

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันในนมผงสำหรับเด็ก

โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี



เลขหมู่.....
เลขทะเบียน..... 1078991
วัน,เดือน,ปี..... 8 ส.ย. 2553

b..... 1221.3172
i.....

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาเคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์

ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**DETERMINATION OF FATTY ACID IN INFANT MILK POWDER
BY GAS CHROMATOGRAPHY**

**CHAINARONG KONGYAI
PASSAWUT KAEWKANOKVIJIT
AUEAMPORN PROMWICHIAN**



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

Major in Industrial Chemistry – Analytical Instrumentation

Department of Chemistry

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang


Academic Year 2007

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษเรื่อง	การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันในนมผงสำหรับเด็กโดย เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี
นักศึกษา	นายชัยณรงค์ คงใหญ่ นายภาสวุฒิ แก้วกนกวิจิตร นางสาวเอี่ยมพร พรหมวิเชียร
ภาควิชา	เคมี
สาขาวิชา	เคมีอุตสาหกรรม - เครื่องมือวิเคราะห์
ปีการศึกษา	2550
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ. คณิตา ตั้งคณานุกรักษ์

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ รศ. คณิตา ตั้งคณานุกรักษ์	
กรรมการ ผศ. นงนุช ศิวะภิญโญยศ	
กรรมการ ดร. ณัฐวุฒิ เชิงชัน	


 (ผศ.ดร. ชลอ จารุสุทธิรักษ์)
 หัวหน้าภาควิชาเคมี

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษ	การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันในนมผงสำหรับเด็กโดย เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี
นักศึกษา	นายชัยณรงค์ คงใหญ่ นายภาสวุฒิ แก้วกนกวิจิตร นางสาวเอี่ยมพร พรหมวิเชียร
ภาควิชา	เคมี
สาขาวิชา	เคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์
ปีการศึกษา	2550
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.คณิตา ตั้งคณานุรักษ์

บทคัดย่อ

นมผงโคยทั่วไปจะมีส่วนผสมหลากหลายชนิดเพื่อช่วยในการเจริญเติบโตของเด็ก ซึ่งกรดไขมันเป็นหนึ่งในส่วนผสมที่มีความสำคัญในการพัฒนาสมองและความแข็งแรงของเนื้อเยื่อในเด็ก ดังนั้นคณะผู้วิจัยได้จัดทำงานวิจัยนี้ขึ้น เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณกรดโอเลอิก กรดไลโนเลอิก และกรดไลโนเลนิกในนมผงสำหรับเด็ก โดยเตรียมตัวอย่างให้อยู่ในรูปอนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน และทำการตรวจวัดด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี โดยใช้คอลัมน์ FFAP (25 m x 0.25 mm id) และตั้งโปรแกรมอุณหภูมิในการควบคุมสถานะของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี มีเฟสเคลื่อนที่เป็นแก๊สฮีเลียม มีอัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ทำการตรวจวัดด้วยเฟลมไอออไนเซชันดีเทคเตอร์ ซึ่งสามารถแยก เมทิลโอเลเอต, เมทิลไลโนเลเอต และเมทิลไลโนเลเนต ได้ที่เวลา 8.8, 9.1 และ 9.6 นาที (retention time) ตามลำดับ การวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้จะได้ค่า Repeatability เท่ากับ 4.76, 2.05 และ 1.64 ของ เมทิลโอเลเอต, เมทิลไลโนเลเอตและเมทิลไลโนเลเนต ตามลำดับ ค่า Reproducibility เท่ากับ 5.99, 4.43 และ 4.38 ตามลำดับ ค่าร้อยละการคืนกลับ เท่ากับ 99.37, 91.73 และ 89.19 ของ เมทิลโอเลเอต, เมทิลไลโนเลเอตและเมทิลไลโนเลเนต ตามลำดับ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9936, 0.9980 และ 0.9937 ของเมทิลโอเลเอต, เมทิลไลโนเลเอตและเมทิลไลโนเลเนต ตามลำดับ ค่าที่คำนวณได้นี้สามารถบอกความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

จากการวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันในนมผง 3 ยี่ห้อ มีปริมาณกรดโอเลอิก, ไลโนเลอิก และ ไลโนเลนิก อยู่ในช่วง 8548-9786, 3629-4689 และ 377-1426 mg/100g ตามลำดับ

Special Project Title	Determination of fatty acid in infant milk powder by gaschromatography
Name	Mr.Chainarong Kongyai Mr.Passwut Kaewkanokwijit Miss.Aueamporn Promwichian
Department	Chemistry
Program	Industrial Chemistry – Analytical Instrument
Academic Year	2007
Special Project Advisor	Assoc. Prof. Kanita Tangkananuruk

ABSTRACT

The generally infant milk powder should composed of several ingredient that can support the growing up in baby. The fatty acid is one important ingredient to progress of brain and powerful tissues. There for, this special project was aimed to determine oleic acid, linoleic acid and linolenic acid in infant milk powder by derivative fatty acid as fatty acid methyl ester and determined by gas chromatography . Chromatographic separations were performed on PERMABOMD FFAP column (25 m × 0.25 mm id) set at temperature programming, using helium as mobile phase, flow rate at 1 mL/min and detected by flam ionization detector. Methyl oleate , methyl linoleate and methyl linolenate were separated and determined at 8.8, 9.1 and 9.6 min (retention time), respectively. This analytical method was validated the repeatability were 4.76, 2.05 and 1.64 for methyl oleate, methyl linoleate and methyl linolenant, respectively. The reproducibility were 5.99, 4.43 and 4.38, respectively. The percent recovery were 99.37, 91.73 and 89.19 for methyl oleate, methyl linoleate and methyl linolenate, respectively. The regression coefficient (r^2) were 0.9936, 0.9980 and 0.9937 for methyl oleate, methyl linoleate and methyl linolenate, respectively. These figures of merit indicated the validity of this method.

Three commercial milk samples were determined. The results of oleic acid, linoleic acid and linolenic acid concentration were ranged from 8548-9786, 3629-4689 and 377-1426 mg/100g, respectively

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษครั้งนี้สำเร็จลุล่วงได้เป็นอย่างดี เพราะได้รับการดูแลเอาใจใส่ตลอดเวลาในการทำงาน รวมทั้งให้คำปรึกษา คำแนะนำ รวมถึงเสนอแนวทางแก้ไขปัญหาและข้อบกพร่องต่างๆ ให้เกิดความถูกต้องและสมบูรณ์มากที่สุด จาก รศ.กณิดา ดังคณานุรักษ์ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ ทั้งนี้ขอขอบพระคุณ รศ.กณิดา ดังคณานุรักษ์ ผศ.นงนุช เกตุรานุวัฒน์ และ คร.ณัฐวดี เจริญชั้น ที่สละเวลาในการเป็นกรรมการสอบ และได้ให้คำแนะนำ ข้อแก้ไขและสิ่งที่ต้องปรับปรุงต่าง ๆ ซึ่งทำให้โครงการพิเศษนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านในภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ซึ่งช่วยอำนวยความสะดวกในเรื่องต่างๆ และได้ให้ความช่วยเหลือมาโดยตลอดตั้งแต่เริ่มศึกษามาจนกระทั่งบรรลุผลสำเร็จตามความมุ่งหมาย ขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อคุณแม่ ผู้เป็นที่รักและเคารพอย่างสูง พี่น้องทุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือสนับสนุนด้านทุนทรัพย์ และคอยเป็นกำลังใจ ให้ความเข้าใจเสมอมา ตลอดจนเพื่อน ๆ ทุกคน รุ่นพี่ นักศึกษาปริญญาโท ที่คอยช่วยเหลือ ให้คำปรึกษา ให้กำลังใจมาโดยตลอด พร้อมทั้งให้ข้อเสนอแนะ ที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่ง

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ช
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของ โครงการงานพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของ โครงการงานพิเศษ	2
1.3 ขอบเขตของ โครงการงานพิเศษ	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	
2.1 นมผง	3
2.2 กรดไขมัน	4
2.3 การวิเคราะห์กรดไขมัน	9
2.4 หลักการ วิธี แก๊สโครมาโทกราฟี	11
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย	
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	13
3.2 วิธีการดำเนินงานวิจัย	13
3.2.1 การเตรียมสารละลายเคมี	13
3.2.2 การเตรียมกราฟมาตรฐานกรดไขมัน	14
3.2.3 การตรวจวัดปริมาณกรดไขมันในผลิตภัณฑ์นมผงสำหรับเด็ก	15
3.2.4 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์	16
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปราย	
4.1 กราฟมาตรฐานของเมทิล โอลิเลเอต เมทิล โลโนเลเอต และเมทิล โลโนเลนต	19
4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันที่มีอยู่ในนมผง	21
4.3 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์	21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
4.3.1 ศึกษาความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์	21
4.3.2 ศึกษาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์	23
4.3.3 การหาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด และขีดจำกัดต่ำสุด ของการตรวจวัดเชิงปริมาณ โดยมีความถูกต้องและความเที่ยง ที่ยอมรับได้	23
บทที่ 5 สรุปผลวิจัย และข้อเสนอแนะ	
5.1 สรุปผลวิจัย	25
5.2 ข้อเสนอแนะ	26
เอกสารอ้างอิง	27
ภาคผนวก ก. แสดงผลการวิเคราะห์	
ก.1 การเตรียมกราฟมาตรฐานกรดไขมัน	28
ก.2 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันที่มีในนมผง	30
ก.3 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์	33
ก.3.1 การศึกษาความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์	33
ก.3.2 การศึกษาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์	37
ก.3.3 การศึกษาค่าต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้และค่าต่ำสุดที่สามารถ ตรวจวัดได้โดยมีความถูกต้องและความเที่ยงที่ยอมรับได้	38
ภาคผนวก ข. ตัวอย่าง โครมาโทแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์	41
ภาคผนวก ค. ขั้นตอนการใช้งานเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ	51

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 แสดงการเรียกชื่อกรดไขมันอิ่มตัวบางชนิด	5
ตารางที่ 2.2 แสดงการเรียกชื่อกรดไขมันไม่อิ่มตัวบางชนิด	7
ตารางที่ 3.1 แสดงความเข้มข้นของสารมาตรฐานเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันผสม	14
ตารางที่ 4.1 แสดงผลการวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันในนมผง	21
ตารางที่ 4.2 แสดงค่าเฉลี่ยของร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ เพื่อบอกถึง Repeatability และ Reproducibility ของการตรวจวัด สารมาตรฐาน	22
ตารางที่ 4.3 แสดงค่าเฉลี่ยของร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ เพื่อบอกถึง Repeatability และ Reproducibility ของการตรวจวัด สารละลาย FAME ของตัวอย่างนมผงยี่ห้อ A	22
ตารางที่ 4.4 แสดงค่าร้อยละการคืนกลับของปริมาณกรดไขมันในนมผงยี่ห้อ A	23
ตารางที่ ก.1 แสดงความเข้มข้น (mg/L) และพื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน เมทิลโอเลเอต	28
ตารางที่ ก.2 แสดงความเข้มข้น (mg/L) และพื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน เมทิลไลโนเลเอต	28
ตารางที่ ก.3 แสดงความเข้มข้น (mg/L) และพื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน เมทิลโอเลเนต	29
ตารางที่ ก.4 แสดงผลการวิเคราะห์หาปริมาณกรดโอเลอิกในนมผง	30
ตารางที่ ก.5 แสดงผลการวิเคราะห์หาปริมาณกรดไลโนเลอิกในนมผง	31
ตารางที่ ก.6 แสดงผลการวิเคราะห์หาปริมาณกรดไลโนเลนิกในนมผง	32
ตารางที่ ก.7 แสดงค่า Repeatability ของการวิเคราะห์สารมาตรฐาน	33
ตารางที่ ก.8 แสดงค่า Repeatability ของการวิเคราะห์สารตัวอย่างยี่ห้อ A	34
ตารางที่ ก.9 แสดงค่า Reproducibility ของการวิเคราะห์สารมาตรฐาน	35
ตารางที่ ก.10 แสดงค่า Reproducibility ของการวิเคราะห์สารตัวอย่างยี่ห้อ A	36
ตารางที่ ก.11 แสดงผลการวัดความเข้มข้นของสารละลายเบสของ ของกรดโอเลอิก	38

สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางที่ ก.12 แสดงผลการวัดความเข้มข้นของสารละลายเบตงค์ ของกรดไลโนเออิก	39
ตารางที่ ก.13 แสดงผลการวัดความเข้มข้นของสารละลายเบตงค์ ของกรดไลโนเลนิก	39



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 2.1 แสดงการนับจำนวนคาร์บอนอะตอมของกรดไลโนเลนิก	5
รูปที่ 2.2 แสดงการหาตำแหน่งโอเมกาของกรดไลโนเลนิก	6
รูปที่ 2.3 แสดงโครงสร้างของกรดไลโนเลนิก	9
รูปที่ 2.4 แสดงโครงสร้างของกรดไลโนเลอิก	9
รูปที่ 2.5 แสดงโครงสร้างของกรดโอเลอิก	10
รูปที่ 2.6 แสดงปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ริฟิเคชัน	10
รูปที่ 2.7 แสดงส่วนประกอบของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี	11
รูปที่ 4.1 กราฟมาตรฐานเมทิลโอเลเอต	19
รูปที่ 4.2 กราฟมาตรฐานเมทิลไลโนเลเอต	20
รูปที่ 4.3 กราฟมาตรฐานเมทิลไลโนเลนต	20
รูปที่ ข.1 โครมาโทแกรมของสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันผสม	41
รูปที่ ข.2 โครมาโทแกรมของสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันผสม	42
รูปที่ ข.3 โครมาโทแกรมของสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันผสม	43
รูปที่ ข.4 โครมาโทแกรมของสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันผสม	44
รูปที่ ข.5 โครมาโทแกรมของสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันผสม	45
รูปที่ ข.6 โครมาโทแกรมของสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน ตัวอย่างซีห้อ A	46
รูปที่ ข.7 โครมาโทแกรมของสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน ตัวอย่างซีห้อ B	47
รูปที่ ข.8 โครมาโทแกรมของสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน ตัวอย่างซีห้อ C	48
รูปที่ ข.9 โครมาโทแกรมของสารละลายเบลงค์	49

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงการ

นมเป็นแหล่งโภชนาการที่สำคัญที่สุดของทารก เป็นที่ยอมรับกันโดยทั่วว่านมแม่เป็นทางเลือกที่ดีที่สุดสำหรับการเลี้ยงทารก เมื่อเด็กเริ่มมีอายุมากขึ้นนมผสมจึงเข้ามามีบทบาทแทนนมแม่มากขึ้นตามไปด้วย ทั้งที่ใช้เสริมและใช้แทนนมตนเอง ผลลัพธ์นมที่จำหน่ายในท้องตลาดไม่ว่าจะอยู่ในรูปแบบใด มักมีการดัดแปลงหรือเสริมสารอาหารเพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ ทำให้เกิดความหลากหลายของผลิตภัณฑ์และเพื่อประโยชน์ทางการตลาด สารอาหารที่เติมในนมผสมส่วนใหญ่เป็นสารอาหารกลุ่มวิตามิน แร่ธาตุ กรดไขมันจำเป็น บางยี่ห้อยังมีการเติมกากใยอาหารและจุลินทรีย์ ที่มีประโยชน์อีกด้วย

นมผง คือ นมสดที่ผ่านกระบวนการถนอมรักษาโดยการทำให้เป็นผงแห้ง การแปรรูปเป็นผงโดยการระเหยน้ำส่วนใหญ่ออกจากน้ำนมทำให้ผลิตภัณฑ์แห้งเป็นผง มีน้ำหนักเบาและเก็บรักษาได้นาน ทุกวันนี้การผลิตนมผงได้มีการเติมสารอาหารหลายชนิดเพื่อเพิ่มคุณค่า นมผงจึงเป็นทางเลือกหนึ่งของนมผสมที่นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะในวัยเด็ก สารอาหารชนิดหนึ่งที่ผู้ผลิตนิยมเติมในนมผง คือ กรดไขมันจำเป็น ซึ่งเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดสายโซ่ยาวที่ร่างกายต้องการแต่ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นมาได้ ผู้ผลิตนมผงส่วนใหญ่ได้มีการเติมกรดไขมันจำเป็นลงในนมผงสำหรับเด็ก เพื่อให้เด็กได้รับสารอาหารครบถ้วน กรดไขมันจำเป็นคือกรดไขมันในกลุ่ม โอเมกา 3 (Ω3) และ โอเมกา 6 (Ω6) ส่วนกรดไขมันในกลุ่ม โอเมกา 9 (Ω9) นั้น ไม่จัดเป็นกรดไขมันจำเป็นเพราะร่างกายสามารถสังเคราะห์ขึ้นเองได้ แต่ผู้ผลิตนมผงบางรายนิยมเติมในนมผงและกล่าวอ้างว่ากรดไขมันจำเป็นคือโอเมกา 3, 6 และ 9 อาจส่งผลให้ผู้บริโภคเข้าใจผิดได้ ไรก็ตามกรดไขมันเหล่านี้มีประโยชน์ต่อร่างกาย เป็นแหล่งสร้างพลังงาน ช่วยเสริมสร้างพัฒนาการทางสมองและสติปัญญา เสริมความแข็งแรงของเนื้อเยื่อต่างๆ ซึ่งล้วนแต่มีความสำคัญสำหรับการเจริญเติบโตของเด็ก

การเติมกรดไขมันจำเป็นลงในนมผงสำหรับเด็กจึงช่วยให้เด็กได้รับสารอาหารที่ครบถ้วนมากยิ่งขึ้น ดังนั้นโครงการพิเศษนี้จึงถูกจัดทำขึ้นเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันในนมผงสำหรับเด็กที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดเพื่อใช้เป็นข้อมูลในการบ่งบอกคุณภาพของนมผงยี่ห้ออื่นๆ และเป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาเลือกบริโภคนมผงสำหรับเด็ก โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas chromatography)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อศึกษาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณของกรดไขมันจำเป็นในนมผงสำหรับเด็ก โดยใช้เครื่องมือ Gas chromatography
2. เพื่อเปรียบเทียบปริมาณของกรดไขมันจำเป็นในนมผงสำหรับเด็กแต่ละยี่ห้อ

1.3 ขอบเขตของโครงการพิเศษ

ตรวจวัดหาปริมาณกรดไขมันจำเป็น 2 ชนิด คือ ไลโนเลนิก (linolenic acid) และไลโนเลอิก (linoleic acid) รวมถึงหาปริมาณกรดไขมันไม่จำเป็น คือ โอเลอิก (oleic acid) ในนมผงสำหรับเด็ก ประมาณ 3 ยี่ห้อ ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี โดยมีการเตรียมเป็นอนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (fatty acid methyl ester, FAME) และใช้วิธี external standard และประเมินผลโดยใช้หลักทางสถิติ

ขั้นตอนการวิจัย

1. สืบค้นแหล่งข้อมูลที่เกี่ยวข้อง
2. ศึกษาหาวิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสม
3. เตรียมสารเคมี อุปกรณ์และเครื่องมือ
4. เตรียมสารละลายมาตรฐานและสารละลายเคมี
5. เตรียมกราฟมาตรฐานของกรดไขมันจำเป็นทั้งสามชนิด
6. ตรวจวัดปริมาณกรดไขมันจำเป็นในสารละลายตัวอย่างที่ผ่านขั้นตอนการเตรียมเป็นอนุพันธ์
7. ประเมินผลโดยใช้หลักทางสถิติและสรุปผล
8. เขียนรายงาน

