บทที่ 3

ผลการทดลอง

3.1 การแยกกรดไขมันจากน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดโดยการย่อยสลายด้วยสารละลายเบส

การแยกกรดไขมันจากน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดโดยการใช้สารละลายเบส เป็นการแยกกรดไขมันที่ค่อนข้างสมบูรณ์ โดยนำไขมันมาทำปฏิกิริยากับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นสูงๆ ซึ่งในการย่อยสลายด้วยสารละลายเบสเป็นการย่อยที่ไม่จำเพาะต่อตำแหน่งของกรดไขมันในไตรกลีเซอไรด์หรือมีความจำเพาะต่อกรดไขมันแต่ละชนิด ดังนั้นในการย่อยด้วยสารละลายเบส จึงสามารถใช้เป็นตัวเปรียบเทียบความสามารถในการย่อยสลายของเอนไซม์ไลเปสได้

ในการทดลองได้ย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 20% และนำกรดไขมันที่ได้จากการย่อยสลายไปเตรียมเป็นเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน เพื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีกาซ และคำนวณหาปริมาณของกรดไขมันแต่ละชนิดที่ถูกย่อยออกมาเทียบกับกรดไขมันผสมมาตรฐาน โดยเปรียบเทียบพื้นที่ใต้พีกของกรดไขมันแต่ละชนิดระหว่างสารตัวอย่างกับสารมาตรฐานเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน โดยฉีดวิเคราะห์เมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันมาตรฐาน 0.2 ไมโครลิตร และใช้คอลัมน์ชนิดคาร์บอแวกซ์ ความยาว 50 เมตร ได้ผลการฉีดวิเคราะห์กรดไขมันผสมมาตรฐานดังแสดงในตารางที่ 3.1

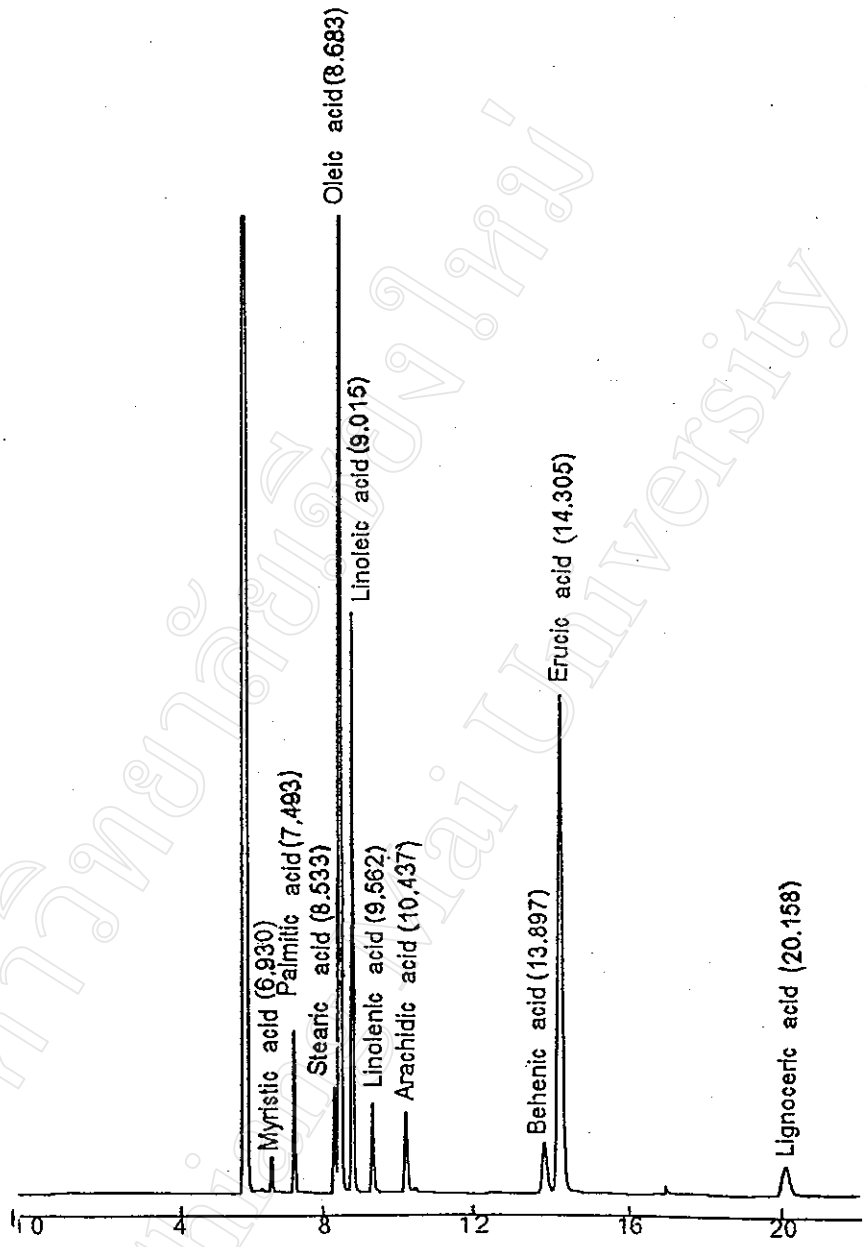
จากโครมาโทแกรมในรูปที่ 3.1 และข้อมูลในตารางที่ 3.1 แสดงเวลารีเทนชันและพื้นที่ใต้พีกของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันมาตรฐาน เห็นว่าลำดับของเวลารีเทนชันเรียงจากน้อยไปหามากดังนี้ กรดไมริสติค(myristic acid) < กรดปาล์มิติค (palmitic acid) < กรดสเตียริค (stearic acid) < กรดโอเลอิค (oleic acid) < กรดลิโนเลอิค (linoleic aicd) < กรดลิโนเลนิค (linolenic acid) < กรดอะราชิดิค (arachidic acid) < กรดไอโคซิโนอิค(eicosenoic acid) < กรดเบเฮนิค (behenic acid) < กรดอีรูซิค (erucic acid) < กรดลิกโนเซอริค (lignoceric acid)

