การวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอไรซานอลในไขสบู่จากโรงงานน้ำมันรำข้าว

ฐาปนี ชูสุวรรณ[1] นฤมล จียโชค[2] และ คณิต กฤษณังกูร[2]
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี บางมด ทุ่งครุ กรุงเทพฯ 10140

รับเมื่อ 16 สิงหาคม 2547 ตอบรับเมื่อ 2 มีนาคม 2548

บทคัดย่อ

การวิเคราะห์ปริมาณโอไรซานอลในไขสบู่น้ำมันรำข้าวตามวิธีของ Seemanathan และ Prabhakkar (*J. Food Sci. Tech.* 23: 270-273(1989)) มีความยุ่งยากซับซ้อนและใช้เวลานานมาก ซึ่งส่งผลให้การประเมินคุณค่าของวิธีการสกัดและความบริสุทธิ์ของโอไรซานอลทำได้ล่าช้า ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมุ่งพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณโอไรซานอลในไขสบู่ให้สะดวกและรวดเร็ว หลักการของวิธีการนี้อาศัยการหาค่าสัมประสิทธิ์การแบ่งละลายที่ถูกต้องด้วยการสกัดโอไรซานอลในไขสบู่ 2 ครั้ง ในเชิงอนุกรมหรือเชิงขนานและวิเคราะห์ปริมาณโอไรซานอลด้วยการแก้สมการทางคณิตศาสตร์แบบง่ายๆ

การวิเคราะห์โดยการสกัดไขสบู่ด้วยเอทิลอะซีเทต 2 ครั้งต่อเนื่อง พบว่ามีปริมาณแกมมาโอไรซานอลในไขสบู่ร้อยละ 7.6 (โดยน้ำหนักแห้ง) หรือร้อยละ 2.9 (โดยน้ำหนักเปียก) ส่วนค่าสัมประสิทธิ์การแบ่งละลายของแกมมาโอไรซานอลระหว่างชั้นเอทิลอะซีเทตกับชั้นไขสบู่ (ที่มีค่า pH 9.5) มีค่า 4.11 จากค่าสัมประสิทธิ์การแบ่งละลายของแกมมาโอไรซานอลคาดว่าประมาณร้อยละ 80 จะถูกสกัดออกจากชั้นสารละลายไขสบู่ที่มีค่า pH 9.5 ด้วยเอทิลอะซีเทตในปริมาตรเท่ากัน

คำสำคัญ : โอไรซานอล / สัมประสิทธิ์การแบ่งละลาย / น้ำมันรำข้าว / สต๊อกสบู่

---

[1] *นักศึกษาบัณฑิตศึกษา สายวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี*

[2] *รองศาสตราจารย์ สายวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี*

Determination of γ-Oryzanol in Rice Bran Oil Refinery Soap Stock

Thapanee Choosuwan[1], Narumon Jeyashoke[2], and Kanit Krisnangkura[2]

King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangmod, Toongkru, Bangkok 10140

Received 16 August 2004 ; accepted 2 March 2005

Abstract

The method of Seemanathan et al (*J. Food Sci. Tech*. 23: 270-273(1989)) for determination of γ-oryzanol, in soap stock of rice bran oil, is very tedious and time consuming. This would hinder the evaluation of the method of extraction and purification of γ-oryzanol. Thus, a simple and rapid method of determination of γ-oryzanol in rice bran soap stock is proposed. The method depends on the accurate determination of the partition coefficient (K) either by two consecutive or two parallel extractions. K and concentration of γ-oryzanol in the soap stock are then solved mathematically.

By using ethyl acetate as solvent for extraction, it is found that soap stock contained 7.6% of γ-oryzanol on the dry weight basis and 2.9% on the wet weight basis. The K of γ-oryzanol distributed between ethyl acetate and soap stock (pH 9.5) is 4.11. Thus it is estimated that about 80% of the γ-oryzanol is extracted into ethyl acetate of equal volume.