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงปริมาณกรดไขมันจำเป็นในผลิตภัณฑ์นมผงสำหรับเด็กที่นำมาศึกษา และใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงในการบ่งบอกคุณภาพและช่วยชี้แนะในการเลือกบริโภคได้ระดับหนึ่ง
2. สามารถนำวิธีนี้ไปพัฒนาและประยุกต์ใช้ในการหาปริมาณกรดไขมันจำเป็นในผลิตภัณฑ์ประเภทอื่นๆ ได้
3. ทำให้คณะผู้วิจัยได้เข้าใจถึงหลักการและวิธีใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีเพิ่มยิ่งขึ้น

บทที่ 2

ทฤษฎีและหลักการ

2.1 นมผง (Milk Powder)

นมผงเป็นนมที่ได้จากการระเหยเอาน้ำออกจากนมโคแล้วทำให้เป็นผง โดยมีสัดส่วนของน้ำตาลแลคโตส โปรตีน มันเนย และเกลือแร่ เหมือนที่มีอยู่ในนมโค นมผงมีอยู่ 3 ประเภทคือ

1. นมผงธรรมชาติ (Day whole milk) เป็นนมผงที่ทำจากน้ำนม โดยไม่มีการแยกเอาส่วนประกอบใดๆ ในน้ำนมออกนิยมใช้ในการผลิตนมพร้อมดื่ม
2. นมผงพร่องมันเนย (Partly non-fat dry milk or Partly dry skim milk) นิยมใช้ในการผลิตนมพร้อมดื่มเช่นกัน
3. นมผงขาดมันเนย (on-fat dry milk or Dry skim milk) เป็นนมผงที่ทำจากน้ำนมที่มีการแยกมันเนยออกเกือบหมด นิยมใช้ในการผลิตน้ำนมคั้นรูป น้ำนมปรุงแต่ง น้ำนมแปรงไขมัน และผลิตภัณฑ์นมอื่น ๆ

2.1.1 ลักษณะนมผงที่ดี

1. มีสีขาวหรือสีครีม
2. ละลายได้ง่ายทันที ไม่เป็นก้อนแข็ง
3. มีกลิ่นหอม ปราศจากกลิ่นรสที่น่ารังเกียจ ผุ่นผง สารพิษ หรือสิ่งแปลกปลอม
4. ภาชนะบรรจุต้องสะอาด ทนต่อการกัดกร่อนของนมผง
5. ฉลากระบุประเภท ชื่อผู้ทำ น้ำหนัก วันเดือนปีที่ทำ วิธีเก็บรักษา วิธีเตรียมเพื่อรับประทาน
6. กรณีนมผงขาดมันเนย ฉลากต้องระบุข้อความ "อย่าใช้เลี้ยงทารก"

2.1.2 กรรมวิธีการผลิตนมผง

Freeze-drying เป็นวิธีที่ให้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพสูง แต่ในขณะเดียวกันก็ใช้พลังงานในการผลิตสูง Commercial Methods มี 2 กระบวนการที่นิยมใช้กัน

1. Rolling drying มี 2 แบบ คือ
 - 1) ทำเป็นแอ่งบริเวณระหว่างท่อความร้อน ให้หมูนวนนมจะเคลือบที่ผิวท่อ เมื่อหมุนไปแห้งไปแล้วที่จุดหนึ่งจะมีใบมีดกรีดแผ่นนมลงไปยังส่วนขนถ่ายด้วยเกลียว
 - 2) ใช้สเปรย์ฉีดลงบนท่อที่ให้ความร้อนเมื่อนมแห้งแล้วก็จะถูกมีดขูดออก

2. Spray drying เป็นกระบวนการที่ให้ขนาดเม็ดคมนผงที่มีขนาดเล็กมากกว่าแบบแรก กระบวนการมีดังนี้

- กระจายนมที่เข้มข้นให้ตกลงเป็นเม็ดเล็กๆ
- ผสมนมที่ฟุ้งกระจายเข้ากับอากาศร้อนซึ่งช่วยให้ น้ำระเหยได้เร็ว
- แยกนมผงที่แห้งแล้วออกมาจากอากาศ

2.2 กรดไขมัน (fatty acid)

ปกติจะไม่พบกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) อยู่ในธรรมชาติ ส่วนใหญ่กรดไขมันจะประกอบเป็นไตรกลีเซอไรด์หรือลิพิดอื่นๆ กรดไขมันเป็นสารจำพวกกรดคาร์บอกซิลิก (carboxylic acid) ซึ่งมีหมู่ R เป็นสายไฮโดรคาร์บอนที่มีจำนวนคาร์บอนเป็นเลขคู่อยู่ระหว่าง 2 - 30 ตัว (หรือยาวกว่า) โดยทั่วไปกรดไขมันที่มีความสำคัญจะอยู่ในช่วง C12 ถึง C22 มีสูตรทั่วไปเป็น RCOOH และมีอยู่มากกว่า 70 ชนิดในสิ่งมีชีวิต ซึ่งมีทั้งชนิดที่ต่อกันเป็นพันธะเดี่ยวล้วนๆ เรียกว่ากรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acid) และชนิดที่มีพันธะคู่อยู่ในสายของโมเลกุล เรียกว่ากรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) ทำให้ไขมันมีสมบัติแตกต่างกันทั้งทางกายภาพและทางเคมี ความแตกต่างของไขมันจะขึ้นอยู่กับชนิดของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบ

ในกรดไขมันอิ่มตัว จุดหลอมเหลวของกรดไขมันจะเพิ่มขึ้นตามจำนวนอะตอมของคาร์บอน ในโครงสร้าง ซึ่งโดยส่วนใหญ่แล้วจุดหลอมเหลวสูง ทำให้ไตรกลีเซอไรด์ที่มีกรดไขมันชนิดนี้อยู่ในปริมาณมากจะมีสภาพเป็นของแข็ง (fat) ที่อุณหภูมิปกติ การมีพันธะคู่ในกรดไขมันจะมีผลทำให้จุดหลอมเหลวของกรดไขมันต่ำลง จะเห็นได้ว่าไขมันที่พบในสัตว์มักจะมีลักษณะของแข็งหรือกึ่งเหลวกึ่งแข็งที่อุณหภูมิปกติ เนื่องจากประกอบด้วยกรดไขมันอิ่มตัวในปริมาณที่สูง แต่ไขมันที่ได้จากพืชจะมีลักษณะเหลวเป็นน้ำมันเพราะมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวอยู่สูง ทำให้ไม่เป็นไขหรือตกตะกอนในอุณหภูมิปกติ

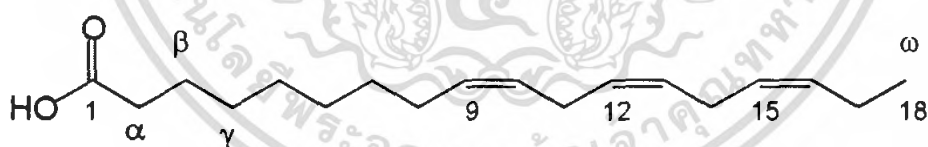
2.2.1 การเรียกชื่อกรดไขมัน (Nomenclature)

การตั้งชื่อกรดไขมันมีหลักการคือ เรียกชื่อกรดไขมันตามจำนวนคาร์บอนอะตอมที่มีอยู่ในโซ่ไฮโดรคาร์บอนนั้น และตัดตัว “e” ที่อยู่ท้ายชื่อไฮโดรคาร์บอนนั้นออก แล้วเติมคำว่า “oic” ต่อท้าย เช่น ไฮโดรคาร์บอนที่มีคาร์บอน 8 อะตอม เรียกว่า octane เมื่อเป็นกรดไขมันที่มีคาร์บอน 8 อะตอม เรียกว่า octanoic acid เป็นต้น ตัวอย่างการเรียกชื่อกรดไขมันอิ่มตัวอื่นๆ ตัวดังแสดงในตาราง 2.1

ตารางที่ 2.1 แสดงการเรียกชื่อกรดไขมันอิ่มตัวบางชนิด

ชื่อสามัญ	ชื่อตามระบบ (IUPAC)	สูตรโครงสร้าง
Butyric	Butanoic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$
Caproic	Hexanoic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$
Caprylic	Octanoic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$
Capric	Decanoic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{COOH}$
Lauric	Dodecanoic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$
Myristic	Tetradecanoic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$
Palmitic	Hexadecanoic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$
Stearic	Octadecanoic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$
Arachidic	Eicosanoic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$
Behenic	Docosanoic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{COOH}$

การนับจำนวนคาร์บอนอะตอมในกรดไขมัน นิยมใช้ตัวเลขบอกตำแหน่งของหมู่คาร์บอกซิลิก (-COOH) เป็นคาร์บอนตำแหน่งที่ 1 ส่วนหมู่ CH_3 เป็นซึ่งเป็นตำแหน่งสุดท้าย หรือใช้อักษรกรีกในการระบุตำแหน่งคาร์บอนตัวแรกที่ติดอยู่กับหมู่ -COOH เป็นตำแหน่งแอลฟา (α) คาร์บอนตัวถัดไปเป็นเบตา (β) แกมมา (γ) และคาร์บอนตำแหน่งสุดท้ายเป็น โอเมกา (ω) ดังตัวอย่างรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 แสดงการนับจำนวนคาร์บอนอะตอม ของกรดไลโนเลนิก

ในการใช้สัญลักษณ์ย่อสำหรับกรดไขมันแต่ละชนิด จะระบุจำนวนคาร์บอนที่มีทั้งหมด พร้อมทั้งจำนวนและตำแหน่งพันธะคู่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเอาไว้ด้วย เช่น กรดสเตียริก ซึ่งมีจำนวนคาร์บอน 18 อะตอม จะใช้สัญลักษณ์ย่อ C18 ส่วนกรดปาลมิโตเลอิก มีจำนวนคาร์บอน 16 อะตอม แต่เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่อยู่ระหว่างคาร์บอนตัวที่ 9 และตัวที่ 10 จะใช้สัญลักษณ์ C16 Δ_9 หรือถ้าไม่ต้องการระบุตำแหน่งพันธะคู่ อาจบอกให้ทราบว่ามีจำนวนพันธะคู่ 1 พันธะจะใช้สัญลักษณ์ C16:1 ส่วนกรดไลโนเลนิก ซึ่งมีพันธะคู่ 3 พันธะระหว่างคาร์บอนตัวที่ 9 กับ 10

คาร์บอนระหว่างตัวที่ 12 กับ 13 และคาร์บอนตัวที่ 15 และ 16 จะใช้สัญลักษณ์ย่อเป็น C18 $\Delta_{9,12,15}$ หรือ C18:3 เมื่อไม่ต้องการระบุตำแหน่งพันธะคู่

การนับตำแหน่งคาร์บอนเพื่อบอกตำแหน่งพันธะคู่ในสายไฮโดรคาร์บอนของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว มี 2 วิธีคือ

1. นับจากปลาย $-\text{COOH}$ และนับทุกตำแหน่งของคาร์บอนตัวแรกที่มีพันธะคู่ ใช้สัญลักษณ์การนับเป็น Δ (delta) เช่น กรดไลโนเลนิก C18:3 $\Delta_{9,12,15}$
2. นับจากปลาย $-\text{CH}_3$ โดยใช้สัญลักษณ์เป็น n หรือ ω (omega) และนิยมนับตำแหน่งคาร์บอนของพันธะคู่แรกเพียงตำแหน่งเดียวเท่านั้น เนื่องจากพันธะคู่ถัดๆ ไปจะต่างกัน 3 คาร์บอนเสมอ เช่น กรดไลโนเลนิก C:18:3 ω -3 ดังตัวอย่างในรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 แสดงการหาตำแหน่งโอเมกา ของกรดไลโนเลนิก

ตัวอย่างการเรียกชื่อกรดไขมันไม่อิ่มตัว ตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 แสดงการเรียกชื่อกรดไขมันไม่อิ่มตัวบางชนิด

ชื่อสามัญ	ชื่อตามระบบ (IUPAC)	สูตรโครงสร้าง	สัญลักษณ์โอเมกา
Myristoleic acid	<i>cis</i> -9-tetradecenoic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	ω -5
Palmitoleic acid	<i>cis</i> -9-hexadecenoic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	ω -7
Oleic acid	<i>cis</i> -9-octadecenoic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	ω -9
Linoleic acid	<i>cis,cis</i> -9,12-octadecadienoic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	ω -6
linolenic acid	<i>cis,cis,cis</i> -9,12,15-octadecatrienoic acid	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	ω -3
Arachidonic acid	<i>all-cis</i> -5,8,11,14-eicosatetraenoic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$	ω -6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 (ต่อ) แสดงการเรียกชื่อกรดไขมันไม่อิ่มตัวบางชนิด

ชื่อสามัญ	ชื่อตามระบบ (IUPAC)	สูตรโครงสร้าง	สัญลักษณ์ โอเมกา
Eicosapentaenoic acid	All-cis- 5,8,11,14,17- icosapentaenoic acid	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCOOH}$	ω -3
Erucic acid	cis-13- docosenoic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_{11}\text{COOH}$	ω -9
Docosahexaenoic acid	all-cis-4,7,10,13,16,19- docosahexaenoic acid	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCOOH}$	ω -3

2.2.2 กรดไขมันในธรรมชาติ

1. กรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acid) เป็นกรดไขมันที่มีไฮโดรเจนจับกับคาร์บอนอยู่เต็ม มีสูตรทั่วไปเป็น $\text{C}_n\text{H}_{2n}\text{O}_2$ เมื่อ n แทนจำนวนคาร์บอนอะตอมเป็นเลขคู่ตั้งแต่ 4 ถึง 24 อะตอม กรดไขมันที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อย ได้แก่ กรดอะซิติก และกรดบิวทริก เป็นกรดไขมันที่ละลายได้ดีในน้ำ กรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนอะตอมตั้งแต่ 6 ถึง 10 อะตอม ละลายน้ำได้เพียงเล็กน้อย ส่วนกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนตั้งแต่ 12 อะตอมขึ้นไปไม่ละลายน้ำ กรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนต่ำกว่า 10 อะตอม จะเป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้อง ส่วนกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนอะตอมตั้งแต่ 10 อะตอมขึ้นไป จะเป็นของแข็งที่อุณหภูมิห้อง

กรดไขมันอิ่มตัวที่พบมากที่สุด ในธรรมชาติ ได้แก่ กรดปาล์มมิติก พบกระจายอยู่ ทั่วไปในไขมัน

ทุก ชนิด มีประมาณ 10 ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันที่มีอยู่ทั้งหมด กรดไขมันอิ่มตัวชนิดอื่นที่พบมาก ได้แก่ กรดไมริสติกและกรดสเตียริก กรดนี้จะมีในไขมันวัวสูงถึง 25 เปอร์เซ็นต์ แต่จะไม่พบกรดสเตียริกกระจายอยู่ในไขมันต่างๆ ไปเหมือนกรดปาล์มมิติก

2. กรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) กรดไขมันที่มีพันธะคู่ (double bond) เพียง 1 พันธะ (monounsaturated, monoethenoid) มีสูตรทั่วไปเป็น $\text{C}_n\text{H}_{2n-2}\text{O}_2$ หรือ $\text{C}_n\text{H}_{2n-1}\text{COOH}$ เช่น กรดโอเลอิก กรดปาล์มมิโตเลอิก

กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่พบมากที่สุด ในธรรมชาติ ได้แก่ กรดโอเลอิก ในไขมันส่วนใหญ่จะมีกรดโอเลอิกสูงกว่า 60 เปอร์เซ็นต์เช่น น้ำมันมะกอกและน้ำมันถั่วลิสง

3. กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่มากกว่าหนึ่ง (polyunsaturated fatty acid, polyethenoid) หรือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่หรือใช้เพื่อการพาณิชย์
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน แบ่งออกเป็น

1) กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่ 2 คู่ มีสูตรทั่วไปเป็น $C_nH_{2n-3}COOH$ ได้แก่ กรดไลโนเลอิก มีคาร์บอนในโมเลกุล 18 อะตอม มีพันธะคู่อยู่ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 9 และ 12 กรดไลโนเลอิกพบมากในน้ำมันพืช เช่น น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันงา น้ำมันถั่วลิสง น้ำมันข้าวโพด น้ำมันเมล็ดฝ้าย และน้ำมันเมล็ดทานตะวัน เป็นต้น

2) กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่ 3 คู่ มีสูตรทั่วไปเป็น $C_nH_{2n-5}COOH$ ได้แก่ กรดไลโนเลนิก มีคาร์บอนในโมเลกุล 18 อะตอม มีพันธะคู่อยู่ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 9, 12 และ 15 กรดไลโนเลนิกพบมากในน้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันลินสีด น้ำมันจากเมล็ดต้นแฟล็กซ์ (flax) น้ำมันตับปลา และน้ำมันจากปลาทะเลชนิดต่างๆ

3) กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่ 4 คู่ มีสูตรทั่วไปเป็น $C_nH_{2n-7}COOH$ ได้แก่ กรดอะเรคคิโคนิก มีคาร์บอนในโมเลกุล 20 อะตอม มีพันธะคู่อยู่ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 5, 8, 11 และ 14 กรดอะเรคคิโคนิก พบมากในน้ำมันตับปลา และน้ำมันจากปลาทะเลต่างๆ นอกจากนั้นยังพบเล็กน้อยในน้ำมันถั่วลิสง

4) กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่ 5 และ 6 ได้แก่ eicosapentaenoic acid (EPA) และ docosahexaenoic acid (DHA) กรดไขมันทั้งสองชนิดนี้มักพบมากในน้ำมันจากสัตว์ทะเลโดยเฉพาะปลาทะเล

2.2.3 กรดไขมันจำเป็น (essential fatty acid)

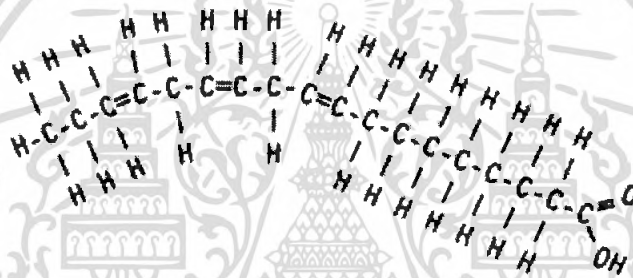
กรดไขมันจำเป็น คือ กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่มากกว่า 1 คู่ ซึ่งร่างกายของคนและสัตว์ไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นได้เองจำเป็นต้องได้รับจากอาหารเท่านั้น ได้แก่ กรดไลโนเลอิกและกรดไลโนเลนิก ส่วนกรดอะเรคคิโคนิกนั้นก็จัดว่าเป็นกรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกายที่สามารถสร้างขึ้นในร่างกายมนุษย์ได้จากกรดไลโนเลอิก ซึ่งมีมากในน้ำมันข้าวโพด น้ำมันเมล็ดฝ้าย น้ำมันถั่วลิสง และน้ำมันถั่วเหลือง กรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกายมีความสำคัญในการสร้างพรอสตาแกลนดิน (prostaglandin, PG) ซึ่งเป็นสารที่มีบทบาทในการทำหน้าที่ภายในร่างกายมาก เช่น การขับน้ำย่อยที่เป็นกรด การหดตัวและคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ การควบคุมอุณหภูมิของร่างกาย การรวมตัวของแผ่นเลือด เป็นต้น ดังนั้น กลีเซอไรด์ที่มีกรดไขมันเหล่านี้เป็นองค์ประกอบ จะเป็นชนิดที่มีคุณค่าโภชนาการสูง