จากข้อมูลการวิเคราะห์สารละลายเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันมาตรฐานในตารางที่ 3.1 สามารถนำไปหาปริมาณของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันแต่ละชนิดที่อยู่ในสารละลายเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันในสารตัวอย่าง โดยใช้สภาวะในการวิเคราะห์เพื่อหาองค์ประกอบโดยวิธีโครมาโทกราฟีกาซเช่นเดียวกับการวิเคราะห์หาปริมาณของกรดไขมันผสมมาตรฐาน เมื่อ

คำนวณเป็นความเข้มข้นของกรดไขมันพบว่าจะได้ผลใกล้เคียงความเข้มข้นของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่เตรียม

ตารางที่ 3.1 แสดงเวลารีเทนชันและพื้นที่ใต้พีกของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันผสมมาตรฐาน

พีกที่ 1	เมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน	เวลารีเทนชัน (นาที)	ความเข้มข้นของเมธิลเอสเทอร์ (มก./มล.)	ความเข้มข้นของกรดไขมัน (มก./มล.)	พื้นที่ใต้พีก
1	กรดไมริสติค	6.9300	0.2	0.18	229
2	กรดปาล์มิติค	7.4930	0.8	0.75	1083
3	กรดสเตียริค	8.5330	0.6	0.57	847
4	กรดโอเลอิค	8.6830	9.0	8.57	15896
5	กรดลิโนเลอิค	9.0150	3.0	2.86	4834
6	กรดลิโนเลนิค	9.5620	0.6	0.57	793
7	กรดอะราชิดิค	10.4370	0.6	0.57	885
8	กรดไอโคซิโนอิค	10.6900	6.0	5.83	11552
9	กรดเบเฮนิค	13.8970	0.6	0.57	873
10	กรดอีรูซิค	14.3050	4.0	3.84	7979
11	กรดลิกโนเซอริค	20.1580	0.6	0.57	781



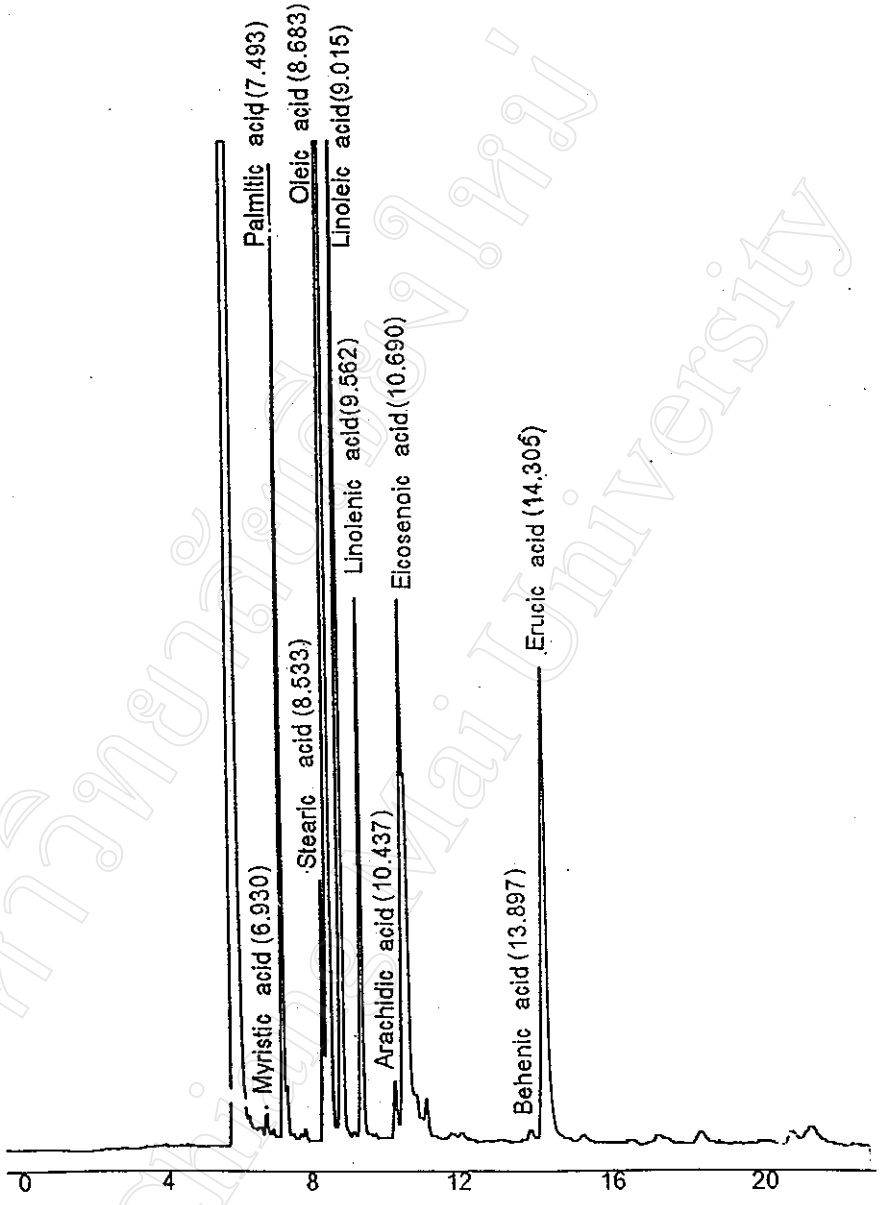
รูปที่ 3.1 **โครมาโทแกรมของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันผสมมาตรฐาน เมื่อวิเคราะห์สารละลายเมธิลเอสเทอร์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีกาซ** GC-14A **โดยใช้คอลัมน์คาร์บอแวกซ์และฉีดวิเคราะห์สารปริมาตร** 0.2 **ไมโครลิตรภายใต้สภาวะที่อุณหภูมิของคอลัมน์** 220 °C **อุณหภูมิอินเจคเตอร์** 250 °C **และอุณหภูมิของดีเทคเตอร์** 280 °C

