวอย่าง	23
ตารางที่ 4.7	แสดงค่าร้อยละการคืนกลับของปริมาณกรดไขมัน ในน้ำมันพืชบริโภค	24
ตารางที่ ก.1	แสดงความเข้มข้น (mg/L) และพื้นที่ใต้พีกของสารมาตรฐาน เมทิลโอเลเอต	29
ตารางที่ ก.2	แสดงความเข้มข้น (mg/L) และพื้นที่ใต้พีกของสารมาตรฐาน เมทิลไลโนเลเอต	29
ตารางที่ ก.3	แสดงความเข้มข้น (mg/L) และพื้นที่ใต้พีกของสารมาตรฐาน เมทิลโอเลเนต	30
ตารางที่ ก.4	แสดงผลการวิเคราะห์หาปริมาณกรดโอเลอิกในน้ำมันพืชบริโภค	31
ตารางที่ ก.5	แสดงผลการวิเคราะห์หาปริมาณกรดไลโนเลอิกในน้ำมันพืชบริโภค	33
ตารางที่ ก.6	แสดงผลการวิเคราะห์หาปริมาณกรดไลโนเลนิกในน้ำมันพืชบริโภค	35
ตารางที่ ก.7	แสดงค่า Repeatability ของการวิเคราะห์สารมาตรฐาน	37
ตารางที่ ก.8	แสดงค่า Repeatability ของการวิเคราะห์สารตัวอย่าง F (ทานตะวัน)	38
ตารางที่ ก.9	แสดงค่า Reproducibility ของการวิเคราะห์สารมาตรฐาน	39
ตารางที่ ก.10	แสดงค่า Reproducibility ของการวิเคราะห์สารตัวอย่าง	40
ตารางที่ ก.11	แสดงผลการวัดหาปริมาณกรดไขมันจำเป็นใน originaled sample กับ spiked sample และค่า %Recovery จากการวิเคราะห์ตัวอย่างยีห้อ F(ทานตะวัน)	41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่ ก.12 แสดงผลการวัดความเข้มข้นของสารละลายแบลงค์ของกรดโอเลอิก 42
ตารางที่ ก.13 แสดงผลการวัดความเข้มข้นของสารละลายแบลงค์ของกรดไลโนเลอิก 43
ตารางที่ ก.14 แสดงผลการวัดความเข้มข้นของสารละลายแบลงค์ของกรดไลโนเลนิก 43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ

		หน้า
รูปที่ 2.1	แสดงสูตรโครงสร้างของกรดไขมัน	7
รูปที่ 2.2	แสดงสูตรโครงสร้างของกรดบิวทาโนอิก	8
รูปที่ 2.3	แสดงสูตรโครงสร้างของกรดสเตียริก	8
รูปที่ 2.4	แสดงสูตรโครงสร้างของกรดโอเลอิก	9
รูปที่ 2.5	แสดงสูตรโครงสร้างของกรดไลโนเลอิก	9
รูปที่ 2.6	แสดงสูตรโครงสร้างของกรดไลโนเลนิก	10
รูปที่ 2.7	แสดงสูตรโครงสร้างของกรดไลโนเลอิก	11
รูปที่ 2.8	แสดงสูตรโครงสร้างของกรดโอเลอิก	11
รูปที่ 2.9	แสดงปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ริฟิเคชัน	13
รูปที่ 4.1	แสดงกราฟมาตรฐานเมทิลโอเลเอต	19
รูปที่ 4.2	แสดงกราฟมาตรฐานเมทิลไลโนเลเอต	20
รูปที่ 4.3	แสดงกราฟมาตรฐานเมทิลไลโนเลเนต	21
รูปที่ ข.1	โครมาโทแกรมของสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน ตัวอย่างยี่ห้อ A (ปาล์ม)	45
รูปที่ ข.2	โครมาโทแกรมของสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน ตัวอย่างยี่ห้อ B (ปาล์ม)	45
รูปที่ ข.3	โครมาโทแกรมของสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน ตัวอย่างยี่ห้อ C (ปาล์ม)	46
รูปที่ ข.4	โครมาโทแกรมของสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน ตัวอย่างยี่ห้อ A (ถั่วเหลือง)	46
รูปที่ ข.5	โครมาโทแกรมของสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน ตัวอย่างยี่ห้อ D (ถั่วเหลือง)	47
รูปที่ ข.6	โครมาโทรแกรมของสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน ตัวอย่างยี่ห้อ E (ถั่วเหลือง)	47
รูปที่ ข.7	โครมาโทรแกรมของสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน ตัวอย่างยี่ห้อ A (ทานตะวัน)	48
รูปที่ ข.8	โครมาโทรแกรมของสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน ตัวอย่างยี่ห้อ C (ทานตะวัน)	48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ(ต่อ)

		หน้า
รูปที่ ข.9	โครมาโทรแกรมของสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน ตัวอย่างยี่ห้อ F (ทานตะวัน)	49
รูปที่ ข.10	โครมาโทรแกรมของสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน ตัวอย่างยี่ห้อ E (รำข้าว)	49
รูปที่ ข.11	โครมาโทรแกรมของสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน ตัวอย่างยี่ห้อ G (รำข้าว)	50
รูปที่ ข.12	โครมาโทรแกรมของสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน ตัวอย่างยี่ห้อ E (ข้าวโพด)	50
รูปที่ ข.13	โครมาโทรแกรมของสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน ตัวอย่างยี่ห้อ F (ข้าวโพด)	51
รูปที่ ข.14	โครมาโทรแกรมของสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันผสม	51
รูปที่ ข.15	โครมาโทรแกรมของสารละลายแบลงค์	52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงการ

น้ำมันพืชบริโภคเป็นสิ่งสำคัญในการประกอบอาหารทั่วไปทุกครัวเรือน ในทุกวันจะมีผู้บริโภคน้ำมันพืชชนิดต่างๆไม่ต่ำกว่า 85 เปอร์เซ็นต์ของประชากรทั้งหมดของประเทศไทยและรวมถึงทั่วโลก

น้ำมันพืช (vegetable oil) คือน้ำมันที่ผลิตได้จากพืชชนิดต่างๆซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นพืชที่มีไขมันสูง เช่น ถั่วลิสง ถั่วเหลือง เมล็ดดอกทานตะวัน ดอกคำฝอย ปาล์มน้ำมัน มะพร้าว รำข้าว ข้าวโพด องค์ประกอบหลักของน้ำมันพืช คือ กรดไขมันซึ่งมีหลักเกณฑ์ในการแบ่งประเภทของกรดไขมัน 2 แบบ คือ แบบที่ 1. แบ่งตามความจำเป็นต่อร่างกาย ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กรดไขมันจำเป็น(essential fatty acid, EFA) และกรดไขมันไม่จำเป็น(nonessential fatty acid) กรดไขมันจำเป็นคือกรดไขมันที่ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ได้เอง จำเป็นต้องได้รับจากการบริโภคเข้าไป มีความสำคัญต่อเมแทบอลิซึมที่ปกติ ได้แก่ กรดไลโนเลอิก (linoleic acid) กรดไลโนเลนิก (linolenic acid) และ กรดอะราคิโดนิก (arachidonic acid) พบมากในน้ำมันพืชยกเว้นน้ำมันมะพร้าว และในน้ำมันปลา ส่วนกรดไขมันไม่จำเป็น คือกรดไขมันที่ร่างกายสามารถสังเคราะห์ได้เอง เช่น กรดโอเลอิก (oleic acid) พบมากที่สุดในไขมันสัตว์ เอสเทอร์ของกรดไขมันอิ่มตัวที่ตับ และเนื้อเยื่อไขมัน การแบ่งแบบที่ 2. คือแบ่งตามความอิ่มตัวของโครงสร้าง แบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acid) และกรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) กรดไขมันอิ่มตัวหมายถึงกรดไขมันที่มีธาตุคาร์บอนต่อกันด้วยพันธะเดี่ยวเท่านั้น เช่น กรดบิวทาโนอิก (butanoic acid) กรดลอริก (lauric acid) กรดไมริสติก(myristic acid) กรดปาล์มิติก (palmitic acid) กรดสเตียริก (stearic acid) การรับประทานอาหารที่มีไขมันชนิดอิ่มตัวจะทำให้ไขมันในเลือดสูงและเป็นปัจจัยเสี่ยงของโรคหลอดเลือดตีบ แหล่งอาหารของไขมันอิ่มตัวได้แก่ น้ำมัน ปาล์ม กะทิ เนย นม เนื้อแดง ส่วนกรดไขมันไม่อิ่มตัวคือกรดไขมันที่มีธาตุคาร์บอนต่อกันด้วยพันธะคู่อยู่ในสูตรโครงสร้างด้วย เช่น กรดโอเลอิก กรดไลโนเลอิก และกรดไลโนเลนิก พบมากในน้ำมันปลาแซลมอน น้ำมันเมล็ดพันธ์บอเรจ น้ำมันอีฟนิ่งพริมโรส น้ำมันจมูกข้าวสาลี เนื่องจากการรับประทานอาหารไขมันประเภทนี้ทดแทนไขมันอิ่มตัวจะช่วยลดระดับ LDL Cholesterol ซึ่งเป็นไขมันที่ไม่ดีก่อให้เกิดโรคหลอดเลือดตีบ แต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงระดับของ HDL Cholesterol ที่เป็นไขมันที่ดีในร่างกาย น้ำมันพืชตามท้องตลาดมีปริมาณสัดส่วนของกรดทั้งสองชนิดแตกต่างกัน จึงทำให้คุณสมบัติของน้ำมันพืชแต่ละชนิดแตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นจึงเป็นที่มาในการศึกษาปริมาณของกรดโอเลอิก กรดไลโนเลอิก และกรดไลโนเลนิก ในน้ำมันพืชชนิดต่างๆที่มีทั่วไปตามท้องตลาด โดยการนำน้ำมันพืชมาทำปฏิกิริยาทางเคมีและทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟ จึงจะสามารถหาปริมาณของสารทั้งสามออกมาและนำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบคุณสมบัติของน้ำมันพืชแต่ละชนิดได้เนื่องจากกรดไขมันจำเป็นคือตัวกำหนดคุณสมบัติของน้ำมันพืชบริโภค เพื่อใช้ในการตัดสินใจเลือกบริโภคน้ำมันพืชที่มีขายตามท้องตลาดให้เกิดประโยชน์สูงสุด

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1. เพื่อตรวจวัดปริมาณของกรดโอเลอิก กรดไลโนเลอิก และกรดไลโนเลนิก ในน้ำมันพืชบริโภคชนิดต่างๆใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟในการตรวจวัดปริมาณกรดไขมัน

2. เพื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดไขมันทั้ง 3 ชนิดในน้ำมันพืชบริโภคที่ผลิตได้จากวัตถุดิบต่างกัน

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

ตรวจวัดปริมาณกรดไขมัน 3 ชนิดคือกรดโอเลอิก กรดไลโนเลอิก และกรดไลโนเลนิก ในน้ำมันพืชที่เตรียมจากวัตถุดิบชนิดต่างๆ โดยการเตรียมเป็นอนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์ และตรวจวัดด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟ และใช้หลักทางสถิติในการประเมินข้อมูล

1.4 ขั้นตอนการทำวิจัยและดำเนินงาน

1. สืบค้นแหล่งข้อมูลที่เกี่ยวข้อง
2. ศึกษาหาวิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสม
3. เตรียมสารเคมี อุปกรณ์ และเครื่องมือ
4. เตรียมสารอนุพันธุ์กรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ของสารละลายมาตรฐานกรดไขมันทั้ง 3 ชนิด และของน้ำมันพืชบริโภคตัวอย่าง
5. ตรวจวัดปริมาณสารละลายมาตรฐานกรดไขมันทั้ง 3 ชนิด ที่ความเข้มข้นต่างๆกัน และสร้างกราฟมาตรฐาน
6. ตรวจวัดปริมาณกรดไขมันจำเป็นทั้ง 3 ชนิด ในสารอนุพันธุ์กรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันพืชบริโภคที่ผลิตได้จากวัตถุดิบต่างกัน
7. การประเมินผลโดยใช้หลักทางสถิติและสรุปผล
8. เขียนรายงานการวิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทำให้ทราบถึงปริมาณของกรดไขมันทั้ง 3 ชนิดในน้ำมันพืชบริโภคชนิดต่างๆ
2. เป็นข้อมูลเพื่อใช้ในการตัดสินใจเลือกบริโภคน้ำมันพืชที่มีจำหน่ายในท้องตลาด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการที่เกี่ยวข้อง

2.1 น้ำมันพืช

น้ำมันพืชที่ใช้ในการบริโภคส่วนใหญ่จะผลิตจากเมล็ดพืชที่มีไขมันสูง เช่น ถั่วเหลือง ข้าวโพด งา รำ ฯลฯ วิธีสกัดน้ำมันพืชคือ บีบน้ำมัน แล้วใช้ตัวทำละลายสกัด หลังจากนั้นก็นำสารที่ได้ไปกำจัดกลิ่น ฟอกสี เพื่อให้ได้น้ำมันที่บริสุทธิ์ องค์ประกอบหลักของน้ำมันพืช คือ กรดไขมัน ซึ่งหลักเกณฑ์ในการแบ่งประเภทของกรดไขมันมี 2 แบบ คือ แบบที่ 1. แบ่งตามความอิ่มตัวของโครงสร้าง แบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acid) และกรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) การแบ่งแบบที่ 2. แบ่งตามความจำเป็นต่อร่างกาย ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กรดไขมันจำเป็น (essential fatty acid, EFA) และกรดไขมันไม่จำเป็น (nonessential fatty acid) น้ำมันพืชตามท้องตลาดมีปริมาณสัดส่วนของกรดไขมันจำเป็นและกรดไขมันไม่จำเป็นแตกต่างกัน จึงทำให้คุณสมบัติของน้ำมันพืชแต่ละชนิดแตกต่างกัน สารที่บ่งบอกคุณภาพของน้ำมันพืชบริโภคคือกรดไขมันจำเป็น

ลักษณะน้ำมันพืชที่ดี

1. ไม่มีกลิ่นหืน
2. ใส ปราศจากตะกอน
3. สีเหลืองพอประมาณ
4. มีกรดไขมันจำเป็นปริมาณสูง
5. มีโลหะหนักหรือสารพิษปนเปื้อนน้อยที่สุด

น้ำมันเมล็ดดอกทานตะวัน (sunflower oil) ในเมล็ดดอกทานตะวันนั้นอุดมไปด้วยน้ำมันและวิตามินอี น้ำมันที่ได้จากเมล็ดทานตะวันจะมีกรดไลโนเลอิกสูงถึง 44-75 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความจำเป็นต่อร่างกาย สามารถป้องกันการแข็งตัวของเลือดในหลอดเลือด ป้องกันโรคหลอดเลือดหัวใจ ส่วนวิตามินอีจะทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ คอยดักจับ และทำลายของเสียที่จะมาทำลายเซลล์ต่างๆ ช่วยให้ผิวพรรณเต่งตึง ลดไขมันในเส้นเลือด ป้องกันการเกิดมะเร็ง บำรุงสายตา ป้องกันการเป็นหมัน การแท้ง และป้องกันเนื้อเยื่อปอดถูกทำลายจากอากาศ นอกจากนี้ยังมีกรดไขมัน CLA (Conjugated Acid) คือกรดไขมันที่ร่างกายไม่สามารถผลิตเองได้ มีประโยชน์ในการเร่งการเผาผลาญไขมันที่สะสมตามส่วนต่างๆ ของร่างกาย โดยเพิ่มโฮโมนที่ช่วยกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ที่ช่วยในการเผาผลาญไขมันสะสมมาใช้เป็นพลังงานอย่างเต็มที่ พร้อมทั้งลดปริมาณการเกิดไขมันสะสมที่จะเกิดใหม่ด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำมันถั่วเหลือง (soybean oil) ได้จากการนำเมล็ดถั่วเหลืองมาสกัดน้ำมันโดยใช้ตัวทำละลายแล้วนำไปฟอกสีและกำจัดกลิ่น น้ำมันถั่วเหลืองจัดได้ว่าเป็นน้ำมันพืชที่มีคุณค่าทางอาหารสูง น้ำมันถั่วเหลืองนับว่ามีความสำคัญ เพราะเป็นน้ำมันที่คุณภาพดี มีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูง ซึ่งช่วยลดคอเลสเตอรอลไม่ดีได้ ยิ่งกว่านั้นในเมล็ดถั่วเหลืองยังมีโปรตีนสูง น้ำมันถั่วเหลืองสำหรับบริโภคที่จำหน่ายมีทั้งน้ำมันถั่วเหลือง 100% และน้ำมันถั่วเหลืองผสมกับน้ำมันพืชสำหรับบริโภคชนิดอื่น นิยมใช้ในการปรุงอาหาร ทำน้ำมันสกัด และเนยเทียม หาซื้อได้ทั่วไป

น้ำมันข้าวโพด (corn oil) น้ำมันข้าวโพด เป็นน้ำมันที่มีประโยชน์มากอีกชนิดหนึ่ง จากการศึกษาพบว่า น้ำมันที่ได้จากเมล็ดข้าวโพดมีปริมาณกรดไลโนเลอิก มากกว่าปริมาณกรดไลโนเลนิก ที่พบในปลาถึง 60 เท่า

น้ำมันรำข้าว คือ น้ำมันพืชที่ผลิตจากน้ำมันรำข้าวดิบซึ่งสกัดจากรำข้าว โดยการบีบด้วยเครื่องจักร และสกัดด้วยตัวทำลายได้เป็นน้ำมันดิบ เมื่อผ่านกรรมวิธีแยกน้ำ กำจัดกรด ฟอกสี และกำจัดกลิ่น มีคุณลักษณะสมควรที่จะนำมาบริโภค ในส่วนของรำข้าวอาจมีน้ำมันอยู่ 15-20 เปอร์เซ็นต์ น้ำมันข้าวเป็นน้ำมันที่มีคุณภาพดี องค์ประกอบของกรดไขมันที่สำคัญในน้ำมันข้าวคือ กรดโอเลอิก 40-50 เปอร์เซ็นต์, กรดไลโนเลอิก 20-42เปอร์เซ็นต์ และ กรดปาล์มิติก 12-18 เปอร์เซ็นต์ ในน้ำมันข้าวยังมี ฟอสฟาไทด์ ประมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันพืชชนิดอื่น และยังมีสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น วิตามินอี ในกลุ่มโทโคฟีรอลประมาณ 19-40 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มโทโคไตรอีนอล 51-81เปอร์เซ็นต์ และโอรีซานอล (Oryzanol)ซึ่งสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าวิตามินอีถึง 6 เท่า น้ำมันรำข้าวเหมาะสำหรับผู้ที่ต้องการลดคอเลสเตอรอลที่ไม่ดี (LDL-C)

น้ำมันปาล์ม (palm oil) ได้จากเนื้อของผลปาล์มน้ำมัน น้ำมันปาล์มสำหรับบริโภคจะมีอยู่ 3 ประเภท คือ น้ำมันปาล์มธรรมชาติ น้ำมันปาล์มผ่านกรรมวิธี และน้ำมันปาล์มโอเลอีนผ่านกรรมวิธี น้ำมันปาล์มในท้องตลาดที่เป็นขวดใสนั้น เป็นน้ำมันจากเนื้อนอกของปาล์ม ซึ่งมีกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวสูงถึง 50 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีกรดไขมันที่อิ่มตัวซึ่งทำให้เส้นเลือดอุดตัน น้ำมันปาล์มเก็บได้นานกว่าน้ำมันถั่วเหลืองโดยไม่มีกลิ่นหืน ถ้าเก็บในที่มีอุณหภูมิเย็น น้ำมันจะขุ่น แต่น้ำมันไม่เสื่อมคุณภาพ เมื่อวางไว้ที่อุณหภูมิห้องน้ำมันจะใสเหมือนเดิม ซึ่งน้ำมันปาล์มเหมาะกับการทอดเพราะมีจุดเดือดสูงกว่า ทำให้เกิดอนุมูลอิสระที่เป็นสารก่อมะเร็งน้อยกว่าน้ำมันถั่วเหลือง เพราะมีสารมีสารเบต้าแคโรทีนและวิตามินอี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 คุณสมบัติน้ำมันพืชที่จำหน่ายในท้องตลาดโดยทั่วไปและยี่ห้อน้ำมันพืช

ชนิดน้ำมันพืช	คุณสมบัติ	ยี่ห้อน้ำมันพืช
น้ำมันถั่วเหลือง	จัดเป็นน้ำมันราคาถูกที่มีคุณภาพสูงเมื่อเทียบกับน้ำมันข้าวโพด กล่าวคือ น้ำมันถั่วเหลืองมีกรดไขมันไม่อิ่มตัว อยู่ในปริมาณที่สูง ประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ โดยเฉพาะกรดไลโนเลอิก มีสูงถึงประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ กรดไลโนเลอิกนี้เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน จะช่วยลดปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือด รวมทั้งปริมาณโทโคฟีรอล หรือวิตามินอี ที่มีอยู่ในน้ำมันถั่วเหลืองประมาณ 400 mg/kg. ซึ่งสารนี้ทำให้เกิดวิตามินอี และยังทำหน้าที่เป็นสารกันหืนโดยธรรมชาติ	องุ่น, กุ๊ก, ทิพ, มรกต, หยก, ชิม
น้ำมันปาล์มโอเล-อิน	เป็นน้ำมันปาล์มที่ได้จากการผ่านกรรมวิธีที่รู้จักและใช้กันอย่างแพร่หลาย น้ำมันปาล์มโอเลอีนมีกรดไขมันไม่อิ่มตัว คือ กรดโอเลอิก อยู่ประมาณ 45 เปอร์เซ็นต์ และ กรดไลโนเลอิก 10 เปอร์เซ็นต์ น้ำมันปาล์มเป็นแหล่งของวิตามินอี สารโทโคฟีรอล และไทโคไตรอีนอล มีในน้ำมันปาล์มโอเลอีนประมาณ 500-600 mg/kg. ในการศึกษากับสัตว์ทดลองพบว่า สารทั้งสองจะป้องกันและต่อต้านการเกิดมะเร็ง ทำให้มีภูมิคุ้มกันต่อโรคดิดต่อต่าง ๆ โดยเฉพาะโทโคไตรอีออลทำให้เกิดโคเลสเตอรอลในตับและในเซรุ่มลดลง	มรกต, แวว, โอลิน
น้ำมันข้าวโพด	เป็นแหล่งของกรดไขมันไม่อิ่มตัว คือกรด โอเลอิก มีปริมาณคอเลสเตอรอลประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ และกรดไลโนเลอิก ประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ นักวิจัยพบว่า น้ำมันข้าวโพดมีปริมาณคอเลสเตอรอลอยู่ในระดับต่ำเมื่อเทียบกับน้ำมันทานตะวัน น้ำมันปาล์ม และมีปริมาณคอเรสเตอรอลใกล้เคียงหรือเท่ากับปริมาณคอเรสเตอรอล ในน้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันจากเมล็ดฝ้าย ส่วนปริมาณโทโคฟีรอล พบว่าน้ำมันข้าวโพดมีปริมาณ 800 mg/kg.	องุ่น, ทิพย์, ชิม
น้ำมันทานตะวัน	น้ำมันทานตะวันเป็นน้ำมันเพื่อสุขภาพชนิดหนึ่ง และได้ถูกใช้อย่างแพร่หลาย ใช้เป็นน้ำมันสลัด ใช้ในขนมอบและเป็นน้ำมันที่ใช้ทอด น้ำมันทานตะวันเป็นน้ำมันที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง โดยเฉพาะกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน ที่มีประโยชน์ในการช่วยลดปริมาณคอเลสเดอรอล น้ำมันทานตะวันเป็นแหล่งของกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว คือกรดไลโนเลอิกมีปริมาณ 60 เปอร์เซ็น ซึ่งเป็นกรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกายและมีวิตามินอีสูงประมาณ 350 mg/kg.	กุ๊ก, มรกต, หยก,ชิม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำมันรำข้าว (Rice bran oil)	สกัดได้จากรำข้าวที่มีคุณค่าทางอาหารสูง คืออุดมไปด้วยไขมัน โปรตีน แร่ธาตุ และวิตามินชนิดต่าง ๆ โดยมีปริมาณน้ำมันประมาณ 17 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัว (กรดไลโนเลอิกและกรดโอเลอิก) ประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์	ชิม,ดิง