2.3 การวิเคราะห์กรดไขมัน

การวิเคราะห์กรดไขมันในนมผงสำหรับเด็ก ได้มีการเตรียมตัวอย่างกรดไขมันให้เป็นอนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันก่อน แล้วทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี

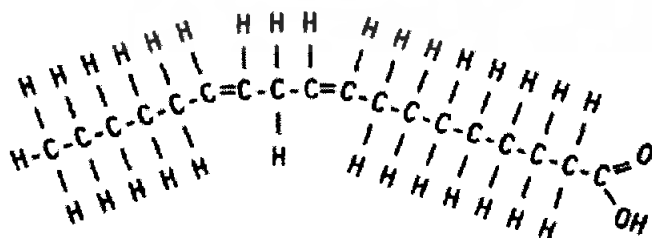
2.3.1 กรดไขมันที่สนใจ ในงานวิจัยนี้

1. กรดไลโนเลนิก เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนจัดเป็นกรดไขมันกลุ่มโอเมกา 3 และยังเป็นกรดไขมันจำเป็นในมนุษย์ มีการศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติของกรดไลโนเลนิก พบว่า มีส่วนสำคัญในการพัฒนาเซลล์สมองและเซลล์ประสาท ช่วยลดอัตราการเกิดโรคต่างๆ อีกทั้งยังช่วยลดการเกิดโรคหัวใจได้ ตัวอย่าง โครงสร้างกรดไลโนเลนิกดังแสดงในรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 แสดงโครงสร้างของกรดไลโนเลนิก

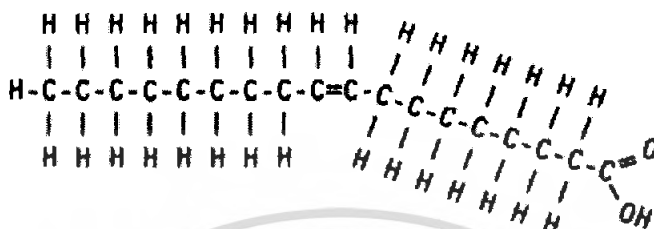
2. กรดไลโนเลอิก เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนจัดเป็นกรดไขมันกลุ่มโอเมกา 6 และยังเป็นกรดไขมันจำเป็นในมนุษย์ มีการศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติของกรดไลโนเลอิก พบว่าถ้าได้รับไม่เพียงพอจะทำให้เกิดอาการ ผอมแห้ง ขาดน้ำหนัก และร่างกายอ่อนแอได้ ตัวอย่าง โครงสร้างกรดไลโนเลอิกดังแสดงในรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 แสดงโครงสร้างของกรดไลโนเลอิก

3. กรดโอเลอิก เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัว จัดเป็นกรดไขมันกลุ่มโอเมกา 9 แต่ไม่จัดเป็นกรดไขมันจำเป็นในมนุษย์เพราะมนุษย์สามารถสังเคราะห์กรดโอเลอิกได้ มีการศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่บนสื่อออนไลน์ ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

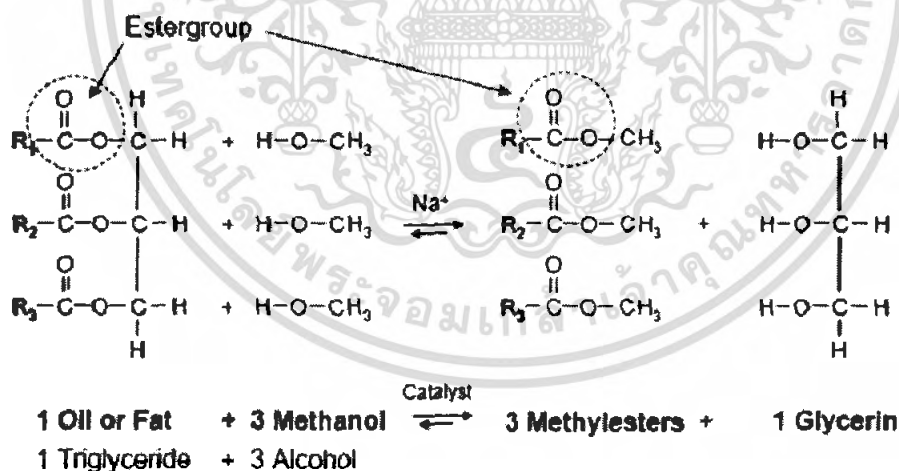
ของกรดโอเลอิก พบว่า กรดโอเลอิกมีส่วนช่วยในการลดระดับ LDL Cholesterol ในเลือด ซึ่งเป็นไขมันที่ไม่ดีก่อให้เกิดโรคต่อร่างกาย แต่ไม่ทำให้ระดับของ HDL Cholesterol เกิดการเปลี่ยนแปลง ตัวอย่างโครงสร้างกรดโอเลอิกดังแสดงในรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 แสดง โครงสร้างของกรดโอเลอิก

2.3.2 อนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน

งานวิจัยนี้ได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันโดยการเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของอนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์โดยใช้ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ริฟิเคชัน (transesterification) ระหว่างไขมันและแอลกอฮอล์โดยมีการเร่งปฏิกิริยาในสภาวะด่าง (base catalyze) ตัวอย่างปฏิกิริยาดังแสดงในรูป 2-6



รูปที่ 2.6 แสดงปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ริฟิเคชัน

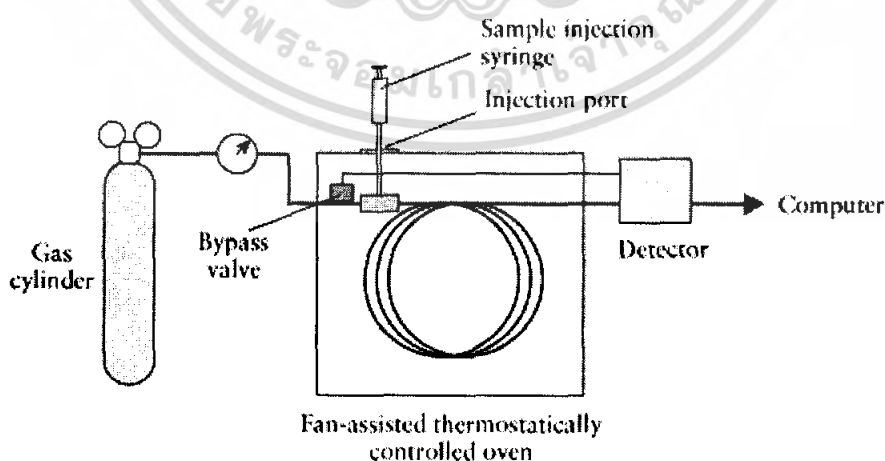
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 หลักการวิธี แก๊สโครมาโทกราฟี

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

2.4.1 ส่วนประกอบของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

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



รูปที่ 2.7 แสดงส่วนประกอบของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

คอลัมน์ (columns)

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

ดีเทคเตอร์ (detector)

เป็นเครื่องที่บ่งบอกว่ามีสารที่ต้องการวิเคราะห์หรือมีสารอื่นที่แตกต่างไปจากแก๊สพาที่พาออกมาจากคอลัมน์หรือไม่ ถ้ามีก็จะสามารถวัดได้ว่ามีปริมาณเท่าไร ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้ใช้ดีเทคเตอร์ชนิดฟเลมไอออไนเซชันดีเทคเตอร์ (Flame ionization detector, FID) เป็นตัวตรวจวัด

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

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงาน

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

3.1.1 สารเคมีและสารตัวอย่าง

1. เมทิลโอเลเอต (Methyl oleate, $C_{19}H_{36}O_2$) เกรควิเคราะห้ บริษัท FLUKA
2. เมทิลไลโนเลเอต (Methyl linoleate, $C_{19}H_{34}O_2$) เกรควิเคราะห้ บริษัท FLUKA
3. เมทิลไลโนเลนต (Methyl linolenate, $C_{19}H_{32}O_2$) เกรควิเคราะห้ บริษัท FLUKA
4. เฮกเซน (Hexane, C_6H_{14}) เกรควิเคราะห้
5. เมทานอล (Methanol, CH_3OH) เกรควิเคราะห้
6. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide, NaOH) เกรควิเคราะห้
7. โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride, NaCl) เกรควิเคราะห้
8. โบรอนไตรฟลูออไรด์ (BF_3) เกรควิเคราะห้ บริษัท FLUKA
9. น้ำปราศจากไอออน
10. ตัวอย่างนมผงสำหรับเด็ก

3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ ที่มีเครื่องตรวจวัดชนิดเฟลมไอออไนเซชัน (GC-FID detector) รุ่น Varian CP – 3800 Gas chromatograph 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 เข้มข้น 6922.08 mg/L
 ปิเปตสารละลายมาตรฐานเมทิลโอเลเอต 400 μ L ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 mL
 ปรับปริมาตรด้วยเฮกเซนจนถึงขีดบอกริมาตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. สารละลายมาตรฐานเมทิลไลโนเลเอต เข้มข้น 6981.68 mg/L
 ปิเปตสารละลายมาตรฐานเมทิลไลโนเลเอต 400 μ L ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 mL ปรับปริมาตรด้วยเฮกเซนจนถึงขีดบอกริมาตร
3. สารละลายมาตรฐานเมทิลไลโนเลเนต เข้มข้น 2993.76 mg/L
 ปิเปตสารละลายมาตรฐานเมทิลไลโนเลเนต 168 μ L ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 mL ปรับปริมาตรด้วยเฮกเซนจนถึงขีดบอกริมาตร
4. สารละลายเมทาโนลิกโซเดียมเมทอกไซด์ 1% w/v
 ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์หนัก 1 g ละลายด้วยเมทานอลจนมีปริมาตร 100 mL

3.2.2 การเตรียมกราฟมาตรฐานกรดไขมัน (กรดโอเลอิก กรดไลโนเลอิก และกรดไลโนเลนิก)

1. การเตรียมสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันมาตรฐาน
 เตรียมสารละลายเมทิลเอสเทอร์ ที่มีกรดไขมันมาตรฐานผสมกันอยู่ 3 ชนิด คือ เมทิลโอเลเอต เมทิลไลโนเลเอตและเมทิลไลโนเลเนต โดยเริ่มด้วยการปิเปตสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันมาตรฐานแต่ละชนิด ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 mL จำนวน 5 ขวดดังนี้ สารละลายเมทิลโอเลเอตมาตรฐานความเข้มข้น 6922.087 mg/L ปริมาตร 1.00, 1.20, 1.40, 1.60 และ 1.80 mL ตามลำดับ สารละลายเมทิลไลโนเลเอตมาตรฐานความเข้มข้น 6981.68 mg/L ปริมาตร 0.30, 0.50, 0.70, 0.90 และ 1.10 mL ตามลำดับ สารละลายเมทิลไลโนเลเนตมาตรฐานความเข้มข้น 2993.76 mg/L ปริมาตร 0.80, 1.00, 1.20, 1.40 และ 1.60 mL ตามลำดับ แล้วปรับปริมาตรทุกขวดด้วยเฮกเซนผลที่ได้ดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 แสดงความเข้มข้นของสารมาตรฐานเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันผสม

สารมาตรฐาน เมทิลเอสเทอร์ ของกรดไขมัน ผสม	ปริมาตรที่ปิเปต และความเข้มข้นที่ได้					
	เมทิลโอเลเอต		เมทิลไลโนเลเอต		เมทิลไลโนเลเนต	
	ปริมาตร (mL)	ความเข้มข้น (mg/L)	ปริมาตร (mL)	ความเข้มข้น (mg/L)	ปริมาตร (mL)	ความเข้มข้น (mg/L)
ขวดที่ 1	1.00	692.21	0.30	209.45	0.80	239.50
ขวดที่ 2	1.20	830.65	0.50	349.08	1.00	299.25
ขวดที่ 3	1.40	969.09	0.70	488.72	1.20	359.25
ขวดที่ 4	1.60	1107.53	0.90	628.35	1.40	419.13
ขวดที่ 5	1.80	1245.97	1.10	767.98	1.60	479.00

2. การสร้างกราฟมาตรฐานของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันแต่ละชนิด

ฉีดสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันแต่ละชนิดที่เตรียมได้จากข้อ 1 ปริมาตร 1 μL เข้าเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ ขวดละ 3 ซ้ำและพลอตกราฟระหว่างพื้นที่ใต้พีคเฉลี่ยของแต่ละความเข้มข้นกับความเข้มข้นของสารแต่ละชนิด

3. สภาพของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ

คอลัมน์ : PERMABOND FFAP - 25 m \times 0.25 mm ID

แก๊สพา : แก๊สฮีเลียม

อัตราการไหล : 1.0 mL/min

อุณหภูมิ คอลัมน์ : 70 $^{\circ}\text{C}$ ถึง 200 $^{\circ}\text{C}$ โดยเพิ่มด้วยอัตรา 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$

200 $^{\circ}\text{C}$ ถึง 240 $^{\circ}\text{C}$ (1 min)

โดยเพิ่มด้วยอัตรา 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$

ดีเทคเตอร์ : 250 $^{\circ}\text{C}$

ดีเทคเตอร์ : เฟลมไอออไนเซชัน (flame ionization detector, FID)

3.2.3 การตรวจวัดปริมาณกรดไขมันในผลิตภัณฑ์นมผงสำหรับเด็ก

3.2.3.1 การเตรียมสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน

(Fatty Acid Methyl Ester, FAME) จากนมผง

1. ชั่งนมผงน้ำหนักละเอียดมาประมาณ 100 mg ใส่ลงในขวดก้นกลม เติมสารละลายเมทาโนลิกโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 mL ทำการรีฟลักซ์นาน 10 นาที โดยเริ่มจับเวลาเมื่อสารละลายเดือด เติม โบรอน ไตรฟลูออไรด์ 5 mL รีฟลักซ์ต่ออีก 10 นาที ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
2. นำสารละลาย FAME ที่ได้ไปสกัดด้วยเฮกเซนปริมาตร 3 mL ในกรวยแยก โดยเติมโซเดียมคลอไรด์เล็กน้อย เขย่ากรวยแยก ทิ้งให้สารละลายแยกชั้น ไขแยกชั้น เฮกเซนใส่บีกเกอร์
3. ทำการสกัดด้วยเฮกเซน ในข้อ 2 ซ้ำอีก 1 ครั้ง แล้วนำชั้นเฮกเซนที่ได้มารวมกัน เติมแอนไฮดรัสโซเดียมซัลเฟตเล็กน้อยแกว่งบีกเกอร์กรองด้วยกระดาษกรองใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 mL
4. เติมสารมาตรฐานเมทิลไลโนเลนเนต ความเข้มข้น 2993.76 mg/L ปริมาตร 1.20 mL ปรับปริมาตรด้วยเฮกเซน

5. นำสารละลาย FAME ของตัวอย่างนมผงไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ ที่มีสถานะแสดงในหัวข้อที่ 3.2.2 โดยปริมาตรที่ฉีดเท่ากับ 1 μL ทำการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง

3.2.3.2 การเตรียมสารละลายเบลงค์

เตรียมเหมือนข้อ 3.2.3.1 แต่ไม่เติมตัวอย่างนมผงและไม่เติมเมทิลไลโนเลเนต นำสารละลายเบลงค์ที่เตรียมได้ไปวิเคราะห์โดยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ ที่มีสถานะแสดงในหัวข้อที่ 3.2.2 โดยปริมาตรที่ฉีดเท่ากับ 1 μL ทำการวิเคราะห์ซ้ำ 7 ครั้ง

3.2.3.3 การเตรียมสารละลาย spiked sample

เปิดสารละลายตัวอย่าง A จากข้อ 3.2.3.1 มา 5 mL ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 mL และเติมสารละลายมาตรฐานจากข้อ 3.2.1 ดังนี้ เติมเมทิลโอเลเอต 1.2 mL เมทิลไลโนเลเอต 0.5 mL เมทิลไลโนเลเนต 1.3 mL ปรับปริมาตรด้วยเฮกเซน นำไปวิเคราะห์โดยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ ที่มีสถานะแสดงในหัวข้อที่ 3.2.2 โดยปริมาตรที่ฉีดเท่ากับ 1 μL ทำการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง

3.2.4 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation) ทำได้โดยใช้หลักทางสถิติ ประเมินผลดังนี้

3.2.4.1 การศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้น (Linearity)

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

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

3.2.4.2 การศึกษาความเที่ยง (precision) ของวิธีวิเคราะห์ สามารถศึกษาความเที่ยงได้ใน 2 ลักษณะ คือ

ก. Repeatability

- นำสารมาตรฐานเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันผสม จากข้อ 3.2.2 ที่มีความเข้มข้นของเมทิล โอเลเอตเท่ากับ 969.09 mg/L ความเข้มข้นของเมทิล ไลโนเลเอต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

เท่ากับ 488.72 mg/L และความเข้มข้นของเมทิลไล โนเลเนตเท่ากับ 359.25 mg/L มาทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟก๊าซสารละ 7 ซ้ำ ภายในช่วงเวลาเดียวกัน โดยใช้เครื่องมือและผู้วิเคราะห์คนเดียวกัน (ภายใต้สภาวะคงที่)

- นำผลที่ได้มาคำนวณร้อยละของความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%Relative Standard Deviation, %RSD)

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

- นำสารละลายตัวอย่างนมผงยี่ห้อ A มาทำการหา Repeatability โดยทำเช่นเดียวกับสารละลายมาตรฐานผสมที่กล่าวมาข้างต้น

- นำผลที่ได้มาคำนวณร้อยละของความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%Relative Standard Deviation, %RSD)

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

บ. Reproducibility

- นำสารมาตรฐานเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันผสม จากข้อ 3.2.2 ที่มีความเข้มข้นของเมทิล โอลิเลตเท่ากับ 969.09 mg/L ความเข้มข้นของเมทิลไล โนเลเนตเท่ากับ 488.72 mg/L และความเข้มข้นของเมทิลไล โนเลเนตเท่ากับ 359.25 mg/L มาทำการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง โดยทำ 3 วัน และแต่ละวันใช้ผู้วิเคราะห์ต่างกัน

- นำผลที่ได้มาคำนวณร้อยละของความเบี่ยงเบน มาตรฐานสัมพัทธ์ (%Relative Standard Deviation, %RSD)

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

- นำสารละลายตัวอย่างนมผงยี่ห้อ A มาทำการหา Reproducibility โดยทำเช่นเดียวกับ สารละลายมาตรฐานผสมที่กล่าวมาข้างต้น

- นำผลที่ได้มาคำนวณร้อยละของความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%Relative Standard Deviation, %RSD)

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

3.2.4.3 การศึกษาความถูกต้อง (Accuracy) ของวิธีวิเคราะห์

นำผลการวิเคราะห์ spiked sample ในข้อ 3.2.3.3 และผลการวิเคราะห์สารละลายตัวอย่างยี่ห้อ A ในข้อ 3.2.3.1 มาคำนวณหาร้อยละการคืนกลับ (%Recovery) โดยที่