Keywords : Oryzanol / Partition Coefficient / Rice Bran Oil / Soap Stock

[1] *Graduate Student, Biochemical Technology Division, School of Bioresources and Technology.*

[2] *Associate Professors, Biochemical Technology Division, School of Bioresources and Technology.*

1. บทนำ

การผลิตน้ำมันรำข้าวเกิดขึ้นครั้งแรกเมื่อ 50 ปีก่อน และมีการใช้อยู่จนถึงปัจจุบัน ในประเทศแถบเอเชีย เช่น ญี่ปุ่น เกาหลี จีน ไต้หวัน ไทย และปากีสถาน [1] องค์ประกอบของน้ำมันรำข้าวดิบแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ กลุ่มสารที่สะปอนนิฟายได้ (saponifiable) ประมาณร้อยละ 90-96 และกลุ่มสารที่สะปอนนิฟายไม่ได้ประมาณร้อยละ 4.0 และพบว่ากลุ่มสารที่สะปอนนิฟายไม่ได้ (un-saponifiable) มีปริมาณที่สูงกว่าน้ำมันอื่นๆ อีกทั้งมีสารอาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ เช่น สารโอไรซานอล [2, 3]

สารโอไรซานอลถูกค้นพบครั้งแรกในน้ำมันรำข้าวในปี ค.ศ. 1954 โดยนักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่นชื่อ Kaneko และ Tsuchiya [4] โอไรซานอลเป็นกลุ่มของสารเอสเทอร์ระหว่างกรดเฟอรูลิก (ferulic acid) และสเตียรอล (sterols) หรือไตรเทอร์พีน อัลกอฮอล์ (triterpene alcohols) [5-13] ประโยชน์ของโอไรซานอล ทางด้านต่างๆ มีมากมายทั้งด้านอาหาร เช่น เป็นสารกันหืนในน้ำมันพืช และเป็นสารกันเสียในอาหาร [14] ทางด้านเครื่องสำอาง เช่น เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ ทาเส้นผม [15] และทางด้านการแพทย์ เช่น ลดปริมาณโคเลสเตอรอลในพลาสมา [16-20] ลดการรวมตัวของเกล็ดเลือด [17] และช่วยเพิ่มการพัฒนากล้ามเนื้อ [21] โอไรซานอลไม่ก่อให้เกิดความผิดปกติของยีน ไม่เป็นสารก่อมะเร็งและเนื้องอก [22, 23] ในกระบวนการรีฟายน์น้ำมันรำข้าว พบว่าการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ต่างชนิดกันในการสกัดน้ำมันออกจากรำข้าว มีผลทำให้ได้ปริมาณโอไรซานอลที่มีอยู่ในน้ำมันรำข้าวแตกต่างกัน [24] สารโอไรซานอลจะสูญเสียมากที่สุดในขั้นตอนการกำจัดกัมและการสะเทินกรดไขมันอิสระ(degumming-neutralization) และโอไรซานอลจะสะสมอยู่ในไขสบู่ที่เป็นของเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมการผลิตน้ำมันรำข้าวเป็นจำนวนมาก [25] ในกระบวนการรีฟายน์น้ำมันทางเคมี จะเหลือโอไรซานอลในน้ำมันประมาณร้อยละ 0.19 เนื่องจากด่างกำจัดโอไรซานอลถึงร้อยละ 93-94.6 จากน้ำมันดิบเริ่มต้น และสะสมในไขสบู่ [26] การแยกสกัดโอไรซานอลออกจากไขสบู่ที่เป็นของเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตน้ำมันรำข้าว จึงเป็นที่สนใจของการศึกษานี้ อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์ปริมาณโอไรซานอลในไขสบู่ตามวิธีการของ Seetharamaiah และ Prabhakar [24] นั้นมีความยุ่งยาก ซับซ้อน และใช้เวลานานมาก การประเมินประสิทธิภาพและความบริสุทธิ์ในการสกัดโอไรซานอลทำได้ยากและเสียเวลานานมาก ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณโอไรซานอลในไขสบู่ให้สะดวกและรวดเร็วด้วยการสกัดไขสบู่ เพื่อหาค่าสัมประสิทธิ์การแบ่งละลายและปริมาณด้วยการแก้สมการทางคณิตศาสตร์แบบง่ายๆ