3.1.1 ผลของช่วงเวลาในการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยสารละลายเบส

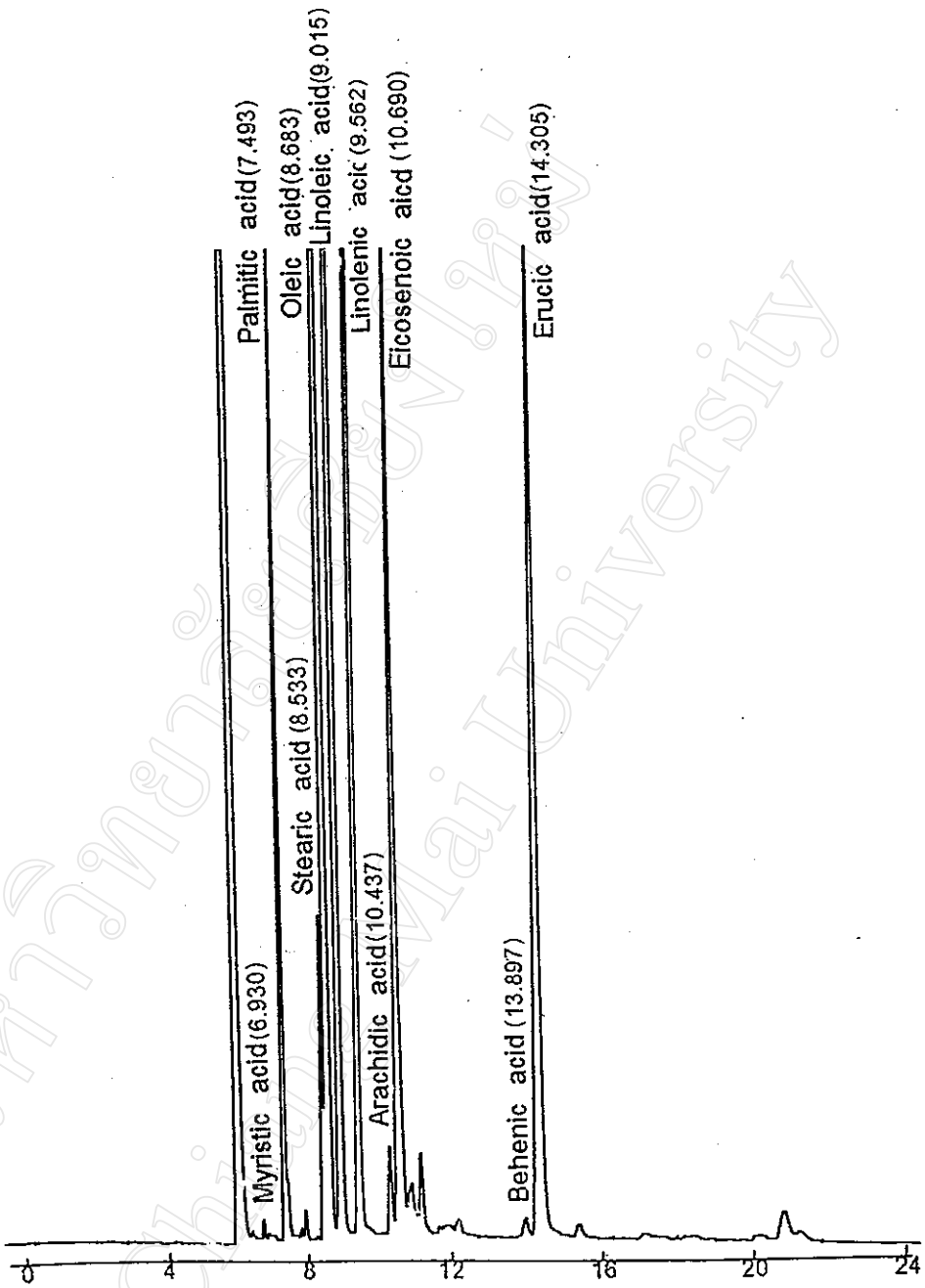
จากการทดลองศึกษาผลของช่วงเวลาที่ใช้ในการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดเพื่อให้ได้กรดไขมันออกมาในปริมาณมากที่สุด โดยทำปฏิกิริยากับโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 20 % และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสพร้อมกวนตลอดเวลา และทำการย่อยสลายเป็นเวลานานต่างกันคือ 30 60 และ 90 นาทีตามลำดับ จากนั้นนำกรดไขมันที่ได้ไปเตรียมเป็นเมธิลเอสเทอร์โดยวิธีเมธิลเลชัน และนำสารละลายเมธิลเอสเทอร์ที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีกาซ GC-14A เพื่อหาปริมาณของกรดไขมันแต่ละชนิดที่ถูกย่อยด้วยสารละลายเบสได้ผลในรูปที่ 3.2 แสดงโครมาโทแกรมของสารละลายเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ย่อยด้วยสารละลายเบส