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

3.2.4.4 การหาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of detection, LOD)

และขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ โดยมีความถูกต้องและความเที่ยงที่ยอมรับได้ (Limit of quantification, LOQ)

นำผลการวิเคราะห์สารละลายเบลงค์ในข้อ 3.2.3.2 มาคำนวณหาค่า LOD และ LOQ โดยที่

$$LOD = \text{blank} + 3SD$$

$$LOQ = \text{blank} + 10SD$$

blank = ความเข้มข้นเฉลี่ยของเบลงค์

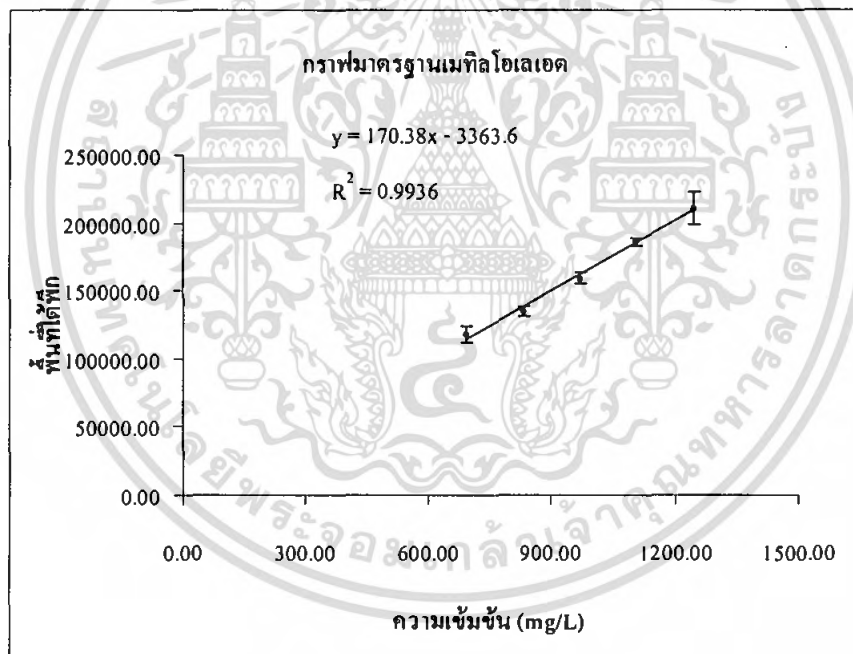
SD = ความเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ได้จากการวิเคราะห์ซ้ำ 7 ซ้ำ

บทที่ 4

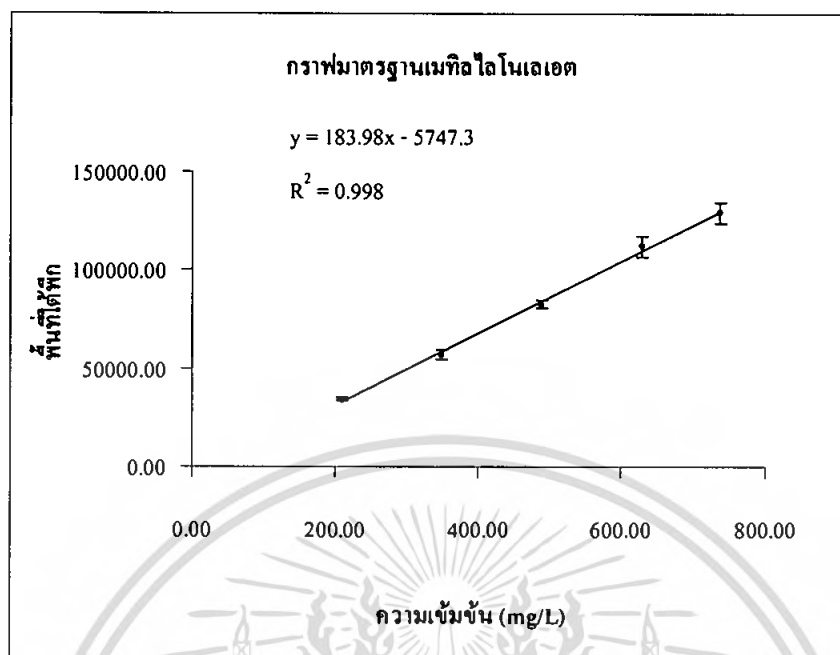
ผลการทดลองและอภิปราย

4.1 กราฟมาตรฐานของเมทิลโอเลเอต เมทิลไลโนเลเอตและเมทิลไลโนเลนต

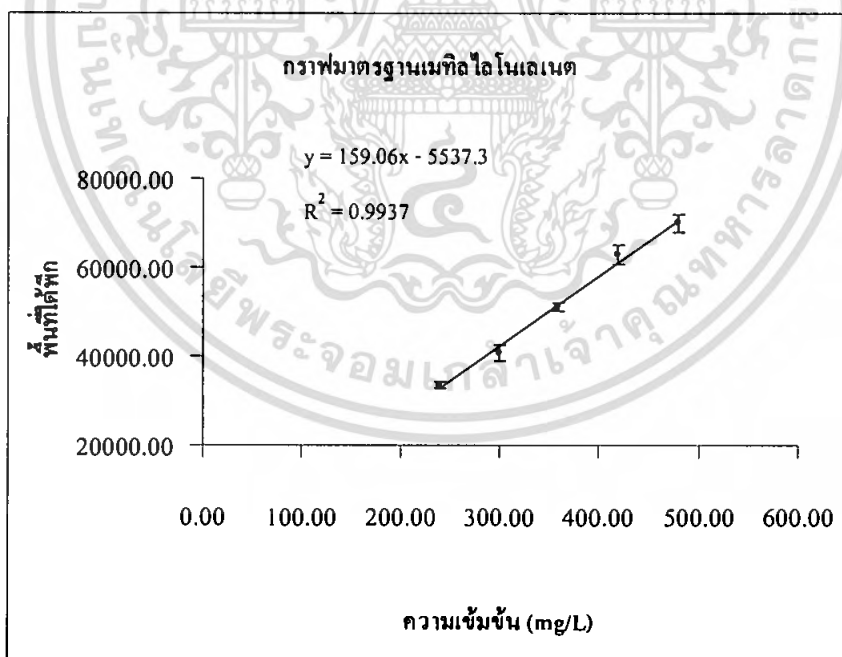
ศึกษาโดยใช้สารละลายมาตรฐานเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันผสมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เตรียมได้จากข้อ 3.2.2 ฉีดเข้าความเข้มข้นละ 3 ซ้ำโดยใช้สภาวะของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟที่เหมาะสมตามข้อ 3.2.2 พล็อตกราฟมาตรฐานระหว่างพื้นที่ที่ได้พิกเชลกับค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐาน ได้กราฟมาตรฐานเมทิลโอเลเอต เมทิลไลโนเลเอตและ เมทิลไลโนเลนต ดังแสดงในรูปที่ 4.1, 4.2 และ 4.3 ตามลำดับพร้อมแสดงสมการเส้นตรงที่ได้จากวิธี linear least square และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์, R^2



รูปที่ 4.1 กราฟมาตรฐานเมทิล โอเลเอต



รูปที่ 4.2 กราฟมาตรฐานเมทิลไลโนเลต



รูปที่ 4.3 กราฟมาตรฐานเมทิลไลโนเลต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลอง ดังแสดงในรูปที่ 4.1, 4.2 และ 4.3 แสดงให้เห็นถึงความสามารถของระบบที่ให้ผลการทดลองเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน ซึ่งพบว่าสารมาตรฐานเมทิลโอเลเอตในช่วงความเข้มข้น 700 – 1200 mg/L มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9936 สารมาตรฐานเมทิลไลโนเลเอตในช่วงความเข้มข้น 200 – 700 mg/L มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9980 และสารมาตรฐานเมทิลไลโนเลเนตในช่วงความเข้มข้น 200 – 500 mg/L มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9937 ซึ่งโดยทั่วไปผลของความสัมพันธ์เชิงเส้นที่ดีหรือที่ดียอมรับจะต้องมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่ 0.999 ถึง 0.990 ดังแสดงว่าวิธีวิเคราะห์นี้มีความสัมพันธ์เชิงเส้นที่ดี

4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันที่มีอยู่ในนมผง

ทำการวิเคราะห์สารละลาย FAME ของตัวอย่างนมผง ที่เตรียมได้จากข้อ 3.2.3.1 โดยตรวจวัดซ้ำตัวอย่างละ 3 ครั้ง ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟที่สภาวะเหมาะสมและคำนวณหาค่าความเข้มข้นของกรดไขมันแต่ละชนิดในผลิตภัณฑ์นมผงทั้ง 3 ยี่ห้อ โดยใช้สมการเส้นตรงที่แสดงในรูปที่ 4.1, 4.2 และ 4.3 เพื่อหาปริมาณ กรดโอเลอิก กรดไลโนเลอิกและกรดไลโนเลนิกตามลำดับ ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันแต่ละชนิดในนมผงดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงผลการวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันในนมผง

ตัวอย่างนมผง	ปริมาณที่ตรวจพบ \pm SD (mg/100g)		
	กรดโอเลอิก	กรดไลโนเลอิก	กรดไลโนเลนิก
A	8548.38 \pm 288.62	3884.76 \pm 23.10	377.86 \pm 27.78
B	8980.45 \pm 58.30	3629.01 \pm 180.25	393.88 \pm 35.70
C	9785.61 \pm 157.32	4689.47 \pm 77.19	426.60 \pm 80.65

4.3 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

4.3.1 ความเที่ยง (Precision) ของวิธีวิเคราะห์

4.3.1.1 ศึกษาความเที่ยงของการตรวจวัดสารมาตรฐาน

ศึกษาโดยนำสารละลายมาตรฐานเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันผสมระหว่างเมทิลโอเลเอต เมทิลไลโนเลเอตและเมทิลไลโนเลเนต ความเข้มข้น 969.09, 488.72 และ

359.25 mg/L ตามลำดับ มาทำการฉีดซ้ำ 7 ซ้ำ ภายในวันเดียวกันเพื่อศึกษา repeatability

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และทำซ้ำ 3 วัน วันละ 3 ซ้ำเพื่อศึกษา reproducibility แล้วนำมาคำนวณร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดงค่าเฉลี่ยของร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) เพื่อบอกถึง Repeatability และ Reproducibility ของการตรวจวัดสารมาตรฐาน

สารมาตรฐาน	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD)	
	Repeatability	Reproducibility
เมทิลโอเลเอต	4.76	4.97
เมทิลไลโนเลเอต	2.05	5.02
เมทิลไลโนเลเนต	1.64	5.12

4.3.1.2 ศึกษาความเที่ยงของการตรวจวัดตัวอย่าง

ศึกษาโดยนำสารละลาย FAME ตัวอย่างนมผงยี่ห้อ A ที่เตรียมได้จากข้อ 3.2.3.1 มาทำการวิเคราะห์ซ้ำ 7 ซ้ำภายในวันเดียวกันเพื่อศึกษา repeatability และทำซ้ำ 3 วัน วันละ 3 ซ้ำเพื่อศึกษา reproducibility แล้วนำมาคำนวณร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงค่าเฉลี่ยของร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) เพื่อบอกถึง Repeatability และ Reproducibility ของการตรวจวัดสารละลาย FAME ของตัวอย่างนมผงยี่ห้อ A

สารมาตรฐาน	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD)	
	Repeatability	Reproducibility
เมทิลโอเลเอต	4.26	7.56
เมทิลไลโนเลเอต	5.19	5.64
เมทิลไลโนเลเนต	5.20	6.79

4.3.2 ศึกษาความแม่นยำ (Accuracy) ของวิธีวิเคราะห์

ศึกษาโดยใช้ผลการวิเคราะห์สารละลาย Spiked sample ที่เตรียมได้ในข้อ 3.2.3.3 ซึ่งวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้งและผลการวิเคราะห์สารละลาย FAME ตัวอย่างนมผงยี่ห้อ A ที่เตรียมได้จากข้อ 3.2.3.1 คำนวณหาค่าร้อยละการคืนกลับ (%Recovery) ของปริมาณกรดไขมันทั้งสามชนิด ดังแสดงในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.4 แสดงค่าร้อยละการคืนกลับของปริมาณกรดไขมันในนมผงยี่ห้อ A

สารมาตรฐานในตัวอย่าง	% Recovery
กรดโอเลอิก	99.37
กรดไลโนเลอิก	91.73
กรดไลโนเลนิก	89.19

4.3.3 การหาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of detection, LOD)

และขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณโดยมีความถูกต้องและความเที่ยงที่ยอมรับได้ (Limit of quantification, LOQ)

4.3.3.1 สำหรับการวิเคราะห์เมทิลโอเลเอต

นำสารละลายเบลงค์ที่เตรียมได้จากข้อ 3.2.3.2 มาทำการวิเคราะห์ซ้ำ 7 ครั้ง นำผลมาคำนวณความเข้มข้นเบลงค์ (blank) จากสมการ $y = 170.38x - 3363.6$ และคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) แล้วนำมาคำนวณค่า LOD และ LOQ ได้ดังนี้

$$\text{LOD} = 24.03 + 3(1.01) = 27.06 \text{ mg/L}$$

$$\text{LOQ} = 24.03 + 10(1.01) = 34.10 \text{ mg/L}$$

4.3.3.2 สำหรับการวิเคราะห์เมทิลไลโนเลเอต

นำสารละลายเบลงค์ที่เตรียมได้จากข้อ 3.2.3.2 มาทำการวิเคราะห์ซ้ำ 7 ครั้ง นำผลมาคำนวณความเข้มข้นเบลงค์ (blank) จากสมการ $y = 183.98x - 5747.3$ และคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) แล้วนำมาคำนวณค่า LOD และ LOQ ได้ดังนี้

$$\text{LOD} = 35.21 + 3(0.93) = 38.00 \text{ mg/L}$$

$$\text{LOQ} = 35.21 + 10(0.93) = 44.51 \text{ mg/L}$$

4.3.3.3 สำหรับการวิเคราะห์เมทิลไลโนเลน

นำสารละลายเบลงค์ที่เตรียมได้จากข้อ 3.2.3.2 มาทำการวิเคราะห์ซ้ำ 7 ครั้ง นำผลมาคำนวณความเข้มข้นเฉลี่ย (blank) จากสมการ $y = 159.06x - 5537.3$ และคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) แล้วนำมาคำนวณค่า LOD และ LOQ ได้ดังนี้

$$\text{LOD} = 39.40 + 3(1.08) = 42.64 \text{ mg/L}$$

$$\text{LOQ} = 39.40 + 10(1.08) = 50.20 \text{ mg/L}$$



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลวิจัย และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลวิจัย

จากการศึกษาการตรวจวัดหาปริมาณกรดไขมัน (กรดโอเลอิก กรดไลโนเลอิก กรดไลโนเลนิก) ในนมผงสำหรับเด็กด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี ซึ่งทางคณะผู้วิจัยมีวัตถุประสงค์เพื่อหาปริมาณกรดไขมันในนมผงสำหรับเด็ก เพื่อใช้เป็นทางเลือกในการเลือกซื้อนมผงมาบริโภค นอกจากนี้ ยังต้องการตรวจสอบประสิทธิภาพและความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี ว่าเป็นวิธีวิเคราะห์ที่มีความเที่ยง และความแม่นยำในการให้ผลการวิเคราะห์ที่น่าเชื่อถือ และยอมรับได้หรือไม่ ซึ่งสามารถสรุปผลการวิเคราะห์ได้ดังนี้

จากการศึกษาพบว่า ในการตรวจวัดปริมาณกรดไขมันในนมผง ต้องมีการเตรียมเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันในแต่ละชนิดก่อน โดยรีฟรักซ์ตัวอย่างด้วย เมทาโนลิกโซเดียมเมทอกไซด์และเติมโบรอนไตรฟลูออไรด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา จากนั้นนำสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี ที่มีสภาวะเหมาะสม ดังนี้ คอลัมน์ที่ใช้คือ PERMABOND FFAP (25 m × 0.25 mm id) ตั้งอุณหภูมิแบบโปรแกรมอุณหภูมิและตรวจวัดด้วยเฟลมไอออไนเซชัน ดิเทคเตอร์

ผลที่ได้จากการวิเคราะห์เป็นดังนี้ ตัวอย่างนมผง A มีปริมาณกรดโอเลอิก กรดไลโนเลอิก และกรดไลโนเลนิกเท่ากับ 8548.38, 3884.76 และ 377.86 mg/100g ตามลำดับ ตัวอย่างนมผง B มีปริมาณกรดโอเลอิก กรดไลโนเลอิก และกรดไลโนเลนิกเท่ากับ 8980.45, 3629.01 และ 393.88 mg/100g ตามลำดับ ยี่ห้อ C มีปริมาณกรดโอเลอิก กรดไลโนเลอิก และกรดไลโนเลนิกเท่ากับ 9785.61, 4689.47 และ 426.60 mg/100g ตามลำดับ

จากผลการประเมินประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์พบว่าความเที่ยงของวิธี ซึ่งบ่งบอกได้ด้วยค่าร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ซึ่งค่าร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของอนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันในการทำซ้ำแบบ Repeatability อยู่ในช่วง 1.64 - 4.76 และทำซ้ำแบบ Reproducibility อยู่ในช่วง 4.97 - 5.12 ความแม่นยำของวิธี ซึ่งบ่งบอกได้ด้วยค่าร้อยละการคืนกลับ ซึ่งอยู่ในช่วง 89.21 - 93.76 % ความสัมพันธ์เชิงเส้นของกรดไขมันอยู่ในช่วง 0.9936 - 0.9980 การหาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดและขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ โดยมีความถูกต้องและความเที่ยงที่ยอมรับได้ มีค่าอยู่ในช่วง 27.06 - 42.65 mg/L และ 34.12 - 54.21 mg/L

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปได้ว่า ความแม่นยำ ความเที่ยง และความสัมพันธ์เชิงเส้นจั่วว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ดีและยังสามารถตรวจวัดปริมาณกรดไขมันได้ในระดับต่ำ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของวิธีแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีความเหมาะสมในการหาปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างต่างๆ ได้เป็นอย่างดีและให้ผลที่น่าเชื่อถือ

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีที่ใช้มีระบบธรรมดา คือใช้ไซริงค์ในการดูดสารและฉีดสาร ทำให้ในขณะที่ฉีดสารเข้าเครื่อง เครื่องมีแรงดันขึ้นซึ่งอาจจะทำให้มีอากาศบางส่วนเข้าไปในไซริงค์ เพราะฉะนั้นผู้ทำการทดลองจะต้องระวังขณะฉีดสารอย่าให้อากาศเข้ามาในไซริงค์
2. ระหว่างการฉีดตัวอย่างจะต้องมีการ run baseline เพื่อป้องกันการสะสมของสารในคอลัมน์
3. เนื่องจากสารที่วิเคราะห์สามารถระเหยได้และสลายตัวเมื่อถูกแสง ดังนั้นควรทำการวิเคราะห์ให้เสร็จภายในวันเดียว

เอกสารอ้างอิง

F.Dionisi, P.A. Golay, L.B. Fay. **Influence of milk fat presence on the determination of trans fatty acids in fats used for infant formulae.**

ศ.ดร.นพ.สมศักดิ์ วรรณวิทย์. **Omega-3 amazing fish oil.** กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์จุฬา.2551.

