การหาองค์ประกอบรองต่างๆ ในน้ำมันพืชบริโภคที่วางจำหน่ายในประเทศไทย โดยวิธีโครมาโตกราฟีของเหลวแรงดันสูงแบบแยกตามขนาด

คณิศา กิตติรัตนไพบูลย์ [1]

มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา 1 ถนนอู่ทองนอก แขวงวชิระ เขตดุสิต กรุงเทพฯ 10300

จินดารัตน์ โตกมลธรรม [2]

มหาวิทยาลัยราชภัฏกาญจนบุรี 70 หมู่ 4 ต.หนองบัว อ.เมือง จ.กาญจนบุรี 71000

และ คณิต กฤษณังกูร [3]

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี 83 หมู่ 8 ท่าข้าม บางขุนเทียน กรุงเทพฯ 10150

รับเมื่อ 1 มิถุนายน 2550 ตอบรับเมื่อ 3 ตุลาคม 2551

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาหาองค์ประกอบของน้ำมันพืชบริโภคชนิดต่างๆ โดยใช้วิธีโครมาโตกราฟีของเหลวแรงดันสูงแบบแยกตามขนาดแยก และตรวจวัดกลีเซอไรด์ชนิดต่างๆ และกรดไขมันอิสระที่อยู่ในน้ำมันพืชบริโภคด้วยตัวตรวจวัดแบบ evaporative light-scattering detector (ELSD) พบว่าน้ำมันบริโภคส่วนใหญ่มีไตรกลีเซอไรด์เป็นองค์ประกอบหลักมากกว่าร้อยละ 95 และมีปริมาณไดกลีเซอไรด์อยู่ประมาณร้อยละ 1.6-3.7 น้ำมันปาล์มยี่ห้อหนึ่งมีปริมาณของไดกลีเซอไรด์สูงที่สุด (ร้อยละ 3.7) ปริมาณของกรดไขมันอิสระในน้ำมันบริโภคบริสุทธิ์ที่ตรวจวัดได้มีค่าต่ำกว่าค่ามาตรฐานของน้ำมันบริสุทธิ์ (< 6,000 ppm) อย่างไรก็ตาม พบว่ามีน้ำมันรำข้าวยี่ห้อหนึ่งและน้ำมันถั่วเหลืองยี่ห้อหนึ่งที่มีปริมาณกรดไขมันอิสระสูงกว่าค่ามาตรฐาน (8,092 และ 7,736 ppm) น้ำมันดอกทานตะวันชนิดหีบเย็นมีปริมาณกรดไขมันอิสระเท่ากับ 12,489 ppm สำหรับปริมาณกรดไขมันอิสระสูงสุดของน้ำมันซึ่งผลิตโดยวิธีหีบเย็นที่ยอมรับได้คือร้อยละ 4.0 หรือ 40,000 ppm สำหรับน้ำมันปาล์มดิบมีปริมาณกรดไขมันอิสระประมาณร้อยละ 6 ดังนั้นจึงต้องมีการลดปริมาณของกรดไขมันอิสระให้ได้ค่าตรงตามมาตรฐานที่กำหนดไว้ โดยผ่านกระบวนการทำน้ำมันให้บริสุทธิ์ การวิเคราะห์หาปริมาณแกมมาโอไรซานอลในน้ำมันรำข้าว และปริมาณแคโรทีนในน้ำมันปาล์มจะใช้ตัวตรวจวัดแบบ UV spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 325 นาโนเมตร และ 450 นาโนเมตร ตามลำดับ พบว่าปริมาณแกมมาโอไรซานอลที่ตรวจวัดได้จะมีความแตกต่างกันในแต่ละยี่ห้อ ซึ่งมีค่าตั้งแต่ 300 ถึง 8,260 ppm และปริมาณแคโรทีนในน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ทุกยี่ห้อลดลงอย่างมากหลังจากผ่านกระบวนการทำน้ำมันให้บริสุทธิ์

คำสำคัญ : กรดไขมันอิสระ / กลีเซอไรด์ / โครมาโตกราฟีแรงดันสูงแบบแยกตามขนาด / น้ำมันบริโภค

---

[1] *อาจารย์ สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*

[2] *อาจารย์ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*

[3] *รองศาสตราจารย์ สายวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี*

Determination of Minor Components in Edible Oils from Thai Groceries by HPSEC

Kanisa Kittiratanapiboon [1],
Suan Sunandha Rajabhat University, 1 U-Thong Nok Road, Wachira, Dusit, Bangkok 10300
Jindarat Tokamolthom [2],
Kanchanaburi Rajabhat University, 70 Moo 4, Nongbua, Maung, Kanchanaburi 71000
and Kanit Krisnangkura [3]
King Mongkut's University of Technology Thonburi, 83 Moo 8, Takham, Bangkuntien, Bangkok 10150

Received 1 June 2007 ; accepted 3 October 2008

Abstract

The aim of this study to determine the compositions of the edible oils by high performance size exclusion chromatography (HPSEC) methods.The different forms of glycerides and free fatty acid (FFA) in edible oils are separated and detected by evaporative light scattering detector (ELSD). Most of the commercial edible oils contain more than 95% triglyceride and 1.6-3.7% diglyceride. Only one brand of palm oil contains the highest amount of diglyceride (3.7%). Most of the edible oils have FFA lower than the Thai standard of refined edible oil value (< 6,000 ppm). However, one brand of rice bran oil and one brand of soybean oil contain FFA higher than the standard value (8,092 and 7,736 ppm). Cold Press sun flower oil has 12,489 ppm of FFA and the maximum allowable amount of FFA for cold press oil is 4.0% or 40,000 ppm. Crude palm oil contains about 6.0% FFA. Thus, the FFA much be reduced to the standard value by refining. Gamma-oryzanol in rice bran oil and carotene in palm oil are analyzed by using UV spectrophotometer as a detector at wavelength 325 and 450 nm, respectively. The amount Gamma-oryzanol in each brand of rice bran oil is varied from 300 to 8,260 ppm. The amount of carotene in the refined palm oil is greatly reduced on refining.