2. ทฤษฎี

การสกัดด้วยตัวทำละลาย

ความเข้มข้นของตัวถูกละลาย ในตัวทำละลายชนิดที่ 1 และ 2 ในภาวะสมดุลเขียนได้

$$K = \frac{[U]}{[L]} \quad (1)$$

หรือ

$$K = \left(\frac{M_U}{V_U}\right)\left(\frac{V_L}{M_L}\right) \quad (2)$$

K = สัมประสิทธิ์การแบ่งละลาย (partition coefficient)
$[U]$ = ความเข้มข้นของตัวถูกละลายในตัวทำละลายชั้นบน
$[L]$ = ความเข้มข้นของตัวถูกละลายในตัวทำละลายชั้นล่าง
M_U = ปริมาณของตัวถูกละลายในตัวทำละลายชั้นบน
M_L = ปริมาณของตัวถูกละลายในตัวทำละลายชั้นล่าง
V_U = ปริมาตรของตัวทำละลายชั้นบน
V_L = ปริมาตรของตัวทำละลายชั้นล่าง

การทราบค่าสัมประสิทธิ์การแบ่งละลาย จะสามารถนำมาใช้ทำนายปริมาณสารที่จะสกัดได้ในแต่ละครั้ง ส่วนการศึกษาหาค่าสัมประสิทธิ์การแบ่งละลาย ทำได้โดยการศึกษาหาความเข้มข้นของตัวถูกละลายในวัฏภาคบนและล่าง แต่กรณีที่ศึกษานี้ไม่ทราบค่าความเข้มข้นของตัวถูกละลายและค่า K ดังนั้น จึงได้นำวิธีการแก้สมการทางคณิตศาสตร์มาประยุกต์ใช้ในลักษณะต่าง ๆ

วิธีการที่ 1 ทำการสกัดสารตัวอย่างเดียว 2 ครั้ง ด้วยปริมาตรทั้ง 2 วัฏภาคเท่ากัน

ถ้ากำหนดให้

Y = ปริมาณโอไรซานอลในไขสบู่ที่จะวิเคราะห์
X_1 = ปริมาณโอไรซานอลที่สกัดได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ครั้งแรก
X_2 = ปริมาณโอไรซานอลที่สกัดได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ครั้งที่ 2

การสกัดครั้งแรก ($V_U = V_L$) เมื่อแทนค่าต่างๆ ลงในสมการ (2) จะได้

$$K_1 = \left(\frac{X_1}{Y-X_1}\right) \quad (3)$$

การสกัดครั้งที่สอง ($V_U = V_L$) เมื่อแทนค่าจะได้

$$K_2 = \left(\frac{X_2}{Y-(X_1+X_2)}\right) \quad (4)$$

แต่ $K_1 = K_2$

$$\left(\frac{X_1}{(Y-X_1)}\right) = \left(\frac{X_2}{Y-(X_1+X_2)}\right) \quad (5)$$

$$X_1(Y-(X_1+X_2)) = X_2(Y-X_1) \quad (6)$$

$$X_1Y-(X_1^2+X_1X_2) = X_2(Y-X_1) \quad (7)$$

$$(X_1^2-X_1Y+X_2Y) = 0 \quad (8)$$

$$Y = \left(\frac{X_1^2}{X_1 - X_2}\right) \quad (9)$$

จากผลการทดลองสกัดสาร จะทำให้ทราบค่า X_1 และ X_2 เมื่อนำไปแทนค่าในสมการ (9) จะได้ค่า Y และเมื่อแทนค่า Y ลงในสมการ (3) จะได้ค่า K

วิธีการที่ 2 ทำการสกัดสารตัวอย่าง 2 ชุด ด้วยตัวทำละลายที่มีปริมาตรต่างกัน

กำหนดให้ปริมาตรตัวทำละลายที่ใช้ในตัวอย่างที่ 2 เป็น 2 เท่า ของตัวอย่างที่ 1

การสกัดตัวอย่างที่ 1 ($V_U = V_L$)

$$K_1 = \left(\frac{X_1}{1}\right)\left(\frac{1}{(Y-X_1)}\right) \quad (10)$$

การสกัดตัวอย่างที่ 2 ($V_U = 2V_L$)

$$K_2 = \left(\frac{X_2}{2}\right)\left(\frac{1}{(Y-X_2)}\right) \quad (11)$$

แต่ $K_1 = K_2$

$$\left(\frac{X_1}{(Y-X_1)}\right) = \left(\frac{X_2}{2(Y-X_2)}\right) \quad (12)$$

$$2X_1Y-2X_1X_2 = X_2(Y-X_1) \quad (13)$$

$$2X_1Y-X_1X_2-X_2Y = 0 \quad (14)$$

$$2X_1Y-X_2Y = X_1X_2 \quad (15)$$

$$Y = \left(\frac{X_1X_2}{(2X_1-X_2)}\right) \quad (16)$$

จากผลการทดลองสกัดสาร จะทำให้ทราบค่า X_1 และ X_2 เมื่อนำไปแทนค่าในสมการ (16) จะได้ค่า Y และเมื่อแทนค่า Y ลงในสมการ (10) จะได้ค่า K

3. วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

แกมมาโอไรซานอลและตัวอย่างไขสบู่ ได้รับความอนุเคราะห์จากโรงงานน้ำมันบริโภคไทย อำเภอพระประแดง จังหวัดสมุทรปราการ

เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer), Spectronic 21 Bosch & Lomb

3.2 วิธีการวิเคราะห์

การวิเคราะห์ปริมาณและการหาค่า K ทำโดยเจือจางไขสบู่ให้มีความเข้มข้น 25 กรัม (น้ำหนักแห้ง) / 50 มล. H_2O และปรับค่า pH เป็น 9.5 และนำมาทดลอง ดังนี้

1. ทำการสกัดสารตัวอย่างเดียว 2 ครั้ง ด้วยปริมาตรทั้ง 2 วัฏภาคเท่ากัน ใช้สารละลายไขสบู่ 5 มล. และเติมเอทิลอะซีเทต 5 มล. ผสมให้เข้ากัน และนำเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 4,000 รอบ/นาที แยกสารละลายชั้นเอทิลอะซีเทตออก นำไปวิเคราะห์ปริมาณโอไรซานอล (X_1) ด้วย UV-Spectrophotometer เติมเอทิลอะซีเทตใหม่ลงไปในไขสบู่ที่ถูกสกัดแล้วข้างต้นอีก 5 มล. ผสมให้เข้ากัน และนำเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 4,000 รอบ/นาที แยกสารละลายชั้นเอทิลอะซีเทตออก นำไปวิเคราะห์ปริมาณโอไรซานอล (X_2) ด้วยเครื่อง UV-Spectrophotometer

2. ทำการสกัดสารตัวอย่าง 2 ชุด ด้วยตัวทำละลายที่มีปริมาตรต่างกัน ทำในลักษณะเดียวกันกับข้อ 3 เพียงแต่ใช้ตัวอย่างไขสบู่ใหม่ทั้ง 2 ชุด

4. ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

การหาค่าสัมประสิทธิ์การแบ่งละลาย (K) ของโอไรซานอลในไขสบู่จากโรงงานอุตสาหกรรมน้ำมันรำข้าว ทำได้โดยการใช้วิธีการแก้สมการทางคณิตศาสตร์ในลักษณะต่างๆ ดังที่กล่าวมาในหัวข้อทฤษฎี

การสกัดสารตัวอย่างเดียวแบบต่อเนื่อง 2 ครั้ง ด้วยปริมาตรทั้ง 2 วัฏภาคเท่ากัน (วิธีการที่ 1)

ปริมาณโอไรซานอลที่ได้จากการใช้เอทิลอะซีเทตปริมาตรเท่ากันสกัดครั้งที่ 1 และ 2 วิเคราะห์ด้วย UV-Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 320 nm และปรับเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐานโอไรซานอลในตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท ได้รวบรวมไว้ในตารางที่ 1 นำค่าที่ได้นี้แทนลงในสมการ (9) และสมการ (3) เพื่อหาค่า Y และ K ตามลำดับ ผลที่ได้จะแสดงดังตารางที่ 1 ซึ่งได้ค่า K = 4.12 และ Y = 71.94 มก. (ค่าเฉลี่ยจากการทำซ้ำ 3 ครั้ง หรือคิดเป็นปริมาณโอไรซานอลทั้งหมดในไขสบู่ร้อยละ 2.88 ปริมาณโอไรซานอลที่สกัดได้จาก