ศ.ดร.นิธิยา รัตนพานนท์. **เคมีอาหาร (Food chemistry).** กรุงเทพมหานคร : โอเดียนสโตร์.2543.

ศ.ดร.เจษฎา วัชรพุกก์. **อาหารเพิ่มสมรรถภาพสมอง.** กรุงเทพมหานคร : หจก.รัตนชัยการพิมพ์.2547.

นพ.สโรช รัตนกร. **สมองดีด้วยอาหาร.** กรุงเทพมหานคร : Behealthy,2549

ศ.ปรีชา วิบูลย์เศรษฐ์. **หลักการแปรรูปนม.** ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร

อุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

รศ.คณิดา ตั้งคณานุรักษ์. **เอกสารประกอบการสอนวิชาการวิเคราะห์ทางเคมีและควบคุมคุณภาพ**

ผลิตภัณฑ์

รศ.คณิดา ตั้งคณานุรักษ์. **แบบเรียนเทคนิคการแยก**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
แสดงผลการวิเคราะห์

ก.1 การเตรียมกราฟมาตรฐานกรดไขมัน

ก.1.1 กราฟมาตรฐานของเมทิลโอเลเอต

ตารางที่ ก.1 แสดงความเข้มข้น (mg/L) และพื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐานเมทิลโอเลเอต

ความเข้มข้นของสาร มาตรฐานเมทิล โอเลเอต (mg/L)	พื้นที่ใต้พีค			
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	$\bar{x} \pm SD$
692.21	113104	124860	116892	118285 ± 6000.58
830.65	137515	130486	135970	134657 ± 3693.87
969.09	159927	155145	162451	159174 ± 3710.70
1107.53	183339	189431	185781	186184 ± 3065.90
1245.97	206751	200741	223890	210461 ± 12012.09

ก.1.2 กราฟมาตรฐานของเมทิลไลโนเลเอต

ตารางที่ ก.2 แสดงความเข้มข้น (mg/L) และพื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐานเมทิลไลโนเลเอต

ความเข้มข้นของสาร มาตรฐานเมทิลไลโนเลเอต (mg/L)	พื้นที่ใต้พีค			
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	$\bar{x} \pm SD$
209.45	33361	35040	33591	33997.3±910.27
349.08	59294	54330	58191	5727117±2606.57
488.72	83227	80014	83976	82405.7±2104.83
628.35	108610	118432	110257	112283±5427.43
737.98	133093	122955	131986	129345±5561.23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก.1.3 กราฟมาตรฐานของเมทิลไลโนเลนต

ตารางที่ ก.3 แสดงความเข้มข้น (mg/L) และพื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐานเมทิลไลโนเลนต

ความเข้มข้นของสาร มาตรฐานเมทิลไลโนเลนต (mg/L)	พื้นที่ใต้พีค			
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	$\bar{x} \pm SD$
239.50	32855	34221	33151	33409±718.62
299.38	42995	39754	39522	40757±1941.63
359.25	51135	50304	51821	51086.7±759.65
419.13	60275	64438	63521	62744.7±2187.39
479.00	69415	68509	72180	70034.7±1912.34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก.2 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันที่มีในนมผง

ก.2.1 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดโอเลอิกในนมผง

ตารางที่ ก.4 แสดงผลการวิเคราะห์หาปริมาณกรดโอเลอิกในนมผง

สารตัวอย่าง	น้ำหนัก (mg)	ความเข้มข้นของ เมทิลโอเลเอตที่อ่านได้จาก กราฟมาตรฐาน (mg/L)			ความเข้มข้นของ กรดโอเลอิก (mg/L)			ความเข้มข้นของกรดโอเลอิก ในตัวอย่าง (mg/100g)			$\bar{x} \pm SD$
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
A	100.0095	931.24	862.23	912.75	887.41	821.65	869.80	8732.25	8215.72	8697.17	8548.38 ± 288.62
B	100.0097	947.59	944.16	935.70	903.00	899.73	891.67	9029.12	8996.42	8915.83	8980.457 ± 58.30
C	100.0083	1045.99	1016.36	1018.56	996.77	968.53	970.63	9966.87	9684.49	9705.49	9785.61 ± 157.32

วิธีคำนวณ

จาก ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ริฟิเคชัน พบว่า $\text{mol}_{(\text{fatty acid})} = \text{mol}_{(\text{FAME})}$

$$\text{g}/\text{Mw}_{(\text{fatty acid})} = \text{g}/\text{Mw}_{(\text{FAME})}$$

$$\text{g}_{(\text{fatty acid})} = \text{g}_{(\text{FAME})} \times \text{Mw}_{(\text{fatty acid})} / \text{Mw}_{(\text{FAME})}$$

ตัวอย่างเช่น เมทิลโอเลเอตเข้มข้น 931.24 mg/L คิดเป็น กรดโอเลอิกเข้มข้น = $(931.24 \times 282.46) / 296.38 = 887.41 \text{ mg/L}$ เป็นต้น

โดยที่ Mw ของกรดโอเลอิก = 282.46 g/mol

Mw ของเมทิลโอเลเอต = 296.38 g/mol

ก.2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมัน

ตารางที่ ก.5 แสดงผลการวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันในนมผง

สารตัวอย่าง	น้ำหนัก (mg)	ความเข้มข้นของ เมทิลไลโนเลอิกที่อ่านได้ จากกราฟมาตรฐาน (mg/L)			ความเข้มข้นของ กรดไขมัน (mg/L)			ความเข้มข้นของ กรดไขมันในตัวอย่าง (mg/100g)			$\bar{x} \pm SD$
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
A	100.0095	409.99	408.62	405.26	390.46	389.16	385.96	3904.23	3890.83	3859.23	3884.76 ± 23.10
B	100.0097	383.69	376.90	368.73	365.42	358.95	351.17	3836.53	3539.15	3511.36	3629.01 ± 180.25
C	100.0083	470.00	476.15	460.81	447.62	453.47	438.86	4699.61	4761.10	4607.72	4689.47 ± 77.19

วิธีคำนวณ

จาก ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ริฟิเคชัน พบว่า $\text{mol}_{(\text{fatty acid})} = \text{mol}_{(\text{FAME})}$

$$\frac{\text{g}}{\text{Mw}}_{(\text{fatty acid})} = \frac{\text{g}}{\text{Mw}}_{(\text{FAME})}$$

$$\text{g}_{(\text{fatty acid})} = \text{g}_{(\text{FAME})} \times \frac{\text{Mw}_{(\text{fatty acid})}}{\text{Mw}_{(\text{FAME})}}$$

ตัวอย่างเช่น เมทิลไลโนเลอิกเข้มข้น 409.99 mg/L คิดเป็น กรดไขมันเข้มข้น = $(409.99 \times 280.44) / 296.47 = 390.46 \text{ mg/L}$ เป็นต้น

โดยที่ Mw ของกรดไขมัน = 280.44 g/mol

Mw ของเมทิลไลโนเลอิก = 296.47 g/mol

ก.2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมัน

ตารางที่ ก.6 แสดงผลการวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันในนมผง

สารตัวอย่าง	น้ำหนัก (mg)	ความเข้มข้นของเมทิลไลโนเลเนตที่อ่านได้จากกราฟมาตรฐาน (mg/L)			ความเข้มข้นของกรดไขมัน (mg/L)			ความเข้มข้นของกรดไขมันในตัวอย่าง (mg/100g)			$\bar{x} \pm SD$
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
A	100.0095	401.3	395.68	399.86	40.03	34.68	38.66	400.29	346.79	386.58	377.89 ± 27.78
B	100.0097	399.10	397.88	404.90	37.93	36.77	43.46	379.35	367.73	434.56	393.88 ± 35.70
C	100.0083	411.65	394.92	405.62	49.88	33.95	44.14	498.82	339.56	441.42	426.60 ± 80.65

วิธีคำนวณ

จาก ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ริฟิเคชัน พบว่า $\text{mol}_{(\text{fatty acid})} = \text{mol}_{(\text{FAME})}$

$$\text{g}/\text{Mw}_{(\text{fatty acid})} = \text{g}/\text{Mw}_{(\text{FAME})}$$

$$\text{g}_{(\text{fatty acid})} = \text{g}_{(\text{FAME})} \times \text{Mw}_{(\text{fatty acid})} / \text{Mw}_{(\text{FAME})}$$

ตัวอย่างเช่น เมทิลไลโนเลเนตเข้มข้น 401.3 mg/L คิดเป็น กรดไขมันเข้มข้น = $(401.3 \times 278.43) / 292.45 = 382.05 \text{ mg/L}$ เป็นต้น

โดยที่ Mw ของกรดไขมัน = 278.43 g/mol

Mw ของเมทิลไลโนเลเนต = 292.45 g/mol

ก.3 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

ก.3.1 การศึกษาความเที่ยง (Precision) ของวิธีการวิเคราะห์

ก.3.1.1 Repeatability

ตารางที่ ก.7 แสดงค่า Repeatability ของการวิเคราะห์สารมาตรฐาน

ครั้งที่	Methyl oleate	Methyl linoleate	Methyl linolenate
1	159927	83227	51135
2	155145	80014	50304
3	162451	83976	51821
4	165278	85676	52419
5	143991	82433	50177
6	149437	82900	50959
7	155861	83110	51884
ค่าเฉลี่ย	156012.86	83048.00	51242.71
SD	7429.18	1703.37	840.47
%RSD	4.76	2.05	1.64

ตัวอย่างการคำนวณค่าความเที่ยงของสารมาตรฐาน Methyl oleate

คำนวณความเข้มข้น

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

$$\bar{x} = \frac{159927 + 155145 + 162451 + 165278 + 143991 + 149437 + 155861}{7}$$

$$\bar{x} = 156012.86$$

คำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

$$\text{จาก } SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

$$SD = \sqrt{\frac{(159927 - 156012.86)^2 + (155145 - 156012.86)^2 + \dots + (155861 - 156012.86)^2}{6}}$$

$$SD = 7429.18$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนวณร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

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

$$\%RSD = \frac{7429.18}{156012.86} \times 100$$

$$\%RSD = 4.76$$

ตัวอย่างอื่นคำนวณได้เช่นเดียวกัน

ตารางที่ ก.8 แสดงค่า Repeatability ของการวิเคราะห์สารตัวอย่าง A

ครั้งที่	Methyl oleate	Methyl linoleate	Methyl linolenate
1	155302	69684	58294
2	143543	69431	57401
3	152151	68813	58066
4	159810	67982	57091
5	145109	59671	50981
6	159778	68474	59413
7	150479	68593	60015
ค่าเฉลี่ย	152309.86	67521.14	57323.00
SD	6494.57	3509.23	2983.03
%RSD	4.26	5.19	5.20

คำนวณค่าความเที่ยงของสารละลายตัวอย่างทำเช่นเดียวกับสารมาตรฐาน

ก.3.1.2 Reproducibility

ตารางที่ ก.9 แสดงค่า Reproducibility ของการวิเคราะห์สารมาตรฐาน

วันที่	Methyl oleate			เฉลี่ย	Methyl linoleate			เฉลี่ย	Methyl linolenate			เฉลี่ย
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่ 3		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่3		ครั้งที่1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
1/02/2008	159927	155145	162451	159174.33	83227	82014	84976	83405.66	51135	50304	51821	51086.66
2/02/2008	145912	149311	146898	147373.66	78541	78052	78191	78261.33	51349	50118	49986	52484.33
4/02/2008	145212	145482	145117	1527.00	86545	87005	86077	86542.33	47011	46541	48910	47487.33
	ค่าเฉลี่ย			1506006.11	ค่าเฉลี่ย			82403.11	ค่าเฉลี่ย			50352.77
	SD			7494.4531	SD			4140.50	SD			2578.07
	%RSD			4.97	%RSD			5.02	%RSD			5.12

คำนวณค่าความเที่ยงของสารละลายตัวอย่างทำเช่นเดียวกับข้อ ก.3.1

ตารางที่ ก.10 แสดงค่า Reproducibility ของการวิเคราะห์ สารตัวอย่าง A

วันที่	Methyl oleate			เฉลี่ย	Methyl linoleate			เฉลี่ย	Methyl linolenate			เฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
5/02/2008	150302	138543	140151	142998.66	68684	68432	68113	68409.66	58594	59401	55866	57953.66
6/02/2008	144530	152721	135908	144389.33	62532	62230	62921	62561.00	52632	50216	50991	51279.66
7/02/2008	164985	164112	160921	163339.33	70127	70512	68219	69619.33	57341	57614	58156	57703.66
	ค่าเฉลี่ย			150241.44	ค่าเฉลี่ย			66863.33	ค่าเฉลี่ย			55645.66
	SD			11364.30	SD			3774.70	SD			3783.13
	%RSD			7.56	%RSD			5.64	%RSD			6.7986

คำนวณค่าความเที่ยงของสารละลายตัวอย่างทำเช่นเดียวกับข้อ ก.3.1

ก.3.2 การศึกษาความถูกต้อง (Accuracy) ของวิธีการวิเคราะห์

ตารางที่ ก.10 แสดงผลการวัดหาปริมาณกรดไขมันจำเป็นใน original sample กับ spiked sample และค่า %Recovery จากการวิเคราะห์ตัวอย่างซีห้อA

อนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์ ของกรดไขมัน	ความเข้มข้นของ สารมาตรฐาน (mg/L)	ความเข้มข้นของ spiked sample (mg/L)			เฉลี่ย (mg/L)	ความเข้มข้นของ ตัวอย่างเริ่มต้น (mg/L)			เฉลี่ย (mg/L)	%Recovery
		ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3		ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3		
เมทิลโอเลเอต	830.65	1684.15	1673.01	1685.77	1680.97	931.25	862.23	912.75	902.07	93.76
เมทิลไลโนเลเอต	349.08	728.97	720.81	730.51	726.76	409.99	408.62	405.26	407.95	91.32
เมทิลไลโนเลเนต	389.19	744.45	753.67	740.32	746.14	401.30	395.68	399.86	398.94	89.21

คำนวณหาค่าร้อยละการกลับคืนของปริมาณกรดโอเลอิก

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

$$\% \text{Recovery} = \frac{1680.97 - 902.07}{830.65} \times 100$$

$$\% \text{Recovery} = 93.76$$

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.11 แสดงผลการวัดความเข้มข้นของสารละลายเบสของกรดโอเลอิก

ครั้งที่	พื้นที่ใต้พีค	ความเข้มข้น(mg/L)	LOD	LOQ
1	801	24.443	27.0605	34.1248
2	926	25.1767		
3	859	24.7834		
4	451	22.3888		
5	587	23.187		
6	651	23.5628		
7	843	24.6898		
ค่าเฉลี่ย		24.033		
SD		1.00918		

คำนวณ LOD และ LOQ

นำพื้นที่ใต้พีค มาคำนวณหาความเข้มข้นจากสมการเส้นตรง $y = 170.38x - 3363.6$

คำนวณหาค่าความเข้มข้นเฉลี่ยและ SD เหมือนข้อ 3.1

จาก $LOD = \bar{x} + 3SD$

$$LOD = 24.033 + 3(1.00918)$$

$$LOD = 27.0605 \text{ mg/L}$$

จาก $LOQ = \bar{x} + 10SD$

$$LOQ = 24.033 + 10(1.00918)$$

$$LOQ = 34.1248 \text{ mg/L}$$

ก.3.3.2 LOD และ LOQ ของกรดไลโนเลอิก

ตารางที่ ก.12 แสดงผลการวัดความเข้มข้นของสารละลายแบบลงค์ของกรดไลโนเลอิก

ครั้งที่	พื้นที่ใต้พีค	ความเข้มข้น(mg/L)	LOD	LOQ
1	801	35.5925	38.0165	44.5586
2	926	36.2719		
3	859	35.9077		
4	451	33.6901		
5	587	34.4293		
6	651	34.7771		
7	843	35.8207		
ค่าเฉลี่ย		35.2128		
SD		0.93458		

คำนวณ LOD และ LOQ

นำพื้นที่ใต้พีค มาคำนวณหาความเข้มข้นจากสมการเส้นตรง $y = 183.98x - 5747.3$

คำนวณหาค่าความเข้มข้นเฉลี่ยและ SD เหมือนข้อ 3.1

LOD และ LOQ ทำเช่นเดียวกับข้อ 3.3.1

ก.3.3.3 LOD และ LOQ ของกรดไลโนเลนิก

ตารางที่ ก.13 แสดงผลการวัดความเข้มข้นของสารละลายแบบลงค์ของกรดไลโนเลนิก

ครั้งที่	พื้นที่ใต้พีค	ความเข้มข้น(mg/L)	LOD	LOQ
1	801	39.8485	42.6523	50.2193
2	926	40.6344		
3	859	40.2131		
4	451	37.6481		
5	587	38.5031		
6	651	38.9054		
7	843	40.1125		
ค่าเฉลี่ย		39.4093		
SD		1.081		