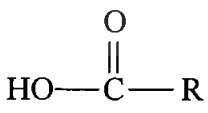
การผลิตน้ำมันพืช มีวิธีการดังนี้

การบีบน้ำมัน เป็นการบีบน้ำมันออกจากเมล็ดพืชโดยใช้ความดันสูง วิธีทำในขั้นแรกคือ นำเมล็ดพืชที่ต้องการสกัดไปล้างให้สะอาด ปอกเปลือกออก แล้วนำไปบด ต่อจากนั้นนำไปผ่านความร้อนเพื่อให้ไขมันบางส่วนออกจากเซลล์ได้ง่ายขึ้น ต่อมาก็นำไปเข้าเครื่องบีบน้ำมัน ซึ่งมีความดันสูงเป็นตัวบีบเซลล์ให้แตกจนมีน้ำมันไหลออกมา เมื่อน้ำมันหมดจึงแยกส่วนที่เป็นกากออก

การใช้ตัวทำละลาย เป็นการสกัดน้ำมันออกจากพืชเช่นเดียวกัน การทำน้ำมันถั่วเหลืองมักใช้วิธีนี้ มีวิธีการในการสกัดคือ ทำให้เมล็ดพืชเป็นแผ่นบางๆ แล้วนำไปแช่ในตัวทำละลาย ที่นิยมใช้คือ อีเทอร์ ไฮโดรคาร์บอนที่มีคลอรีนเป็นส่วนประกอบ เฮกเซน และคาร์บอนได-ซัลไฟด์ เมื่อละลายไขมันออกมาแล้ว ก็จะแยกตัวทำละลายออกจากน้ำมันโดยการระเหย

2.2 กรดไขมัน

กรดไขมันเป็นการเรียงตัวของธาตุคาร์บอน (carbon ,C) กรดไขมันส่วนมากมีจำนวนอะตอมคาร์บอน C_{12} - C_{18} โดยที่ปลายด้านหนึ่งเป็น methyl group อีกด้านหนึ่งเป็น carboxyl group ความยาวของคาร์บอนหากมีความยาวน้อยกว่า 6 อะตอมเรียก short chain fatty acid หากมีคาร์บอนมากกว่า 12 อะตอมเรียก long chain fatty acid กรดไขมันเป็นอาหารของกล้ามเนื้อ หัวใจ อวัยวะภายในร่างกาย กรดไขมันส่วนที่เหลือใช้จะถูกสะสมในรูปไตรกลีเซอร์ไรด์ (ใช้กรดไขมัน 3 ตัว รวมกับกลีเซอร์รอล) ซึ่งจะสะสมเป็นไขมันในร่างกาย กรดไขมันไม่ละลายน้ำ มีจุดเดือดและจุดหลอมเหลวสูงขึ้นตามจำนวนคาร์บอนอะตอมที่เพิ่มขึ้น และกรดไขมันอิ่มตัวมีจุดเดือดสูงกว่า กรดไขมันไม่อิ่มตัว ที่มีมวลโมเลกุลใกล้เคียงกัน



ภาพที่ 2.1 สูตรโครงสร้างของกรดไขมัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดไขมันมีหลักเกณฑ์ในการแบ่งประเภท 2 แบบ ดังนี้

1. แบ่งตามความอิ่มตัวของโครงสร้าง แบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acid) และกรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid)

1.1 กรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acid) หมายถึงกรดไขมันที่มีธาตุคาร์บอนต่อกันด้วยพันธะเดี่ยว เท่านั้น เช่น กรดบิวทาโนอิก (butanoic acid) กรดลอริก (lauric acid) กรดไมริสติก (myristic acid) กรดปาล์มิติก (palmitic acid) กรดสเตียริก (stearic acid) กรดไขมันชนิดนี้จะมีสถานะอันเฉื่อยในกระบวนการเคมีของร่างกาย ถ้าไม่ถูกย่อยไปใช้เป็นพลังงานก็มีแนวโน้มที่จะตกตะกอนในหลอดเลือด ทำให้ไขมันในเลือดสูง เกิดความเสี่ยงที่จะอุดตันในหลอดเลือดได้ เป็นต้นเหตุของโรคความดันโลหิตสูง หัวใจและสมองขาดเลือด เป็นอัมพฤกษ์ อัมพาต ฯลฯ แหล่งอาหารของไขมันอิ่มตัวได้แก่ กะทิ เนย นม เนื้อแดง

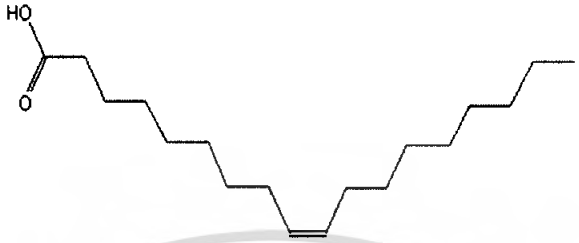
รูปที่ 2.2 สูตรโครงสร้างของกรดบิวทาโนอิก

รูปที่ 2.3 สูตรโครงสร้างของกรดสเตียริก

1.2 กรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) คือกรดไขมันที่มีธาตุคาร์บอนต่อกันด้วยพันธะคู่อยู่ในสูตรโครงสร้างทำให้มีความว่องไวในปฏิกิริยาทางเคมีพร้อมที่จะเปิดรับปฏิกิริยาต่าง ๆ ด้านหนึ่งก็เป็นประโยชน์แก่ร่างกาย การบริโภคไขมันชนิดนี้จะช่วยให้ คอเลสเตอรอลในเลือดลดลงแต่อีกด้านหนึ่งก็พร้อมที่จะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกลายเป็นอนุมูลอิสระตัวก่อปัญหาทางสุขภาพด้วย เช่น กรดโอเลอิก กรดไลโนเลอิก และกรดไลโนเลนิก พบมากในน้ำมันปลาแซลมอน น้ำมันเมล็ดพันธ์บอเรจ น้ำมันอิฟนิ่งพริมโรส น้ำมันจมูกข้าวสาลี การรับประทานกรดไขมันประเภทนี้ทดแทนไขมันอิ่มตัวจะช่วยลดระดับ LDL Cholesterol ซึ่งเป็นไขมันที่ไม่ดีก่อให้เกิดโรคหลอดเลือดตีบ กรดไขมันไม่อิ่มตัวยังสามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2.1 กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (monounsaturated) เป็นกรดไขมันที่มีธาตุคาร์บอนต่อกันด้วยพันธะคู่เพียงหนึ่งตำแหน่ง เช่น กรดโอเลอิก อาหารที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว ได้แก่ อะโวคาโด มะกอก น้ำมันคาโนวา ถั่วลิสง



รูปที่ 2.4 สูตรโครงสร้างของกรดโอเลอิก

1.2.2 กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (polyunsaturated) หมายถึงกรดไขมันที่มีธาตุคาร์บอนต่อกันด้วยพันธะคู่อยู่หลายตำแหน่ง หากรับประทานแทนไขมันอิ่มตัวจะไม่เพิ่มระดับไขมันในร่างกาย อาหารที่มีไขมันชนิดนี้คือ น้ำมันพืชทั้งหลายเช่น น้ำมันข้าวโพด น้ำมันดอกทานตะวัน น้ำมันถั่วเหลือง

รูปที่ 2.5 สูตรโครงสร้างของกรดไลโนเลอิก

2. แบ่งตามความจำเป็นต่อร่างกาย ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กรดไขมันจำเป็น(essential fatty acid, EFA) และกรดไขมันไม่จำเป็น(nonessential fatty acid)

2.1 กรดไขมันจำเป็น คือกรดไขมันที่ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ได้เอง จำเป็นต้องได้รับจากการบริโภคเข้าไป มีความสำคัญต่อเมแทบอลิซึมที่ปกติ ได้แก่ กรดไลโนเลอิก (linoleic acid) กรดไลโนเลนิก (linolenic acid) และ กรดอะราคิโดนิก (arachidonic acid) พบมากในน้ำมันพืชยกเว้นน้ำมันมะพร้าว และในน้ำมันปลา

กรดไลโนเลนิก (linolenic acid) กรดไลโนเลนิกเป็นไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนที่มีธาตุคาร์บอน 18 ตัว มีพันธะคู่อยู่ที่บริเวณคาร์บอนตัวที่ 9,12 และ 15 อีกทั้งยังเป็นสารที่สำคัญในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเป็นอย่างมาก มีการศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติของกรดไลโนเลนิก พบว่าช่วยลดอัตรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเกิดโรคต่างๆ แต่ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดว่ากระบวนการที่ช่วยยับยั้งการเกิดโรคนั้นทำได้อย่างไร อีกทั้งยังช่วยลดการสะสมของคอเลสเตอรอลในเส้นเลือด ป้องกันการเกิดโรคหัวใจ ที่มีสาเหตุมาจากหลอดเลือดอุดตัน ช่วยบำรุงสมองเสริมสร้างความจำให้กับทุกเพศทุกวัย ช่วยบรรเทาอาการปอดบวมของโรคข้ออักเสบ ช่วยป้องกันโรคความดันโลหิตสูงได้ แต่มีรายงานการศึกษาบางส่วนกล่าวไว้ว่า กรดไลโนเลนิกมีส่วนทำให้มะเร็งต่อมลูกหมากขยายตัวได้เร็วขึ้น และยังทำให้เกิดอาการข้ออักเสบ ข้อเสื่อมอีกด้วย

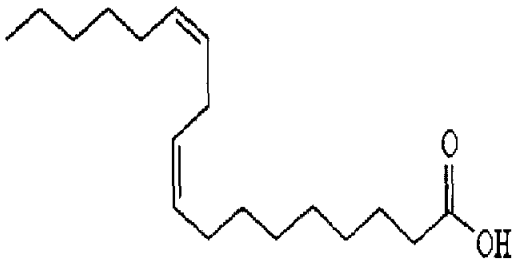
แหล่งทั่วไปที่พบกรดไลโนเลนิกคือ น้ำมันต่างๆ เช่น น้ำมันคาโนวา น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันจากเมล็ดป่าน และพบได้จากปลาทะเลทั่วไป

รูปที่ 2.6 โครงสร้างของกรดไลโนเลนิก

กรดไลโนเลอิก (linoleic acid) เป็นไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนอีกชนิดหนึ่ง ประกอบด้วยธาตุคาร์บอน 18 ตัว มีพันธะคู่อยู่ที่บริเวณคาร์บอนตัวที่ 9 และ 12 คำว่าไลโนเลอิก มาจากภาษากรีกคำว่า linon รวมกับคำว่า oleic หมายความว่าสิ่งที่ได้จากน้ำมัน กรดไลโนเลอิกเป็นไขมันจำเป็นอีกชนิดหนึ่ง หากวันหนึ่งต้องการพลังงาน 20002 กิโลแคลอรี ควรได้รับกรดไลโนเลอิกประมาณ 16-22 g. หากได้รับไม่เพียงพอจะทำให้เกิดอาการ ผมแห้งขาดน้ำหนัก และร่างกายอ่อนแอได้ จากการศึกษาพบว่ากรดไลโนเลอิกช่วยบำรุงผิวให้ชุ่มชื้น มีน้ำมีนวล ช่วยแก้ปัญหาเรื่องฮอร์โมนไม่สมดุล เช่น สิว อาการไม่พึงประสงค์ก่อนมีประจำเดือน เช่นอาการปวดเมื่อย อาการคัดหน้าอก อารมณ์แปรปรวน ลดอาการวัยทองต่างๆ ได้แก่ อาการร้อนวูบวาบ หน้าแดง หงุดหงิด-โมโหง่าย อาการแห้งที่ช่องคลอด และ ลดอาการปวดอักเสบของกล้ามเนื้อ ซึ่งผู้สูงอายุ คนที่นั่งทำงานนานๆ คนเริ่มออกกำลังกาย และคนที่ทานยาบางชนิด เช่นกลุ่มยาลดไขมัน Statin มักมีอาการปวดกล้ามเนื้อเกิดขึ้น

แหล่งของกรดไลโนเลอิกคือ น้ำมันจากพืชต่างๆ เช่น ข้าวโพด ถั่วเหลือง เมล็ดองุ่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.7 โครงสร้างของกรดไลโนเลอิก

2.2 กรดไขมันไม่จำเป็น คือกรดไขมันที่ร่างกายสามารถสังเคราะห์ได้เอง เช่น กรดปาลมิโตเลอิก (palmitoleic acid) และกรดโอเลอิก (oleic acid) พบมากที่สุดในไขมันสัตว์

กรดโอเลอิก (oleic acid) เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวแบบเชิงเดี่ยว มีพันธะคู่อยู่ตำแหน่งเดียวที่คาร์บอนตัวที่ 9 กรดโอเลอิกเป็นกรดไขมันที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย สามารถพบได้ในน้ำมันมะกอกมากถึง 55-85 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นน้ำมันที่ชาวเมดิเตอร์เรเนียนนิยมใช้ประกอบอาหารที่เกี่ยวกับอายุรเวทตั้งแต่โบราณ กรดโอเลอิกมีส่วนช่วยในการลดระดับ LDL Cholesterol ในเลือดของ ซึ่งเป็นไขมันที่ไม่ดีก่อให้เกิดโรคต่อร่างกาย แต่ไม่ทำให้ระดับ HDL Cholesterol เปลี่ยนแปลง

แหล่งที่พบกรดโอเลอิกมากคือพืชชนิดต่างๆ เช่น คาโนวา มะพร้าว ถั่วเหลือง

รูปที่ 2.8 โครงสร้างของกรดโอเลอิก

ปริมาณไขมันที่ควรได้รับในแต่ละวัน สมาคมโรคหัวเบาหวาน สมาคมโรคหัวใจและสมาคมโภชนาของประเทศอเมริกาได้แนะนำให้รับประทานอาหารที่เป็นไขมันไม่เกินร้อยละ 30 ของปริมาณพลังงานทั้งหมด แต่จากการศึกษาพบว่าชนิดของไขมันที่รับประทานจะมีผลต่อสุขภาพมากกว่าปริมาณโดยพบว่าหากรับประทานอาหารไขมันชนิดไขมันอิ่มตัวและกรดไขมันแบบทราน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะทำให้ความเสี่ยงต่อโรคหัวใจเพิ่มขึ้น ในทางกลับกันหากให้รับประทานอาหารที่มีไขมันไม่อิ่มตัวจะทำให้การเกิดโรคหัวใจลดลงนอกจากนั้นควรจะรับประทานไขมันที่ได้จากปลา ซึ่งจะช่วยลดการเกิดโรคหัวใจ สมาคมโรคหัวใจแนะนำให้รับประทานปลาสัปดาห์ละ 2 ครั้ง

ตารางที่ 2.2 แสดงปริมาณกรดไขมันชนิดต่าง ๆ เป็นร้อยละ

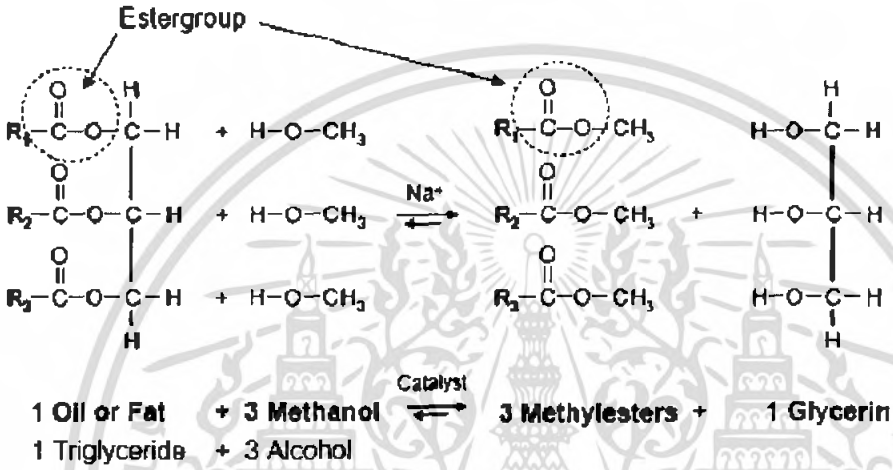
ชนิดของไขมัน	กรดไขมันอิ่มตัว	กรดไขมันไม่อิ่มเชิงเดี่ยว	กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน
น้ำมันมะพร้าว	85	6	2
น้ำมันข้าวโพด	13	25	58
น้ำมันปาล์ม	58	30	9
น้ำมันหมู	48	38	9
น้ำมันฝ้าย	26	29	51
น้ำมันมะกอก	14	72	9
น้ำมันถั่วลิสง	19	46	30
น้ำมันดอกคำฝอย	9	12	74
น้ำมันงา	15	40	40
น้ำมันถั่วเหลือง	15	23	58
น้ำมันดอกทานตะวัน	10	21	64

ที่มา : ผศ.ดร.กัลยา กิจบุญชู มหาวิทยาลัยมหิดล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน

งานวิจัยนี้ได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันโดยการเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของอนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์โดยใช้ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน (transesterification) ระหว่างไขมันและแอลกอฮอล์ โดยมีการเร่งปฏิกิริยาในสภาวะด่าง (base catalyze) ตัวอย่างปฏิกิริยาดังแสดงในรูปที่ 3.0



รูปที่ 2.9 แสดงปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ริฟิเคชัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงาน

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

3.1.1 สารเคมีและสารตัวอย่าง

1. เมทิลโอเลเอต (methyl oleate, $C_{19}H_{36}O_2$) เกรดวิเคราะห์ ยี่ห้อ Fluka
2. เมทิลไลโนเลเอต (methyl linoleate, $C_{19}H_{34}O_2$) เกรดวิเคราะห์ ยี่ห้อ Fluka
3. เมทิลไลโนเลเนต (methyl linolenate, $C_{19}H_{32}O_2$) เกรดวิเคราะห์ ยี่ห้อ Fluka
4. เฮกเซน (hexane, C_6H_{14}) เกรดวิเคราะห์
5. เมทานอล (methanol, CH_3OH) เกรดวิเคราะห์
6. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide, NaOH) เกรดวิเคราะห์
7. โซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride, NaCl) เกรดวิเคราะห์
8. โบรอนไตรฟลูออไรด์ (BF_3) เกรดวิเคราะห์ ยี่ห้อ Fluka
9. น้ำปราศจากไอออน
10. ตัวอย่างน้ำมันพืชบริโภค 7 ยี่ห้อ A (ปาล์ม) A (ถั่วเหลือง) A (ทานตะวัน) B (ปาล์ม) C (ปาล์ม) C (ทานตะวัน) D (ถั่วเหลือง) E (ถั่วเหลือง) E (รำข้าว) E (ข้าวโพด) F (ทานตะวัน) F (ข้าวโพด) G (รำข้าว)

3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ ที่มีเครื่องตรวจวัดชนิดเฟลมไอออไนเซชัน (GC-FID detector) รุ่น Varian CP – 3800 Gaschromatograph บริษัท Varian
2. เครื่องให้ความร้อน (heating mantle)
3. อุปกรณ์เครื่องแก้ว
4. ไมโครปิเปต (micro pipette)

3.1.3 สถานที่ดำเนินการวิจัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย

3.2.1 การเตรียมสารละลายเคมี

1. สารละลายมาตรฐานเมทิลโอเลเอต ความเข้มข้น 6922.08 mg/L

   ปิเปตสารละลายมาตรฐานเมทิลโอเลเอต 400 µL ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 mL ปรับปริมาตรให้ถึงขีดด้วยเฮกเซน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. สารละลายมาตรฐานเมทิลไลโนเลเอต ความเข้มข้น 6981.68 mg/L

ปีเปตสารละลายมาตรฐานเมทิลไลโนเลเอต 400 µL ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 mL ปรับปริมาตรให้ถึงขีดด้วยเฮกเซน

3. สารละลายมาตรฐานเมทิลไลโนเลเนต ความเข้มข้น 2993.76 mg/L

ปีเปตสารละลายมาตรฐานเมทิลไลโนเลต 168 µLใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 mL ปรับปริมาตรให้ถึงขีดด้วยเฮกเซน

4. สารละลายเมทาโนลิกโซเดียมเมทอกไซด์ 1% w/v

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์หนัก 1 g ละลายด้วยเมทานอลจนมีปริมาตร 100 mL ในขวดวัดปริมาตร

3.2.2 การเตรียมกราฟมาตรฐานกรดไขมัน (กรดโอเลอิก กรดไลโนเลอิก และกรดไลโนเลนิก)

1. การเตรียมสารละลายเมทิลเอสเตอร์ของกรดไขมันมาตรฐาน

เตรียมสารละลายเมทิลเอสเทอร์ ที่มีกรดไขมันมาตรฐานผสมกันอยู่ 3 ชนิด คือ เมทิลโอเลเอต เมทิลไลโนเลเอตและเมทิลไลโนเลเนต โดยเริ่มด้วยการปีเปตสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันมาตรฐานแต่ละชนิดใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 mL จำนวน 6 ขวดดังนี้ สารละลายเมทิลโอเลเอตมาตรฐานความเข้มข้น 6922.08 mg/L ปริมาตร 0.50, 1.20, 1.90, 2.60, 3.30 และ 4.00 ตามลำดับ สารละลายเมทิลไลโนเลเอตมาตรฐานความเข้มข้น 6981.68 mg/L ปริมาตร 0.40, 1.20, 2.00, 2.80, 3.60 และ 4.40 ตามลำดับ สารละลายเมทิลไลโนเลเนตมาตรฐานความเข้มข้น 2993.76 mg/L ปริมาตร 0.10, 0.30, 0.50, 0.70, 0.90 และ 1.10 ตามลำดับ แล้วปรับปริมาตรทุกขวดด้วยเฮกเซน

2. การสร้างกราฟมาตรฐานของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันมาตรฐาน

ฉีดสารเข้าเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ ขวดละ 3 ครั้งและพลอตกราฟระหว่างพื้นที่ใต้กราฟเฉลี่ยของแต่ละความเข้มข้นกับความเข้มข้นของเมทิลเอสเทอร์แต่ละชนิด

3. สภาวะของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ

คอลัมน์		: PERMABOND FFAP - 25 m × 0.25 mm ID
แก๊สพา		: แก๊สฮีเลียม
อัตราการไหล		: 1.0 mL/min
อุณหภูมิ	คอลัมน์	: 70 °C ถึง 200 °C โดยเพิ่มด้วยอัตรา 20 °C/min 200 °C ถึง 240 °C (1 min) โดยเพิ่มด้วยอัตรา 10°C/min
อุณหภูมิ	ดีเทคเตอร์	: 250 °C
ดีเทคเตอร์		: เฟลมไอออไนเซชัน (flame ionization detector,FID)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.3 การตรวจวัดปริมาณกรดไขมันในน้ำมันพืชบริโภค

3.2.3.1 การเตรียมสารละลายเมทิลเอสเตอร์ของกรดไขมัน (fatty acid methyl ester, FAME) จากน้ำมันพืชบริโภค

1. ชั่งน้ำมันพืชมาประมาณ 100 mg บันทึกน้ำหนักที่ละเอียดแน่นอนลงในขวดก้นกลม เติมเมทาโนลิกโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 mL ทำการรีฟลักซ์นาน 10 นาที เริ่มจับเวลาเมื่อสารเดือด เติมโบรอนไตรฟลูออไรด์ 5 mL รีฟลักซ์ต่ออีก 10 นาที จะได้สารละลาย FAME ปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
2. นำสารละลาย FAME ที่ได้ไปสกัดด้วยเฮกเซนปริมาตร 3 mL ในกรวยแยก โดยเติมโซเดียมคลอไรด์เล็กน้อย เขย่า ทิ้งให้แยกชั้น ไขแยกชั้นเฮกเซนใส่บีกเกอร์ ทำการสกัดซ้ำด้วยเฮกเซนปริมาตร 3 mL ไขแยกชั้นเฮกเซนรวมในบีกเกอร์เดิม เติมแอนไฮดรัสโซเดียมซัลเฟสเล็กน้อย แกว่งบีกเกอร์ กรองด้วยกระดาษกรอง ถ่ายสารละลายทั้งหมดใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 mL ปรับปริมาตรด้วยเฮกเซน
3. ปิเปตสารละลาย FAME ของตัวอย่างน้ำมันยี่ห้อ A (ปาล์ม) A (ทานตะวัน) C (ปาล์ม) F (ทานตะวัน) มา 5 mL และปิเปตสารละลาย FAME ของตัวอย่างยี่ห้อ A (ถั่วเหลือง) C (ทานตะวัน) D (ถั่วเหลือง) E (ถั่วเหลือง) มา 2.5 mL ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 mL ปรับปริมาตรด้วยเฮกเซน
4. นำสารละลาย FAME แต่ละขวดไปวิเคราะห์โดยเครื่องแก๊สโครมาโทรกราฟ ด้วยปริมาตร 1 μL สภาวะดังในหัวข้อที่ 3.2.2

3.2.3.2 การเตรียมสารละลายแบลงค์

เตรียมเหมือนข้อ 3.2.3.1 แต่ไม่เติมตัวอย่างน้ำมันพืชบริโภค

3.2.3.3 การเตรียมสารละลาย spiked sample

ปิเปตสารละลาย FAME ตัวอย่างจากข้อ 3.2.3.1 (ตัวอย่างน้ำมันยี่ห้อ F (ทานตะวัน)) มา 4 mL ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 mLและเติมสารละลายมาตรฐานจากข้อ 3.2.1 ดังนี้ เติมเมทิลโอเลเอต 2.6 mL เมทิลไลโนเลเอต 2.8 mL เมทิลไลโนเลเนต 0.3 mL ปรับปริมาตรด้วยเฮกเซน นำไปวิเคราะห์โดยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ สภาวะเดียวกับข้อที่ 3.2.2 โดยทำซ้ำ 3 ครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.4 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (validation of analytical method) ทำได้โดยใช้หลักทางสถิติประเมินผลดังนี้

3.2.4.1 การศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้น (linearity)

- ทำการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ
- หาค่าเฉลี่ยของค่าที่ตรวจวัดได้ที่แต่ละระดับความเข้มข้น
- นำค่าเฉลี่ยมาพลอตกราฟระหว่างความเข้มข้น (แกน x)และค่าที่อ่านได้ (แกน y)
- นำมาคำนวณค่าสัมประสิทธิสหสัมพันธ์ (Correlation of coefficient, หรือ Regression coefficient, (R^2) โดยใช้วิธี least square

$$r = \frac{N\sum xy - \left(\sum x\right)\left(\sum y\right)}{\left[\left(N\sum x^2\right) - \left(\sum x\right)^2\right]\left[\left(N\sum y^2\right) - \left(\sum y\right)^2\right]}$$

3.2.4.2 การศึกษาความเที่ยง (precision) ของวิธีวิเคราะห์ สามารถศึกษาความเที่ยงได้ใน 2 ลักษณะ คือ

ก. Repeatability

- นำสารมาตรฐานเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันผสม จากข้อ 3.2.2 ที่มีความเข้มข้นของเมทิลโอเลเอตเท่ากับ 1315.20 mg/L ความเข้มข้นของเมทิลไลโนเลเอตเท่ากับ 1396.34 mg/L และความเข้มข้นของเมทิลไลโนเลเนตเท่ากับ 149.69 mg/L มาทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟสารละ 7 ซ้ำ ภายในช่วงเวลาเดียวกัน โดยใช้เครื่องมือและผู้วิเคราะห์คนเดียวกัน (ภายใต้สภาวะคงที่)
- นำสารละลายตัวอย่างน้ำมันพืชบริโภคยี่ห้อ F(ทานตะวัน) มาทำการหา Repeatability โดยทำเช่นเดียวกับ สารละลายมาตรฐานผสมที่กล่าวมาข้างต้น
- นำผลที่ได้มาคำนวณร้อยละของความเบี่ยงเบน (%Relative Standard Deviation, %RSD)

$$\%\,RSD = \left(\frac{SD}{\overline{X}}\right) \times 100$$

ข. Reproducibility

- นำสารมาตรฐานเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันผสม จากข้อ 3.2.2 ที่มีความเข้มข้นของเมทิลโอเลเอตเท่ากับ 1315.20 mg/L ความเข้มข้นของเมทิลไลโนเลเอตเท่ากับ 1396.34 mg/L และความเข้มข้นของเมทิลไลโนเลเนตเท่ากับ 149.69 mg/L มาทำการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง โดยทำ 3 วัน และแต่ละวันใช้ผู้วิเคราะห์ต่างกัน
- นำสารละลายตัวอย่างน้ำมันพืชบริโภคยี่ห้อ F (ทานตะวัน) มาทำการหา Reproducibility โดยทำ เช่นเดียวกับ สารละลายมาตรฐานผสมที่กล่าวมาข้างต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
107902

- นำผลที่ได้มาคำนวณร้อยละของความเบี่ยงเบน (%Relative Standard Deviation, %RSD)

$$\%\ \text{RSD} = \left(\frac{SD}{\overline{X}}\right) \times 100$$

3.2.4.3 การศึกษาความถูกต้อง (Accuracy) ของวิธีวิเคราะห์

นำผลการวิเคราะห์ spiked sample ในข้อ 3.2.3.3 และผลการวิเคราะห์สารละลายตัวอย่างน้ำมันพืชบริโภคยี่ห้อ F(ทานตะวัน) ในข้อ 3.2.3.1 มาคำนวณหาร้อยละการคืนกลับ (%Recovery) โดยที่

$$\%\ \text{Recovery} = \frac{\text{ความเข้มข้นของ spiked sample} - \text{ความเข้มข้นของตัวอย่างเริ่มต้น} \times 100}{\text{ความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมลงไป}}$$

3.2.4.4 การหาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ โดยมีความถูกต้องและความเที่ยงที่ยอมรับได้ (Limit of quantification, LOQ)

นำผลการวิเคราะห์สารละลายแบลงค์ในข้อ 3.2.3.2 มาคำนวณหาค่า LOD และ LOQ โดยที่

$$LOD = blank + 3SD$$

$$LOQ = blank + 10SD$$

blank = ความเข้มข้นเฉลี่ยของแบงค์

SD = ความเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ได้จากการวิเคราะห์ซ้ำ 7 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

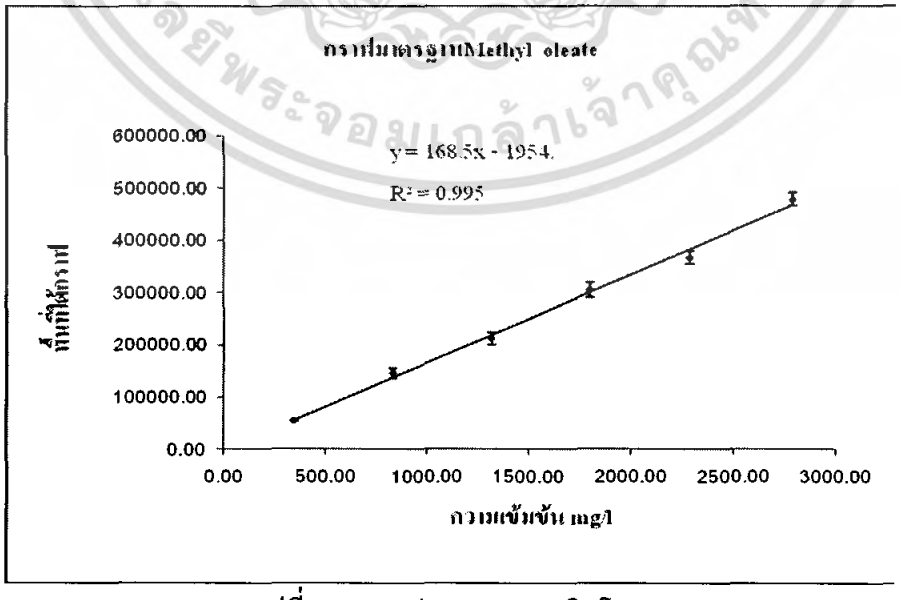
ผลการทดลองและอภิปราย

4.1 กราฟมาตรฐานของเมทิลโอเลเอต เมทิลไลโนเลเอตและเมทิลไลโนเลเนต

ศึกษาโดยใช้สารละลายมาตรฐานเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันผสมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เตรียมได้จากข้อ 3.2.2 ฉีดซ้ำความเข้มข้นละ 3 ซ้ำโดยใช้สภาวะของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟที่เหมาะสมตามข้อ 3.2.2 พลอตกราฟมาตรฐานระหว่างพื้นที่ใต้พีกเฉลี่ยกับค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐาน ได้กราฟมาตรฐานเมทิลโอเลเอต เมทิลไลโนเลเอตและ เมทิลไลโนเลเนต ดังแสดงในรูปที่ 4.1, 4.2 และ 4.3 ตามลำดับพร้อมแสดงสมการเส้นตรงที่ได้จากวิธี linear least square และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์, R^2

ตารางที่ 4.1 แสดงผลการคำนวณค่าเฉลี่ยของพื้นที่ใต้พีกของสารละลายมาตรฐานเมทิลโอเลเอต

ชื่อสาร	ความเข้มข้น mg/l	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย	±SD
Methyl oleate	346.10	54574	55795	54986	55118.3	621.164
	830.65	155718	136159	146784	146220	9791.68
	1315.20	220655	200541	218457	213218	11033.2
	1799.74	300398	295678	321561	305879	13784.5
	2284.29	382340	360057	359511	367303	13025.6
	2786.83	464281	485907	485088	478425	12256.2

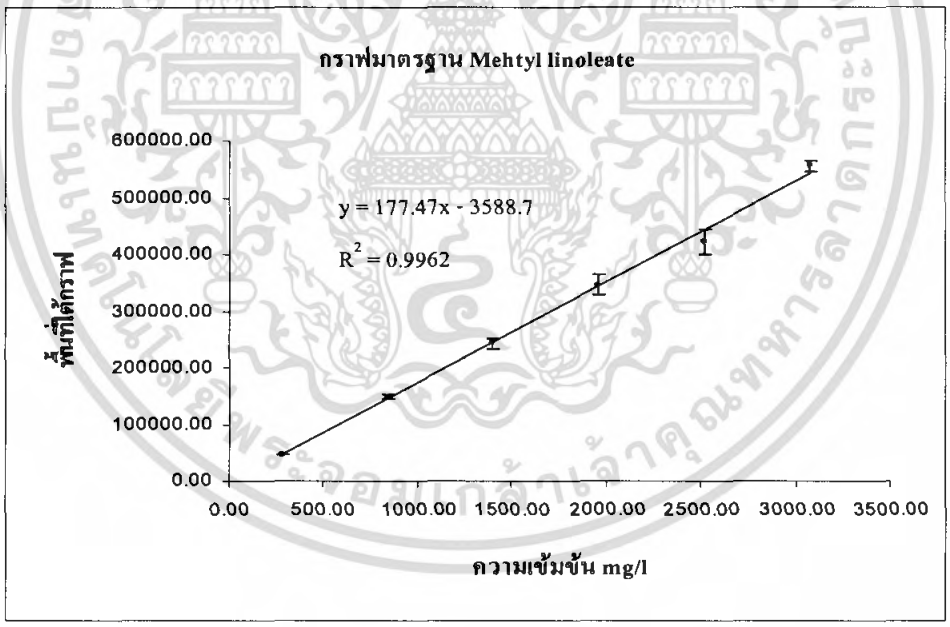


รูปที่ 4.1 กราฟมาตรฐานเมทิลโอเลเอต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 แสดงผลการคำนวณค่าเฉลี่ยของพื้นที่ใต้พีกของสารละลายมาตรฐานเมทิลไลโนเลเอต

ชื่อสาร	ความเข้มข้น mg/l	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย	±SD
Methyl linoleate	279.27	45827	47651	46781	46753	912.322
	837.80	151791	145559	149530	148960	3154.86
	1396.34	251140	231056	245291	242496	10329.7
	1954.87	345023	329201	365011	346412	17945.3
	2513.14	444755	420517	400864	422045	21985.4
	3071.94	544871	559810	563117	555933	9721.34

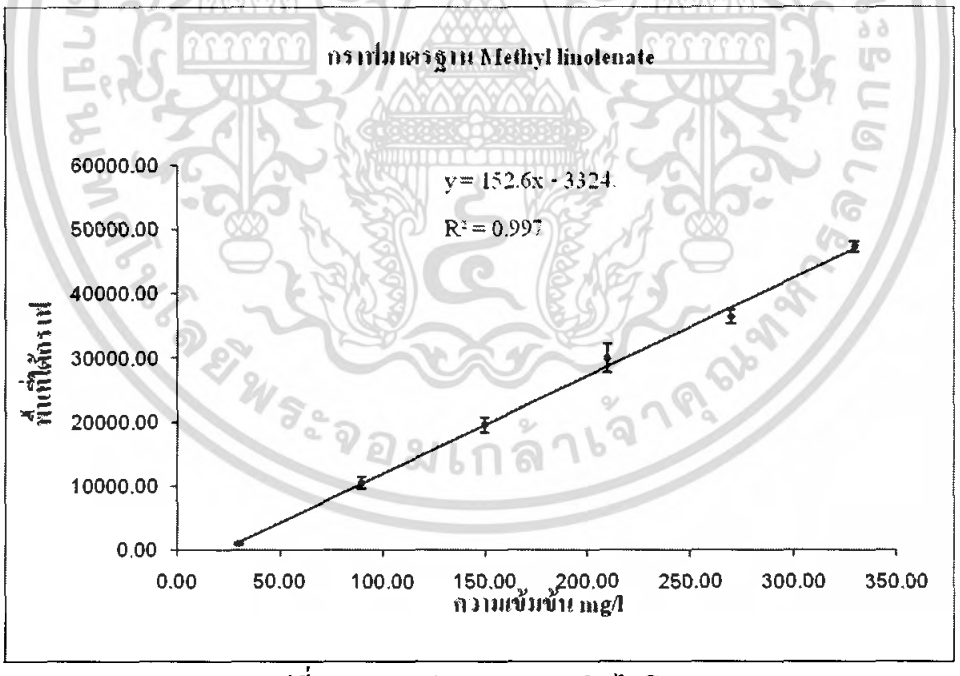


รูปที่ 4.2 กราฟมาตรฐานเมทิลไลโนเลเอต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 แสดงผลการคำนวณค่าเฉลี่ยของพื้นที่ใต้พีกของสารละลายมาตรฐานเมทิลไลโนเลเนต

ชื่อสาร	ความเข้มข้น mg/l	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย	±SD
Methyl linolenate	29.93	865	1095	958	972.667	115.699
	89.81	9851	10005	11523	10459.7	924.087
	149.69	20851	18568	19145	19521.3	1187.12
	209.56	30285	27491	31890	29888.7	2226.12
	269.43	37625	36098	35510	36411	1091.69
	329.31	46565	47250	48094	47303	765.877



รูปที่ 4.3 กราฟมาตรฐานเมทิลไลโนเลเนต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลอง ดังแสดงในรูปที่ 4.1, 4.2 และ 4.3 แสดงให้เห็นถึงความสามารถของระบบที่ให้ผลการทดลองเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน ซึ่งพบว่าสารมาตรฐานเมทิลโอเลเอตที่ช่วงความเข้มข้น 350-2800 mg/L มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9958 สารมาตรฐานเมทิลไลโนเลเอตที่ช่วงความเข้มข้น 300-3000 mg/L มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9962 และสารมาตรฐานเมทิลไลโนเลเนตที่ช่วงความเข้มข้น 30-300 mg/L มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9975 ซึ่งโดยทั่วไปผลของความสัมพันธ์เชิงเส้นที่ดีหรือยอมรับจะต้องมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่ 0.999 ถึง 0.990 ดังแสดงว่าวิธีวิเคราะห์นี้มีความสัมพันธ์เชิงเส้นที่ดี

4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันที่มีอยู่ในน้ำมันพืชบริโภค

ทำการวิเคราะห์สารละลาย FAME ของตัวอย่างน้ำมันพืชบริโภค ที่เตรียมได้จากข้อ 3.2.3 โดยตรวจวัดซ้ำตัวอย่างละ 3 ครั้ง ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟที่สภาวะเหมาะสมและคำนวณหาค่าความเข้มข้นของกรดไขมันแต่ละชนิดในน้ำมันพืชบริโภคทั้ง 7 ยี่ห้อ โดยใช้สมการเส้นตรงที่แสดงในรูปที่ 4.1, 4.2 และ 4.3 เพื่อหาปริมาณ กรดโอเลอิก กรดไลโนเลอิกและกรดไลโนเลนิกตามลำดับ ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันแต่ละชนิดในน้ำมันพืชบริโภคดังแสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 แสดงผลการวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันในน้ำมันพืชบริโภค

ตัวอย่างน้ำมันพืช	ปริมาณที่ตรวจพบ ± SD (mg./g.)		
	กรดโอเลอิก	กรดไลโนเลอิก	กรดไลโนเลนิก
C (ปาล์ม)	234.42 ± 9.60	54.93 ± 1.29	5.18 ± 0.16
A (ปาล์ม)	237.79 ± 4.00	65.32 ± 3.84	5.81 ± 0.08
B (ปาล์ม)	274.74 ± 11.61	117.32 ± 6.55	3.43 ± 0.07
A (ถั่วเหลือง)	146.69 ± 25.03	354.52 ± 18.26	61.65 ± 3.77
D (ถั่วเหลือง)	144.67 ±7.79	321.52 ± 29.95	51.47 ± 5.07
E (ถั่วเหลือง)	134.39 ± 7.06	301.94 ± 22.94	66.91 ± 7.12
C (ทานตะวัน)	350.95 ± 13.51	407.86 ± 18.42	21.06 ± 0.96
A (ทานตะวัน)	289.74 ± 12.34	342.27 ± 18.94	8.37 ± 0.20
F (ทานตะวัน)	255.94 ± 11.16	462.40 ± 11.85	9.56 ± 0.29
E (รำข้าว)	223.99 ± 13.41	262.34 ± 9.07	7.73 ± 0.19
G (รำข้าว)	149.08 ± 11.31	247.01 ± 8.81	4.42 ± 0.16
E (ข้าวโพด)	173.13 ± 11.00	169.89 ± 30.77	5.97 ± 0.48
F (ข้าวโพด)	96.06 ± 7.24	206.41 ± 7.78	4.49 ±0.17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

4.3.1 ความเที่ยง (Precision) ของวิธีวิเคราะห์

4.3.1.1 ศึกษาความเที่ยงของการตรวจวัดสารมาตรฐาน

ศึกษาโดยนำสารละลายมาตรฐานเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันผสมระหว่างเมทิลโอเลเอต เมทิลไลโนเลเอตและเมทิลไลโนเลเนต ความเข้มข้น 1315.20, 1369.34และ 149.69 mg/L ตามลำดับ มาทำการฉีดซ้ำ 7 ซ้ำ ภายในวันเดียวกันเพื่อศึกษา repeatability และทำซ้ำ 3 วัน วันละ 3 ซ้ำ เพื่อศึกษา reproducibility แล้วนำมาหาค่าร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ผลที่ได้ดังตามตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 แสดงค่าเฉลี่ยของร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) เพื่อบอกถึง Repeatability และ Reproducibility ของการตรวจวัดสารมาตรฐาน

สารมาตรฐาน	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพันธ์ (%RSD)	
	Repeatability	Reproducibility
เมทิลโอเลเอต	3.94	3.71
เมทิลไลโนเลเอต	3.53	3.14
เมทิลไลโนเลเนต	4.44	3.78

4.3.1.2 ศึกษาความเที่ยงของการตรวจวัดตัวอย่าง

ศึกษาโดยนำสารละลาย FAME ตัวอย่างน้ำมันพืชบริโภคยี่ห้อ F (ทานตะวัน) ที่เตรียมได้จากข้อ 3.2.3.1 มาทำการวิเคราะห์ซ้ำ 7 ซ้ำภายในวันเดียวกันเพื่อศึกษา repeatability และทำซ้ำ 3 วัน วันละ 3 ซ้ำเพื่อศึกษา reproducibility แล้วนำมาคำนวณร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 แสดงค่าเฉลี่ยของร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) เพื่อบอกถึง Repeatability และ Reproducibility ของการตรวจวัดสารละลาย FAME ของตัวอย่างน้ำมันพืชบริโภคยี่ห้อ F (ทานตะวัน)

สารมาตรฐาน	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD)	
	Repeatability	Reproducibility
เมทิลโอเลเอต	3.13	3.12
เมทิลไลโนเลเอต	2.85	3.33
เมทิลไลโนเลเนต	4.71	3.90

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 ศึกษาความแม่น (Accuracy) ของวิธีวิเคราะห์

ศึกษาโดยใช้ผลการวิเคราะห์สารละลาย Spiked sample ที่เตรียมได้ในข้อ 3.2.3.1 ซึ่งวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้งและผลการวิเคราะห์สารละลาย FAME ตัวอย่างน้ำมันพืชบริโภคยี่ห้อ F (ทานตะวัน) ที่เตรียมได้จากข้อ 3.2.3.3 คำนวณหาค่าร้อยละการคืนกลับ (%Recovery) ของปริมาณกรดไขมันทั้งสามชนิด ดังแสดงในตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 แสดงค่าร้อยละการคืนกลับของปริมาณกรดไขมันในน้ำมันพืชบริโภคยี่ห้อ F (ทานตะวัน)