Keywords : Free fatty acid / Glycerides / High performance size exclusion chromatography / Edible oil

[1] *Lecturer, Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology.*

[2] *Lecturer, Department of Food Science and Technology, Faculty of Science and Technology.*

[3] *Associate Professor, Division of Biochemical Technology, School of Bioresources and Technology.*

1. บทนำ

ผู้บริโภคนิยมใช้น้ำมันพืชในการปรุงอาหารมากขึ้น เพราะสามารถหาซื้อได้ง่ายและสะดวก วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตน้ำมันพืชในประเทศไทยมีหลายชนิด ได้แก่ ถั่วเหลือง ปาล์มน้ำมัน รำข้าว ข้าวโพด และเมล็ดทานตะวัน น้ำมันพืชบริโภคทั่วๆ ไป ประกอบด้วย ไตรกลีเซอไรด์ประมาณร้อยละ 95-98 และสารประกอบรองชนิดอื่นๆ ซึ่งจะมีความแตกต่างกันในน้ำมันแต่ละชนิด ทั้งในแง่ของปริมาณและคุณภาพ ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณและคุณภาพของสารประกอบรอง ได้แก่ ชนิดของพืช การเพาะปลูกและการเก็บเกี่ยว การเก็บรักษาก่อนการสกัดน้ำมัน การสกัดและกรรมวิธีทำน้ำมันให้บริสุทธิ์ของแต่ละโรงงาน และการเก็บรักษาน้ำมันก่อนจำหน่าย ดังนั้นชนิดและปริมาณของสารประกอบรองในน้ำมันพืช จึงมักถูกใช้เป็นตัวกำหนดคุณภาพและมูลค่าของน้ำมันพืชที่วางจำหน่ายในท้องตลาด สารประกอบรองที่มีผลต่อคุณภาพและมูลค่าของน้ำมันได้แก่ สารปนเปื้อน และสารที่ให้คุณค่าทางโภชนาการ [1, 2]

สารปนเปื้อนในน้ำมันพืชที่สำคัญ คือ กรดไขมันอิสระ ซึ่งเป็นสารที่เกิดจากการไฮโดรไลซีสไตรกลีเซอไรด์ โดยมีไดกลีเซอไรด์ และโมโนกลีเซอไรด์เป็นสารตัวกลาง กรดไขมันอิสระจะเป็นตัวบ่งบอกคุณภาพของน้ำมันที่ดี เพราะถ้ามีกรดไขมันอิสระสูงจะทำให้เกิดกลิ่นหืนได้ง่าย เนื่องจากกรดไขมันในรูปอิสระสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ง่ายกว่ารูปเอสเทอร์ของไตรกลีเซอไรด์ [3] ดังนั้นทางกระทรวงสาธารณสุขของประเทศไทยจึงได้กำหนดเป็นมาตรฐาน โดยปริมาณกรดไขมันอิสระในน้ำมันพืชบริโภคไม่ควรสูงกว่าร้อยละ 0.6 หรือ 6,000 ppm และปริมาณกรดไขมันอิสระในน้ำมันพืชที่ผลิตโดยวิธีหีบเย็นไม่ควรสูงกว่าร้อยละ 4.0 หรือ 40,000 ppm สำหรับสารที่ให้คุณค่าทางโภชนาการในน้ำมันพืชแต่ละชนิดจะมีความแตกต่างกันทั้งชนิดและปริมาณ เช่น สารแคโรทีน ที่เป็นสารต้นตอของวิตามินเอและมีคุณสมบัติเป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระ สามารถพบในน้ำมันหลายชนิดโดยเฉพาะในน้ำมันปาล์มมีปริมาณสูงตั้งแต่ 500-1,600 ppm ขึ้นกับสายพันธุ์ [4, 5] แกมมาโอไรซานอลเป็นสารที่พบเฉพาะในน้ำมันรำข้าว มีคุณสมบัติเป็นสารป้องกันการเกิดออกซิเดชัน ช่วยลดการดูดซึมคอเลสเตอรอล และช่วยลดการเกิดหลอดเลือดแข็งตัว [6, 7] สารที่ให้คุณค่าทางโภชนาการนี้แม้จะไม่ได้เป็นตัวบ่งบอกคุณภาพของน้ำมันโดยตรง แต่เป็นสารที่ช่วยเพิ่มคุณค่าและมูลค่าให้กับน้ำมันพืชบริโภค ในปัจจุบันน้ำมันไดกลีเซอไรด์เข้ามามีบทบาทสำคัญ โดยเฉพาะผู้บริโภคที่ใส่ใจต่อสุขภาพ เนื่องจากมีรายงานว่าผู้บริโภคน้ำมันที่มีไดกลีเซอไรด์เป็นองค์ประกอบหลักแทนการบริโภคน้ำมันพืชทั่วไป จะไม่อ้วน เพราะร่างกายจะไม่สามารถดูดซึมไดกลีเซอไรด์ [8, 9]

วิธีการวิเคราะห์สารที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันพืชบริโภคก็มีความสำคัญ ควรจะเป็นวิธีที่มีความถูกต้องแม่นยำสูงและสะดวก โดยเฉพาะปริมาณของกรดไขมันอิสระในน้ำมัน ซึ่งมีผลต่ออายุการเก็บรักษา สำหรับวิธีมาตรฐานที่ใช้ในการหาปริมาณกรดไขมันอิสระ คือการไตรเตรตกรดไขมันอิสระในสารตัวอย่างด้วยด่างแก่คือโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ และมีฟีนอฟทาลีนเป็นสารอินดิเคเตอร์ [10] วิธีนี้จะช้าและสิ้นเปลืองสารเคมี และการวิเคราะห์อาจมีความผิดพลาดเนื่องจากสิ่งปนเปื้อนในสารตัวอย่าง [11] และการไตรเตรตจะใช้วิเคราะห์หาเฉพาะกรดไขมันอิสระอย่างเดียว แต่ยังมีอีกหลายวิธีที่สามารถวิเคราะห์สารชนิดอื่นที่อยู่ในน้ำมันพืช เช่น ไดกลีเซอไรด์และโมโนกลีเซอไรด์ ได้เช่นกัน เช่น วิธีทางสเปกโทรสโกปี ได้แก่ Fourier transform-infrared และ Near infrared spectrometry [12, 13] รวมถึงวิธีทางโครมาโตกราฟี ได้แก่ วิธีแก๊สโครมาโตกราฟี สารตัวอย่างจะต้องถูกทำให้อยู่ในรูปของอนุพันธ์ก่อนการวิเคราะห์ และอุณหภูมิที่ใช้ในการวิเคราะห์ค่อนข้างสูง จำเป็นต้องใช้คอลัมน์ที่ทนอุณหภูมิสูง [14] Liquid Chromatography ก็เป็นโครมาโตกราฟีอีกวิธีหนึ่งที่ถูกใช้ในการวิเคราะห์ กรดไขมันอิสระและองค์ประกอบอื่นในน้ำมันพืช ข้อดีของวิธีนี้คือสามารถฉีดสารตัวอย่างผ่านคอลัมน์ได้โดยไม่ต้องเปลี่ยนสารตัวอย่างให้อยู่ในรูปอนุพันธ์ และสามารถวิเคราะห์สารที่มีโมเลกุลใหญ่ได้ที่อุณหภูมิห้อง ไม่สิ้นเปลืองพลังงาน Kadan และ Bhowmick [15] ได้รายงานการใช้ Reverse Phase-High Performance chromatography (RP-HPLC) เพื่อวิเคราะห์หาองค์ประกอบต่างๆ ได้แก่ กรดไขมันอิสระ โมโนกลีเซอไรด์ ไดกลีเซอไรด์ และไตรกลีเซอไรด์ ในน้ำมันรำข้าว โดยใช้คอลัมน์ C-18 มีอะซิโตน:อะซิโตไนไตรท์:เมทานอล (50:50:10 v/v/v) เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ พบ