ไขสบู่ครั้งแรกเท่ากับ 2.32/100กรัม คิดเป็นร้อยละ 80.53 ของปริมาณโอไรซานอลทั้งหมด ปริมาณโอไรซานอลที่สกัดได้ครั้งที่ 2 เท่ากับ 0.45 กรัม/100กรัม คิดเป็นร้อยละ 15.72 ของปริมาณโอไรซานอลทั้งหมด เมื่อรวมผลการสกัดรวม 2 ครั้งได้ปริมาณร้อยละของโอไรซานอลเท่ากับ 96.25 นั่นคือ แม้การสกัดโอไรซานอล 2 ครั้งจะสกัดออกมาได้ไม่หมด (สกัดได้ร้อยละ 96.25) แต่การคำนวณจะได้ค่าปริมาณโอไรซานอลที่ใกล้เคียงกับวิธีการ exhaustive extraction ของ Seetharanmaiah และคณะ [24] ซึ่งยุ่งยาก ใช้เวลานานและสิ้นเปลืองตัวทำละลายอย่างมาก

ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณโอไรซานอลในไขสบู่ (ความเข้มข้น 2.5 ก./5 มล. H_2O) และค่า K (ระหว่างไขสบู่กับเอทิลอะซีเทต) โดยการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 320 nm โดยทำการสกัดแบบต่อเนื่อง 2 ครั้ง ด้วยปริมาตรทั้ง 2 วัฏภาคเท่ากัน

ตัวอย่าง	$OD_{320\ nm}$ [1]	X_1 (มก.)	$OD_{320\ nm}$ [2]	X_2 (มก.)	(Y) (มก.)	X
1.	0.467	57.6	0.370	11.4	71.81	4.05
2.	0.442	54.5	0.353	10.9	68.13	4.00
3.	0.499	61.5	0.380	11.7	75.95	4.26
เฉลี่ย	-	57.9	-	11.3	71.94	4.12

[1]เจือจาง 1,000 เท่า, [2] เจือจาง 250 เท่า

การสกัดสารตัวอย่าง 2 ชุด ด้วยตัวทำละลายที่มีปริมาตรต่างกัน

การสกัดสารตัวอย่างเชิงอนุกรมที่กล่าวมาข้างต้นนั้น โดยทางทฤษฎีมีความเป็นไปได้ แต่ในเชิงปฏิบัตินั้นอาจจะมีปัญหา เช่น เมื่อสกัดไขสบู่สกัดด้วยเอทิลอะซิเทต (ครั้งที่ 1) และแยกเอาตัวทำละลายอินทรีย์ออกหมดแล้ว จึงเติมตัวทำละลายอินทรีย์ใหม่ลงไปในไขสบู่เดิม หากการแยกตัวทำละลายออกจากไขสบู่ที่สกัดครั้งแรกไม่หมด หรืออาจจะดูดไขสบู่ติดปนมากับตัวทำละลาย จะเป็นเหตุให้ความผิดพลาดในการวิเคราะห์ได้

ในส่วนนี้จึงทำการศึกษาการสกัดเชิงขนาน คือ ใช้ไขสบู่ปริมาณเท่ากัน 2 หลอดแล้วสกัดด้วยเอทิลอะซิเทตในปริมาตรที่ต่างกัน ผลการสกัดและค่า K ได้รวบรวมไว้ในตารางที่ 2 หา K และค่า Y ได้จากการแทนค่า X_1และ X_2 ลงในสมการที่ (16) และสมการที่ (10) และได้ค่า K = 4.11 และ Y = 71.86 มก. หรือคิดเป็นปริมาณโอไรซานอลทั้งหมดในไขสบู่ร้อยละ 2.92 จากการศึกษาค่าสัมประสิทธิ์การแบ่งละลายของสารโอไรซานอลระหว่างชั้นของเอทิลอะซีเทตกับชั้นสารละลายไขสบู่และรวมถึงปริมาณโอไรซานอลในไขสบู่เริ่มต้น โดยใช้วิธีการแก้สมการทางคณิตศาสตร์ทั้ง 2 แบบ และวิเคราะห์ด้วย UV-Spectrophotometer พบว่าจะได้ปริมาณโอไรซานอลทั้งหมดในไขสบู่เท่ากับร้อยละ 2.88 โดยน้ำหนักเปียกหรือร้อยละ 7.56 โดยน้ำหนักแห้ง ส่วนค่าสัมประสิทธิ์การแบ่งละลายที่ได้จาก 2 วิธีการดังกล่าวข้างต้นมีค่าเท่ากับ 4.12