สารมาตรฐานในตัวอย่าง	% Recovery
กรดโอเลอิก	99.36
กรดไลโนเลอิก	92.89
กรดไลโนเลนิก	83.64

4.3.3 การหาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of detection, LOD)

และขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณโดยมีความถูกต้องและความเที่ยงที่ยอมรับได้ (Limit of quantification, LOQ)

4.3.3.1 สำหรับการวิเคราะห์เมทิลโอเลเอต

นำสารละลายแบลงค์ที่เตรียมได้จากข้อ 3.2.3.2 มาทำการวิเคราะห์ซ้ำ 7 ครั้ง นำผลมาคำนวณความเข้มข้นเฉลี่ย (blank) จากสมการ y = 168.53x-1954.2และคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) แล้วนำมาคำนวณค่า LOD และ LOQ ได้ดังนี้

LOD = 15.93 + 3(1.02) = 27.09

LOQ = 15.93 + 10(1.02) = 34.23

4.3.3.2 สำหรับการวิเคราะห์เมทิลไลโนเลเอต

นำสารละลายแบลงค์ที่เตรียมได้จากข้อ 3.2.3.2 มาทำการวิเคราะห์ซ้ำ 7 ครั้ง นำผลมาคำนวณความเข้มข้นเฉลี่ย (blank) จากสมการ y = 177.47x-3588.7 และคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) แล้วนำมาคำนวณค่า LOD และ LOQ ได้ดังนี้

LOD = 24.34 + 3(0.97) = 27.25

LOQ = 24.34 + 10(0.97) = 34.03

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.4.3 สำหรับการวิเคราะห์เมทิลไลโนเลเนต

นำสารละลายแบลงค์ที่เตรียมได้จากข้อ 3.2.3.2 มาทำการวิเคราะห์ซ้ำ 7 ครั้ง นำผลมาคำนวณความเข้มข้นเฉลี่ย (blank) จากสมการy = 152.64x-3324.3และคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) แล้วนำมาคำนวณค่า LOD และ LOQ ได้ดังนี้

LOD = 26.57 + 3(1.13) = 29.95

LOQ = 26.57 + 10(1.13) = 37.83

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลวิจัย และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลวิจัย

จากการศึกษาการตรวจวัดหาปริมาณกรดโอเลอิก กรดไลโนเลอิก กรดไลโนเลนิก ในน้ำมันพืชบริโภค โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟ โดยมีจุดประสงค์เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาใช้ในการประกอบการตัดสินใจในการเลือกบริโภคน้ำมันพืชยี่ห้อและประเภทต่างๆ พร้อมทั้งศึกษาหาประสิทธิภาพในการตรวจวัดปริมาณของกรดไขมันในน้ำมันพืชด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟ ว่าเป็นวิธีวิเคราะห์ที่มีความแม่นยำ ที่ให้ผลการวิเคราะห์เป็นที่น่าเชื่อถือและยอมรับได้ โดยใช้ตัวอย่างน้ำมันพืชบริโภคที่ขายตามท้องตลาด สามารถสรุปผลการทดลองได้ดังนี้

จากการศึกษาพบว่าในการตรวจวัดปริมาณกรดไขมันในน้ำมันพืชบริโภค ต้องมีการเตรียมเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันในแต่ละชนิดก่อน โดยรีฟลักซ์ตัวอย่างด้วย เมทาโนลิกโซเดียม-ไฮดรอกไซด์และเติมโบรอนไตรฟลูออไรด์เป็นตัวหยุดปฏิกิริยา จากนั้นนำสารละลายเมทิลเอส-เทอร์ของกรดไขมันที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ ที่มีสภาวะเหมาะสม ดังนี้ คอลัมน์ที่ใช้คือ PERMABOND FFAP (25 m × 0.25 mm id) ตั้งอุณหภูมิแบบโปรแกรมอุณหภูมิ และตรวจวัดด้วยเฟลมไอออไนเซชัน ดีเทคเตอร์ สำหรับการศึกษาถึงปริมาณกรดไขมันที่แท้จริงในน้ำมันพืชบริโภคทั้ง 7 ยี่ห้อพบว่า มีปริมาณกรดโอเลอิกอยู่ในช่วง 96.06- 350.95 mg/g มีปริมาณกรดไลโนเลอิกอยู่ในช่วง 54.93 – 462.40 mg/g และมีปริมาณกรดไลโนเลนิกอยู่ในช่วง 3.43 – 66.91 mg/g

จากผลการประเมินประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์พบว่าความเที่ยงของวิธี ซึ่งบ่งบอกได้ด้วยค่าร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ค่าร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของอนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันในการทำซ้ำแบบ Repeatability อยู่ในช่วง 3.53-4.48 และทำซ้ำแบบ Reproducibilityอยู่ในช่วง 3.13-3.77 ความแม่นของวิธี ซึ่งบ่งบอกได้ด้วยค่าร้อยละการคืนกลับ ซึ่งอยู่ในช่วง 83.64-99.36 ความสัมพันธ์เชิงเส้นของกรดไขมันอยู่ในช่วง 0.9958-0.9975 การหาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดและขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณโดยมีความถูกต้องและความเที่ยงที่ยอมรับ ได้ มีค่าอยู่ในช่วง 27.09-29.95 mg/L และ 34.03-37.83 mg/L

จากสรุปผลการทดลองจะพบว่าความแม่น ความเที่ยง และความเป็นเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์จัดว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ดี และยังสามารถตรวจวัดปริมาณกรดไขมันได้ในระดับต่ำ แสดงให้เห็นว่าวิธีแก๊สโครมาโทกราฟ เป็นวิธีที่สามารถนำไปตรวจวัดหาปริมาณกรดไขมันในน้ำมันพืชบริโภค ได้อย่างถูกต้องแม่นยำมีประสิทธิภาพให้ผลที่เชื่อถือได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. สารที่ใช้ในการตรวจวัดมีความไวในการสลายตัวเมื่อโดนแสง ดังนั้นจึงควรใช้ความระมัดระวังในการวิเคราะห์และควรทำให้เสร็จภายในวันเดียว

2. ควรทำการ run baseline ซ้ำหลายๆครั้ง และทำระหว่างการฉีดตัวอย่าง เพื่อให้ค่าที่ได้มีความถูกต้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

[1.] Darinka Brodnjak-Voncina, Marjana Novic. **Multivariate datd analysis in classification of vegetable oils characterized by the contant of fatty acids**

[2.] ศ.ดร.นพ.สมศักดิ์ วรดามิน. **Omega-3 amazing fish oil.** กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์จุฬา 2551.

[3.] ศ.ดร.นิธิยา รัตนาปนนท์. **เคมีอาหาร (Food chemistry).** กรุงเทพมหานคร : โอเดียนสโตร์. 2543.

[4.] ศ.ดร.เฉลี่ย วัชรพุกก์. **อาหารเพิ่มสมรรถภาพสมอง.** กรุงเทพมหานคร : หจก.รัตนชัยการพิมพ์. 2547.

[5.] นพ.สโรช รัตนากร. **สมองดีด้วยอาหาร.** กรุงเทพมหานคร : Behealthy, 2549

[6.] รศ.คณิตา ตังคณานุรักษ์.**เอกสารประกอบการสอนวิชาการวิเคราะห์ทางเคมีและควบคุมคุณภาพ ผลิตภัณฑ์**

[7.] รศ.คณิตา ตังคณานุรักษ์.**แบบเรียนเทคนิคการแยก**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

แสดงผลการวิเคราะห์

ก.1 การเตรียมกราฟมาตรฐานกรดไขมัน

ก.1.1 กราฟมาตรฐานของเมทิลโอเลเอต

ตารางที่ ก.1 แสดงผลการคำนวณค่าเฉลี่ยของพื้นที่ใต้พีกของสารละลายมาตรฐานเมทิลโอเลเอต

ชื่อสาร	ความเข้มข้น mg/L	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย	±SD
Methyl oleate	346.10	54574	55795	54986	55118.3	621.164
	830.65	155718	136159	146784	146220	9791.68
	1315.20	220655	200541	218457	213218	11033.2
	1799.74	300398	295678	321561	305879	13784.5
	2284.29	382340	360057	359511	367303	13025.6
	2786.83	464281	485907	485088	478425	12256.2

ก.1.2 กราฟมาตรฐานของเมทิลไลโนเลเอต

ตารางที่ ก.2 แสดงผลการคำนวณค่าเฉลี่ยของพื้นที่ใต้พีกของสารละลายมาตรฐานเมทิลไลโนเลเอต

ชื่อสาร	ความเข้มข้น mg/L	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย	±SD
Methyl linoleate	279.27	45827	47651	46781	46753	912.322
	837.80	151791	145559	149530	148960	3154.86
	1396.34	251140	231056	245291	242496	10329.7
	1954.87	345023	329201	365011	346412	17945.3
	2513.14	444755	420517	400864	422045	21985.4
	3071.94	544871	559810	563117	555933	9721.34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก.1.3 กราฟมาตรฐานของเมทิลไลโนเลเนต

ตารางที่ ก.3 แสดงผลการคำนวณค่าเฉลี่ยของพื้นที่ใต้พีกของสารละลายมาตรฐานเมทิลไลโนเลเนต

ชื่อสาร	ความเข้มข้น mg/L	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย	±SD
Methyl linolenate	29.93	865	1095	958	972.667	115.699
	89.81	9851	10005	11523	10459.7	924.087
	149.69	20851	18568	19145	19521.3	1187.12
	209.56	30285	27491	31890	29888.7	2226.12
	269.43	37625	36098	35510	36411	1091.69
	329.31	46565	47250	48094	47303	765.877

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก.2 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันที่มีในน้ำมันพืชบริโภค

ก.2.1 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดโอเลอิกในน้ำมันพืชบริโภค

ตารางที่ ก.4 แสดงผลการคำนวณของกรดโอเลอิกในสารละลายตัวอย่าง

ตัวอย่าง	น้ำหนัก (mg)	ปริมาณเมทิลโอเลเอต ในสารละลายตัวอย่าง จากกราฟมาตรฐาน(mg/L)			ปริมาณกรดโอเลอิก ในสารละลายตัวอย่าง (mg/L)			ปริมาณกรดโอเลอิกในตัวอย่าง (mg/g)			ค่าเฉลี่ย ± SD
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
C (ปาล์ม)	106.42	1266.5771	1369.4672	1291.9080	1206.6564	1304.6783	1230.7890	226.7724	245.1942	231.3078	234.4248±9.5983
A (ปาล์ม)	91.85	1130.1812	1167.6630	1140.9260	1076.7121	1112.4224	1086.9486	234.4501	242.2257	236.6792	237.7850±4.0040
B (ปาล์ม)	96.30	2667.8290	2901.2000	2762.3938	2541.6160	2763.9458	2631.7069	263.9269	287.0142	273.2821	274.7411±11.6126
A (ถั่วเหลือง)	101.30	382.5028	459.8778	327.4503	364.4069	438.1213	311.9589	143.8922	172.9995	123.1822	146.6913±25.0264
D (ถั่วเหลือง)	102.02	406.1544	390.8693	364.8798	386.9396	372.3776	347.6177	151.7113	146.0018	136.2939	144.6690±7.7946
E (ถั่วเหลือง)	106.44	385.3450	352.6684	388.0983	367.1147	335.9839	369.7377	137.9612	126.2623	138.9469	134.3901±7.0561
C (ทานตะวัน)	104.90	1750.8756	1621.2730	1694.9222	1668.0440	1544.5718	1614.7371	363.8046	336.8751	352.1781	350.9526±13.5065
A (ทานตะวัน)	96.53	808.9135	759.4090	824.4301	770.6445	723.4820	785.4270	293.8587	275.8749	299.4955	289.7431±12.3364
F (ทานตะวัน)	91.70	1340.3980	1232.7967	1316.6631	1276.9840	1174.4737	1254.3734	264.5777	243.3386	259.8928	255.9364±11.1586
E (รำข้าว)	96.50	2421.8010	2162.3938	2222.4843	2307.2275	2060.0933	2117.3400	239.0910	213.4811	219.4135	223.9952±13.4056
G (รำข้าว)	97.36	1886.8936	1662.8560	1758.2222	1797.6260	1584.1878	1675.0422	184.6371	162.7145	172.0462	173.1326±11.0016
F (ข้าวโพด)	97.57	1036.6830	1015.6539	899.0637	987.6385	967.6044	856.5297	101.2236	99.1703	87.7862	96.0600±7.2385
E (ข้าวโพด)	103.30	1616.1290	1739.2458	1494.0623	1539.6711	1656.9642	1423.3789	149.0485	160.4031	137.7908	149.0808±11.3062

วิธีคำนวณ

จาก ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ริฟิเคชัน พบว่า $mol_{(fatty\ acid)} = mol_{(FAME)}$

$$g/Mw_{(fatty\ acid)} = g/Mw_{(FAME)}$$

$$g_{(fatty\ acid)} = g_{(FAME)} \times Mw_{(fatty\ acid)}/Mw_{(FAME)}$$

ตัวอย่างเช่น เมทิลโอเลเอตเข้มข้น 1266.5771 mg/L คิดเป็น กรดโอเลอิกเข้มข้น = (1266.5771×282.46)/296.38 = 1206.6564 mg/L เป็นต้น

โดยที่ Mw ของกรดโอเลอิก = 282.46 g/mol

Mw ของเมทิลโอเลเอต = 296.38 g/mol

ก.2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดไลโนเลอิก

ตารางที่ ก.5 แสดงผลการคำนวณของกรดไลโนเลอิกในสารละลายตัวอย่าง

ตัวอย่าง	น้ำหนัก (mg)	ปริมาณเมทิลไลโนเลเอต ในสารละลายตัวอย่างจากกราฟมาตรฐาน (mg/L)			ปริมาณกรดไลโนเลอิกในสารละลายตัวอย่าง (mg/L)			ปริมาณกรดไลโนเลอิกในสารละลายตัวอย่าง (mg/g)			ค่าเฉลี่ย ± SD
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
C (ปาล์ม)	106.42	301.1084	314.9473	304.6864	286.7656	299.9454	290.1733	53.8932	56.3701	54.5336	54.9323±1.2857
A (ปาล์ม)	91.85	294.0255	329.0906	321.8161	280.0201	313.4150	306.4870	60.9734	68.2449	66.7364	65.3182±3.8376
B (ปาล์ม)	96.30	1153.1120	1143.1660	1262.5332	1098.1854	1088.7138	1202.3954	114.0379	113.0544	124.8592	117.3172±6.5501
A (ถั่วเหลือง)	101.30	899.9589	995.5187	932.7250	857.0911	948.0991	888.2964	338.4368	374.3728	350.7587	354.5228±18.2613
D (ถั่วเหลือง)	102.02	951.8719	799.8912	831.3557	906.5313	761.7900	791.7557	355.4328	298.6826	310.4316	321.5157±29.9547
E (ถั่วเหลือง)	106.44	917.3872	801.2436	812.3497	873.6892	763.0779	773.6550	328.3312	286.7636	290.7384	301.9444±22.9379
C (ทานตะวัน)	104.90	2059.5967	1884.7732	1946.3270	1961.4922	1794.9960	1853.6183	427.8064	391.4931	404.2787	407.8594±18.4196
A (ทานตะวัน)	96.53	985.6015	884.5140	957.4052	938.6543	842.3819	911.8011	357.9235	321.2133	347.6839	342.2736±18.9437
F (ทานตะวัน)	91.70	2409.6340	2292.4356	2328.0880	2294.8564	2183.2411	2217.1943	475.4699	452.3445	459.3792	462.3979±11.8546
E (รำข้าว)	96.50	2762.3754	2623.6813	2588.4980	2630.7954	2498.7070	2465.2000	272.6212	258.9334	255.4611	262.3386±9.0727
G (รำข้าว)	97.36	1377.4990	1870.4672	1962.3584	1311.8839	1781.3708	1868.8854	134.7457	182.9674	191.9561	169.8898±30.7657
F (ข้าวโพด)	97.57	2102.2300	2199.7795	2041.8652	2002.0944	2094.9958	1944.6043	205.1957	214.7173	199.3035	206.4055±7.7778
E (ข้าวโพด)	103.30	2785.9900	2601.5932	2650.2555	2653.2850	2477.6710	2524.0153	256.8524	239.8520	244.3383	247.0142±8.8104

วิธีคำนวณ

จาก ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ริฟิเคชัน พบว่า $mol_{(fatty\ acid)} = mol_{(FAME)}$

$$g/Mw_{(fatty\ acid)} = g/Mw_{(FAME)}$$

$$g_{(fatty\ acid)} = g_{(FAME)} \times Mw_{(fatty\ acid)} / Mw_{(FAME)}$$

ตัวอย่างเช่น เมทิลไลโนเลเอตเข้มข้น 301.1084 mg/L คิดเป็น กรดไลโนเลอิกเข้มข้น = (301.1084×280.44)/296.47 = 286.7656 mg/L เป็นต้น

โดยที่ Mw ของกรดไลโนเลอิก = 280.44 g/mol

Mw ของเมทิลไลโนเลเอต = 296.47 g/mol

ก.2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดไลโนเลนิก

ตารางที่ ก.6 แสดงผลการคำนวณของกรดไลโนเลนิกในสารละลายตัวอย่าง

ตัวอย่าง	น้ำหนัก (mg)	ปริมาณเมทิลไลโนเลเนต ในสารละลายตัวอย่างจากกราฟมาตรฐาน (mg/L)			ปริมาณกรดไลโนเลนิกในสารละลาตัวอย่าง (mg/L)			ปริมาณกรดไลโนเลนิกในสารละลาตัวอย่าง (mg/g)			ค่าเฉลี่ย ± SD
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
C (ปาล์ม)	106.42	28.3235	29.9351	28.5332	26.9651	28.4994	27.1647	5.0677	5.3560	5.1052	5.1763±0.1568
A (ปาล์ม)	91.85	28.3235	27.5963	28.1466	26.9651	26.2728	26.7967	5.8715	5.7208	5.8349	5.8091±0.0786
B (ปาล์ม)	96.30	33.9969	34.5539	35.4252	32.3665	32.8966	33.7262	3.3610	3.4161	3.5022	3.4264±0.0712
A (ถั่วเหลือง)	101.30	169.0861	152.4391	170.4881	160.9765	145.1279	162.3112	63.5643	57.3062	64.0913	61.6539±3.7745
D (ถั่วเหลือง)	102.02	152.2687	125.2509	136.1524	144.9657	119.2437	129.6223	56.8382	46.7531	50.8223	51.4712±5.0738
E (ถั่วเหลือง)	106.44	206.5206	166.7669	187.7968	196.6156	158.7685	178.7898	73.8879	59.6650	67.1889	66.9139±7.1154
C (ทานตะวัน)	104.90	106.5075	97.5190	100.2837	101.3992	92.8419	95.4739	22.1154	20.2490	20.8231	21.0625±0.9559
A (ทานตะวัน)	96.53	23.5803	22.4862	23.1348	22.4494	21.4078	22.0253	8.5603	8.1631	8.3986	8.3740±0.1997
F (ทานตะวัน)	91.70	49.5696	46.7721	49.0193	47.1922	44.5289	46.6682	9.7778	9.2259	9.6692	9.5576±0.2923
E (รำข้าว)	96.50	80.3806	76.6529	78.0811	76.5255	72.9765	74.3362	7.9301	7.5623	7.7032	7.7319±0.1856
G (รำข้าว)	97.36	64.4215	55.4593	63.1964	61.3318	52.7994	60.1654	6.2995	5.4231	6.1797	5.9674±0.4752
F (ข้าวโพด)	97.57	47.8990	44.4530	45.6715	45.6017	42.3209	43.4811	4.6737	4.3375	4.4564	4.4892±0.1705
E (ข้าวโพด)	103.30	46.3856	49.7530	47.6369	44.1609	47.3668	45.3522	4.2750	4.5854	4.3903	4.4169±0.1569

วิธีคำนวณ

จาก ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ริฟิเคชัน พบว่า $mol_{(fatty\ acid)} = mol_{(FAME)}$

$$g/Mw_{(fatty\ acid)} = g/Mw_{(FAME)}$$

$$g_{(fatty\ acid)} = g_{(FAME)} \times Mw_{(fatty\ acid)} / Mw_{(FAME)}$$

ตัวอย่างเช่น เมทิลไลโนเลเนตเข้มข้น 28.3235 mg/L คิดเป็น กรดไลโนเลนิกเข้มข้น = (28.3235×278.43)/292.45 = 26.9651mg/L เป็นต้น

โดยที่ Mw ของกรดไลโนเลนิก = 278.43 g/mol

Mw ของเมทิลไลโนเลเนต = 292.45 g/mol

ก.3 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

ก.3.1 การศึกษาความเที่ยง(Precision)ของวิธีการวิเคราะห์

ตารางที่ ก.7 แสดงค่าความเที่ยงของการวิเคราะห์(สารมาตรฐาน)

ครั้งที่	พื้นที่ใต้พีก		
	เมทิลโอเลเอต	เมทิลไลโนเลเอต	เมทิลไลโนเลเนต
1	220655	251140	20851
2	200541	231056	18568
3	218457	245291	19145
4	220587	243522	20175
5	220458	248561	19984
6	204543	235602	19032
7	217643	231871	20753
ค่าเฉลี่ย	214697.70	229875	19786.86
SD	8462.58	8125.28	887.20
%RSD	3.9416	3.5347	4.4838

ตัวอย่างการคำนวณค่าความเที่ยงของสารมาตรฐาน Methyl oleate

คำนวณความเข้มข้น

จาก $\bar{x} = \sum_{i=1}^{n} \frac{x_i}{n}$

$$\bar{x} = \frac{220655 + 200541 + 218457 + 220587 + 220458 + 204543 + 217643}{7}$$

$$\bar{x} = 214697.70$$

คำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จาก $SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(x_i - \bar{x})}{n-1}}$

$$SD = \sqrt{\frac{(220655 - 214697.70)^2 + (200541 - 214697.70)^2 + ... + (217643 - 214697.70)^2}{6}}$$

$$SD = 8462.58$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนวณร้อยละของของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

จาก $\%RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100$

$$\%RSD = \frac{8462.58}{214697.70} \times 100$$

$$\%RSD = 3.9416$$

ตัวอย่างอื่นคำนวณได้เช่นเดียวกัน

ตารางที่ ก.8 แสดงค่าความเที่ยงของการวิเคราะห์ สารตัวอย่าง F(ทานตะวัน)

ครั้งที่	พื้นที่ใต้พีก		
	เมทิลโอเลเอต	เมทิลไลโนเลเอต	เมทิลไลโนเลเนต
1	293121	361928	12933
2	271279	330902	11561
3	283691	341826	11983
4	284753	350106	11252
5	277610	340714	12478
6	297438	344510	11754
7	288709	338565	12047
ค่าเฉลี่ย	285228.70	344078.70	12001.14
SD	8932.13	9793.99	564.83
%RSD	3.1316	2.8464	4.7065