จากการวิเคราะห์สารละลายเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ย่อยสลายด้วยสารละลายเบสในช่วงเวลาต่างกัน เมื่อคำนวณหาปริมาณโดยเทียบกับพื้นที่ใต้พีกและเวลารีเทนชันของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันผสมมาตรฐานพบว่า การหาชนิดและปริมาณของกรดไขมันบางตัวที่มีสารมาตรฐานเป็นองค์ประกอบในน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ด สามารถคำนวณหาปริมาณของกรดไขมันที่ถูกย่อยสลายด้วยสารละลายเบส และวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีกาซได้ผลดังแสดงในตารางที่ 3.2 และจากการวิเคราะห์หาปริมาณของกรดไขมันอิสระทั้งหมดที่ได้จากการย่อยสลายด้วยสารละลายเบส โดยการไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ละลายในเอธานอลเข้มข้น 0.5376 โมลาร์ และคำนวณหาปริมาณของกรดไขมันทั้งหมด พบปริมาณของกรดไขมันอิสระจากการย่อยสลายด้วยสารละลายเบสสามารถวิเคราะห์ด้วยวิธีการไทเทรต มีค่าเท่ากับ 20.58 , 45.96 และ 33.87% โดยน้ำหนักของน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ด เมื่อย่อยสลายที่เวลา 30, 60 และ 90 นาทีตามลำดับ ซึ่งคำนวณโดยประมาณมวลโมเลกุลของกรดไขมันเท่ากับโมเลกุลของกรดโอเลอิค

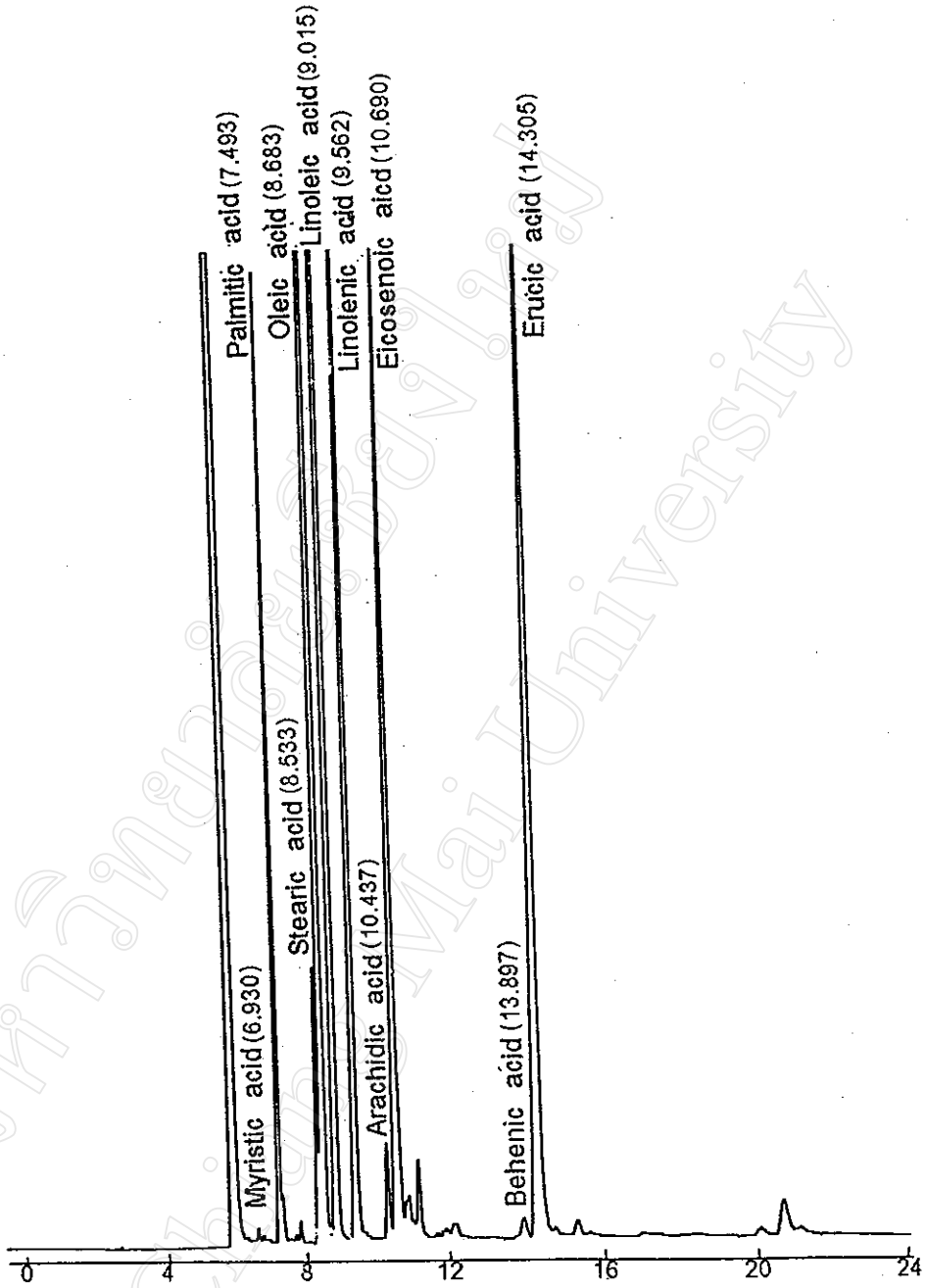
จากการทดลองพบว่ากรดไขมันที่ถูกย่อยด้วยสารละลายเบสที่เวลา 60 นาทีพบว่าได้กรดไขมันออกมามากที่สุดเมื่อวิเคราะห์ด้วยการไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ พบว่ามีปริมาณเท่ากับ 45.96% และเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีกาซ พบปริมาณของกรดไขมันรวมทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้มีเท่ากับ 44.08% โดยน้ำหนักของน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดตามลำดับ และเมื่อเทียบกับที่เวลาอื่น พบว่าที่เวลา 60 นาทีเป็นเวลาที่เหมาะสมที่กรดไขมันจากน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดจะถูกย่อยได้เกือบสมบูรณ์ภายใต้สภาวะที่ทำการทดลอง และที่เวลา 30 นาที