ว่าสภาวะดังกล่าวนี้สามารถใช้ในการแยกสารทั้ง 4 กลุ่มข้างต้นได้ โดยสารแต่ละกลุ่มจะปรากฏจำนวนพีคตามจำนวนชนิดของสารที่อยู่ในแต่ละกลุ่ม ทำให้การวิเคราะห์มีความยุ่งยาก และต้องอาศัยความชำนาญในการวิเคราะห์ นอกจากการใช้ RP-HPLC แล้วยังมีรายงานการใช้ High Performance Size Exclusion Chromatography (HPSEC) และตัวตรวจวัดแบบ Evaporative Light Scattering (ELSD) โดย Kittiratanapiboon และ Krisnangkura [16] เพื่อวิเคราะห์หาองค์ประกอบในไบโอดีเซล ได้แก่ ไตร- ได- และโมโนกลีเซอไรด์ กรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ รวมถึงกรดไขมันอิสระ นับว่าเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว และสามารถวิเคราะห์สารออกเป็นกลุ่มๆ ทำให้ง่ายต่อการวิเคราะห์

สำหรับวิธี HPSEC ร่วมกับตัวตรวจวัดแบบ ELSD ของ Kittiratanapiboon และ Krisnangkura [16] นี้น่าจะเป็นวิธีที่ดีสำหรับใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณของกรดไขมันอิสระในน้ำมันพืชบริโภคทั่วๆ ไป เพราะนอกจากจะใช้วิเคราะห์หาปริมาณของกรดไขมันอิสระในตัวอย่างน้ำมันแล้ว ยังสามารถวิเคราะห์หาองค์ประกอบอื่นๆ ในน้ำมันพืชบริโภคได้เช่นกัน เช่น ไดกลีเซอไรด์ โมโนกลีเซอไรด์ ที่เป็นสารตัวกลางที่เกิดจากการไฮโดรไลซ์ไตรกลีเซอไรด์ และนอกจากนี้ยังพบว่าในการวิเคราะห์หาปริมาณของสารที่ให้คุณค่าทางโภชนาการอื่นๆ เช่น สารแคโรทีนในน้ำมันปาล์ม และแกมมาโอไรซานอลในน้ำมันรำข้าว มักจะใช้ตัวตรวจวัดแบบ UV Spectrophotometer เนื่องจากสารทั้งสองมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 325 นาโนเมตร สำหรับแกมมาโอไรซานอล [17, 18] และ 450 นาโนเมตร สำหรับแคโรทีน [19, 20] ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงของสารทั้งสองนี้ค่อนข้างแตกต่างจากองค์ประกอบอื่นๆ ที่อยู่ในน้ำมันพืชบริโภค ดังนั้นถ้าใช้ตัวตรวจวัดชนิด UV Spectrophotometer ในการวิเคราะห์หาปริมาณของแกมมาโอไรซานอลและแคโรทีน น่าจะให้ผลการวิเคราะห์ดีกว่าการใช้ตัวตรวจวัดแบบ ELSD เพราะตัวตรวจวัดแบบ UV Spectrophotometer มีความจำเพาะต่อสารทั้งสองสูงกว่า และสามารถลดสัญญาณรบกวนที่เกิดจากสารชนิดอื่นๆ ที่อยู่ในน้ำมันพืชได้อีกทางหนึ่ง

ดังนั้นวิธี HPSEC ร่วมกับตัวตรวจวัดแบบ UV Spectrophotometer ก็น่าจะสามารถใช้วิเคราะห์หาปริมาณของแคโรทีนและแกมมาโอไรซานอลได้เช่นกัน ดังนั้นในงานวิจัยนี้ได้ใช้ HPSEC ร่วมกับตัวตรวจวัดแบบ ELSD และ UV Spectrophotometer ในการวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันอิสระและองค์ประกอบอื่นๆ ได้แก่ ไดกลีเซอไรด์ โมโนกลีเซอไรด์ แกมมาโอไรซานอล และแคโรทีน ในน้ำมันพืชบริโภคที่วางจำหน่ายในท้องตลาด

2. วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

2.1 สารเคมี

1. น้ำมันพืชบริโภคชนิดต่างๆ ได้แก่ น้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ 4 ยี่ห้อ น้ำมันถั่วเหลืองบริสุทธิ์ 3 ยี่ห้อ น้ำมันดอกทานตะวันบริสุทธิ์ 2 ยี่ห้อ และแบบหีบเย็น 1 ยี่ห้อ น้ำมันรำข้าวบริสุทธิ์ 4 ยี่ห้อ น้ำมันข้าวโพดบริสุทธิ์ 1 ยี่ห้อ น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ 1 ยี่ห้อ ซื้อจากห้างสรรพสินค้าในกรุงเทพฯ และน้ำมันปาล์มดิบจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม จังหวัดสุราษฎร์ธานี

2. โทลูอีนและกรดอะซิติก เป็นสารเคมีเกรดวิเคราะห์จากบริษัท แลปสแกน จำกัด ประเทศไทย

3. สารมาตรฐาน Tripalmitoyl glycerol, 1,2-dipalmitoyl glycerol, 1(3)-monopalmitoyl glycerol กรดปาล์มิติก และสาร β-แคโรทีน จากบริษัท ซิกมาเคมิคอล จำกัด เซนหลุยส์ ประเทศสหรัฐอเมริกา สารมาตรฐานแกมมาโอไรซานอลของบริษัทซูโน (Suno) ประเทศญี่ปุ่น และได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทน้ำมันบริโภคไทย