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณโอไรซานอลในไขสบู่ (ความเข้มข้น 2.5 ก./5 มล. H_2O) และค่า K (ระหว่างไขสบู่กับเอทิลอะซีเทต) โดยทำการสกัดไขสบู่ 2 ชุด ด้วยปริมาตรเอทิลอะซีเทตไม่เท่ากัน ($V_2 = 2 V_1$)

ตัวอย่าง	$OD_{320\ nm}$ [1]	X_1 (มก.)	$OD_{320\ nm}$ [2]	X_2 (มก.)	K
1.	0.467	59.3	0.667	65.8	4.06
2.	0.442	57.9	0.650	64.1	4.17
3.	0.499	56.2	0.631	62.3	4.11
เฉลี่ย	-	57.8	-	64.1	4.11

[1]เจือจาง 1,000 เท่า, [2] เจือจาง 400 เท่า

5. สรุปผลการทดลอง

จากการหาปริมาณโอไรซานอลเริ่มต้นที่มีอยู่ในไขสบู่ โดยการแก้สมการทางคณิตศาสตร์ในแบบต่าง ๆ พบว่ามีปริมาณโอไรซานอลในไขสบู่ร้อยละ 2.90 โดยน้ำหนักเปียก หรือร้อยละ 7.6 โดยน้ำหนักแห้ง ค่าที่ได้นี้ใกล้เคียงกับการวิเคราะห์โดยใช้วิธี exhaustive extraction ของ Seetharamaiah และคณะ [24] ค่าสัมประสิทธิ์การแบ่งละลายเฉลี่ย 4.11 พิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์การแบ่งละลาย ประมาณร้อยละ 80 ของแกมมาโอไรซานอลจะถูกสกัดเข้าไปอยู่ในชั้นของเอทิลอะซีเทตที่ปริมาตรเท่ากัน ดังนั้น การวิเคราะห์ปริมาณโอไรซานอลในไขสบู่อาจจะทำให้ง่ายขึ้นได้อีก โดยการเติมเอทิลอะซีเทตลงไปในไขสบู่โดยตรง 10-100 เท่า โอไรซานอลที่ถูกสกัดเข้ามาอยู่ในชั้นสารละลายอินทรีย์จะสูงขึ้นเป็นประมาณร้อยละ 98-99.8

6. เอกสารอ้างอิง

1. Kahlon, T., Saunders, R., Sayre, R., Chow, F., Chin, M., and A. Betschart, 1992., “Cholesterol-Lowering Effects of Rice Bran and Rice Bran Oil Fraction in Hypercholesterolemic Hamsters”, *Cereal Chemistry*., Vol. 69, No. 5, pp. 485-489.

2. Sharma, R. D. and Rukmini, C., 1987. “Hypocholesterolemic Activity of Unsaponifiable Matter of Rice Bran Oil.,” *Journal of Medical Researh*, Vol. 85, pp. 278-281.

3. Orthoefer, F. T., 1996. “Rice Bran Oil: Healthy Lipid Source”, *Food Technology*. Vol. 50, No.12, pp. 62-64.

4. Kaneko, R. and Tsuchiya, T., 1954, *Journal of the Chemical Society of Japan Industrial Chemistry Section*, Vol. 57, p. 526.

5. Norton, R. A., 1995, “Quantitation of Steryl Ferulate and *p*-Coumarate Esters from Corn and Rice”, *Lipids*, Vol. 30, pp. 269-274.

6. Larry, M. S., 1989, "Stanols and Sterols Esters of Ferulic and *p*-Coumaric Acids in Wheat, Corn, Rye and Triticale", *Journal of Agriculture and Food Chemistry,* Vol. 37, No. 3, pp. 662-667.

7. Tanaka, A., Kato, A., and Tsuchiya, T., 1964. "Isolation of β-Sitoterol Ferulate from Rice Bran Oil", *Yakagaku*., Vol. 13, pp. 260-263.

8. Tanaka, A., 1971. "Separation and Quantitative Analysis of Ferulates in Rice Bran Oil by Thin-Layer Chromatography", *Yukagaku*., Vol. 20, pp. 767-792.

9. Tanaka, A., Tanabe, K., Kato, A., and Muramatsu, J., 1977, "Quantitative Analysis of Ferulates in Rice Bran Oil by High Performance Liquid Chromatography", *Yakagaku*., Vol. 26, pp. 119-122.