คำนวณค่าความเที่ยงของสารละลายตัวอย่างทำเช่นเดียวกับสารมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก3.2 ศึกษาความเที่ยงของการตรวจวัด

ตารางที่ ก.9 แสดงค่าความเที่ยงของการวิเคราะห์ (สารมาตรฐาน)

วันที่	ความเข้มข้นของเมทิลโอเลเอตของกรดไขมัน (mg/L)			เฉลี่ย (mg/L)	ความเข้มข้นของเมทิลไลโนเลเอตของกรดไขมัน (mg/L)			เฉลี่ย (mg/L)	ความเข้มข้นของเมทิลไลโนเลเนตของกรดไขมัน (mg/L)			เฉลี่ย (mg/L)
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
1	1314.82	1196.76	1301.92	1271.17	1396.28	1287.11	1364.49	1349.29	165.90	151.55	155.18	159.36
2	1279.06	1313.68	1335.48	1309.41	1294.84	1341.65	1388.52	1341.67	156.92	160.21	163.44	160.19
3	1295.41	1213.85	1309.69	1272.98	1289.44	1312.68	1337.89	13613.34	152.58	159.20	169.28	160.35
ค่าเฉลี่ย				1284.52				1334.77				159.36
SD				47.6247				41.8640				6.011
%RSD				3.7076				3.1364				3.772

คำนวณค่าความเที่ยงของสารละลายตัวอย่างทำเช่นเดียวกับตาราง ก.5

ก3.2 ศึกษาความเที่ยงของการตรวจวัด

ตารางที่ ก.10แสดงค่าความเที่ยงของการวิเคราะห์สารตัวอย่าง

วันที่	ความเข้มข้นของเมทิลโอเลเอตของกรดไขมัน (mg/L)			เฉลี่ย (mg/L)	ความเข้มข้นของเมทิลไลโนเลเอตของกรดไขมัน (mg/L)			เฉลี่ย (mg/L)	ความเข้มข้นของเมทิลไลโนเลเนตของกรดไขมัน (mg/L)			เฉลี่ย (mg/L)
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
1	1740.14	1611.94	1684.79	1678.96	1998.45	1829.82	1889.19	1905.82	116.12	107.50	110.15	111.26
2	1654.58	1604.09	1663.91	1640.86	1878.43	1972.26	2020.59	1957.09	110.38	107.38	110.12	109.29
3	1743.82	1722.81	1706.01	1724.21	1928.84	1964.70	1986.58	1960.04	109.46	107.30	106.49	107.75
ค่าเฉลี่ย				1681.34				1940.98				109.43
SD				51.8472				63.6013				2.9118
%RSD				3.0837				3.2768				2.6608

คำนวณค่าความเที่ยงของสารละลายตัวอย่างทำเช่นเดียวกับสารมาตรฐาน

ก.3.2 การศึกษาความถูกต้อง (Accuracy) ของวิธีการวิเคราะห์

ตารางที่ ก.11 แสดงผลการวัดหาปริมาณกรดไขมันจำเป็นใน originaled sample กับ spiked sample และค่า %Recovery จากการวิเคราะห์ตัวอย่างยีห้อ F (ทานตะวัน)

อนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน	ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน (mg/L)	ความเข้มข้นของ spiked sample (mg/L)			เฉลี่ย (mg/L)	ความเข้มข้นของตัวอย่างเริ่มต้น (mg/L)			เฉลี่ย (mg/L)	%Recovery
		ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3		ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3		
เมทิลโอเลเอต	1799.74	3447.38	3473.51	3510.89	3477.26	1750.88	1621.27	1694.92	1689.02	99.36
เมทิลไลโนเลเอต	1954.87	3889.44	3515.19	3567.49	3657.37	1998.45	1829.82	1889.19	1905.82	92.89
เมทิลไลโนเลเนต	89.81	185.43	180.60	184.01	183.35	116.12	94.08	96.37	102.19	83.64

คำนวณหาค่าร้อยการกลับคืนของปริมาณกรดโอเลอิก

จาก $\%\text{Recovery} = \dfrac{\text{ความเข้มข้นของ spiked sample} - \text{ความเข้มข้นของตัวอย่างเริ่มต้น}}{\text{ความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมลงไป}} \times 100$

$$\%\text{Recovery} = \frac{3477.26 - 1689.02}{1799.74} \times 100$$

$$\%\text{Recovery} = 99.36$$

ค่าร้อยละการกลับคืนของกรดไขมันตัวทำเช่นเดียวกัน

ก.3.3 การศึกษาค่าต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (Limit of Detection; LOD) และค่าต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้โดยมีความถูกต้อง และความเที่ยงที่ยอมรับได้ (Limit of Quantitation; LOQ)

ก.3.3.1 LOD และ LOQ ของกรดโอเลอิก

ตารางที่ ก.12 แสดงผลการวัดความเข้มข้นของสารละลายแบลงค์ของกรดโอเลอิก

ครั้งที่	พื้นที่ใต้พีก	ความเข้มข้น(mg/L)	LOD	LOQ
1	801	16.35		
2	926	17.09		
3	859	16.69		
4	451	14.27		
5	587	15.08	18.99	26.13
6	651	15.46		
7	843	16.60		
ค่าเฉลี่ย		15.93		
SD		1.02		

<u>คำนวณ LOD และ LOQ</u>

นำพื้นที่ใต้พีก มาคำนวณหาความเข้มจากสมการเส้นตรง y = 168.53x-1954.2

คำนวณหาค่าความเข้มข้นเฉลี่ยและ SD เหมือนข้อ 3.1

จาก $LOD = \bar{x} + 3SD$

$LOD = 15.93 + 3(1.02)$

$LOD = 18.99$ mg/L

จาก $LOQ = \bar{x} + 10SD$

$LOQ = 15.93 + 10(1.02)$

$LOQ = 26.13$ mg/L

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก.3.3.2 LOD และ LOQ ของกรดไลโนเลอิก

ตารางที่ ก.13 แสดงผลการวัดความเข้มข้นของสารละลายแบลงค์ของกรดไลโนเลอิก

ครั้งที่	พื้นที่ใต้พีก	ความเข้มข้น(mg/L)	LOD	LOQ
1	801	24.73	27.25	34.03
2	926	25.44		
3	859	25.06		
4	451	22.76		
5	587	23.53		
6	651	23.89		
7	843	24.97		
ค่าเฉลี่ย		24.34		
SD		0.97		

<u>คำนวณ LOD และ LOQ</u>

นำพื้นที่ใต้พีก มาคำนวณหาความเข้มจากสมการเส้นตรง y = 177.47x-3588.7

คำนวณหาค่าความเข้มข้นเฉลี่ยและ SD เหมือนข้อ 3.1

LOD และ LOQ ทำเช่นเดียวกันกับข้อ 3.3.1

ก.3.3.3 LOD และ LOQ ของกรดไลโนเลนิก

ตารางที่ ก.14 แสดงผลการวัดความเข้มข้นของสารละลายแบลงค์ของกรดไลโนเลนิก

ครั้งที่	พื้นที่ใต้พีก	ความเข้มข้น(mg/L)	LOD	LOQ
1	801	27.03	29.95	37.83
2	926	27.85		
3	859	27.41		
4	451	24.73		
5	587	25.62		
6	651	26.04		
7	843	27.30		
ค่าเฉลี่ย		26.57		
SD		1.13		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>คำนวณ LOD และ LOQ</u>

นำพื้นที่ใต้พีก มาคำนวณหาความเข้มจากสมการเส้นตรง y = 152.64x-3324.3

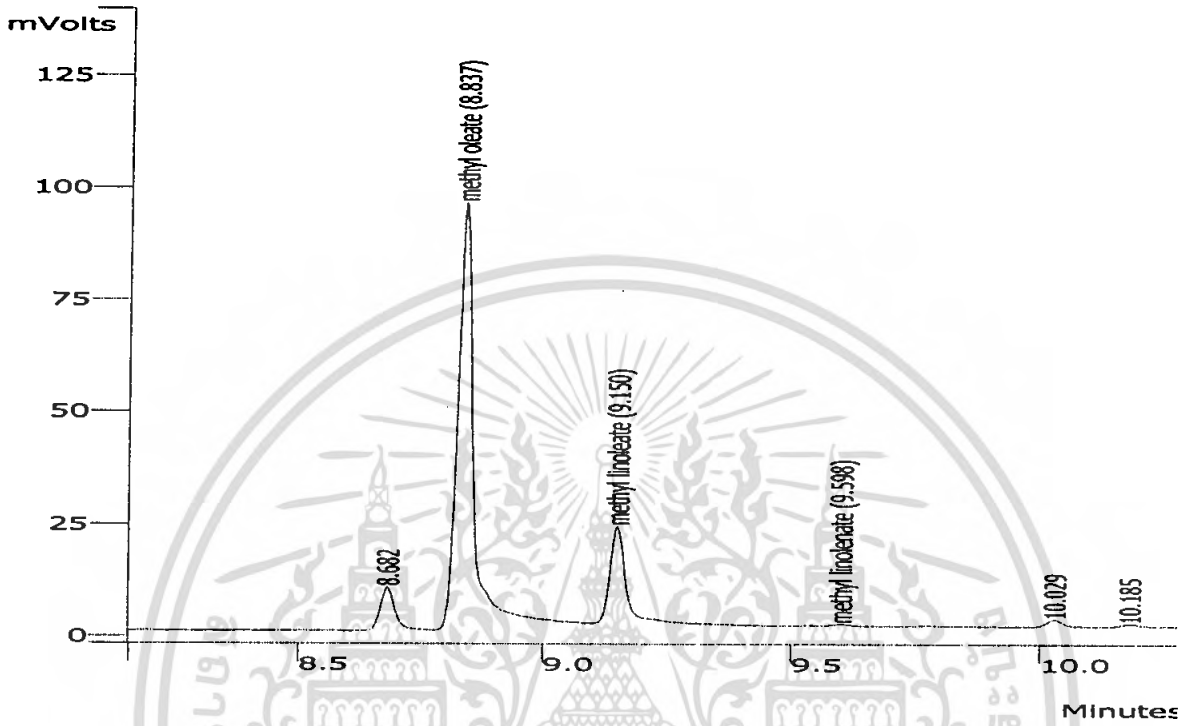
คำนวณหาค่าความเข้มข้นเฉลี่ยและ SD เหมือนข้อ 3.1

LOD และ LOQ ทำเช่นเดียวกันกับข้อ 3.3.1

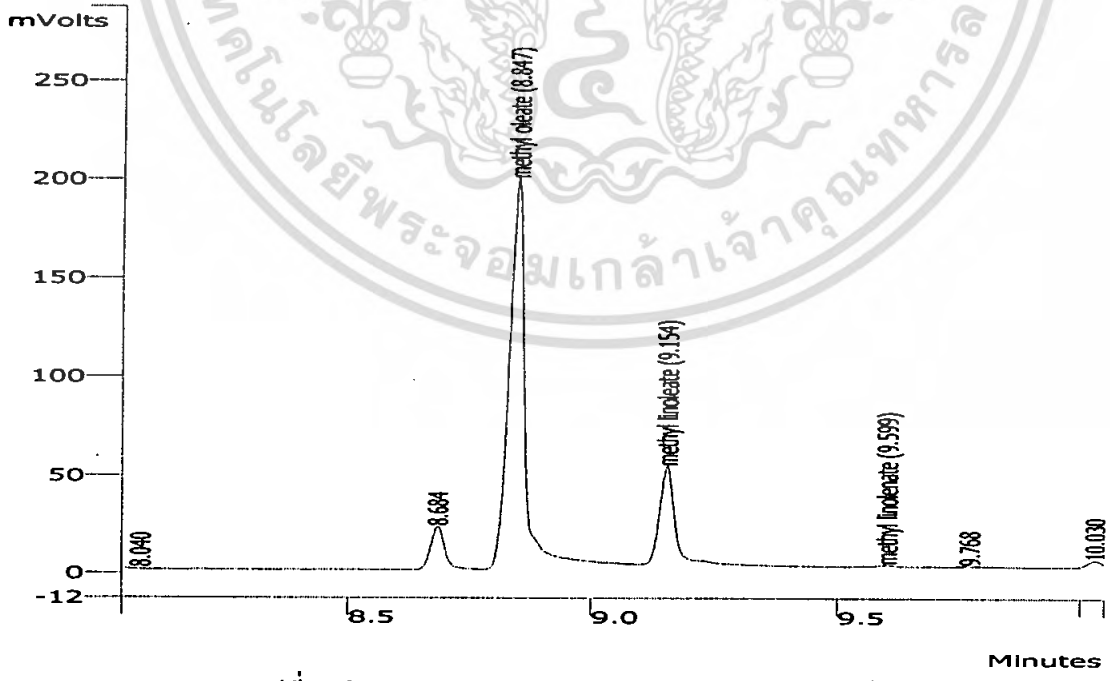
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

โครมาโทแกรม

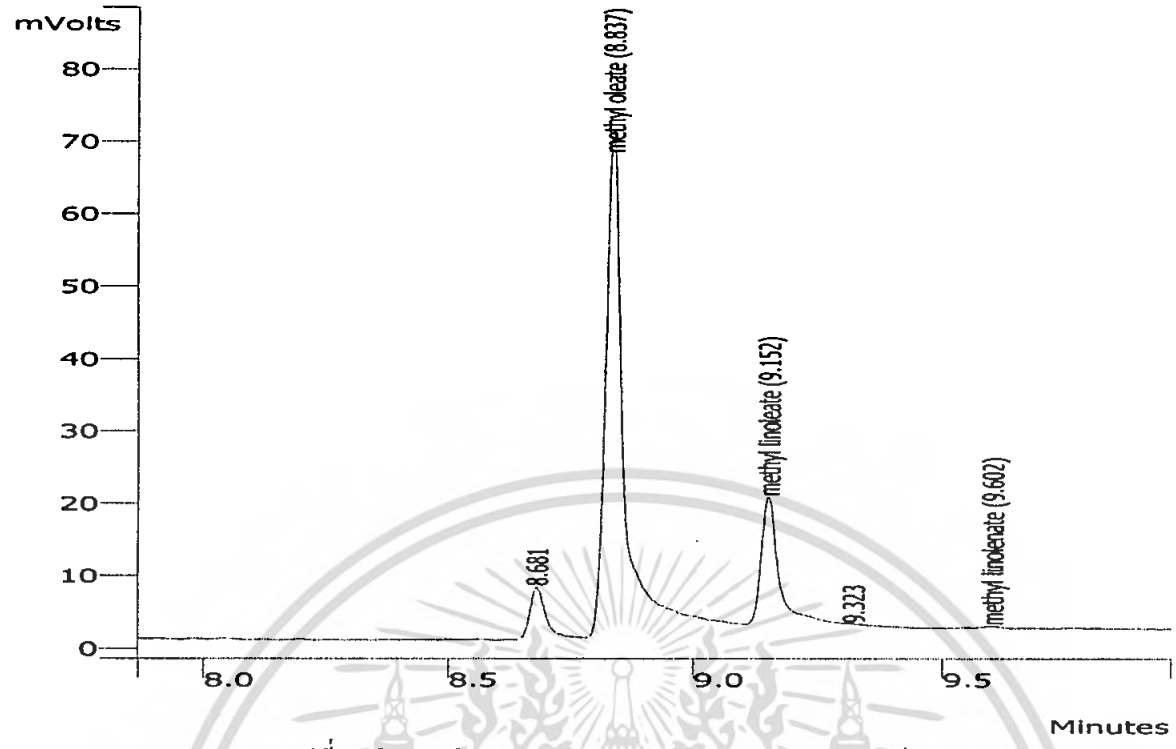


รูปที่ข.1 โครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่าง C (ปาล์ม)

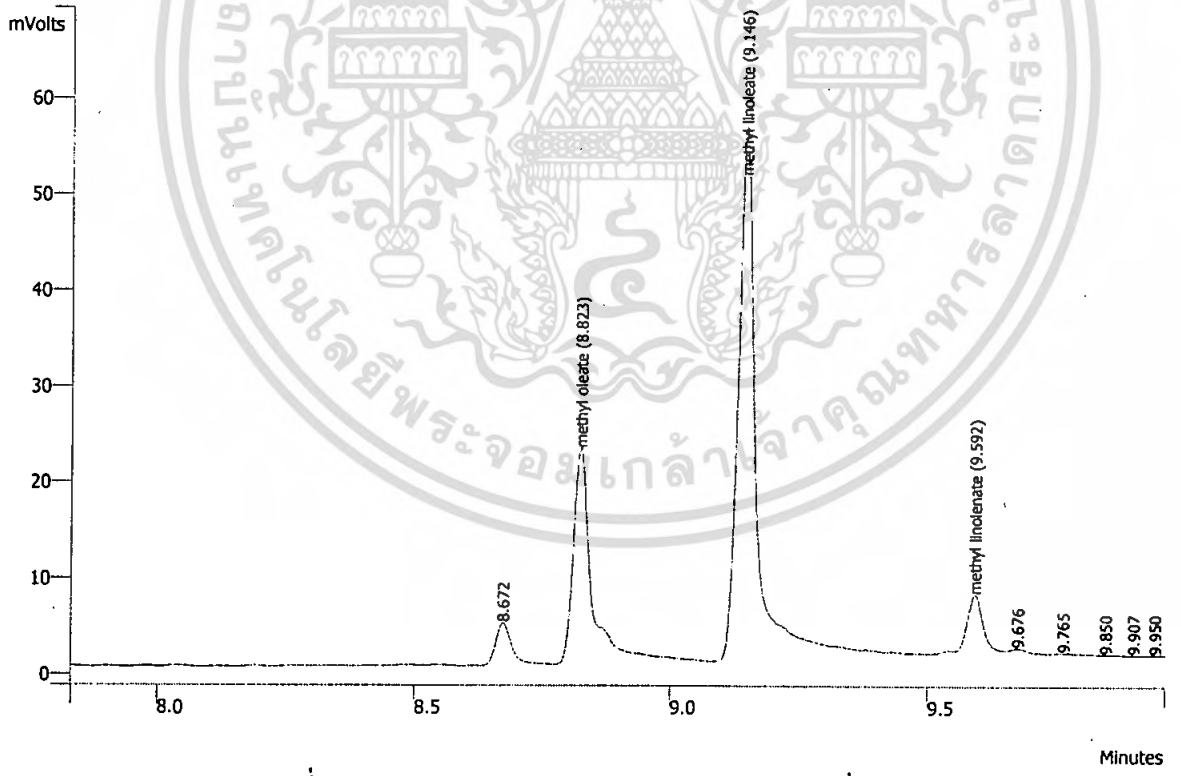


รูปที่ข.2 โครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่าง B (ปาล์ม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

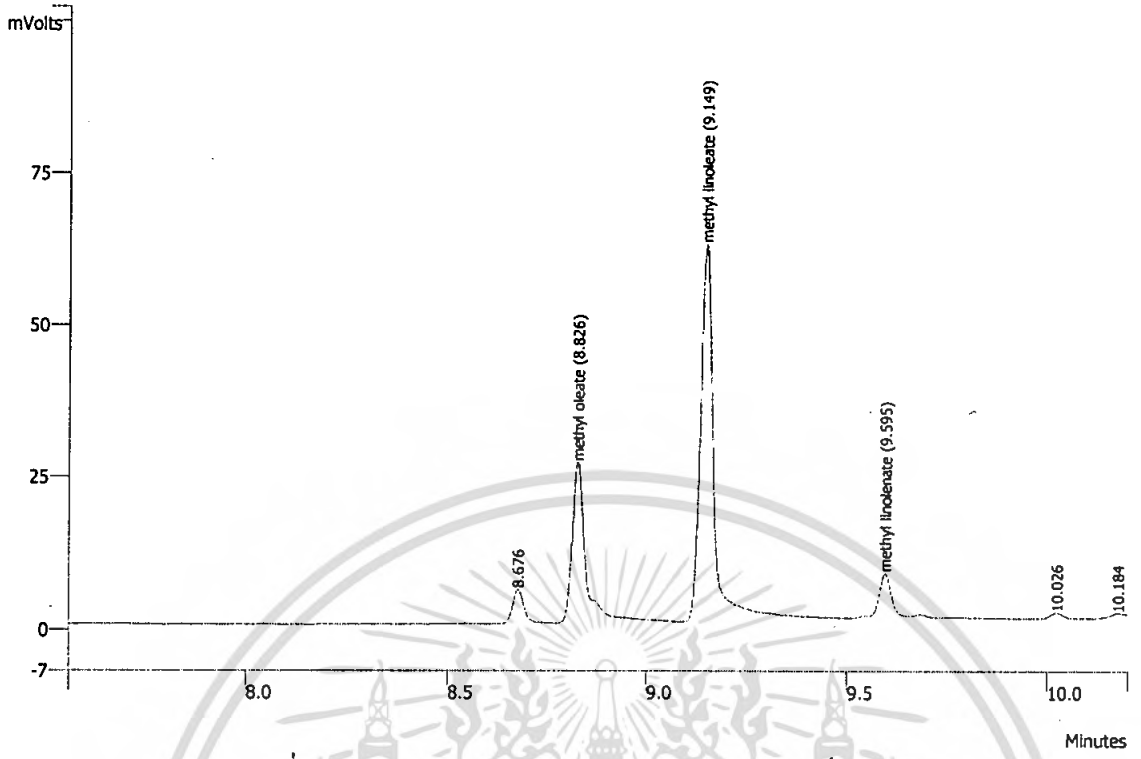


รูปที่ข.3 โครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่าง A (ปาล์ม)

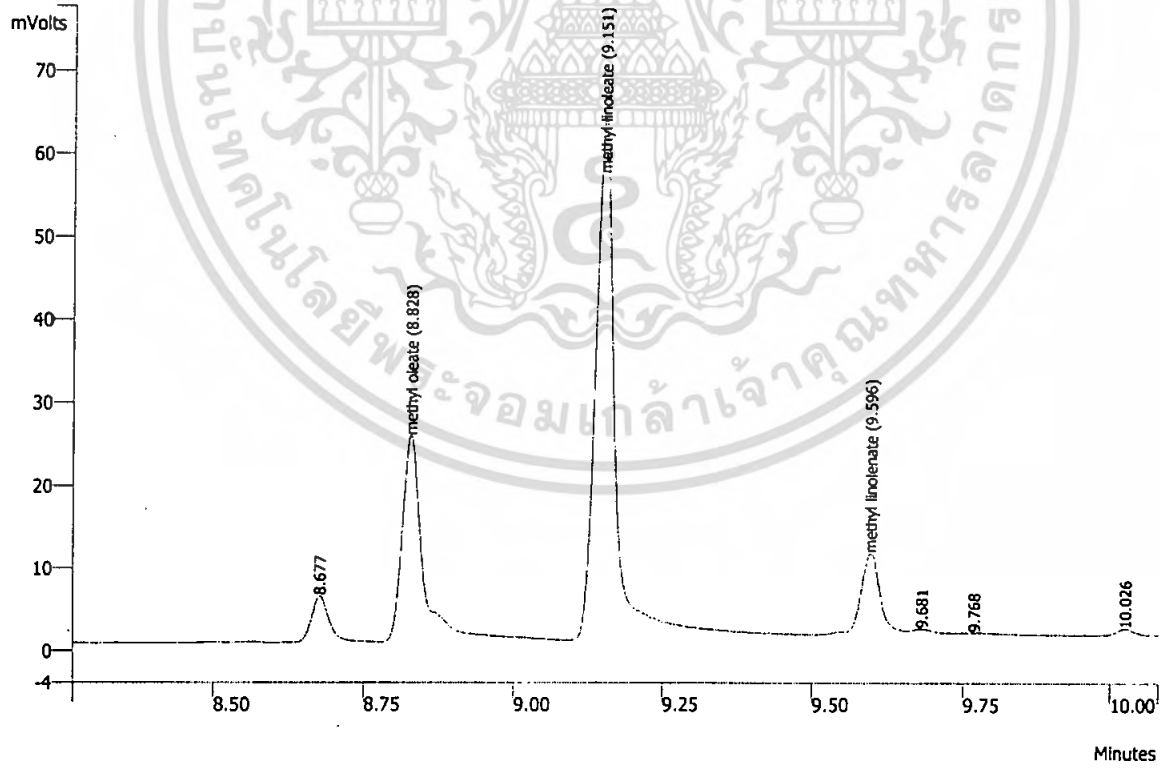


รูปที่ข.4 โครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่าง A (ถั่วเหลือง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