2.2 การเตรียมสารตัวอย่าง

สารตัวอย่างน้ำมันแต่ละชนิดเตรียมโดยละลายสารในโทลูอีนที่ความเข้มข้น 0.5 มก./มล. สำหรับการวิเคราะห์ไตร-ได- และโมโนกลีเซอไรด์ และความเข้มข้น 25 มก./มล. สำหรับการวิเคราะห์กรดไขมันอิสระ แกมมาโอไรซานอล และแคโรทีน

2.3 โครมาโตกราฟีของเหลวแรงดันสูงแบบแยกตามขนาด

เครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวแรงดันสูงแบบแยกตามขนาด (HPSEC) ประกอบด้วย six port injector

รุ่น 7125 ปริมาตรของ loop 20 ไมโครลิตร ของบริษัท Rheodyne Incorporated (ประเทศสหรัฐอเมริกา) ปั๊มรุ่น 510 ของบริษัท Water Associates (ประเทศสหรัฐอเมริกา) คอลัมน์แบบแยกตามขนาด Phenogel 100 Å (300 mm x 7.8 mm ID, 5 μm) ของบริษัท Phenomenex (ประเทศสหรัฐอเมริกา) ตัวตรวจวัดแบบ Evaporative Light Scattering รุ่น Sedex 55 ของบริษัท SEDERE (ประเทศฝรั่งเศส) อุณหภูมิของตัวตรวจวัด 30 °C ความดันของ Air คือ 2 บาร์ และตัวตรวจวัดแบบ UV Spectrophotometer รุ่น Eyela UV-7000 ของบริษัท Tokyo Rikakikai Co. Ltd ที่ความยาวคลื่น 325 นาโนเมตร ในการวิเคราะห์หาปริมาณแกมมาโอไรซานอล และความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ในการวิเคราะห์หาปริมาณแคโรทีน เก็บและประมวลผลข้อมูลจากตัวตรวจวัดทั้งสองด้วย CSW32 HPLC software จากบริษัท DataApex Ltd (ประเทศสาธารณรัฐเชค) วัฏภาคเคลื่อนที่คือ ร้อยละ 0.25 กรดอะซิติกในโทลูอีนที่มีอัตราการไหล 1 มล./นาที

3. ผลการทดลองและวิจารณ์

3.1 การวิเคราะห์หาปริมาณ ไตร- ได- และโมโนกลีเซอไรด์ในน้ำมันพืชบริโภคชนิดต่างๆ

โดยทั่วไปพืชจะสะสมน้ำมันอยู่ในรูปของไตรกลีเซอไรด์ ดังนั้นน้ำมันพืชบริโภคทั่วไปจะมีไตรกลีเซอไรด์เป็นองค์ประกอบหลักถึงร้อยละ 95-99 ตารางที่ 1 แสดงปริมาณไตร- ได- และโมโนกลีเซอไรด์ ของน้ำมันพืชชนิดต่างๆ ที่วิเคราะห์โดยใช้ HPSEC ต่อพ่วงกับตัวตรวจวัดแบบ ELSD โดยมีร้อยละ 0.25 กรดอะซิติกในโทลูอีนเป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ [16] จากผลในตารางที่ 1 จะเห็นได้ว่าน้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันดอกทานตะวัน น้ำมันมะพร้าว และน้ำมันปาล์มยี่ห้อหนึ่งมีไตรกลีเซอไรด์เป็นองค์ประกอบถึงร้อยละ 99 ซึ่งแสดงได้ว่าวัตถุดิบที่นำมาใช้ในการผลิตนั้นมีคุณภาพดีและกระบวนการผลิตได้มาตรฐาน ส่วนน้ำมันรำข้าวทุกยี่ห้อ น้ำมันปาล์มบางยี่ห้อ (3 ยี่ห้อ) และน้ำมันข้าวโพด นอกจากไตรกลีเซอไรด์ที่เป็นองค์ประกอบหลักแล้วยังพบไดกลีเซอไรด์ อยู่ประมาณร้อยละ 1.6-3.7 แต่ไม่พบโมโนกลีเซอไรด์เลย ปริมาณไดกลีเซอไรด์ที่พบนี้ ถือว่ามีความใกล้เคียงกัน ไดกลีเซอไรด์เป็นสารตัวกลางที่เกิดขึ้นระหว่างการเกิดปฏิกิริยาการไฮโดรไลซีสของไตรกลีเซอไรด์ไปเป็นผลผลิตสุดท้ายคือ กรดไขมันอิสระ

ไดกลีเซอไรด์ที่พบในน้ำมันพืชนี้น่าจะเกิดขึ้นเนื่องจากหลายปัจจัย เช่น การเก็บเกี่ยวผลผลิต การเก็บรักษาผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยว ขั้นตอนการสกัดน้ำมันจากเมล็ดพืช รวมถึงระยะเวลาก่อนนำน้ำมันดิบเข้าสู่กระบวนการทำน้ำมันให้บริสุทธิ์ รวมถึงโมโนกลีเซอไรด์ซึ่งเป็นสารตัวกลางของปฏิกิริยาการไฮโดรไลซีสเช่นเดียวกับไดกลีเซอไรด์ แต่ปริมาณของโมโนกลีเซอไรด์พบน้อยมากในน้ำมันพืชบริโภคบริสุทธิ์นี้ อาจเนื่องจากโมโนกลีเซอไรด์ที่มีอยู่ในน้ำมันดิบถูกกำจัดออกไปในขั้นตอนของการกำจัดกรดไขมันอิสระแบบเคมี คือละลายไปในชั้นน้ำที่ใช้ล้างสบู่ที่เกิดจากกรดไขมันอิสระ แม้ไตรกลีเซอไรด์ที่ถูกไฮโดรไลซ์หายไปนี้จะเกิดพร้อมกับกรดไขมันอิสระที่เพิ่มขึ้น และขึ้นกับระยะเวลาการเก็บรักษาวัตถุดิบ อุณหภูมิ และความชื้น แต่ไดกลีเซอไรด์นั้นจะถูกไฮโดรไลซ์ต่อไป ดังนั้นปริมาณที่สะสมจึงสูงขึ้นไม่มาก ผลเสียของการเก็บวัตถุดิบไว้นานนั้นตกแก่บริษัทผู้ผลิตมากกว่าผู้บริโภค นั่นคือน้ำมันบริสุทธิ์ที่ผลิตได้จะลดลง ส่วนคุณภาพน้ำมันบริสุทธิ์นั้นทางบริษัทยังสามารถรักษาให้เป็นไปตามมาตรฐานที่กำหนด ปริมาณไดกลีเซอไรด์ที่พบในน้ำมันบริโภคนั้น อาจจะถือเป็นผลดีต่อผู้บริโภคที่เฝ้าระวังด้านสุขภาพ โดยเฉพาะโรคอ้วน เนื่องจากร่างกายไม่สามารถดูดซึมโมเลกุลของไดกลีเซอไรด์เข้าสู่เซลล์โดยเฉพาะ 1,3-ไดกลีเซอไรด์ [8, 9]