รูปที่ 3.2 แสดงโครมาโทแกรมของสารละลายเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ได้จากการ ย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยสารละลายเบสเป็นเวลา 30 นาทีและวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีกาซ GC-14A โดยใช้คอลัมน์คาร์บอแวกซ์แล ปริมาณที่ใช้วิเคราะห์ 0.5 ไมโครลิตรภายใต้สภาวะที่อุณหภูมิของคอลัมน์ 220 °C อุณหภูมิอินเจคเตอร์ 250 °C และอุณหภูมิของดีเทคเตอร์ 280 °C



รูปที่ 3.2(ต่อ) **แสดงโครมาโทแกรมของสารละลายเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ได้จากการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยสารละลายเบสเป็นเวลาเวลา** 60 **นาทีและวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีกาซ** GC-14A **โดยใช้คอลัมน์คาร์บอแวกซ์และปริมาณที่ใช้วิเคราะห์** 0.5 **ไมโครลิตรภายใต้สภาวะที่อุณหภูมิของคอลัมน์** 220 °C **อุณหภูมิอินเจคเตอร์** 250 °C **และอุณหภูมิของดีเทคเตอร์** 280 °C



รูปที่ 3.2(ต่อ) แสดงโครมาโทแกรมของสารละลายเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ได้จากการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยสารละลายเบสเป็นเวลาเวลา 90 นาทีและวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีกาซ GC-14A โดยใช้คอลัมน์คาร์บอแวกซ์ และปริมาณที่ใช้วิเคราะห์ 0.5 ไมโครลิตรภายใต้สภาวะที่อุณหภูมิของคอลัมน์ 220 °C อุณหภูมิอินเจคเตอร์ 250 °C และอุณหภูมิของดีเทคเตอร์ 280 °C

พบว่ากรดไขมันถูกย่อยออกมาในปริมาณที่น้อยกว่าที่เวลาอื่น เนื่องจากเวลาสั้นเกินไปในการย่อยกรดไขมัน ทำให้ได้กรดไขมันน้อยกว่าปกติ

ตารางที่ 3.2 แสดงปริมาณของกรดไขมันที่ได้จากการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยสารละลายเบสโดยใช้เวลาในการย่อยสลายต่าง ๆกัน

กรดไขมัน	% ปริมาณของกรดไขมันอิสระที่ย่อยสลายออกมาในช่วงเวลาต่างกัน (นาที)					
	30 นาที		60 นาที		90 นาที	
	เทียบกับปริมาณของไขมัน	เทียบกับปริมาณของกรดไขมันทั้งหมด	เทียบกับปริมาณของไขมัน	เทียบกับปริมาของกรดไขมันทั้งหมด	เทียบกับปริมาณของไขมัน	เทียบกับปริมาณของกรดไขมันทั้งหมด
กรดไมริสติค	0.07	0.38	0.03	0.08	0.03	0.08
กรดปาล์มิติค	1.71	9.31	2.23	5.19	1.55	4.93
กรดสเตียริค	0.56	3.04	0.66	1.50	0.52	1.66
กรดโอเลอิค	7.68	41.82	13.68	31.01	9.06	28.88
กรดลิโนเลอิค	2.92	15.90	13.50	30.60	8.83	28.15
กรดลิโนเลนิค	1.35	7.36	7.85	17.78	5.51	17.57
กรดอะราซิดิค	0.18	0.97	0.24	5.78	0.23	0.74
กรดไอโคซิโดอิค	2.28	12.41	2.79	6.32	2.57	8.21
กรดเบเฮนิค	0.04	0.23	0.05	0.13	0.02	0.07
กรดอีรูซิค	1.57	8.57	3.02	6.85	3.05	9.71
กรดไขมันทั้งหมด	18.37	-	44.08	-	31.38	-