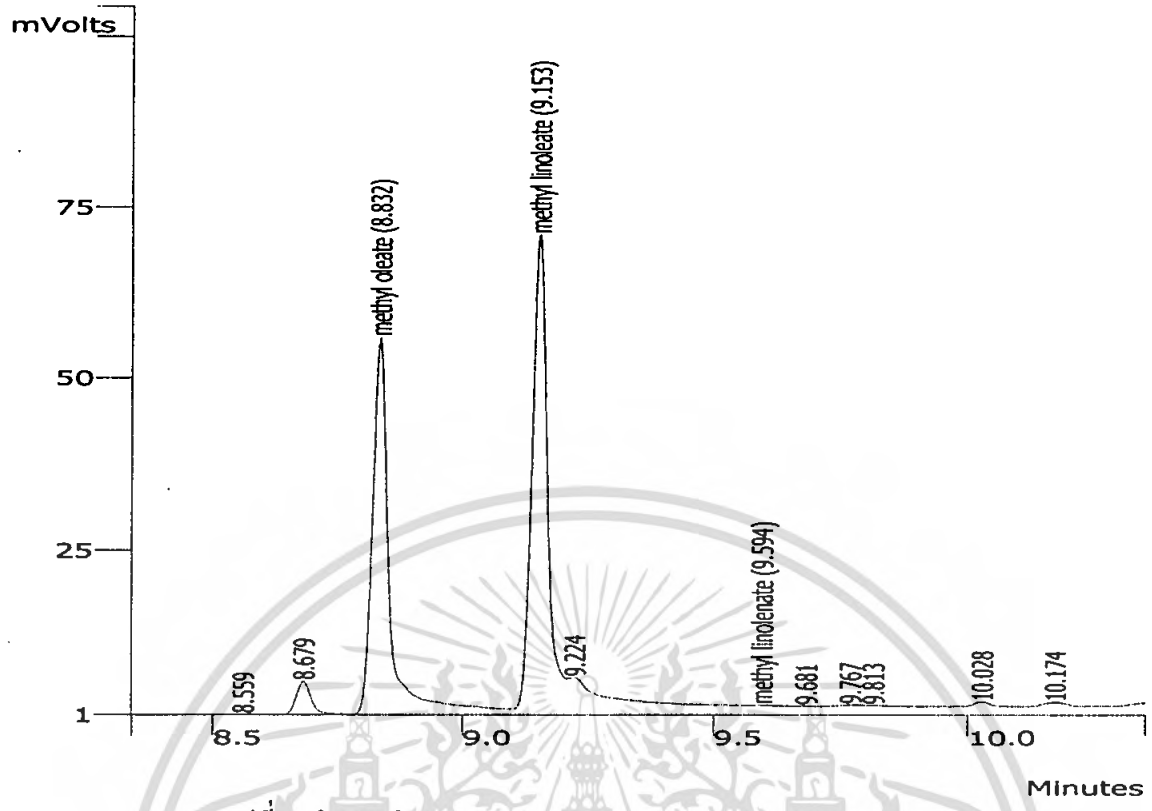


รูปที่ข.5 โครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่าง D (ถั่วเหลือง)

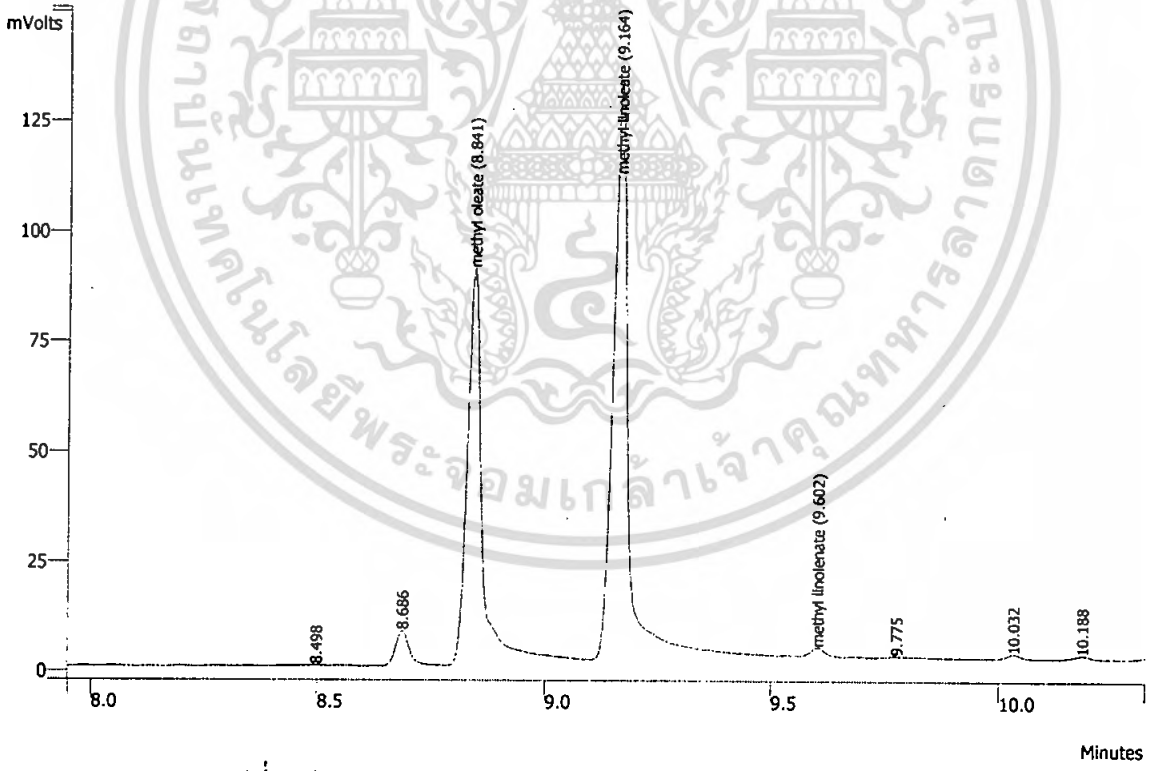


รูปที่ข.6 โครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่าง E (ถั่วเหลือง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

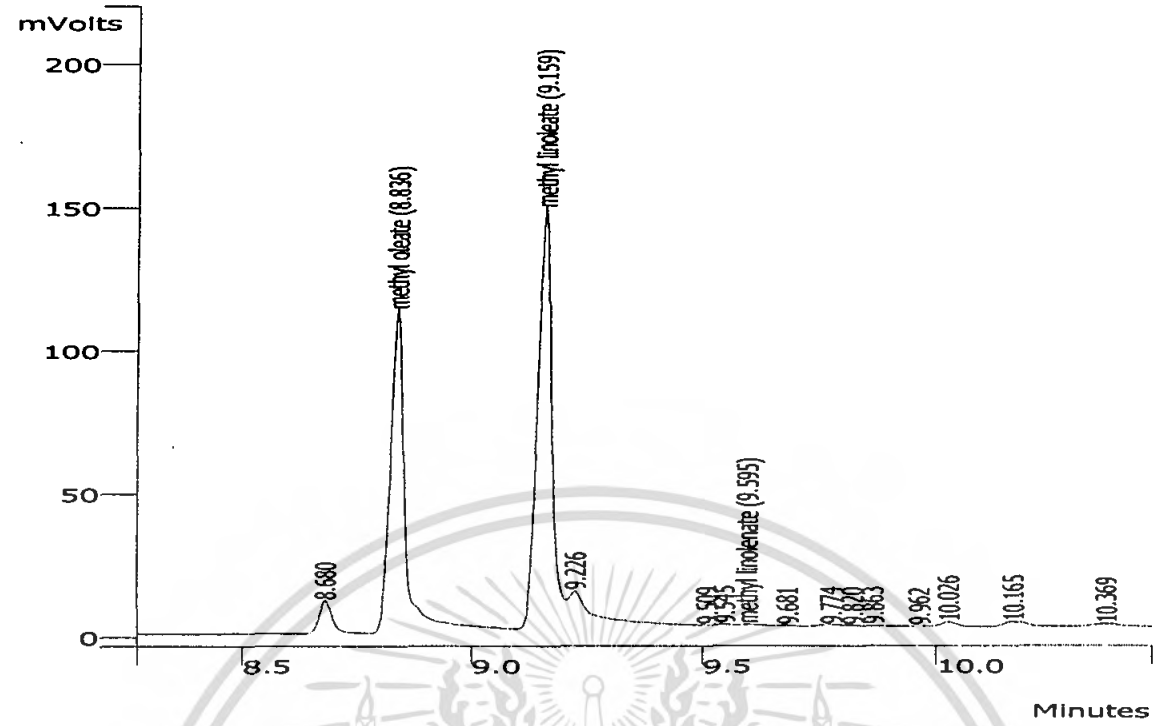


รูปที่ข.7 โครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่าง C (ทานตะวัน)

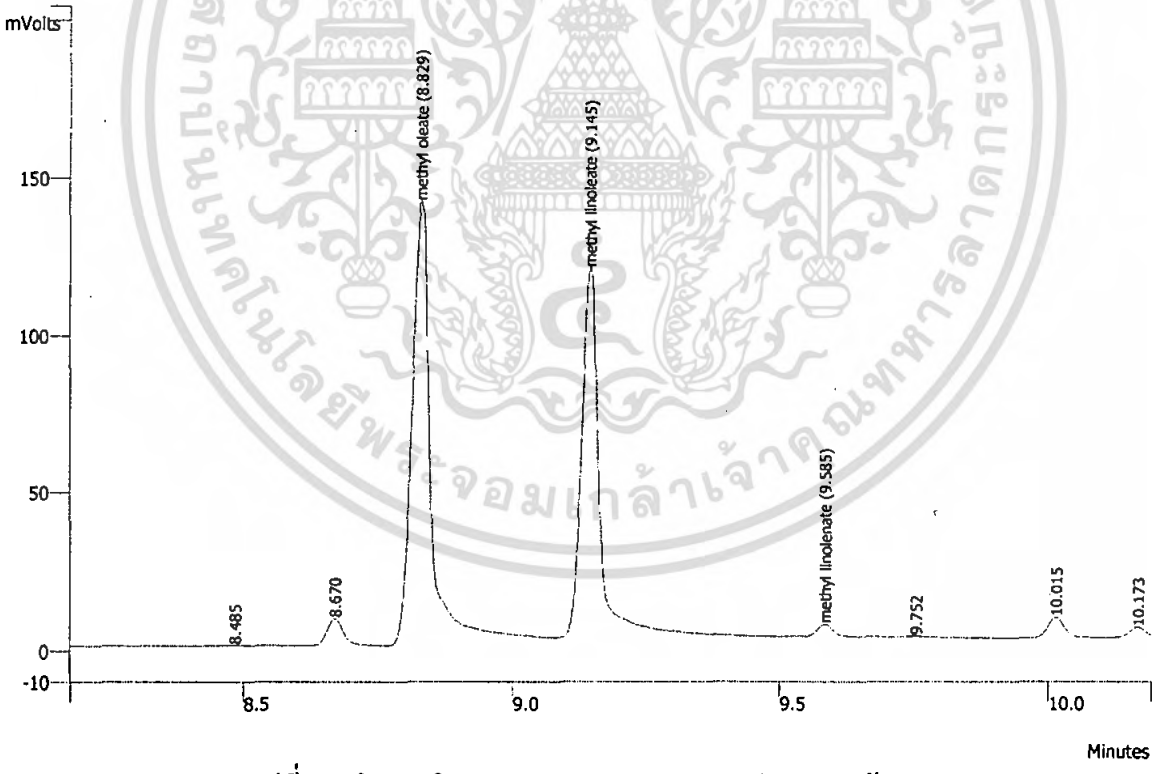


รูปที่ข.8 โครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่าง A (ทานตะวัน)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

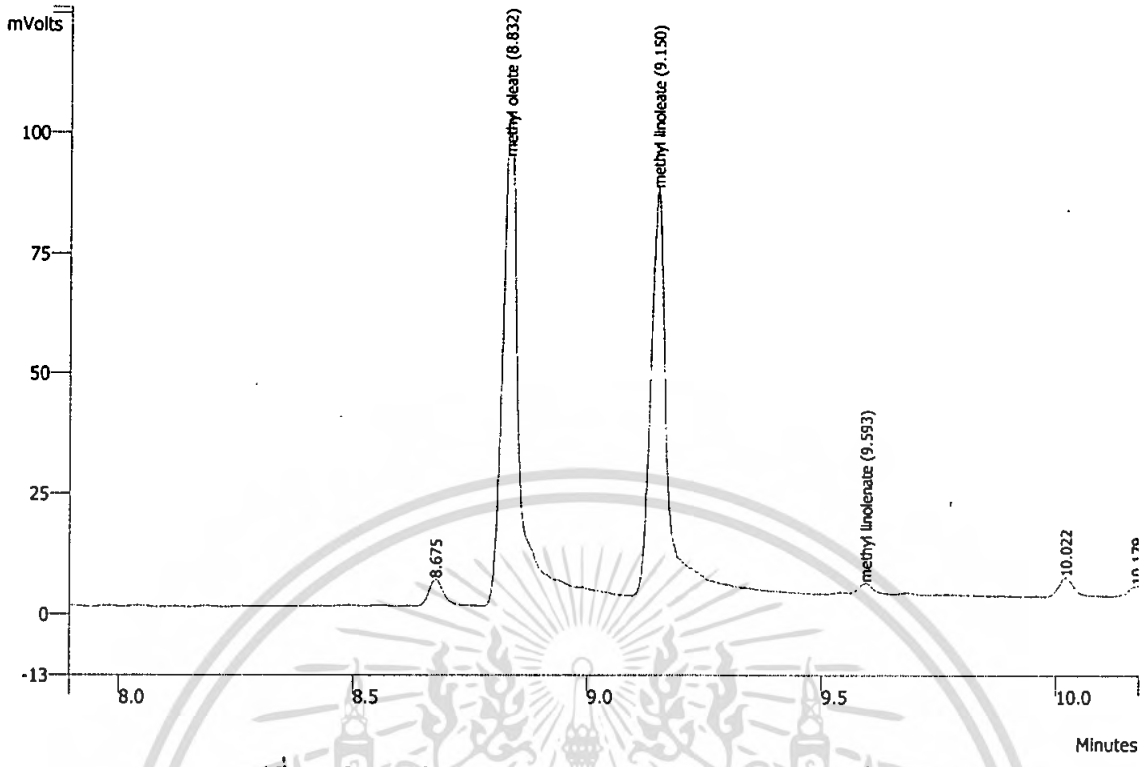


รูปที่ข.9 โครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่าง F (ทานตะวัน)

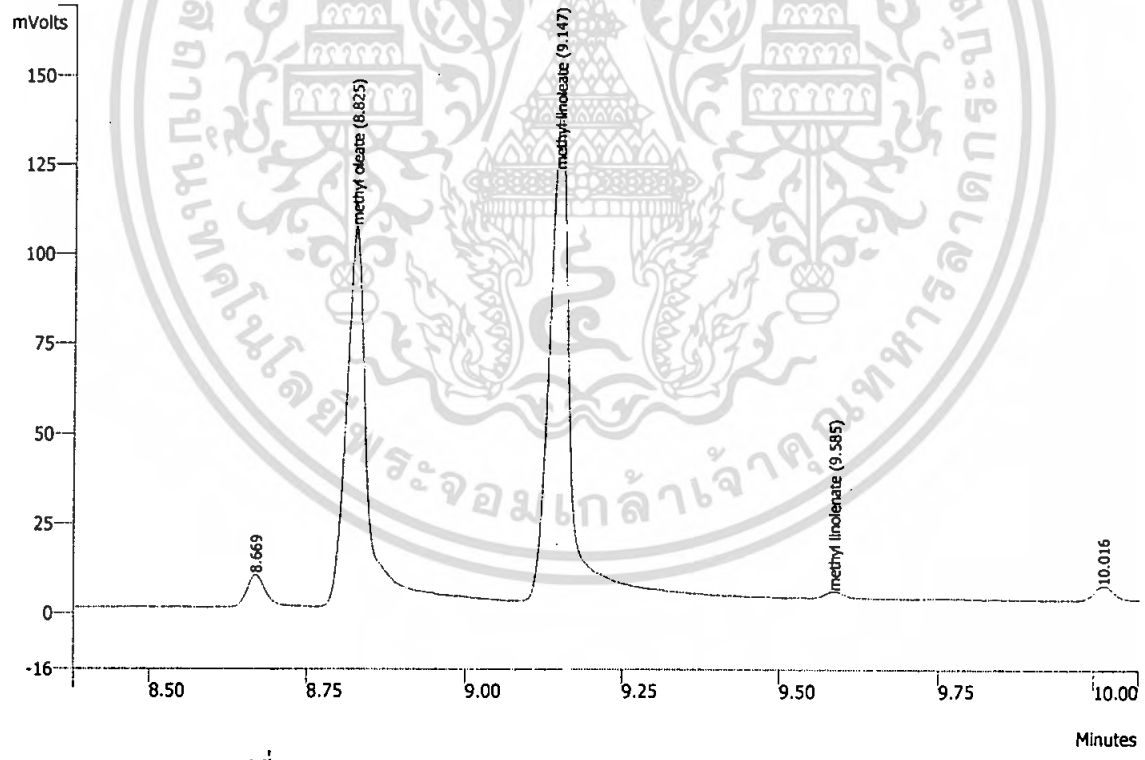


รูปที่ข.10 โครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่าง E (รำข้าว)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

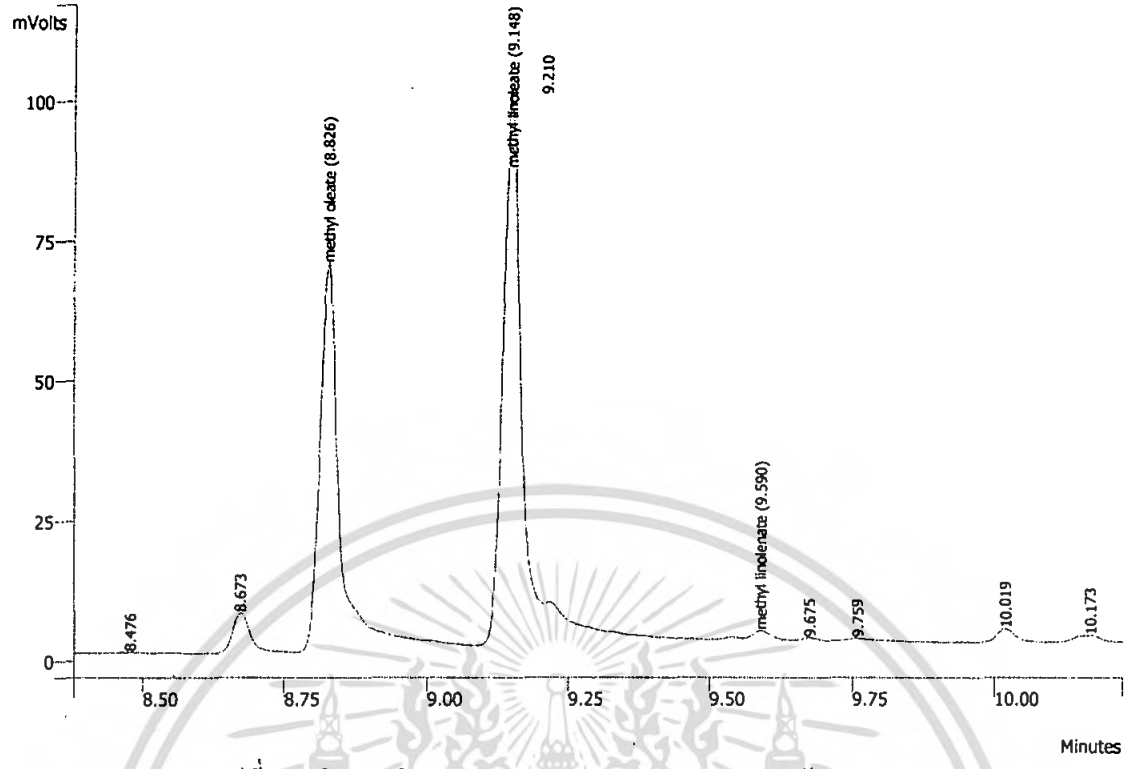


รูปที่ข.11 โครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่าง G (รำข้าว)

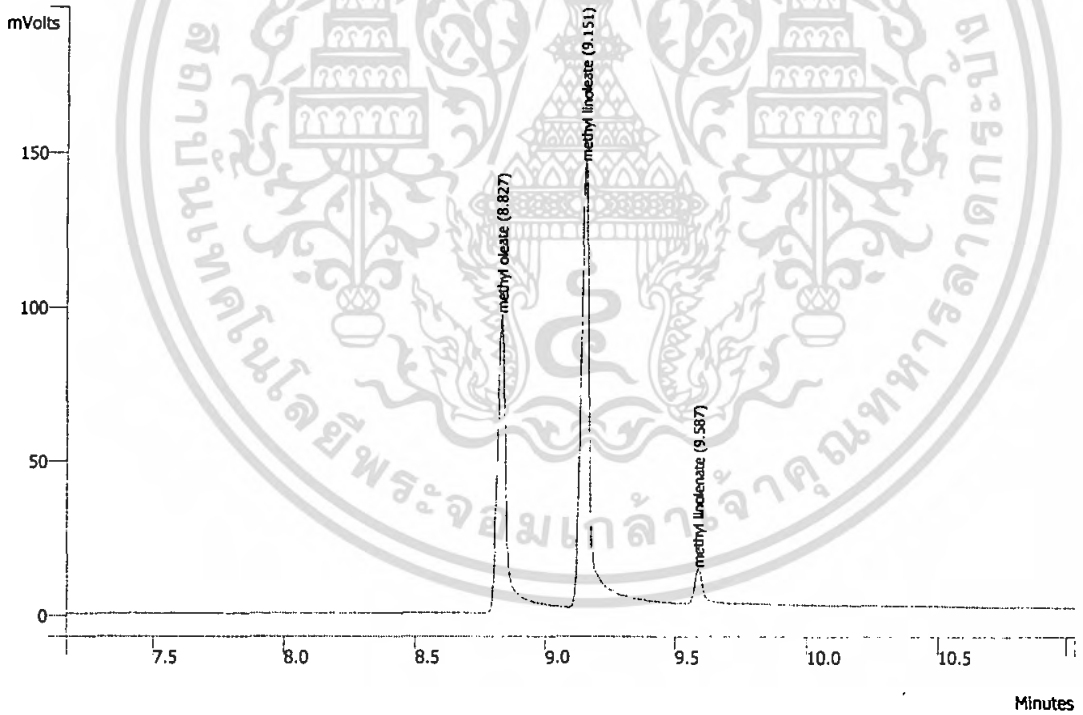


รูปที่ข.12 โครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่าง E (ข้าวโพด)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