ปริมาณไดกลีเซอไรด์ในน้ำมันปาล์มดิบนั้นไม่สูงไปกว่าน้ำมันที่ผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ นั่นคือกระบวนการทำน้ำมันให้บริสุทธิ์ที่ใช้ในประเทศนั้นไม่มีผลต่อการเพิ่มหรือลดปริมาณไดกลีเซอไรด์

ตารางที่ 1 ปริมาณของไตรกลีเซอไรด์ ไดกลีเซอไรด์ และโมโนกลีเซอไรด์ ในน้ำมันพืชบริโภคชนิดต่างๆ (ทำ 3 ซ้ำ)

ชนิดของน้ำมัน	องค์ประกอบในน้ำมันพืช (ร้อยละ)			ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)
	ไตรกลีเซอไรด์	ไดกลีเซอไรด์	โมโนกลีเซอไรด์	
น้ำมันรำข้าว				
ยี่ห้อ 1	95.6	3.4	nd	0.29
ยี่ห้อ 2	95.9	3.6	nd	0.15
ยี่ห้อ 3	96.3	2.8	nd	0.17
ยี่ห้อ 4	95.5	3.2	nd	0.08
น้ำมันปาล์ม				
น้ำมันปาล์มดิบ	91.0	2.9	nd	0.03
ยี่ห้อ 1	95.8	3.7	nd	0.13
ยี่ห้อ 2	99.4	nd	nd	0.01
ยี่ห้อ 3	95.9	3.6	nd	0.23
ยี่ห้อ 4	96.2	3.4	nd	0.31
น้ำมันถั่วเหลือง				
ยี่ห้อ 1	99.5	nd	nd	0.01
ยี่ห้อ 2	99.6	nd	nd	0.03
ยี่ห้อ 3	99.2	nd	nd	0.01
น้ำมันดอกทานตะวัน				
ยี่ห้อ 1	99.7	nd	nd	0.02
ยี่ห้อ 2	99.7	nd	nd	0.01
สกัดแบบหีบเย็น	98.8	nd	nd	0.015
น้ำมันข้าวโพด	98.0	1.6	nd	0.04
น้ำมันมะพร้าว	99.5	nd	nd	0.06

nd = not detected.

3.2 การหาปริมาณกรดไขมันอิสระในน้ำมันพืชบริโภคชนิดต่างๆ

ปริมาณของกรดไขมันอิสระในน้ำมันพืชบริโภคมีความสำคัญมาก เนื่องจากกรดไขมันอิสระจะถูกออกซิไดซ์ไปเป็นสารที่ทำให้เกิดกลิ่นเหม็นหืนในน้ำมันได้ง่ายกว่าไตรกลีเซอไรด์ ซึ่งไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค อีกทั้งยังทำให้รสของอาหารเปลี่ยนแปลงไป ดังนั้นในมาตรฐานของไทยจึงกำหนดให้น้ำมันที่ผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์แล้วจะต้องมีกรดไขมันอิสระได้ไม่เกินร้อยละ 0.6 หรือ 6,000 ppm น้ำมันพืชดิบจะมีปริมาณกรดไขมันอิสระค่อนข้างสูง เนื่องจากในขั้นตอนการสกัดน้ำมันส่วนใหญ่จะมีการทำลายเซลล์ของเมล็ดพืชที่นำมาทำการสกัดน้ำมัน เช่น การหีบเมล็ดปาล์ม หรือการสีข้าวเพื่อให้ได้รำข้าว เมื่อเซลล์ถูกทำลายก็จะมีความชื้นเข้าสู่เซลล์ทำให้เอมไซม์ไลเปสที่อยู่ในเซลล์ถูกกระตุ้นให้ทำงานเร็วขึ้น เอมไซม์ไลเปสจะไฮโดรไลซ์ไตรกลีเซอไรด์ไปเป็นกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอล โดยมีไดกลีเซอไรด์และโมโนกลีเซอไรด์เป็นสารตัวกลาง ปกติในกระบวนการทำน้ำมันดิบให้บริสุทธิ์จะมีขั้นตอนการกำจัดกรดไขมันอิสระ ทั้งวิธีทางกายภาพหรือทางเคมีซึ่งจะขึ้นกับชนิดของวัตถุดิบ [21-23]

จากผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณของกรดไขมันอิสระในน้ำมันปาล์มดิบกับน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์

ยี่ห้อต่างๆ ในตารางที่ 2 พบว่าน้ำมันปาล์มดิบมีปริมาณกรดไขมันอิสระสูงถึง 60,608 ppm ส่วนน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์จะมีปริมาณต่ำกว่าอยู่ในช่วง 3,962-6,326 ppm ซึ่งจะมีค่าแตกต่างกันขึ้นกับยี่ห้อ ผลที่ได้นี้แสดงให้เห็นว่ากรดไขมันอิสระส่วนใหญ่จะถูกกำจัดออกในกระบวนการทำน้ำมันให้บริสุทธิ์ และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดไขมันอิสระในน้ำมันบริสุทธิ์ชนิดต่างๆ พบว่าไม่แตกต่างกันมากคือจะอยู่ในช่วง 3,000-6,000 ppm ยกเว้นน้ำมันรำข้าว 1 ยี่ห้อ และน้ำมันดอกทานตะวัน 1 ยี่ห้อ จะมีปริมาณของกรดไขมันอิสระสูงกว่าน้ำมันพืชอื่นๆ คือ 8,092 และ 12,489 ppm ตามลำดับ น้ำมันดอกทานตะวันที่มีปริมาณกรดไขมันอิสระสูงกว่าน้ำมันดอกทานตะวันยี่ห้ออื่นมาก เนื่องจากน้ำมันดอกทานตะวันชนิดนี้เป็นน้ำมันที่ได้จากการสกัดน้ำมันโดยวิธีหีบเย็น (cold press) และไม่ผ่านกระบวนการทำน้ำมันให้บริสุทธิ์โดยเฉพาะขั้นตอนการกำจัดกรดไขมันอิสระซึ่งมาตรฐานไทยได้กำหนดให้มีได้ไม่เกินร้อยละ 4.0 หรือ 40,000 ppm ดังนั้นกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นในระหว่างการหีบน้ำมัน ไม่ได้ถูกกำจัดออก จึงทำให้น้ำมันชนิดนี้มีปริมาณกรดไขมันอิสระสูงกว่าน้ำมันชนิดอื่นๆ แต่สำหรับน้ำมันรำข้าวที่มีปริมาณกรดไขมันอิสระสูงกว่าค่ามาตรฐานมาก ทั้งๆ ที่เป็นน้ำมันบริโภคที่ผ่านขั้นตอนการผลิตเหมือนกับน้ำมันชนิดอื่นๆอาจจะเนื่องมาจากปัจจัยหลายประการ เช่นประสิทธิภาพของกระบวนการกำจัดกรดไขมันอิสระ อายุของน้ำมัน สภาวะของห้องที่ใช้ในการเก็บรักษาน้ำมันก่อนการจำหน่าย เช่น ความร้อน แสง และความชื้น ซึ่งเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญที่สุด รวมถึงคุณภาพของบรรจุภัณฑ์ [24]