คำนวณ LOD และ LOQ

นำพื้นที่ใต้พีค มาคำนวณหาความเข้มข้นจากสมการเส้นตรง $y = 159.60x - 5537.3$

คำนวณหาค่าความเข้มข้นเฉลี่ยและ SD เหมือนข้อ 3.1

LOD และ LOQ ทำเช่นเดียวกับข้อ 3.3.1

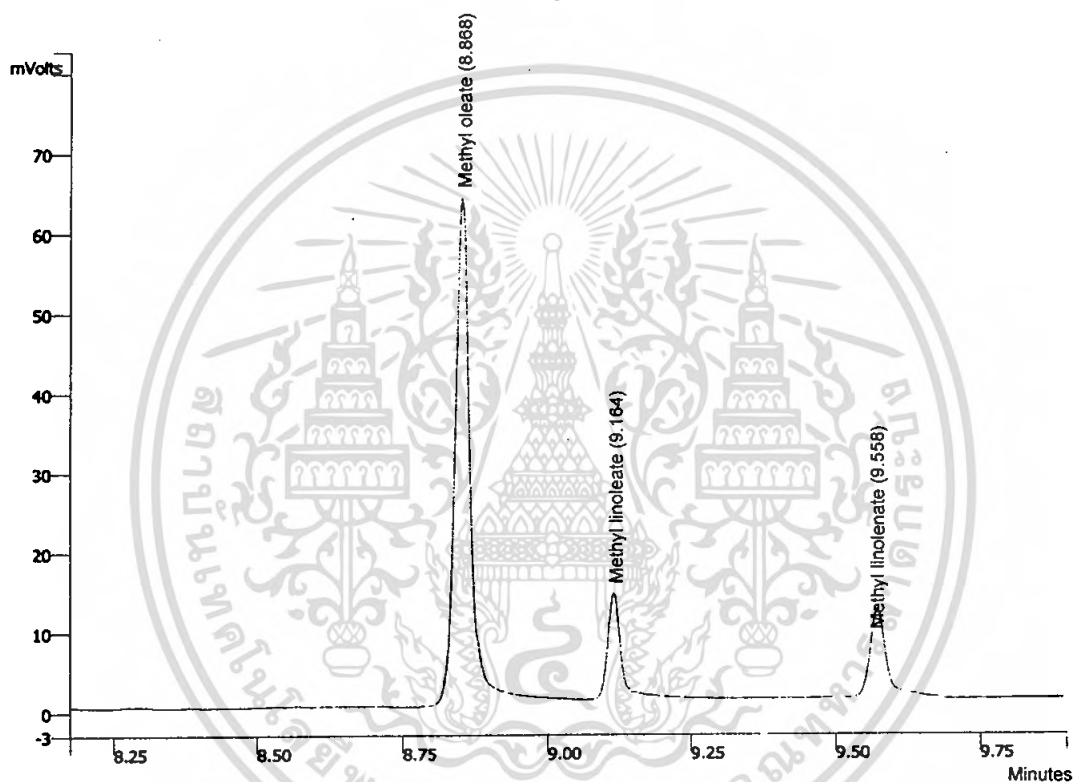


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

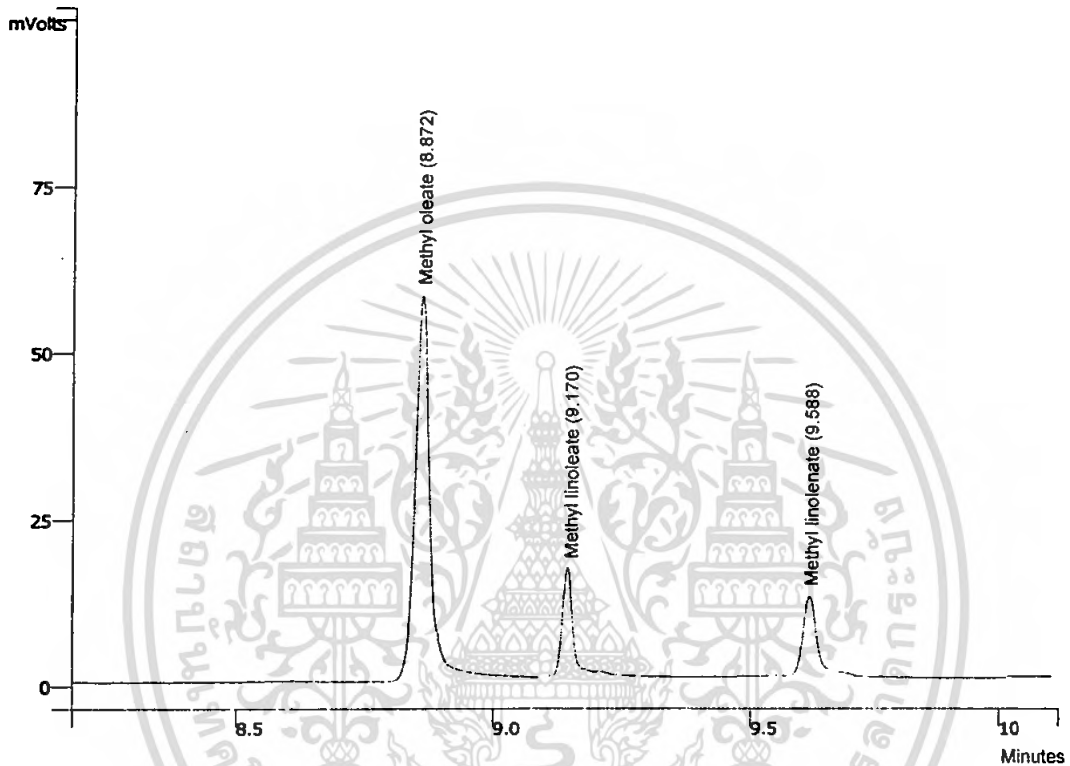
ตัวอย่างโครมาโทแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์

โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันผสม
ที่มีความเข้มข้นของเมทิล โอเลเอต, เมทิล ไลโนเลเอต และเมทิล ไลโนเลนต เท่ากับ 692.21,
209.45 และ 239.50 mg/L ตามลำดับ ดังแสดงในรูป ข.1



รูปที่ ข.1 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันผสม

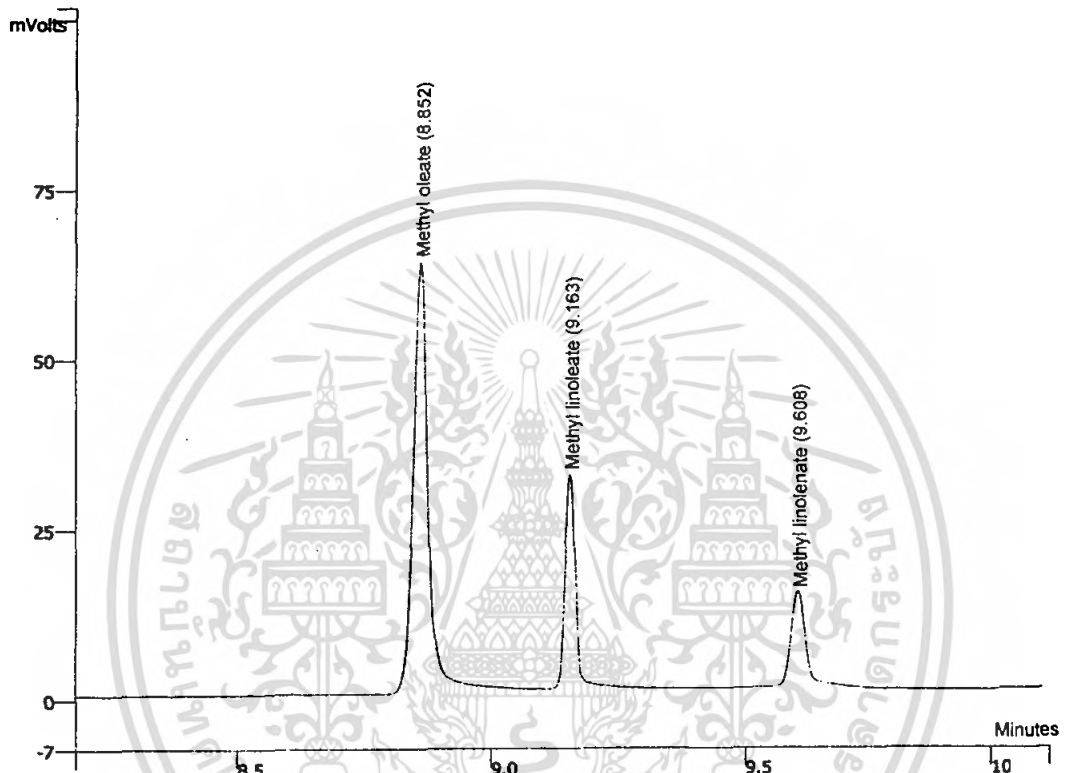
โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันผสม
 ที่มีความเข้มข้นของเมทิลโอเลเอต,เมทิลไลโนเลเอต และเมทิลไลโนเลนต เท่ากับ 830.65,
 349.08 และ 299.38 mg/L ตามลำดับ ดังแสดงในรูป ข.2



รูปที่ ข.2 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันผสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

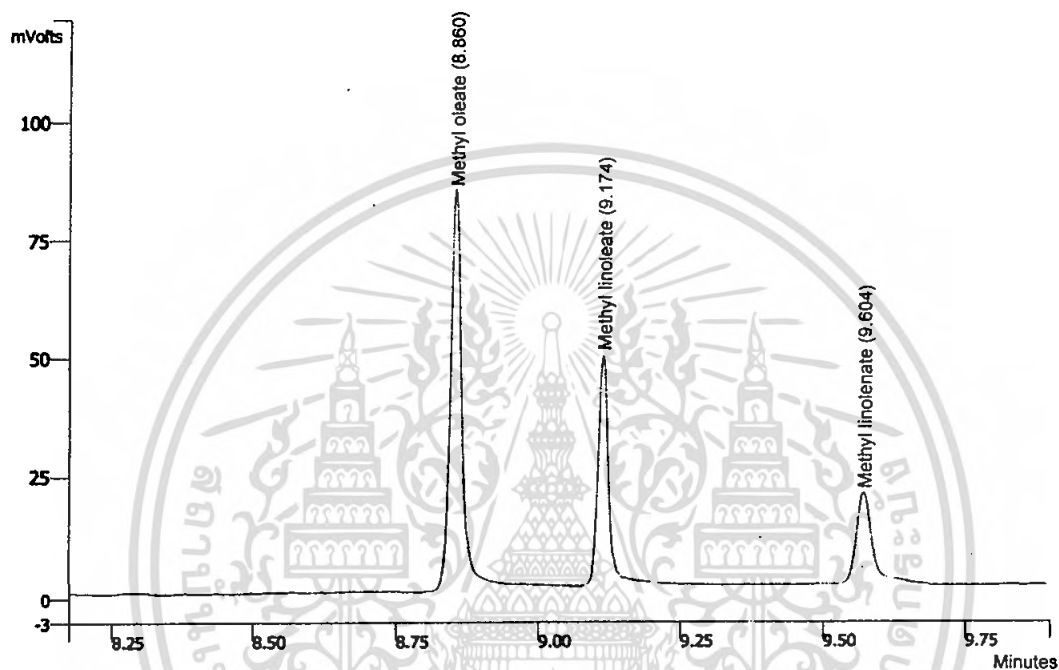
โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันผสม
 ที่มีความเข้มข้นของเมทิลโอเลอเตด,เมทิลไลโนเลอเตด และเมทิลไลโนเลนเตด เท่ากับ 969.09,
 488.72 และ 359.25 mg/L ตามลำดับ ดังแสดงในรูป ข.3



รูปที่ ข.3 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันผสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

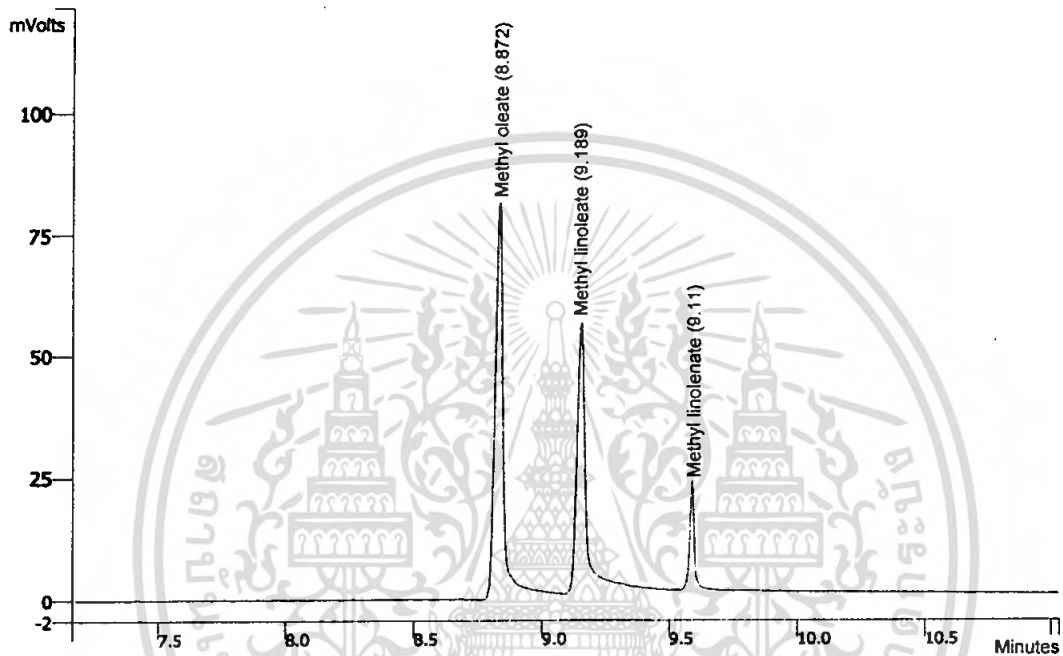
โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันผสม
ที่มีความเข้มข้นของเมทิล โอเลเอต,เมทิล ไล โนเลเอต และเมทิล ไล โนเลนด เท่ากับ 1107.53,
628.35 และ 419.13 mg/L ตามลำดับ ดังแสดงในรูป ข.4



รูปที่ ข.4 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันผสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันผสม
 ที่มีความเข้มข้นของเมทิล โอเลเอต,เมทิล ไล โนเลเอต และเมทิล ไล โนเลนต เท่ากับ 1245.97,
 737.98 และ 479.00 mg/L ตามลำดับ ดังแสดงในรูป ข.5

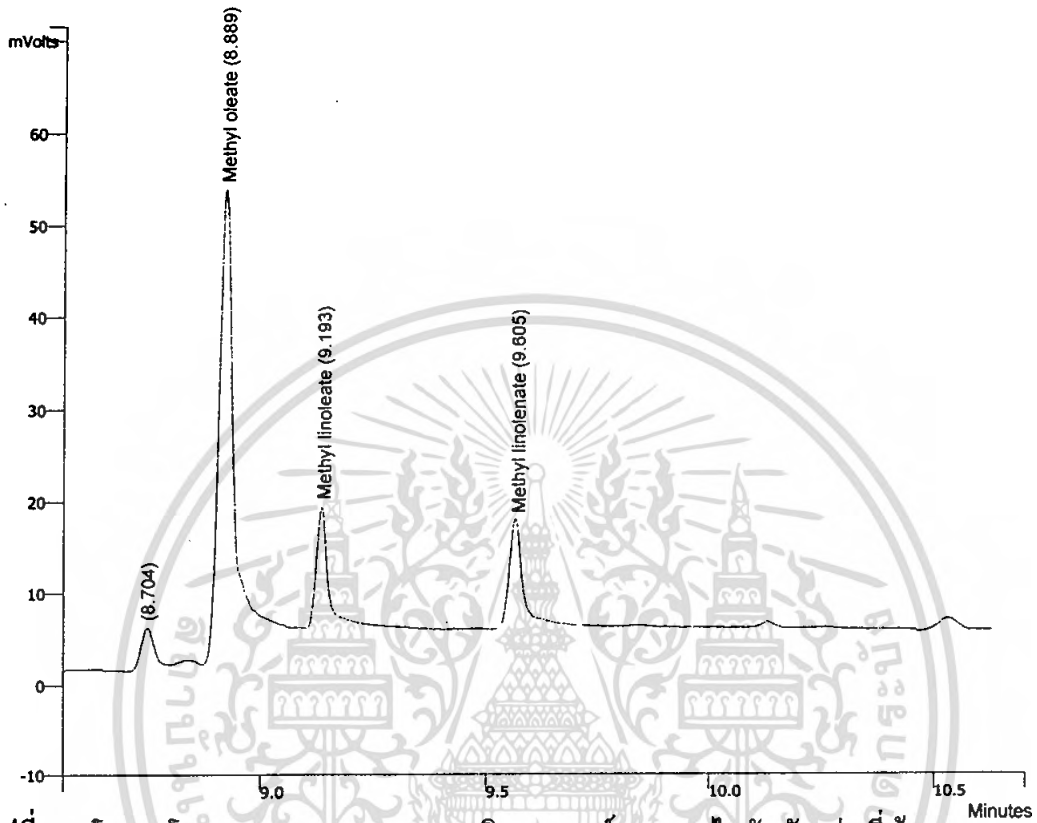


รูปที่ ข.5 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันผสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครมาโทแกรมของสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันตัวอย่างหมายเลข A

ดังแสดงในรูปที่ ข.6

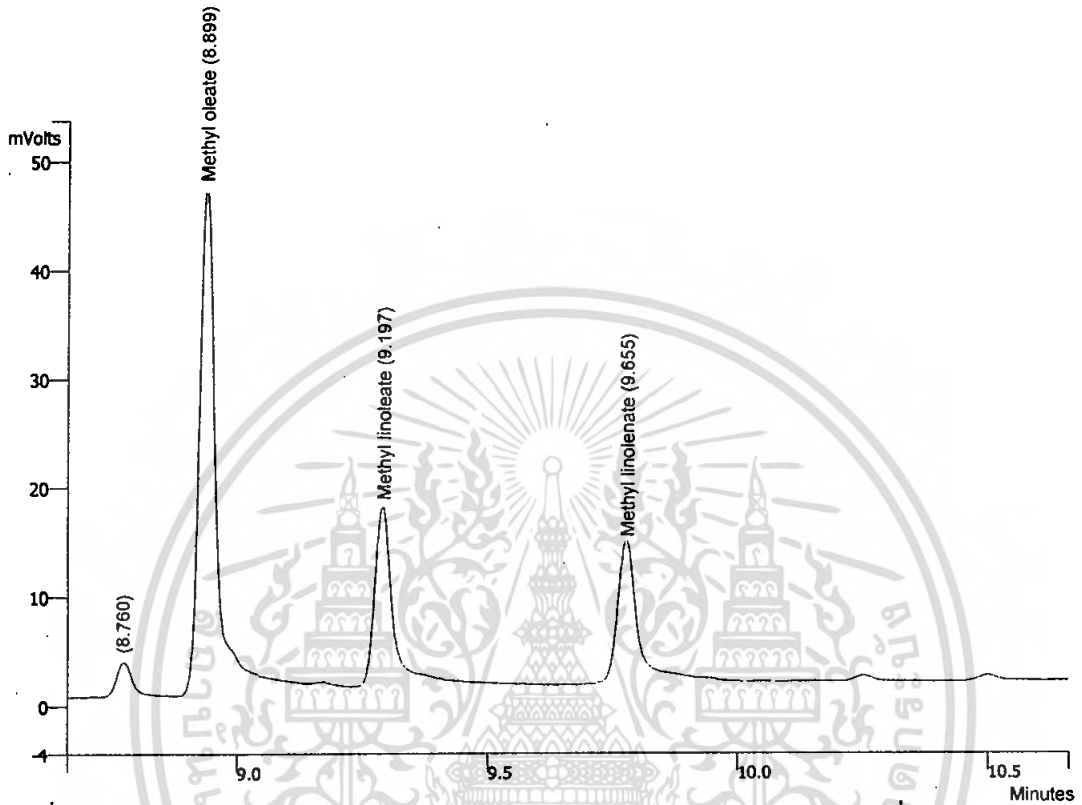


รูปที่ ข.6 โครมาโทแกรมของสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันตัวอย่างหมายเลข A

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครมาโทแกรมของสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันตัวอย่างนมผงยี่ห้อ B

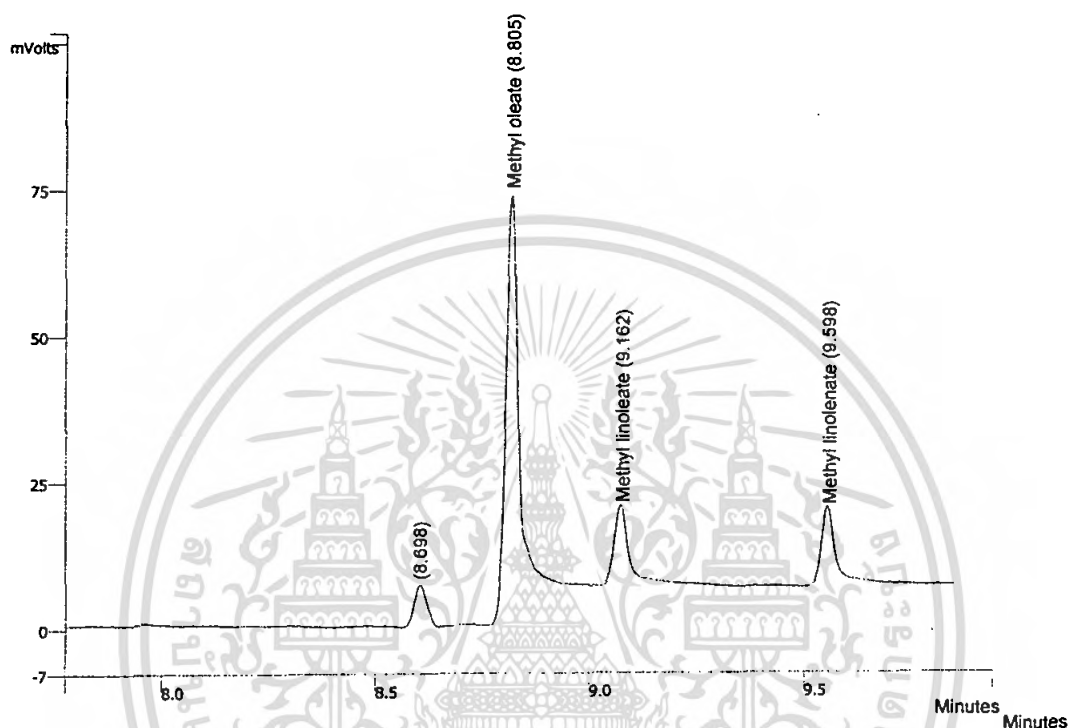
ดังแสดงในรูปที่ ข.7



รูปที่ ข.7 โครมาโทแกรมของสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันตัวอย่างยี่ห้อ B