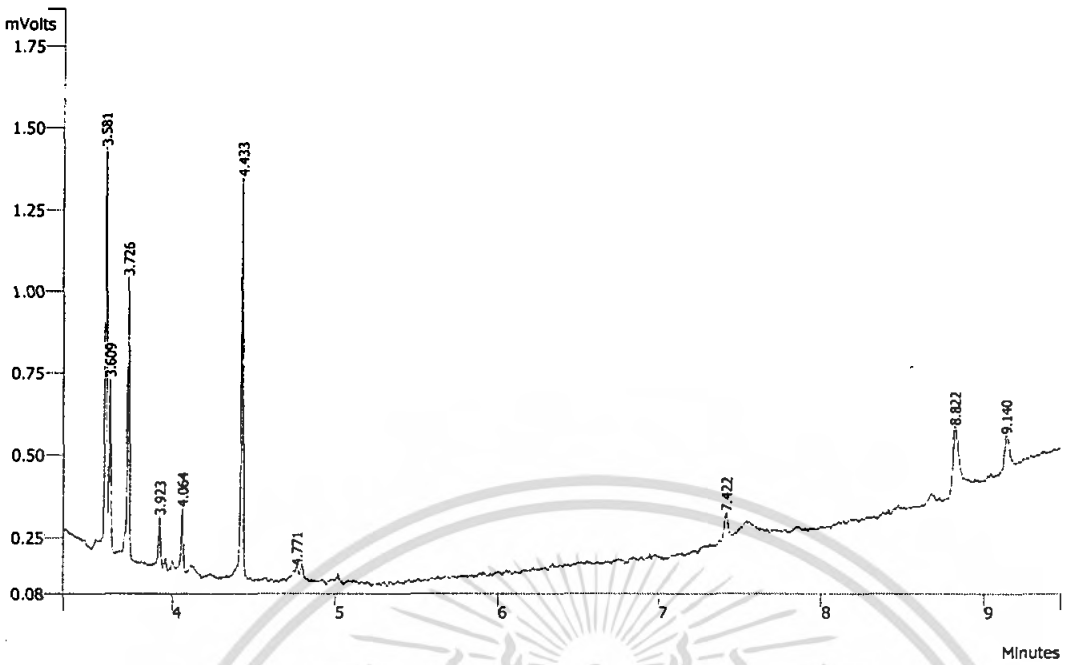


รูปที่ข.13 โครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่าง F (ข้าวโพด)



รูปที่ข.14 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ข.15 โครมาโทแกรมของสารละลายแบลงค์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

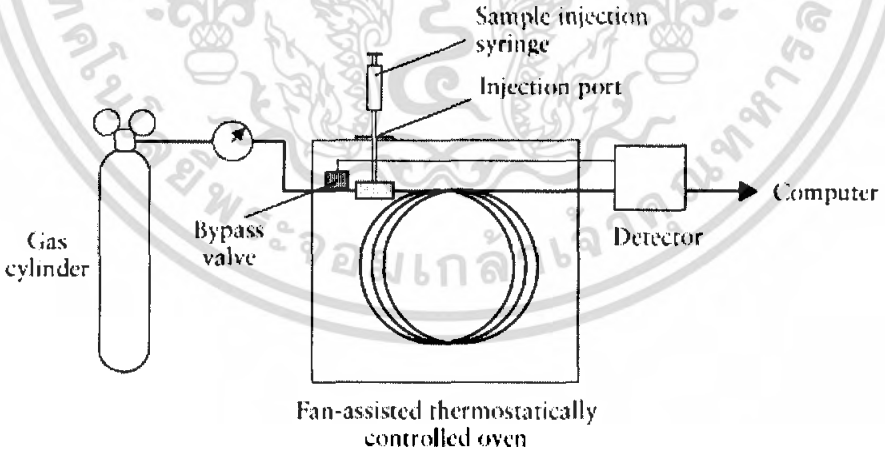
ภาคผนวก ค

แก๊สโครมาโทรกราฟี

แก๊สโครมาโทกราฟี (Gas Chromatography, GC) เป็นเทคนิคสำหรับแยกสารตัวอย่างที่เป็นสารผสม โดยเปลี่ยนสารผสมให้เป็นไอที่อุณหภูมิหนึ่ง แล้วให้ไอของสารเหล่านั้นผ่านเข้าไปยังคอลัมน์ (column) ที่บรรจุด้วยเฟสคงที่ (stationary phase) โดยอาศัยการพาไปของเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ที่เป็นแก๊สเรียกว่า แก๊สพา (carrier gas) องค์ประกอบแต่ละชนิดของสารผสมจะมีความสามารถในการเคลื่อนที่และการกระจายตัวผ่านเฟสคงที่แตกต่างกัน จึงทำให้สามารถแยกองค์ประกอบออกจากกัน

2.4.1 ส่วนประกอบของเครื่องแก๊สโครมาโทรกราฟ

1. ถังแก๊สที่ใช้บรรจุแก๊สพาทำหน้าที่พาไอของสารตัวอย่างผ่านเข้าไปยังคอลัมน์ แก๊สพาที่นิยมใช้ได้แก่ ไนโตรเจน ฮีเลียม และ อาร์กอน เป็นต้น
2. ส่วนที่ใช้ควบคุมการไหลของแก๊สต่างๆ (flow controller) ได้แก่ ไฮโดรเจน อากาศ และไนโตรเจน
3. บริเวณฉีดสารตัวอย่างเข้าไป (injection port)
4. คอลัมน์ซึ่งเป็นส่วนที่สำคัญที่สุดที่ใช้สำหรับแยกสาร
5. ดีเทคเตอร์ (detector) เป็นส่วนที่ใช้สำหรับตรวจวัดสารแต่ละชนิดที่ถูกแยกออกมาจากคอลัมน์
6. ส่วนควบคุมอุณหภูมิ (temperature controller) ให้กับคอลัมน์ ดีเทคเตอร์ และ injector
7. ส่วนประมวลผลและข้อมูลต่างๆ ได้แก่อินทิเกรเตอร์ เครื่องบันทึกโครมาโทแกรม หรือ data processor หรือคอมพิวเตอร์



รูปที่ 2.7 แสดงส่วนประกอบของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้น ในการวิเคราะห์สารตัวอย่างโดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีนั้น สามารถแสดงให้เข้าใจได้ง่ายๆ ดังนี้ คือ เมื่อเลือกสภาวะต่างๆ ของการวิเคราะห์แล้ว ปรับสภาวะของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ ให้เหมาะสม จึงนำสารตัวอย่างฉีดเข้าที่บริเวณฉีดสารตัวอย่าง สารตัวอย่างจะกลายเป็นไอแล้วถูกพาเข้าไปในคอลัมน์ด้วยแก๊สพาอย่างช้า สารผสมจะถูกแยกออกเป็นส่วนๆ ที่คอลัมน์ แล้วออกไปสู่ดีเทคเตอร์จะทำให้ได้สัญญาณเกิดขึ้น แสดงผลออกมาเป็นโครมาโทรแกรม สามารถนำไปวิเคราะห์ผลเชิงคุณภาพและปริมาณได้ โดยเวลาการคงไว้ (Retention time) ใช้บ่งบอกชนิดของสารได้ และพื้นที่ใต้กราฟใช้บ่งบอกปริมาณสาร

คอลัมน์ (columns)

ในงานวิจัยนี้ใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ โดยใช้คอลัมน์ชนิดแคพิลลารีคอลัมน์ (capillary column) ความยาว 100 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 0.25 มิลลิเมตร เคลือบด้วยสารไซยาโนโพพิลโพลีไซลอคเซน 100 % (100% Cyanopropyl-polysiloxane) ความหนาของฟิล์ม 0.20 ไมโครเมตร ทำหน้าที่เป็นเฟสอยู่กับที่ ซึ่งคอลัมน์ประเภทนี้มีประสิทธิภาพในการแยกมากกว่าคอลัมน์อีกประเภทหนึ่งคือแพคคอลัมน์ (pack column)

ดีเทคเตอร์ (detector)

เป็นเครื่องที่บ่งบอกว่ามีสารที่ต้องการวิเคราะห์หรือมีสารอื่นที่แตกต่างไปจากแก๊สพาที่พาออกมาจากคอลัมน์หรือไม่ ถ้ามีก็จะสามารถวัดได้ว่ามีปริมาณเท่าไร ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้ใช้ดีเทคเตอร์ชนิดเฟลมไอออไนเซชันดีเทคเตอร์ (Flame ionization detector,FID) เป็นตัวตรวจวัด

เฟลมไอออไนเซชันดีเทคเตอร์ เป็นดีเทคเตอร์ที่ใช้กันอย่างกว้างขวางในการตรวจหาสารประกอบอินทรีย์ แก๊สไฮโดรเจนจะถูกติดไฟด้วย heater ไฟฟ้า ซึ่งอยู่ใกล้ๆ กับ Flame jet ส่วนอากาศที่ผ่านเข้าไปทำหน้าที่สองอย่าง คือ ช่วยในการเผาไหม้ของแก๊สไฮโดรเจนและช่วยพาให้แก๊สที่เผาไหม้แล้วออกไป แก๊สพาและสารตัวอย่างที่ออกมาจากคอลัมน์จะเข้าสู่เปลวไฟ จะทำให้สารเหล่านั้นเกิดไอออไนเซชันได้เป็นอิเล็กตรอนและไอออนบวก อิเล็กตรอนจะวิ่งไปยัง flame jet ไอออนบวกจะเคลื่อนที่ไปยังอิเล็กโทรด สัญญาณที่เกิดขึ้นจะถูกส่งไปยังอิเล็กโทรมิเตอร์และบันทึกสัญญาณด้วยเครื่องบันทึกได้โครมาโทแกรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

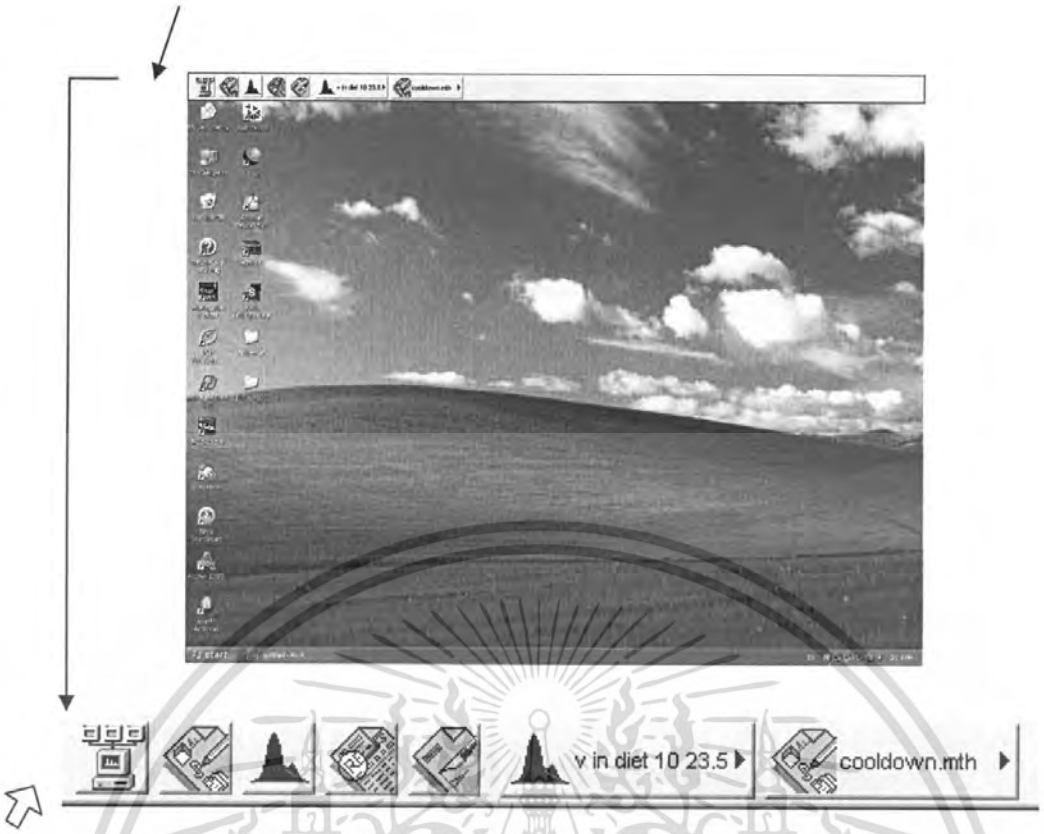
ขั้นตอนการเปิด-ปิดเครื่อง GC-FID/TDU

1. เปิดเครื่องคอมพิวเตอร์
2. เปิดแก๊สทั้ง 4 ถัง (He, H_2, N_2 และ Air)
3. เปิดวาล์ว makeup gas, air และ H_2 (ด้านในกระจกสีดำด้านหน้าเครื่อง) โดยหมุนปุ่มทั้ง 3 ปุ่มทวนเข็มนาฬิกาจนสุด ดังรูป

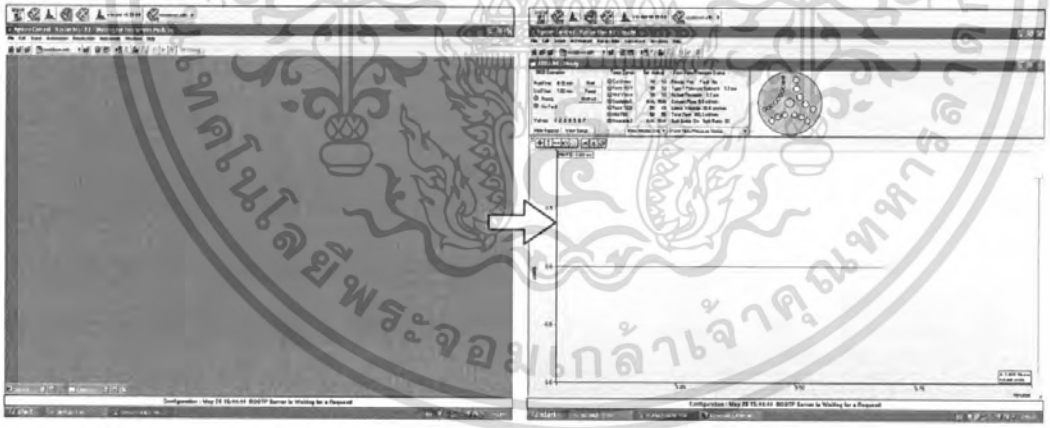
4. เปิดสวิสซ์สีดำที่เครื่อง GC (ด้านบน ของตัวเรื่อง) ดังรูป

5. คลิกรูป System Control Automation ที่หน้าจอคอมพิวเตอร์ ดังรูป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



6. ที่หน้าจอเครื่อง GC จะมีข้อความว่า "Initializing" และหน้าจอคอมพิวเตอร์จะปรากฏเป็นสีเทา ไม่ต้องกดปุ่มใด ๆ รอจนหน้าจอคอมพิวเตอร์ปรากฏเป็นสีเหลือง แสดงว่า connect กับเครื่องคอมพิวเตอร์ได้แล้วและพร้อมใช้งานต่อไป

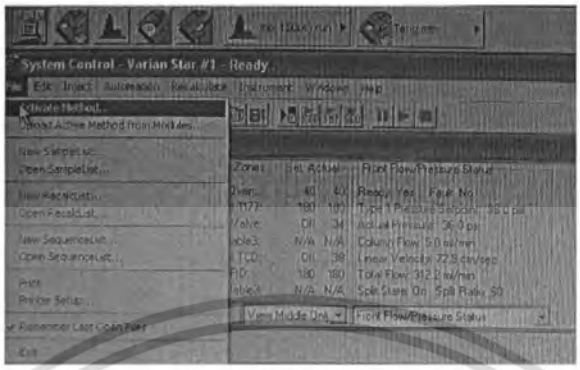


8. กรณีที่มี Method ที่ใช้วิเคราะห์อยู่แล้วอยู่แล้ว ให้เลือกคำสั่ง ดังรูป

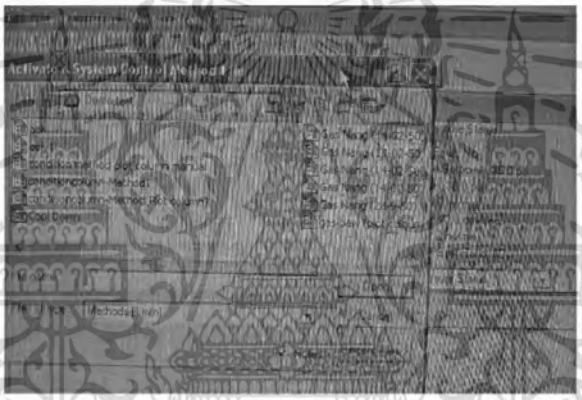
8.1 File

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8.2 Activate Method



8.3 เลือก Method ที่สร้างไว้



8.4 Open

8.5 เครื่องพร้อมฉีดตัวอย่างเมื่อ ขึ้นไปสีเขียวทั้งหมด และตรงไฟสีเขียว (ซ้ายมือ ข้างบน) ขึ้นคำว่า Ready

9. กรณีที่ยังไม่มี Method สามารถสร้าง Method ใหม่ ได้ 2 ทาง

9.1 Copy Method ของคนอื่นที่ใช้ Detector เหมือนเรา โดย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

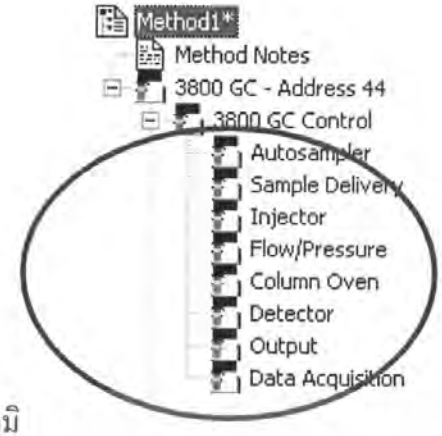
9.1.1 เข้าไปเลือก method ที่คนอื่นสร้างไว้ (**ทำตามขั้นตอน ข้อ 8.1-8.4**) แล้ว Click ที่ Method ดังรูป

9.1.2 จะปรากฏหน้าจอดังรูป

รายละเอียดต่างๆ ที่ต้องเลือกจากหน้า window ข้างบน มีดังนี้

- Autosampler
- Sample Delivery
- Injector
- Flow/Pressure
- Column Oven
- Output
- Data Acquisition

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



9.1.3 เข้าไปแก้อุณหภูมิ

- Injector
- Column Oven
- Detector

ตาม Temperature Program ตามที่เราต้องการใช้

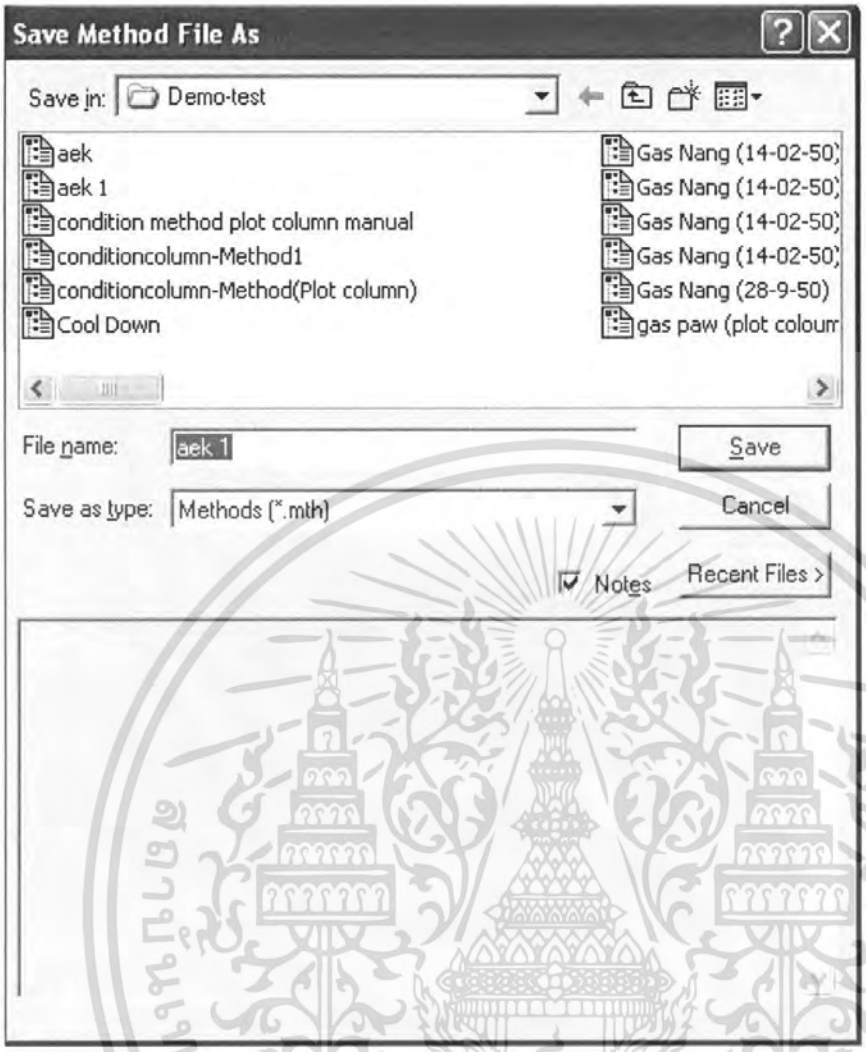
ข้อควรระวัง

- อุณหูมิของ Column Oven ต้องไม่สูงกว่า Maximum Temperature ของคอลัมน์ โดยดูจากกล่องคอลัมน์ที่กำลังใช้งานอยู่
- อุณหูมิของ Detector ควรตั้งสูงกว่า อุณหูมิสุงสุดของ Column Oven ที่เราตั้งไว้ 20-30 องศาเซลเซียส

9.1.4 เข้า File เลือก Save as เพื่อไม่ให้ไปทับ method ของคนที่สร้างไว้ก่อน

9.1.5 ตั้งชื่อเป็น Method ของเรา (จะตั้งชื่ออะไรก็ได้ และเราก้อจำชื่อเอาไว้ เพื่อที่จะใช้ในการ Activated Method มาใช้ครั้งต่อไป) ดังรูป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