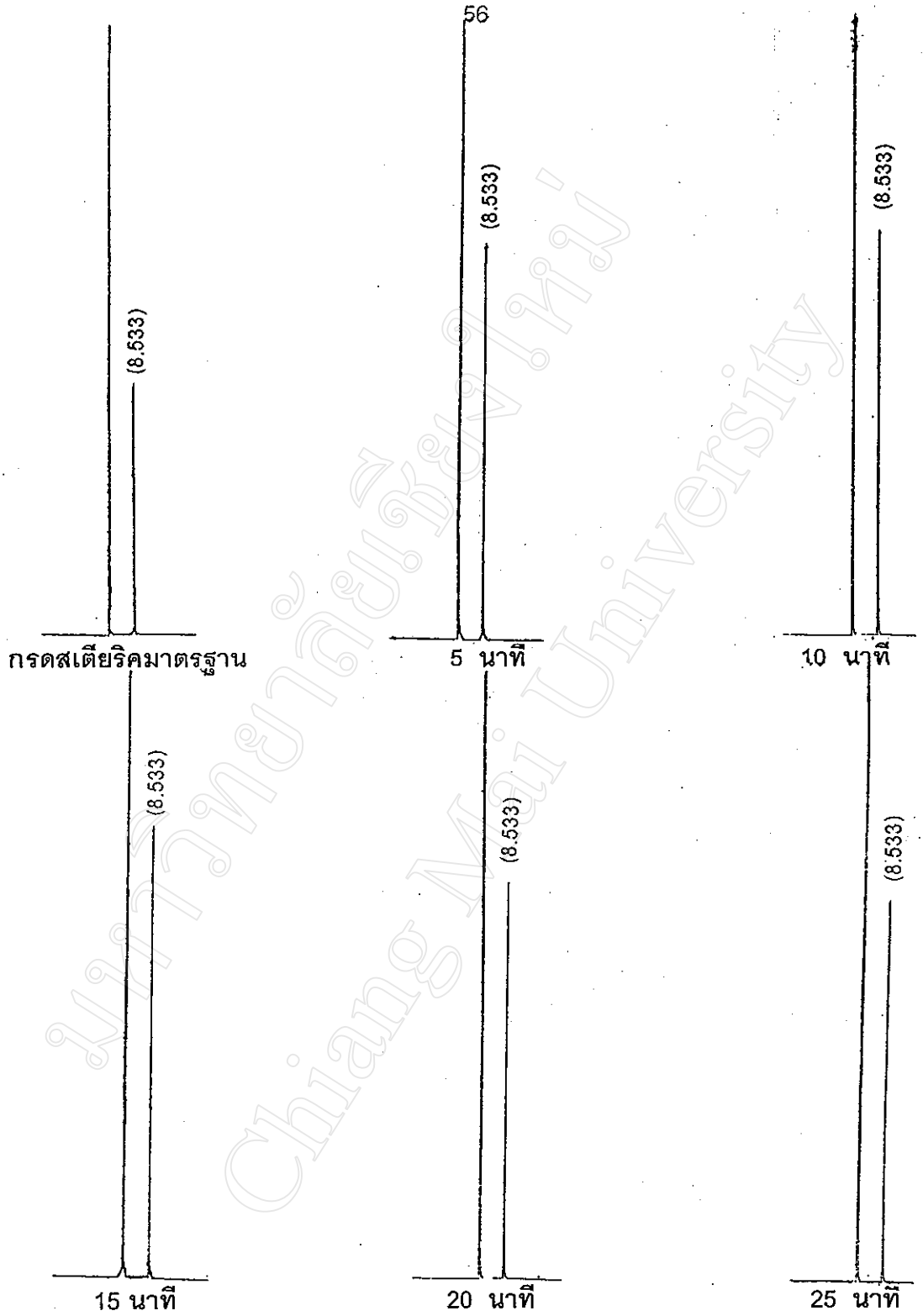
3.1.2 ผลของช่วงเวลาในการเกิดปฏิกิริยาเมธิลเลชั่นกรดไขมัน

การศึกษาขั้นตอนการเตรียมอนุพันธุ์ของกรดไขมันโดยเปลี่ยนกรดไขมันให้อยู่ในรูปของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน โดยใช้กระบวนการเมธิลเลชัน เพื่อหาช่วงเวลาในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างกรดไขมันสเตียริคกับเมธานอลโดยมีสารละลายโบรอนไตรฟลูออไรด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา โดยนำกรดสเตียริค 0.10 กรัมมาละลายด้วยเมธานอล และเติมสารละลายโบรอนไตรฟลูออไรด์ และให้ความร้อนโดยใช้หม้อต้มความร้อน แล้วสกัดด้วยเฮกเซน ได้สารละลายเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีกาซ จากการศึกษาถึงระยะเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาระหว่างกรดไขมันกับเมธานอล โดยมีสารละลายโบรอนไตรฟลูออไรด์เป็นตัวเร่ง เพื่อหาเวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาได้สมบูรณ์ เพื่อป้องกันการสูญหายของกรดไขมัน อันเนื่องมาจากกขั้นตอนการเตรียมอนุพันธุ์ รูปที่ 3.3 แสดงโครมาโทแกรมของเมธิลเอสเทอร์ของกรดสเตียริคที่เวลาในการเกิดปฏิกิริยาต่างกัน

จากโครมาโทแกรมในรูป 3.3 สามารถคำนวณหาเปอร์เซนต์ของผลิตภัณฑ์ที่ได้กลับคืนมา (% recovery) โดยคำนวณจากพื้นที่ใต้พีกของเมธิลเอสเทอร์ของกรดสเตียริคในสารตัวอย่างเทียบกับเมธิลเอสเทอร์ของกรดสเตียริคมาตรฐาน โดยเมธิลเอสเทอร์ของกรดสเตียริคมีค่ารีเทนชันเท่ากับ 8.533 ตารางที่ 3.3 แสดง % recovery ของกรดสเตียริคเพื่อหาเวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาในกระบวนการเมธิลเลชั่น

ตารางที่ 3.3 แสดง % recovery ของกรดสเตียริคในกระบวนการเมธิลเลชั่นเพื่อหาเวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา

เวลาในการเกิดปฏิกิริยา	% recovery
5	74
10	75
15	94
20	72
25	70



รูปที่ 3.3 แสดงโครมาโทแกรมของเมธิลเอสเทอร์ของกรดสเตียริคมาตรฐานและในสารตัว อย่างเมื่อทำการฉีดวิเคราะห์สาร 0.3 และ 0.5 ไมโครลิตรตามลำดับซึ่งได้จากการทำปฏิกิริยาที่เวลาต่างกัน โดยวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีกาซ GC-14A คอลัมน์คาร์บอแวกซ์ ภายใต้สภาวะอุณหภูมิของคอลัมน์ 220 °C อุณหภูมิของอินเจคเตอร์ 250 °C และอุณหภูมิของดีเทคเตอร์ 280 °C

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

จากการทดลองพบว่า ช่วงเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างเมธานอลกับกรดไขมัน สเตียริคโดยมีสารละลายโบรอนไตรฟลูออไรด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา พบว่าช่วงเวลาทำปฏิกิริยาที่เหมาะสมที่สุดคือ 15 นาที โดยมี % recovery สูงถึง 94 % แสดงว่าที่เวลานี้กรดสเตียริคสามารถเปลี่ยนให้อยู่ในรูปอนุพันธ์เมธิลเอสเทอร์ได้เกือบสมบูรณ์ และกรดไขมันอิสระที่ถูกย่อยสลายสามารถนำมาเตรียมเป็นเมธิลเอสเทอร์และวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีกาซได้ และคำนวณหาปริมาณของกรดไขมันได้ทั้งหมด เพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยาที่ไม่สมบูรณ์ ทำให้หาปริมาณของกรดไขมันผิดพลาด

3.1.3 ผลการแยกกรดไขมันจากน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดโดยการย่อยสลายด้วยสารละลายเบสในสภาวะที่เหมาะสม

จากการทดลองทำการแยกกรดไขมันจากน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดโดยการย่อยสลายด้วยสารละลาย 20% โซเดียมไฮดรอกไซด์ในสภาวะที่เหมาะสมคือ เวลาที่ใช้ในขั้นตอนการย่อยสลาย 60 นาที จากนั้นเตรียมอนุพันธุ์ของกรดไขมันที่ถูกย่อยออกมาด้วยวิธีเมธิลเลชั่น โดยทำปฏิกิริยาสมบูรณ์กับเมธานอลโดยมีสารละลายโบรอนไตรฟลูออไรด์เป็นตัวเร่งที่เวลา 15 นาที จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีกาซเพื่อหาปริมาณของกรดไขมันที่ถูกย่อยออกมาจากน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ด ตารางที่ 3.4 แสดงปริมาณของกรดไขมันที่ถูกย่อยจากน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดโดยคำนวณเทียบกับพื้นที่ใต้พีกของสารละลายเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันผสมมาตรฐาน และรูปที่ 3.4 แสดงโครมาโทแกรมของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ถูกแยกจากน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดและได้หาปริมาณของกรดไขมันอิสระทั้งหมดที่ได้จากการย่อยสลายด้วยสารละลายเบสในสภาวะที่เหมาะสม โดยการไทเทรตหาปริมาณของกรดไขมันโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