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

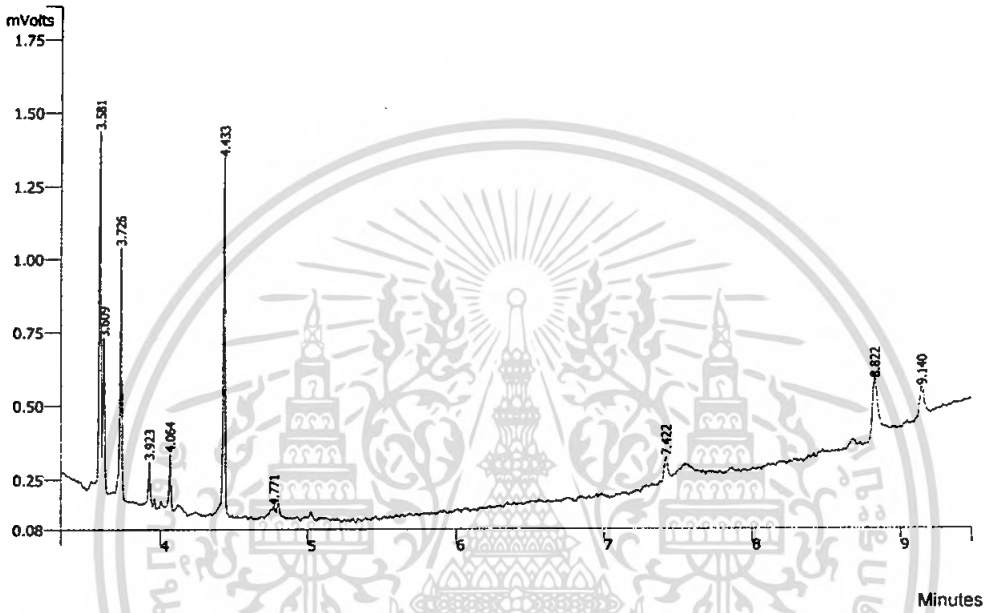
โครมาโทแกรมของสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันตัวอย่างนมผงยี่ห้อ C
 ดังแสดงในรูปที่ ข.8



รูปที่ ข.8 โครมาโทแกรมของสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันตัวอย่างยี่ห้อ C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครมาโทแกรมของสารละลายแบลงค์ ดังแสดงในรูปที่ ข.9



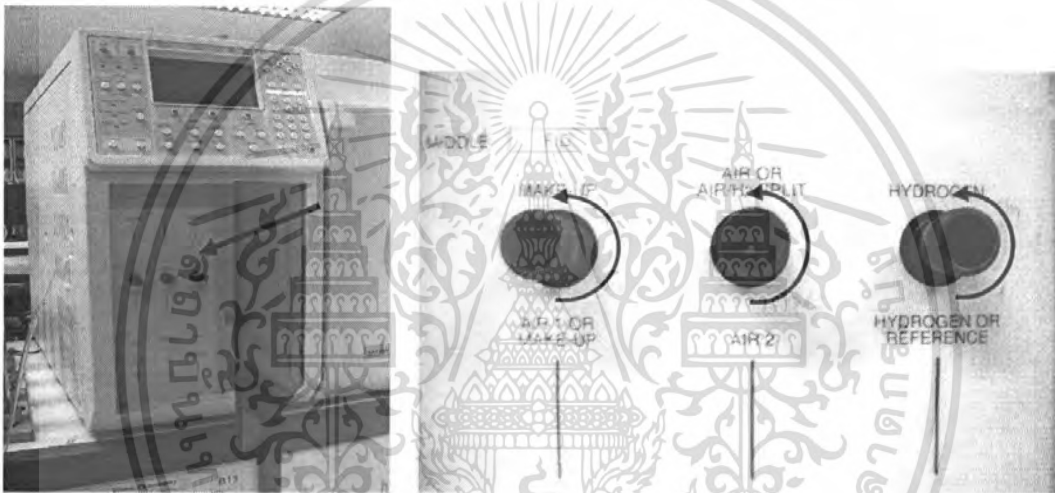
รูปที่ ข.9 โครมาโทแกรมของสารละลายแบลงค์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

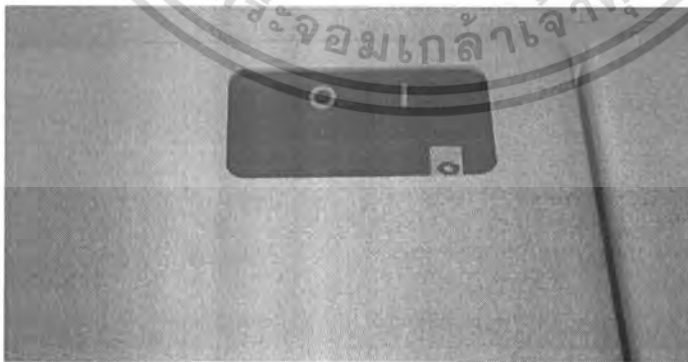
ภาคผนวก ค.

ขั้นตอนการใช้งานเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ

1. เปิดเครื่องคอมพิวเตอร์
2. เปิดแก๊สทั้ง 4 ถัง (He, H₂, N₂ และ Air)
3. เปิดวาล์ว makeup gas, air และ H₂ (ด้านในกระบอกสีดำด้านหน้าเครื่อง) โดยหมุนปุ่มทั้ง 3 ปุ่มทวนเข็มนาฬิกาจนสุด ดังรูป

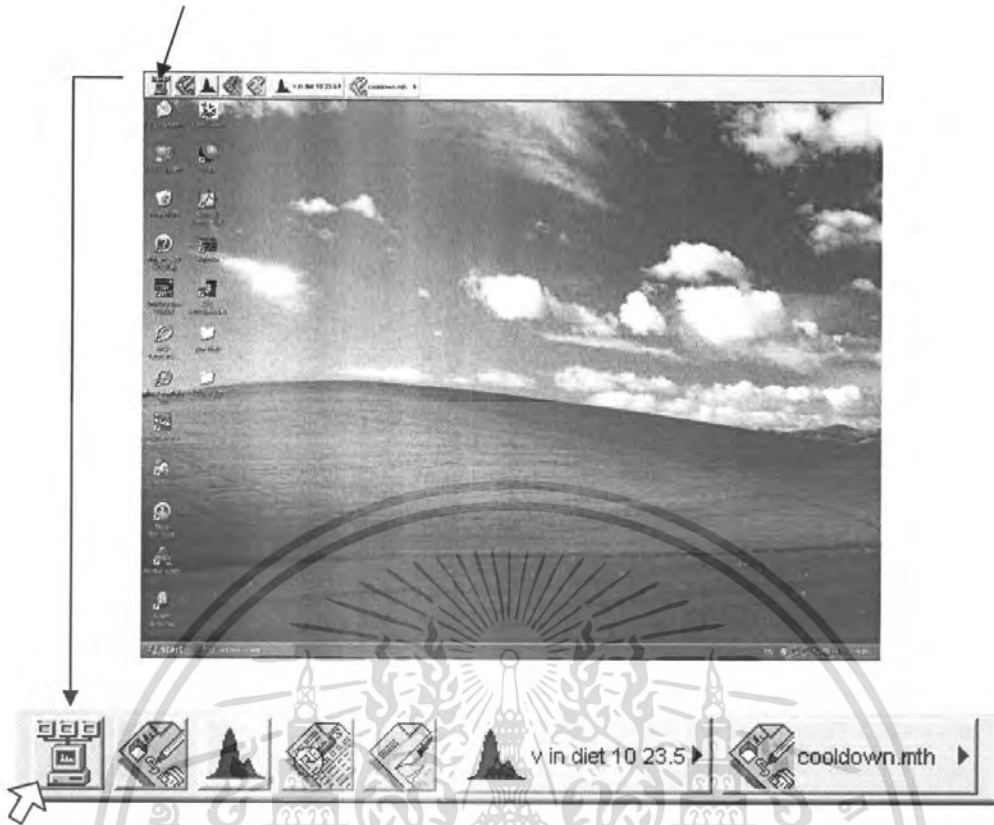


4. เปิดสวิสช์สีดำที่เครื่อง GC (ด้านบน ของตัวเครื่อง) ดังรูป



5. คลิกรูป System Control Automation ที่หน้าจอคอมพิวเตอร์ ดังรูป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



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



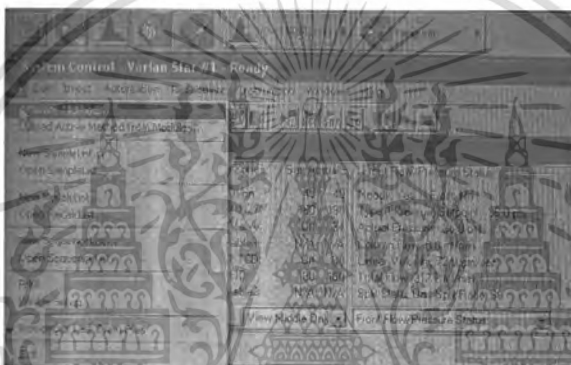
8. กรณีที่มี Method ที่ใช้วิเคราะห์อยู่แล้วอยู่แล้ว ให้เลือกคำสั่ง ดังรูป

8.1 File

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



8.2 Activate Method

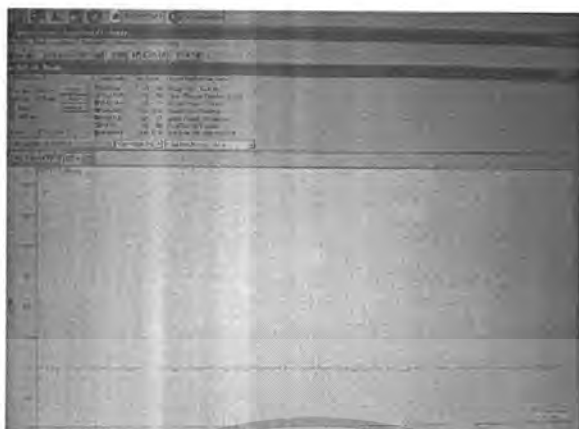


8.3 เลือก Method ที่สร้างไว้



8.4 Open

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



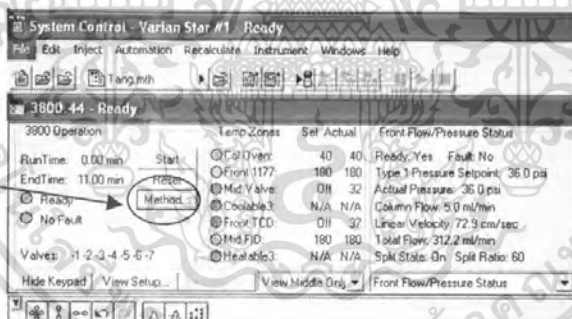
8.5 เครื่องพร้อมฉีดตัวอย่างเมื่อ ขึ้น ไปสีเขียวทั้งหมด และตรงไฟสีเขียว (ซ้ายมือ ข้างบน) ขึ้นคำว่า Ready

9. กรณีที่ยังไม่มี Method สามารถสร้าง Method ใหม่ ได้ 2 ทาง

9.1 Copy Method ของคนอื่นที่ใช้ Detector เหมือนเรา โดย

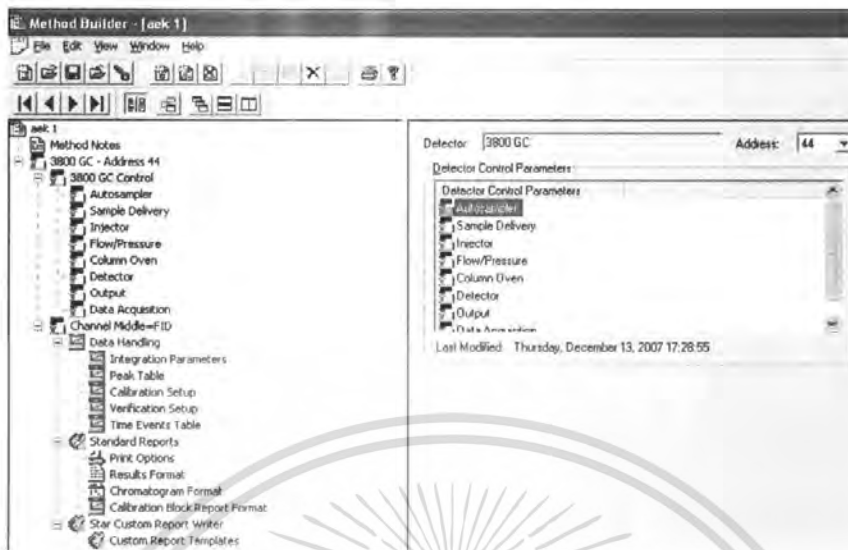
9.1.1 เข้าไปเลือก method ที่คนอื่นสร้างไว้ (ทำตามขั้นตอน ข้อ 8.1-8.4) แล้ว

Click ที่ Method ดังรูป



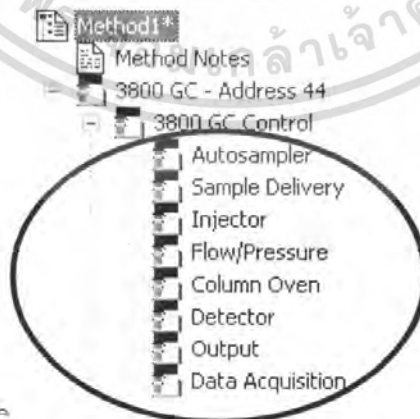
9.1.2 จะปรากฏหน้าจอดังรูป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รายละเอียดต่างๆ ที่ต้องเลือกจากหน้า window ข้างบน มีดังนี้

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



9.1.3 เข้าไปแก้คุณสมภูมิ

- Injector
- Column Oven
- Detector

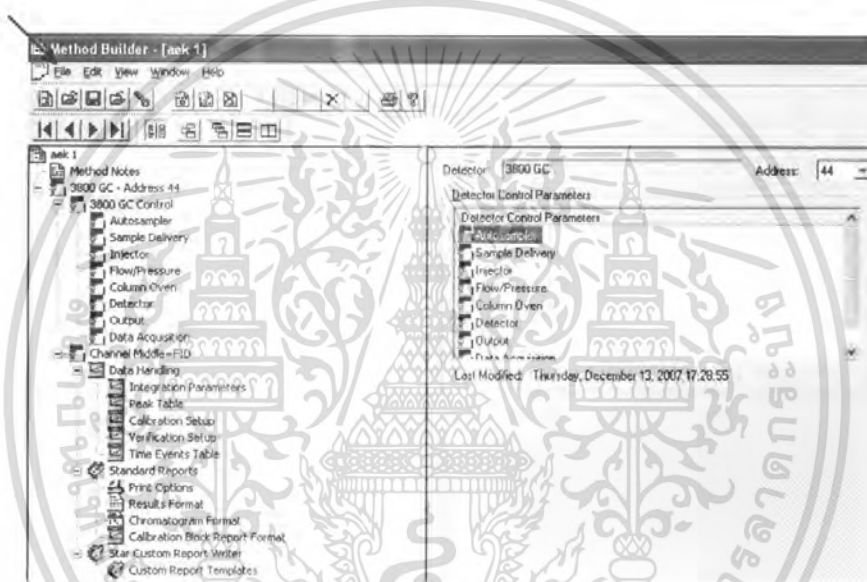
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาม Temperature Program ตามที่เราต้องการใช้

ข้อควรระวัง

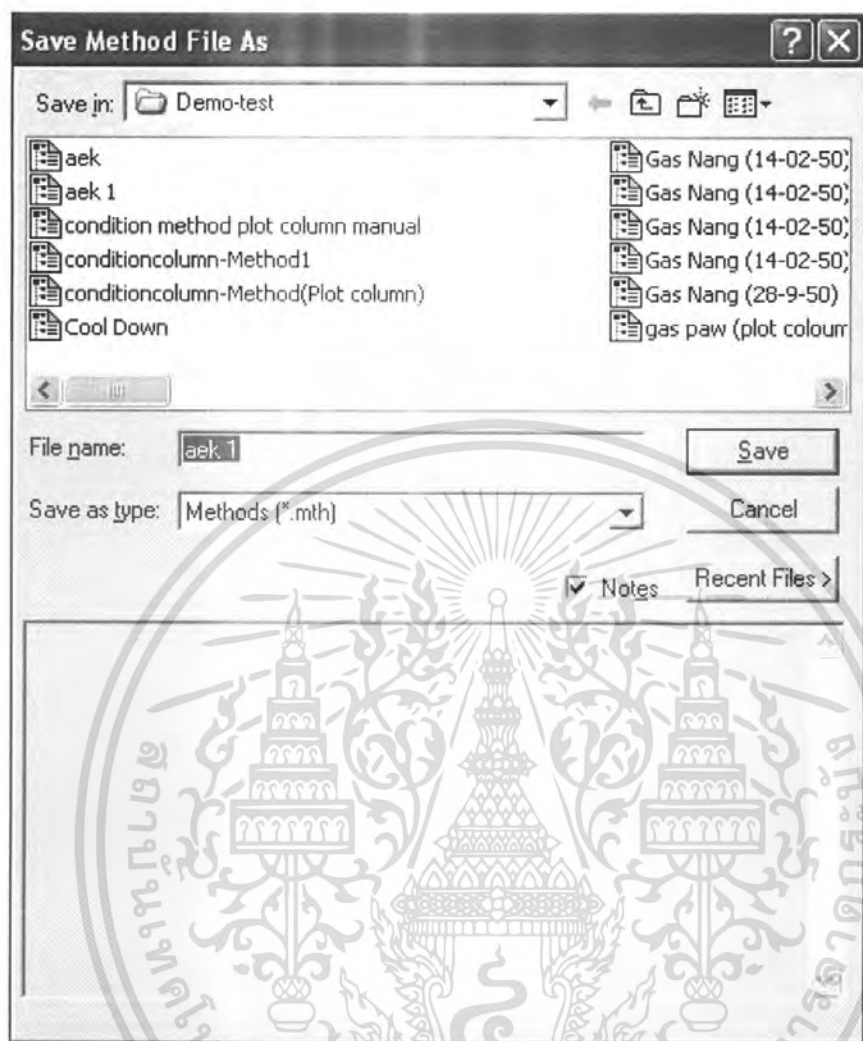
- อุณหภูมิของ Column Oven ต้องไม่สูงกว่า Maximum Temperature ของคอลัมน์ โดยดูจากกล่องคอลัมน์ที่กำลังใช้งานอยู่
- อุณหภูมิของ Detector ควรตั้งสูงกว่า อุณหภูมิสูงสุดของ Column Oven ที่เราตั้งไว้ 20-30 องศาเซลเซียส