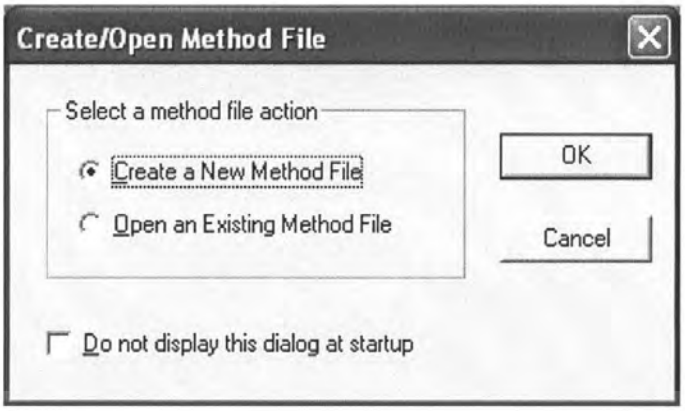


9.2 สร้าง Method ใหม่

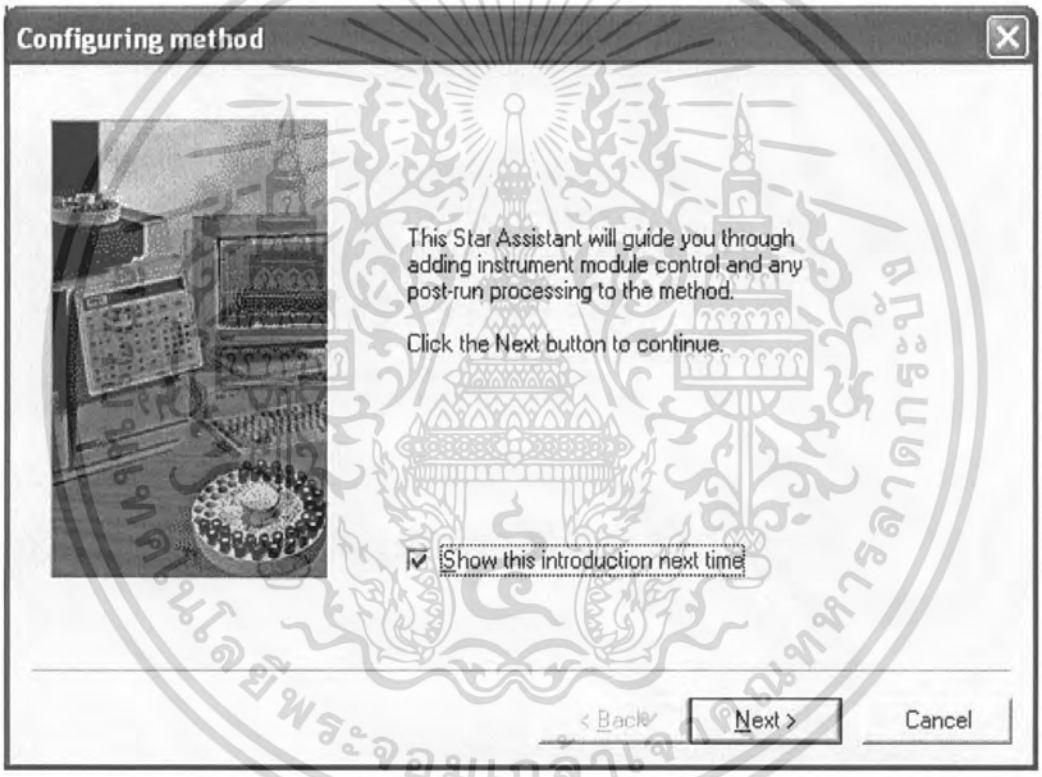
ที่หน้า Computer จะมี Menu bar ปรากฏขึ้นมาหลังจากเปิดเครื่อง Computer

9.2.1 Click ที่ view/edit method จะปรากฏ window ขึ้นมาดังรูป และ และ click ที่ Create a New Method File แล้ว click OK

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

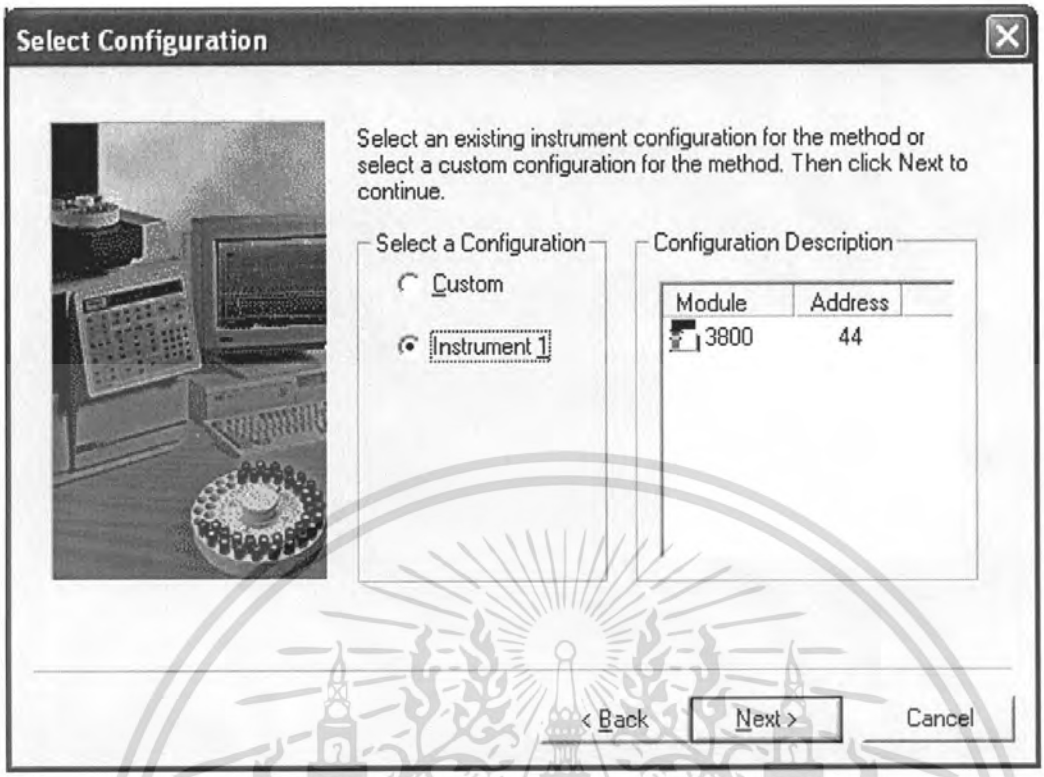


9.2.2 จะปรากฏ window ขึ้นมาดังรูป และ click Next

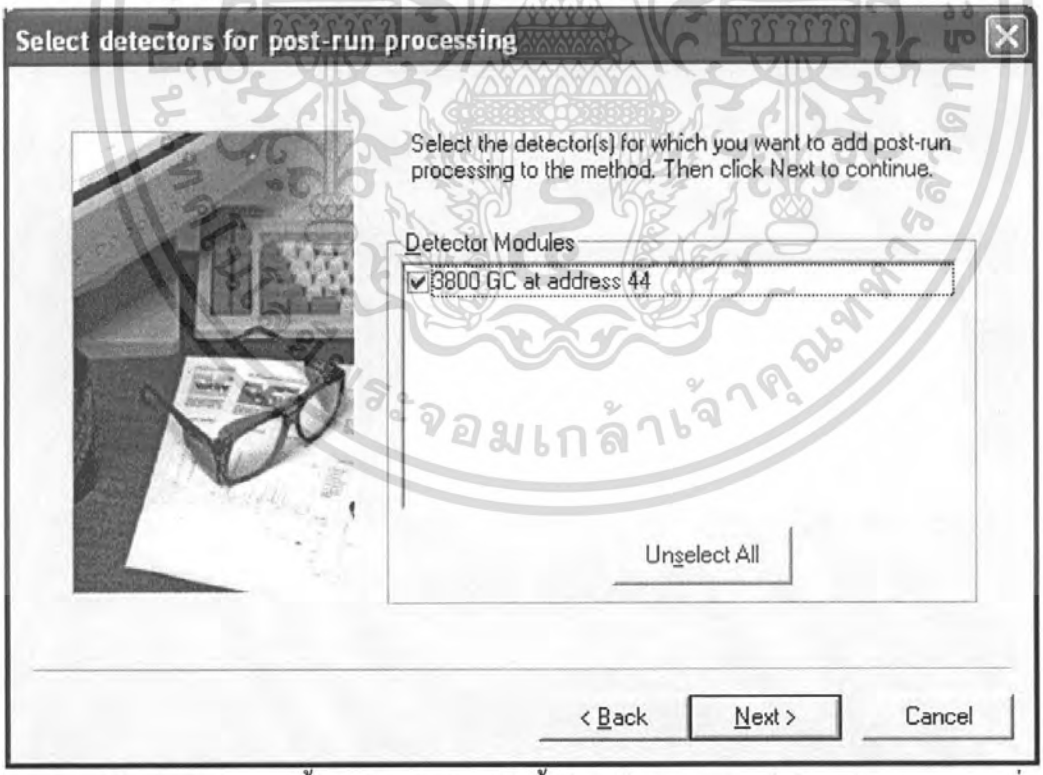


9.2.3 จะปรากฏ window ขึ้นมาดังรูป และ เลือก Instrument 1 และ click Next

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

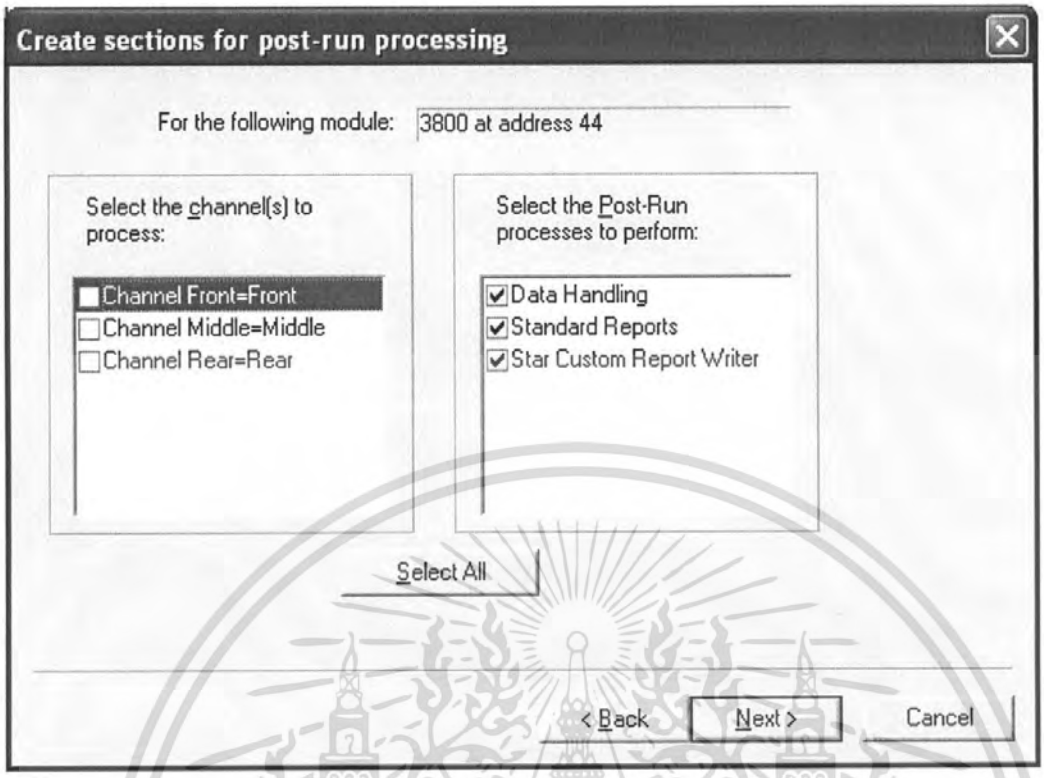


9.2.4 จะปรากฏ window ขึ้นมาดังรูป และ click Next

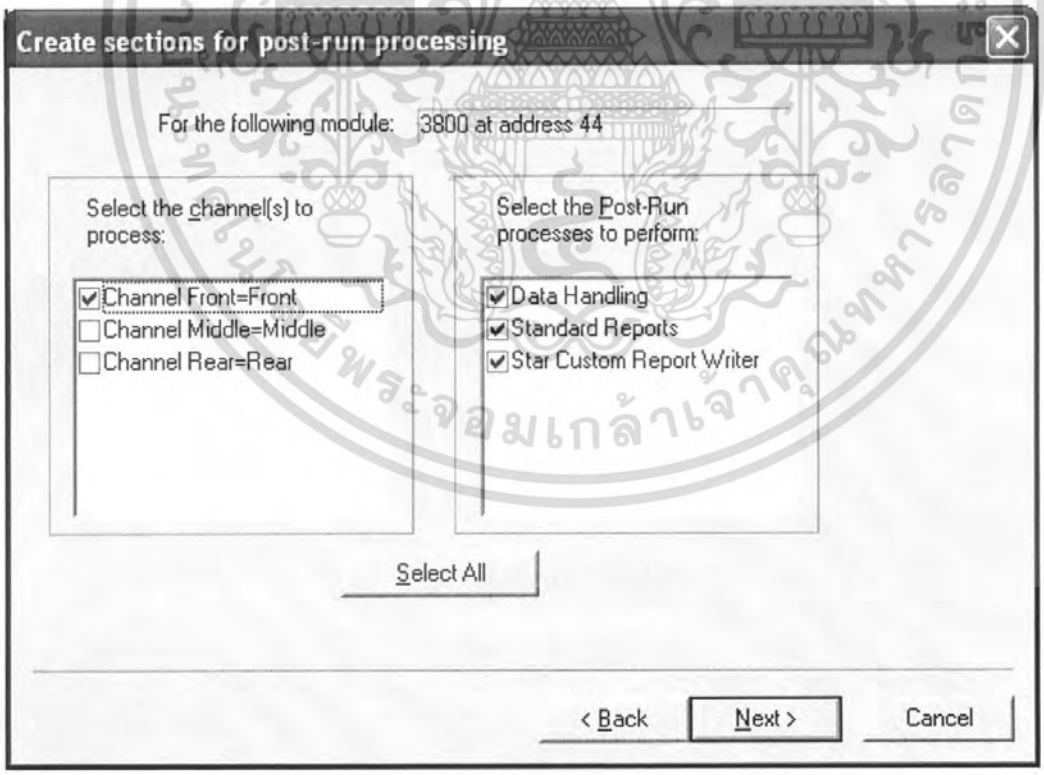


9.2.5 จะปรากฏ window ขึ้นมาดังรูป .ในหน้านี้ ต้อง เลือก channel ให้ตรงกับ Detector ที่จะใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

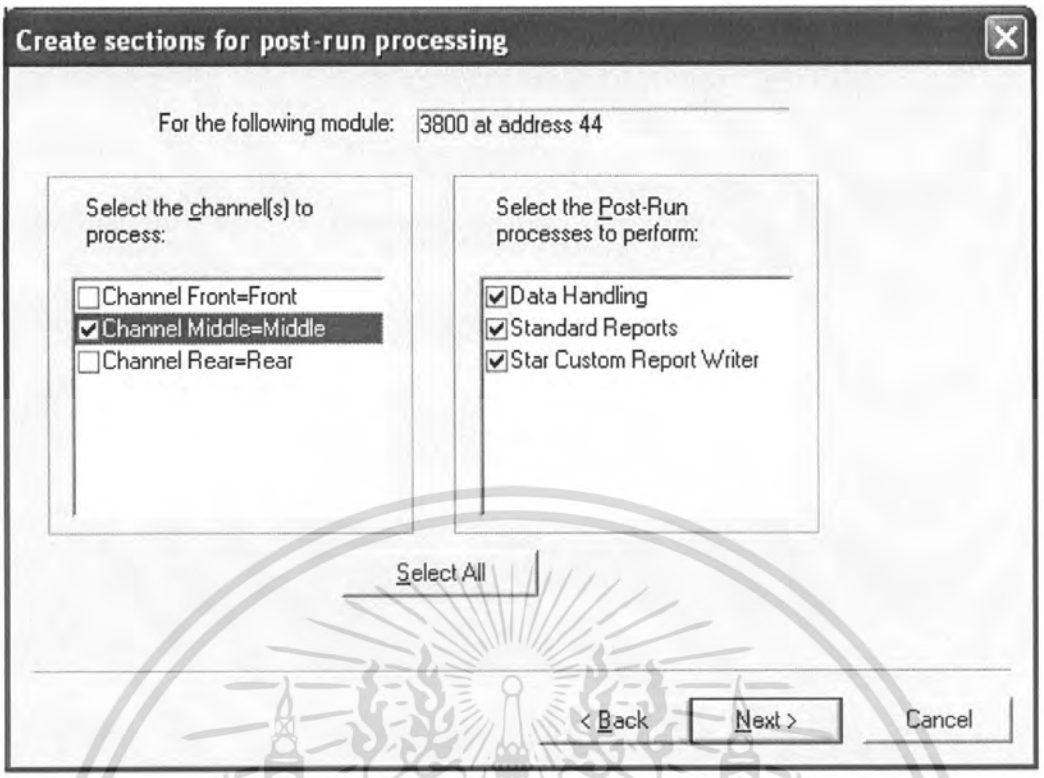


9.2.5.1 กรณีจะใช้งาน Detector ที่เป็น TCD ให้เลือก channel Front=Front และ click Next



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

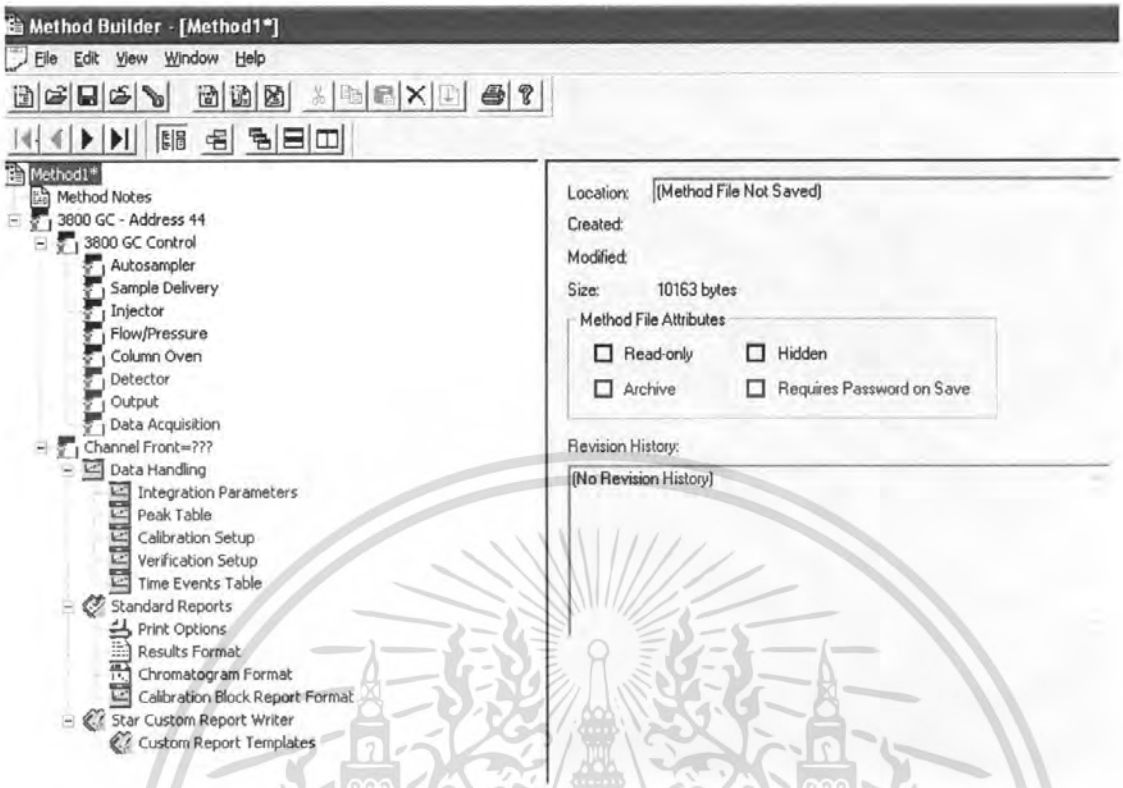
9.2.5.2 กรณีจะใช้งาน Detector ที่เป็น FID ให้เลือก channel Middle=Middle และ click Next



9.2.6 จะปรากฏ window ขึ้นมาดังรูป และ Finish

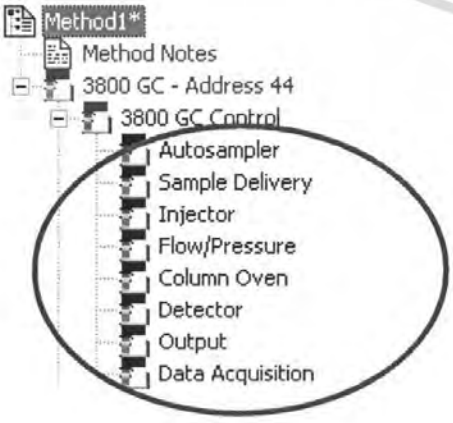
9.2.7 จะปรากฏ window ขึ้นมาดังรูป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รายละเอียดต่างๆ ที่ต้องเลือกจากหน้า window ข้างบน มีดังนี้

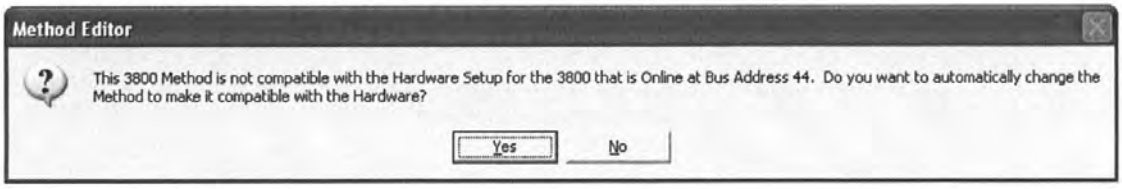
- Autosampler
- Sample Delivery
- Injector
- Flow/Pressure
- Column Oven
- Output
- Data Acquisition



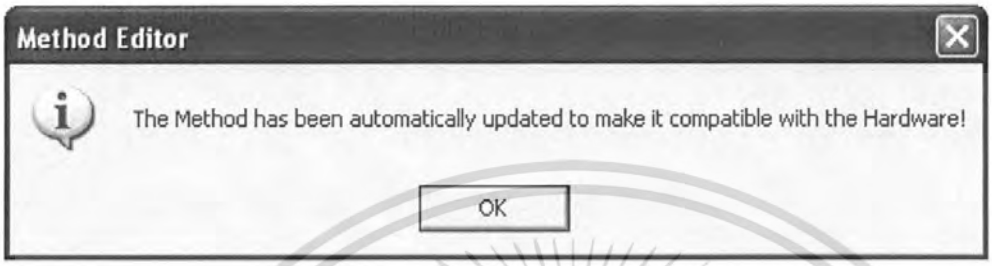
9.2.7.1 Autosampler

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1) Click Autosampler แล้วจะขึ้น Method Editor แล้ว click Yes



2) click OK



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้