10. Endo, T., Ueno. K., and Inaba, Y., 1968, "Ferulates in Rice Bran Oil I. Analysis of Ferulates by Gas-liquid Chromatography and Thin–Layer Chromatography", *Yakagaku*., Vol. 17, pp. 344-348.

11. Kato, A., 1961, "Isolation of Ferulates from Soap Stock of Rice Bran Oil", *Yakagaku*., Vol. 10, p. 679.

12. Ohta, G., 1957, "Constituent of Rice Bran Oil II. Structure of Oryzanol-A", *Chemical and Pharmaceutical Bulletin,* Vol. 5, pp. 40-44.

13. Ohta, G., 1960, "Constituent of Rice Bran Oil, III. Structure of Oryzanol-C", *Chemical and Pharmaceutical Bulletin,* Vol. 8, pp. 5-9.

14. Das, P. K., Chaudhuri, A., Kaimal, T. N. B., and Bhalerao, U. T., 1999, "Process for the Isolation of Oryzanol from Crude Dark Acid Oil (Rice Bran)", *United States Patent*, Vol. 5, pp. 708, 869.

15. Sasaki, J., Takada, Y., Kusuda, M., Tanabe, Y., Matsunaga, A., and Arakawa, K., 1990, "Effects of γ-Oryzanol on Serum Lipids and Apolipoproteins in Dyslipidemic Schizophrenics Receiving Major Tranquilizero", *Clinical Therapentics*, Vol. 12, pp. 263-268.

16. Seetharamaiah, G. and Chandrasekhara, N., 1988, "Hypocholesterolemic Activity of Oryzanol in Rat", *Nutrition Reports International,* Vol. 38, No. 5, pp. 927-935.

17. Seetharamaiah, G. S., Krishnakantha, T. P., and Chandrasekhara, N., 1990, "Influence of Oryzanol on Platelet Aggregation in Rats", *Journal of Nutrition Science and Vitaminology,* Vol. 36, pp. 291-297.

18. Rong, N., Ausman, L. M., and Nicholosi, R. J., 1994, "Rice Bran Oil Decreases Plasma LDL Cholesterol by Inhibitory Dietary Cholesterol Absorption", *FASEB*., Vol. 8, p. A162.

19. Rong, N., Ausman, L. M., and Nicholosi, R. J., 1997, “Absorption and Aortic Fatty Streaks in Hamsters”, *Lipids*, Vol. 10, pp. 593-601.

20. Nicolosi, R. J., Ausman, L. M., and Hegsted, D. M., 1991, Rice Bran Oil Lower Serum Total and Low-density Lipoprotein Cholesterol and Apo-B Levels in Nonhuman Primates”, *Atheroclerosis*, Vol. 88, pp. 133-142.

21. Sharma, R. D. and Rukmini, C., 1986, “Rice Bran Oil and Hypocholesterolemia in Rats”, *Lipids*, Vol. 21, pp. 715-717.

22. Tadahisa, H. and Donald, A, 1991, “Preventive of Antioxidants on Lipid Peroxidation in the Retina”, *Opthalmic Research*, Vol. 23, pp. 196-203.

23. Tamagawa, M., Shimizo, Y., Takahashi, Y., Otaka.T., Kimura, S., Kadowaki, H., Uda, F., and Miwa, T., 1992, “Carcinogenicity Study of γ-Oryzanol in F344 Rats”, *Food and Chemical Toxicology*, Vol. 30, No. 1, pp. 41-48.

24. Seetharamaiah, G. S. and Prabhakar, J. V., 1989, “Oryzanol Content of Indian Rice Bran Oil and Its Extraction from Soap Stock”, *Journal of Food Science and Technology*, Vol. 23, pp. 270-273.

25. วราพร พงศ์ธรกุลพานิช, 2543, *การวิเคราะห์เอกลักษณ์และปริมาณโทโคฟีรอลและโอไรซานอล ในกระบวนการผลิตน้ำมันรำข้าว*, วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, กรุงเทพฯ, หน้า 38, 50, 72-82.

26. Krishna, A. G. G., Khatoon, S., Shiela, P.M., Sarmandal, C. V., Indira, T. N., and Mishra, A., 2001, “Effect of Refining of Crude Rice Bran Oil on the Retention of Oryzanol in the Refined Oil”, *Journal of the American Oil Chemists’ Society (JAOCS)*, Vol. 78, No. 2, pp. 127-131.