ตารางที่ 2 ปริมาณของกรดไขมันอิสระในน้ำมันพืชบริโภคชนิดต่างๆ (ทำ 3 ซ้ำ)

ชนิดของน้ำมัน	ปริมาณกรดไขมันอิสระ (ppm)
น้ำมันปาล์ม	
น้ำมันปาล์มดิบ	60,608
ยี่ห้อ 1	4,577
ยี่ห้อ 2	6,326
ยี่ห้อ 3	4,566
ยี่ห้อ 4	3,962
น้ำมันรำข้าว	
ยี่ห้อ 1	8,092
ยี่ห้อ 2	4,350
ยี่ห้อ 3	5,267
ยี่ห้อ 4	4,602

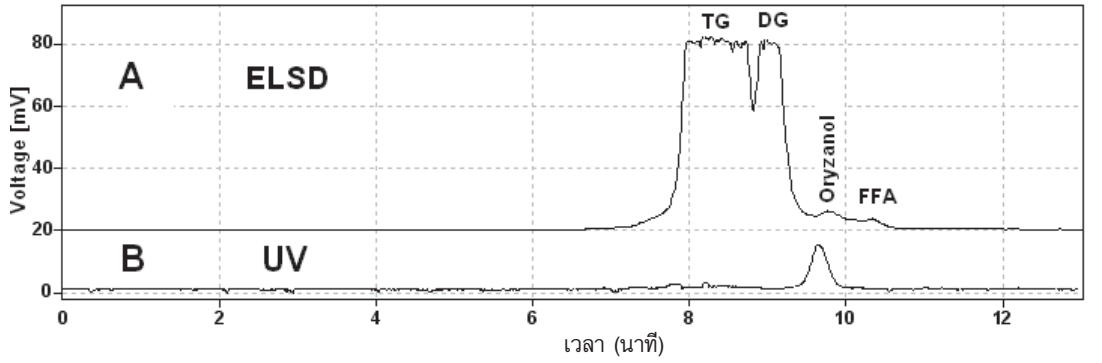
ชนิดของน้ำมัน	ปริมาณกรดไขมันอิสระ (ppm)
น้ำมันถั่วเหลือง	
ยี่ห้อ 1	4,457
ยี่ห้อ 2	3,641
ยี่ห้อ 3	7,736
น้ำมันดอกทานตะวัน	
ยี่ห้อ 1	3,176
ยี่ห้อ 2	3,103
ธรรมชาติ (สกัดแบบหีบเย็น)	12,489
น้ำมันข้าวโพด	3,723
น้ำมันมะพร้าว	4,841

3.3 การหาปริมาณแกมมาโอไรซานอลในน้ำมันรำข้าว และแคโรทีนในน้ำมันปาล์ม

แกมมาโอไรซานอลจัดเป็นสารที่มีคุณค่าทางโภชนาการค่อนข้างมาก ทั้งในด้านอาหาร เช่น เป็นสารป้องกันการเปลี่ยนสีในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีลักษณะเป็นอิมัลชัน เป็นสารแอนติออกซิแดนซ์ช่วยยืดอายุของอาหาร และทางยา คือ ช่วยลดปริมาณคอเลสเตอรอลในพลาสมา ลดการดูดซึมคอเลสเตอรอล และลดการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลในตับ รวมถึงช่วยลดการรวมตัวของเกล็ดเลือด แกมมาโอไรซานอลจะพบเฉพาะในน้ำมันรำข้าว ซึ่งมีสูงถึงร้อยละ 2 หรือ 20,000 ppm ในน้ำมันรำข้าวดิบ [6, 25] จากการศึกษาของ Krishna และคณะ [24] พบว่าโอไรซานอลจะถูกกำจัดออกในระหว่างขั้นตอนการทำน้ำมันให้บริสุทธิ์ โดยเฉพาะขั้นตอนของการกำจัดกรดไขมันอิสระ

ปริมาณที่ถูกกำจัดคิดเป็นร้อยละ 93-94.6 ของปริมาณแกมมาโอไรซานอลที่มีในน้ำมันดิบ เพราะฉะนั้นน้ำมันรำข้าวบริสุทธิ์ที่ได้จึงมีปริมาณแกมมาโอไรซานอลต่ำกว่าในน้ำมันดิบมาก และจากคุณสมบัติของแกมมาโอไรซานอลที่กล่าวมาข้างต้น รวมถึงการสูญเสียแกมมาโอไรซานอลในกระบวนการทำบริสุทธิ์ จึงทำให้หลายบริษัทได้หันมาผลิตแกมมาโอไรซานอล ทั้งแบบบริสุทธิ์บรรจุแคปซูล หรือผลิตน้ำมันรำข้าวบริโภคที่มีปริมาณแกมมาโอไรซานอลสูง ซึ่งมีการจำหน่ายในราคาที่สูงกว่าน้ำมันรำข้าวปกติหลายเท่าตัว

สำหรับงานทดลองนี้ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณแกมมาโอไรซานอลในน้ำมันรำข้าวยี่ห้อต่างๆ โดยใช้ HPSEC ร่วมกับตัวตรวจวัดแบบ UV spectrophotometer ซึ่งเป็นวิธีที่ดัดแปลงมาจากวิธีของ Kittiratanapiboon และ Krisnangkura [16] พบว่าเมื่อใช้ UV spectrophotometer เป็นตัวตรวจวัดแทน ELSD จะให้ผลการวิเคราะห์ที่ดีกว่า ดังรูปที่ 1 เนื่องจากสารตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณแกมมาโอไรซานอลมีความเข้มข้นสูงถึง 25 มก./มล. ดังนั้นถ้าใช้ ELSD เป็นตัวตรวจวัด ทำให้การแยกระหว่างพีคของแกมมาโอไรซานอลกับไดกลีเซอไรด์และกรดไขมันอิสระถึงเส้นฐานทำได้ยาก ซึ่งมีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณของแกมมาโอไรซานอล แต่เมื่อใช้ UV spectrophotometer เป็นตัวตรวจวัดก็จะสามารถแก้ปัญหาข้างต้นได้ เนื่องจากกรดไขมันอิสระจะไม่ดูดกลืนแสงหรือดูดกลืนแสงน้อยมากที่ความยาวคลื่น 325 นาโนเมตร ซึ่งเป็นช่วงคลื่นความยาวที่ใช้วัดหาปริมาณแกมมาโอไรซานอลในงานทดลองนี้