9.1.4 เข้า File เลือก Save as เพื่อไม่ให้ไปทับ method ของคนที่สร้างไว้ก่อน



9.1.5 ตั้งชื่อเป็น Method ของเรา (จะตั้งชื่ออะไรก็ได้ และเราก็อำชื่อเอาไว้เพื่อที่จะใช้ในการ Activated Method มาใช้ครั้งต่อไป) ดังรูป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



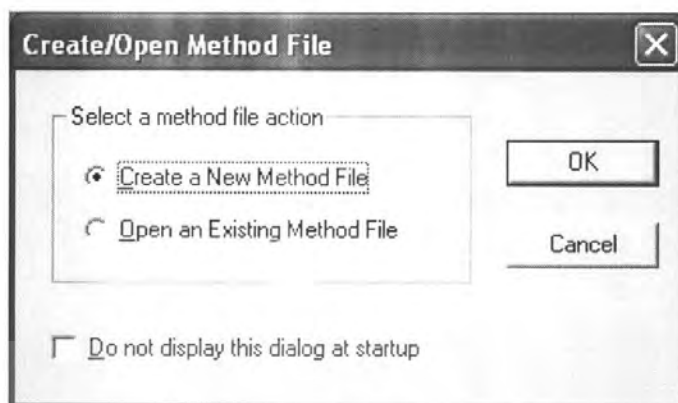
9.2 สร้าง Method ใหม่

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

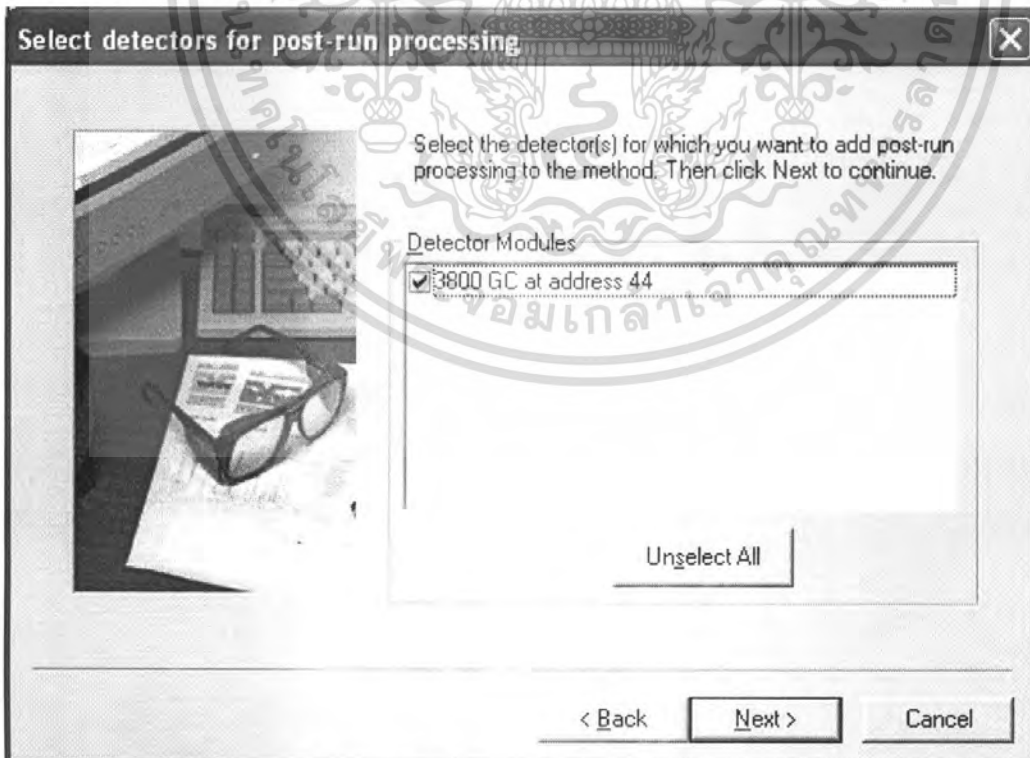


9.2.3 จะปรากฏ window ขึ้นมาดังรูป และ เลือก Instrument 1 และ click Next

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

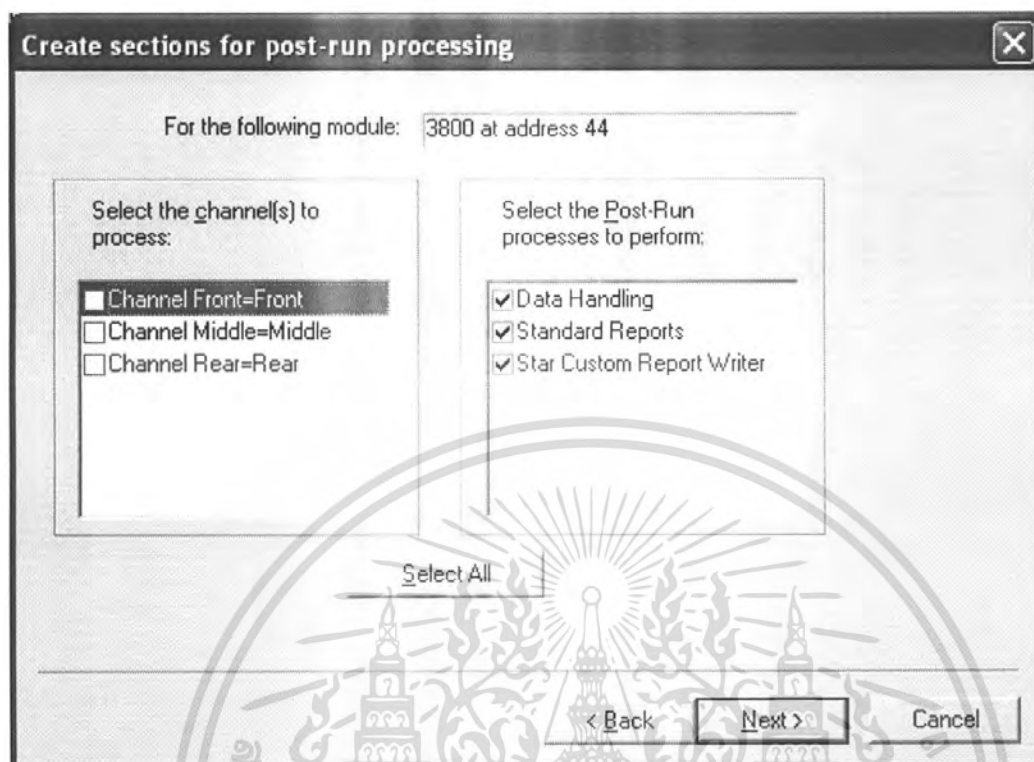


9.2.4 จะปรากฏ window ขึ้นมาดังรูป และ click Next



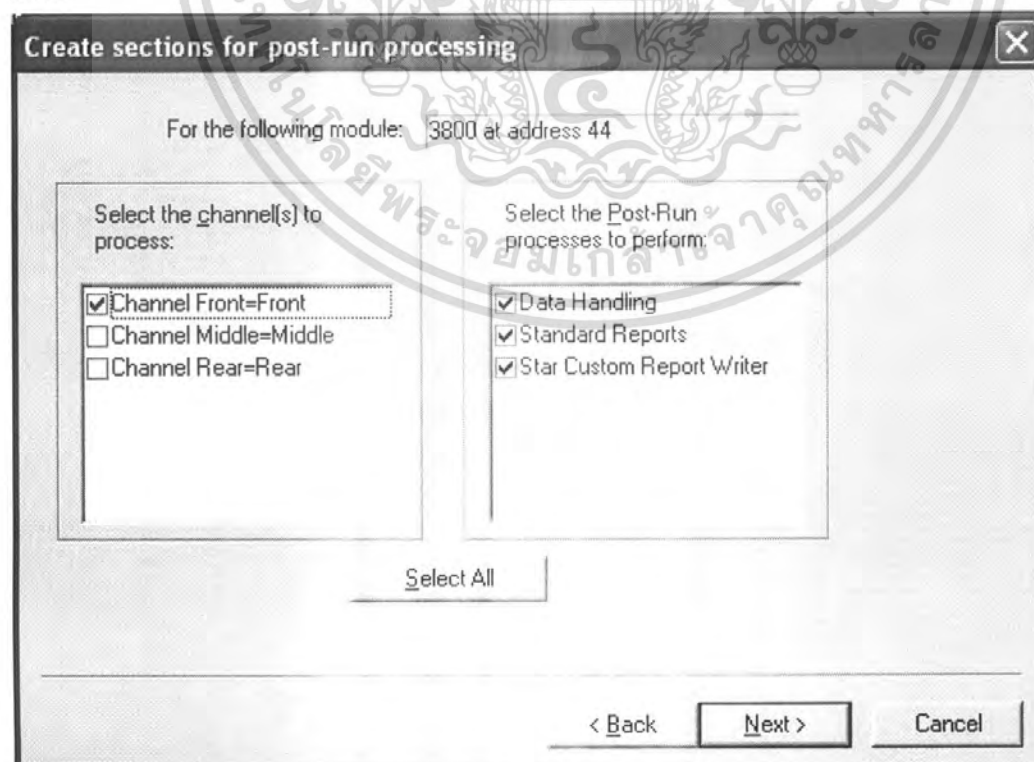
9.2.5 จะปรากฏ window ขึ้นมาดังรูป .ในหน้านี้ ต้อง เลือก channel ให้ตรงกับ Detector ที่จะใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



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

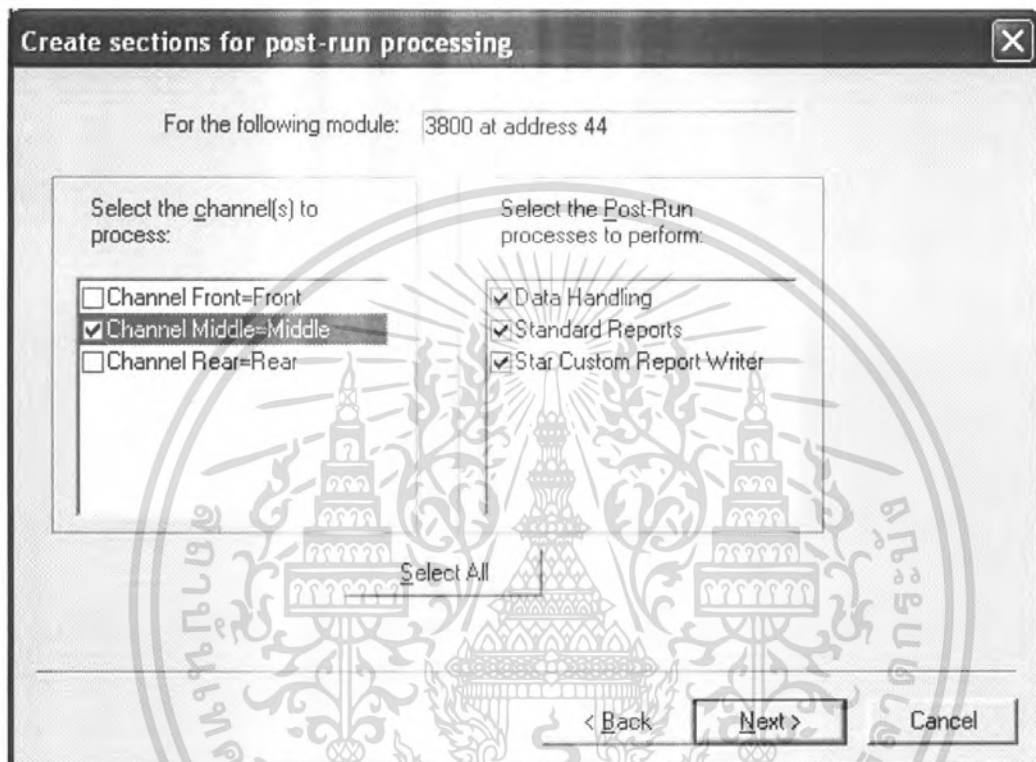
Next



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

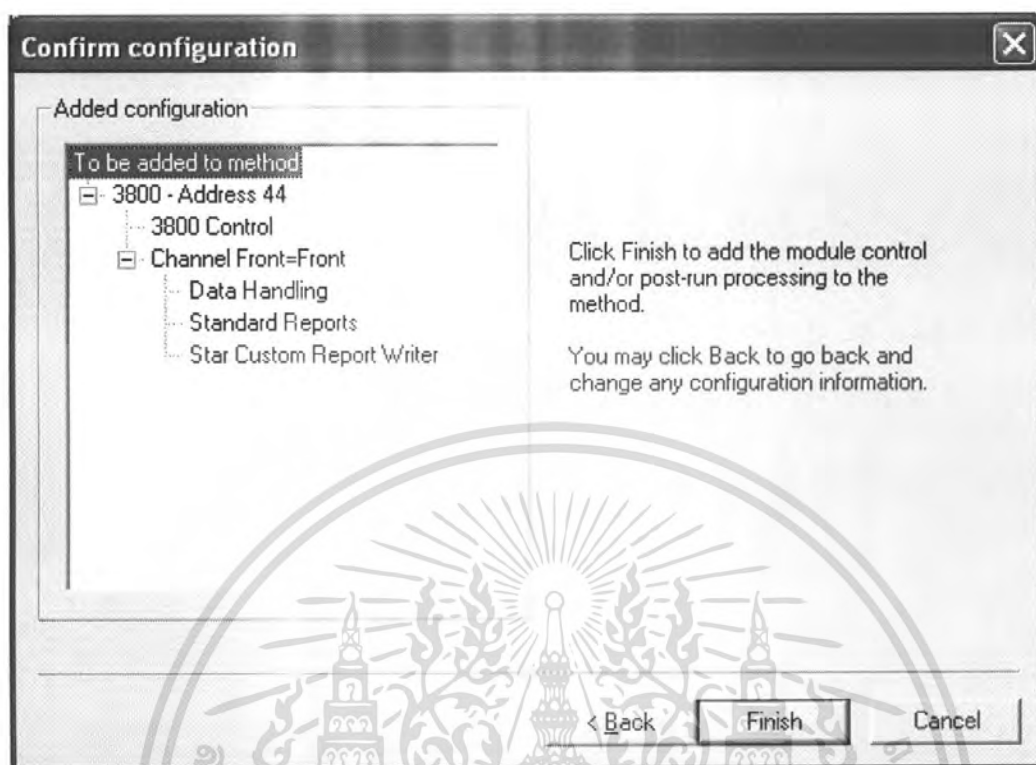
9.2.5.2 กรณีจะใช้งาน **Detector** ที่เป็น **FID** ให้เลือก **channel Middle=Middle** และ click

Next

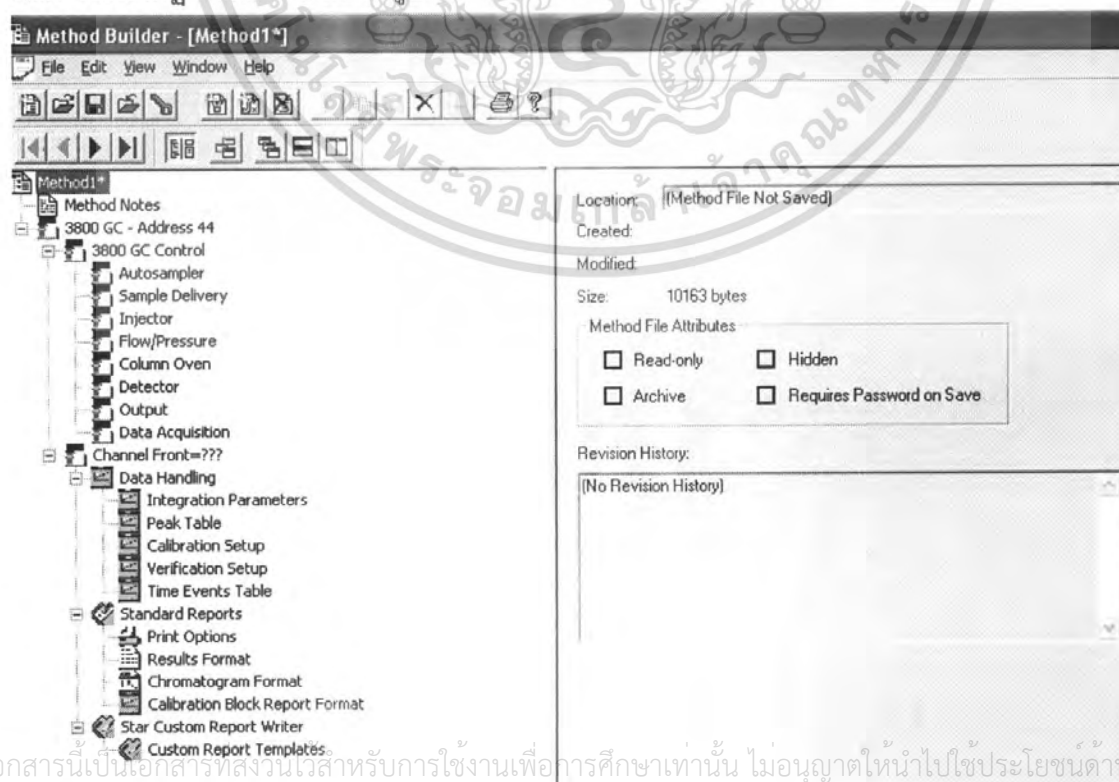


9.2.6 จะปรากฏ window ขึ้นมาดังรูป และ Finish

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



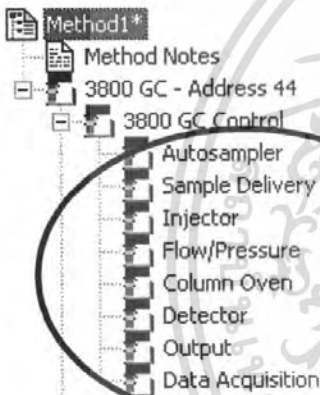
9.2.7 จะปรากฏ window ขนมาดังรูป



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

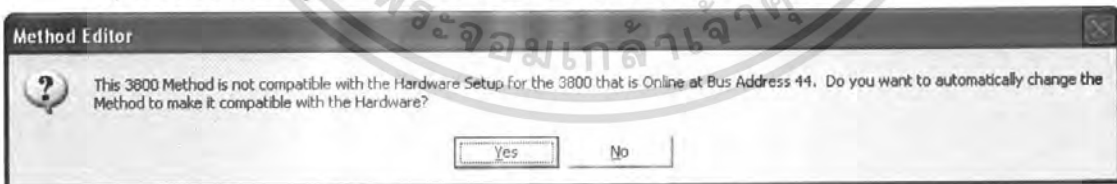
รายละเอียดต่างๆ ที่ต้องเลือกจากหน้า window ข้างบน มีดังนี้

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



9.2.7.1 Autosampler

1) Click Autosampler แล้วจะขึ้น Method Editor แล้ว click Yes



2) click OK



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้