รูปที่ 1 โครมาโตแกรมของน้ำมันรำข้าวยี่ห้อ 4 ที่วิเคราะห์ด้วยโครมาโตกราฟีแรงดันสูงแบบแยกตามขนาด และมีร้อยละ 0.25 กรดอะซิติกในโทลูอีนเป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ โดยใช้ตัวตรวจวัดแบบ
(A) Evaporative Light Scattering Detector (ELSD)
(B) UV Spectrophotometer Detector (UV)

ตารางที่ 3 แสดงปริมาณของแกมมาโอไรซานอลในน้ำมันรำข้าว 4 ชนิด คือ น้ำมันรำข้าวแบบปกติ ได้แก่ ยี่ห้อที่ 1 และยี่ห้อที่ 2 และน้ำมันรำข้าวแบบมีแกมมาโอไรซานอลสูง ได้แก่ ยี่ห้อที่ 3 และยี่ห้อที่ 4 พบว่าปริมาณแกมมาโอไรซานอลที่เหลืออยู่ในน้ำมันรำข้าวยี่ห้อที่ 1 และยี่ห้อที่ 2 แตกต่างกันคือ 1,543 และ 300 ppm ตามลำดับ หรือคิดเป็นปริมาณแกมมาโอไรซานอลเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 77.15 และ 15 ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากขั้นการทำบริสุทธิ์ของแต่ละโรงงานมีความแตกต่างกัน โดยเฉพาะขั้นตอนการกำจัดกรดไขมันอิสระซึ่งเป็นขั้นตอนที่มีการสูญเสียโอไรซานอลมากที่สุด [24] และจากการวิเคราะห์หาปริมาณโอไรซานอลในน้ำมันรำข้าวที่มีโอไรซานอลสูงสองยี่ห้อพบว่า น้ำมันรำข้าวยี่ห้อที่ 3 จะมีปริมาณต่ำกว่าปริมาณที่ระบุบข้างขวดที่ระบุว่ามีปริมาณโอไรซานอลเท่ากับ 4,000 ppm แต่ที่วิเคราะห์ได้จากการทดลองนี้เท่ากับ 3,289 ppm ส่วนยี่ห้อที่ 4 ระบุว่ามีปริมาณเท่ากับ 5,000 ppm แต่ที่วิเคราะห์ได้คือ 8,260 ppm ซึ่งสูงกว่าปริมาณที่ระบุไว้มาก

ตารางที่ 3 ปริมาณแกมมาโอไรซานอลในน้ำมันรำข้าวยี่ห้อต่างๆ (ทำ 3 ซ้ำ)

น้ำมันรำข้าว	ปริมาณแกมมาโอไรซานอล (ppm)
ยี่ห้อ 1	1,543
ยี่ห้อ 2	300
ยี่ห้อ 3	3,289
ยี่ห้อ 4	8,260

ปาล์มน้ำมันเป็นพืชน้ำมันที่พบแคโรทีนมากที่สุด ปริมาณแคโรทีนที่พบในน้ำมันปาล์มดิบจะมีตั้งแต่ 500-1,600 ppm สารแคโรทีนส่วนใหญ่จะถูกทำลายในกระบวนการทำน้ำมันให้บริสุทธิ์โดยเฉพาะความร้อน ดังนั้นในน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์จะมีปริมาณแคโรทีนต่ำกว่าในน้ำมันดิบ [25] น้ำมันปาล์มที่นำมาใช้วิเคราะห์ประกอบด้วยน้ำมันปาล์มดิบและน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ยี่ห้อต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 4 ซึ่งพบว่าปริมาณแคโรทีนในน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์จะน้อยกว่า 100 ppm ส่วนน้ำมันปาล์มดิบจะมีปริมาณแคโรทีนสูงกว่าคือประมาณ 700 ppm

ตารางที่ 4 ปริมาณแคโรทีนในน้ำมันปาล์มยี่ห้อต่างๆ (ทำ 3 ซ้ำ)

น้ำมันปาล์ม	ปริมาณแคโรทีน (ppm)
น้ำมันปาล์มดิบ	707
ยี่ห้อ 1	< 100
ยี่ห้อ 2	< 100
ยี่ห้อ 3	< 100
ยี่ห้อ 4	< 100

4. สรุปผลการทดลอง

การวิเคราะห์หาองค์ประกอบในน้ำมันพืชบริโภคสามารถทำได้โดยใช้วิธี HPSEC ต่อพ่วงกับตัวตรวจวัดแบบ ELSD เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณไตรกลีเซอไรด์ ไดกลีเซอไรด์ โมโนกลีเซอไรด์ และกรดไขมันอิสระ ส่วนการหาปริมาณแกมมาโอไรซานอลในน้ำมันรำข้าวและปริมาณแคโรทีนในน้ำมันปาล์มจะใช้ตัวตรวจวัดแบบ UV spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 325 นาโนเมตร และ 450 นาโนเมตร ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์พบว่าน้ำมันพืชบริโภคส่วนใหญ่มีปริมาณไตรกลีเซอไรด์ ไดกลีเซอไรด์ และกรดไขมันอิสระ ใกล้เคียงกัน ยกเว้นน้ำมันดอกทานตะวันชนิดหีบเย็น และน้ำมันปาล์มดิบจะมีปริมาณกรดไขมันอิสระสูงกว่าน้ำมันชนิดอื่น ปริมาณแกมมาโอไรซานอลจะมีความแตกต่างกันในแต่ละยี่ห้อ และปริมาณแคโรทีนส่วนใหญ่จะถูกทำลายโดยความร้อนที่ใช้ในกระบวนการทำน้ำมันให้บริสุทธิ์

5. เอกสารอ้างอิง

1. Giacomelli, L.M., Mattea, M., and Ceballos, C.D., 2006, “Analysis and Characterization of Edible Oils by Chemometric Methods”, *Journal of the American Oil Chemists’ Society*, Vol. 83, pp. 303-308.

2. Cert, A., Moreda, W., and Pérez-Camino, M.C., 2000, “Chromatographic Analysis of Minor Constituents in Vegetable Oils”, *Journal of Chromatography A*, Vol. 881, pp. 131-148.

3. Al-Alawi. A., van de Voort, F.R., and Sedman, J. , 2004, “New FTIR Method for the Determination of FFA in Oils”, *Journal of American Oil Chemists’ Society*, Vol. 81, pp. 441-445.

4. Murakoshi, M., Nishino, H., Satomi, Y., Takayasu, J., Hasegawa, T., Tokuda, H., Iwashima, A., Okuzumi, J., Okabe, H., Kitano, H., and Iwasaki, R., 1992, “Potent Preventive Action of ∝-Carotene against Carcinogenesis: Spontaneous Liver Carcinogenesis and Promoting Stage of Lung and Skin Carcinogenesis in Mice are Suppressed More Effectively by an ∝-Carotene than β-Carotene”, *Cancer Research*, Vol. 52, pp. 6583-6587.

5. Ooi, C.K., Choo, Y.M., Yap, S.C., Basiron, Y., and Ong, A.S.H., 1994, “Recovery of Carotenoids from Palm Oil”, *Journal of American Oil Chemists' Society*, Vol. 71, pp. 423-426.

6. Wilsona, T.A., Nicolosia, R.J., Woolfreya, B., and Kritchevsky, D., 2007, “Rice Bran Oil and Oryzanol Reduce Plasma Lipid and Lipoprotein Cholesterol Concentrations and Aortic Cholesterol

Ester Accumulation to a Greater Extent than Ferulic Acid in Hypercholesterolemic HamstersB", *Journal of Nutritional Biochemistry*, Vol. 18, pp. 105-112.

7. Juliano, C., Cossu, M., Alamanni, M.C., and Piu, L, 2005, "Antioxidant Activity of Gamma-oryzanol: Mechanism of Action and Its Effect on Oxidative Stability of Pharmaceutical Oils", *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 229, pp. 146-154.

8. Flickingera, B.D. and Matsuob, N, 2003, "Nutritional Characteristics of DAG Oil", *Lipids*, Vol. 38, pp. 129-132.

9. Maki, K.C., Davidson, M.H., Tsushima, R., Matsuo, N., Tokimitsu, I., Umporowicz, D.M., Dicklin, M.R., Foster, G.S., Ingram, K.A., Anderson, B.D., et al., , 2002, "Consumption of Diacylglycerol Oil as Part of a Reduced-Energy Diet Enhances Loss of Body Weight and Fat in Comparison with Consumption of a Triacylglycerol Control Oil", *American Journal Clinical Nutrition*, Vol. 76, pp. 1230-1236.

10. Firestone, D., 1989, Official Methods & Re Commended Practices of the American Oil Chemists' Society, Ca 5a-40, American Chemists' Society, Champaign, IL, USA.

11. Krishna, A.G.G., Hemakumar, K.H., and Khatoon, S., 2006, "Acidity of Oryzanol and Its Contribution to Free Fatty Acids Value in Vegetable Oils", *Journal of the American Oil Chemists' Society*, Vol. 83, pp. 999-1005.

12. Al-Alawi, A., Voort, F.R. van de, Sedman, J. and Ghetler, A., 2006, "Automated FTIR Analysis of Free Fatty Acids or Moisture in Edible Oils", *Journal of the Association for Laboratory Automation,* Vol. 11, pp. 23-29.

13. Armenta, S., Garrigues, S., and Guardia, M. de la, 2007, "Determination of Edible Oil Parameters by Near Infrared Spectrometry", *Analytica Chimica Acta*, Vol. 596, pp. 330-337.

14. Wan, P.J., Dowd, M.K., Thomas, A.E., and Butler, B.H., 2007, "Trimethylsilyl Derivatization/Gas Chromatography as a Method to Determine the Free Fatty Acid Content of Vegetable Oils", *Journal of the American Oil Chemists' Society*, Vol. 84, pp. 701-708.

15. Kadam, M. and Bhowmick, D.N., 2006, "HPLC Analysis of Rice Bran Oil", *Journal of Food Lipids*, Vol. 13, pp. 354-361.

16. Kittiratanapiboon, K. and Krisnangkura, K., 2008, "Separation of Acylglycerols, FAMEs and FFA in a Biodiesel Reactor", *European Journal of Lipid Science and Technology*, Vol. 110, pp. 422-427.

17. Rogers, E.J., Rice S.M., Nicolosi, R.J., Carpenter, D.R., McClelland, C.A., and Romanczyk, L.J., 1993, "Identification and Quantitation of γ-Oryzanol Components and Simultaneous Assessment of Tocols in Rice Bran Oil", *Journal of the American Oil Chemists' Society*, Vol. 70, pp. 301-307.

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

19. Baharina, B.S., Abdul Rahmana, K., Abdul Karima, M.I., Oyaizub, T., Tanakab, K., Tanakab, Y., and Takagic, S., 1998, "Separation of Palm Carotene from Crude Palm Oil by Adsorption Chromatography with a Synthetic Polymer Adsorbent", *Journal of the American Oil Chemists' Society*, Vol. 75, pp. 399-404.

20. Subramaniana, R., Nabetania, H., Nakajimaa, M., Ichikawad, S., Kimurac, T., and Maekawac, T., 2001, "Rejection of Carotenoids in Oil Systems by a Nonporous Polymeric Composite Membrane", *Journal of the American Oil Chemists' Society,* Vol. 78, pp. 803-807.

21. Lam, H.S. and Proctor, A., 2004, "Hydrolysis of Acylglycerols and Phospholipids of Milled Rice Surface Lipids during Storage", *Journal of the American Oil Chemists' Society*, Vol. 81, pp. 385-388.

22. Mohankumar, C., Arumughan, C., and Kaleysa raj, R., 1990, "Histological Localization of Oil Palm Fruit Lipase", *Journal of the American Oil Chemists' Society,* Vol. 67, pp. 665-669.

23. Nkpa', N.N., Osanu, F.C., and Arowolo, T.J., 1990, "Effect of Packaging Materials on Storage Stability of Crude Palm Oil", *Journal of the American Oil Chemists' Society*, Vol. 67, pp. 259-263.

24. 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*, Vol. 78, pp. 127-131.

25. Goh, S.H., Choo, Y.M., and Ong, S.H., 1985, "Minor Constituents of Plam Oil", *Journal of the American Oil Chemists' Society,* Vol. 62, pp. 237-240.