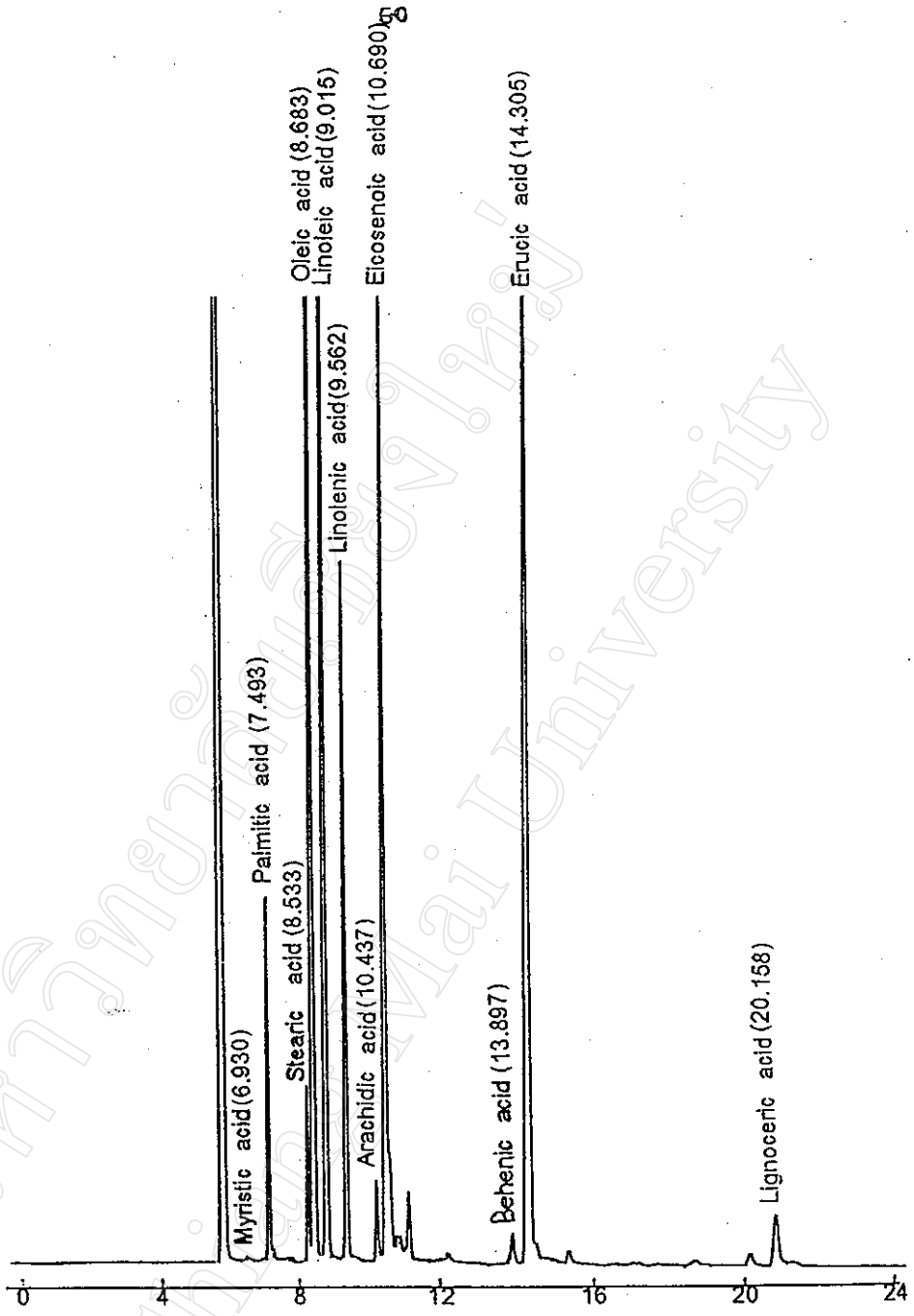
จากการทดลองย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยสารละลายเบสในสภาวะที่เหมาะสม เมื่อหาปริมาณของกรดไขมันอิสระทั้งหมดโดยการไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์พบว่าปริมาณของกรดไขมันที่ถูกย่อยจากน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดมีค่าเท่ากับ 55.49% โดยน้ำหนักของน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ด และเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีกาซพบกรดไขมันที่วิเคราะห์ได้มีทั้งหมด 11 ชนิดเมื่อเทียบกับกรดไขมันผสมมาตรฐาน ได้แก่ กรดไมริสติค กรดปาล์มิติค กรดสเตียริค กรดโอเลอิค กรดลิโนเลอิค กรดลิโนเลนิค กรดอะราชิดิค กรดไอโคซิดนอิค กรดเบเฮนิค กรดอีรูซิค และกรดลิกโนเซอริค และมีปริมาณของกรดไขมันรวมทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้มีค่าเท่ากับ 52.12% โดยน้ำหนักของน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ด และส่วนใหญ่กรดไขมัน

ที่พบมากที่สุดคือ กรดโอเลอิค 16.03% (30.95%) กรดลิโนเลอิค 13.16% (25.42%) กรดลิโนเลนิค 6.39% (12.35%) และกรดอีรูซิค 10.78% (20.81%) โดยคิดเทียบเป็นกรัมต่อ 100 กรัมของน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดและตัวเลขในวงเล็บเป็นตัวเลขที่เทียบเป็นกรัมต่อกรดไขมันที่ถูกย่อยทั้งหมด

ตารางที่ 3.4 แสดงเปอร์เซนต์ของกรดไขมันที่ได้จากการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยสารละลายเบสในสภาวะที่เหมาะสม

กรดไขมัน	กรัมต่อ100 กรัมน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ด	กรัมต่อกรดไขมันอิสระทั้งหมดที่ถูกย่อย
กรดไมริสติค	0.07	0.14
กรดปาล์มิติค	2.67	5.08
กรดสเตรียริค	1.35	2.57
กรดโอเลอิค	16.03	30.49
กรดลิโนเลอิค	13.16	24.97
กรดลิโนเลนิค	6.39	12.16
กรดอะราชิดิค	0.70	1.32
กรดไอโคซิโนอิค	0.76	1.44
กรดเบเฮนิค	0.40	0.80
กรดอีรูซิค	10.78	20.50
กรดลิกโนเซอริค	0.2070	0.3950
กรดไขมันทั้งหมด	52.1250	-

การย่อยน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยสารละลายเบสถือว่าเป็นการย่อยสลายที่ค่อนข้างสมบูรณ์ ทั้งนี้เนื่องจากกรดไขมันสามารถถูกย่อยออกมาได้โดยสารละลายเบสจะทำลายพันธะเอสเทอร์ในไตรกลีเซอร์ไรด์ของน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ด แบบไม่เจาะจงต่อตำแหน่งของกรดไขมันและต่อกรดไขมัน ดังนั้นสารละลายเบสจะทำการย่อยสลายกรดไขมันออกมาได้ทั้งหมด ดังนั้นจึงสามารถนำมาใช้เปรียบเทียบความสามารถในการย่อยสลายด้วยวิธีอื่น ๆได้



รูปที่ 3.4 แสดงโครมาโทแกรมของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ได้จากการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยสารละลายเบส ทำการฉีดสารปริมาณ 0.5 ไมโครลิตร และวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีกาซ GC-14A โดยใช้คอลัมน์คาร์บอแวกซ์ ภายใต้สภาวะที่อุณหภูมิของคอลัมน์ 220 °C อุณหภูมิของอินเจคเตอร์ 250 °C และอุณหภูมิของดีเทคเตอร์ 280 °C

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

3.2 การแยกกรดไขมันจากน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดโดยใช้เอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Candida rugosa*

3.2.1 การย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดโดยใช้เอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Candida rugosa*

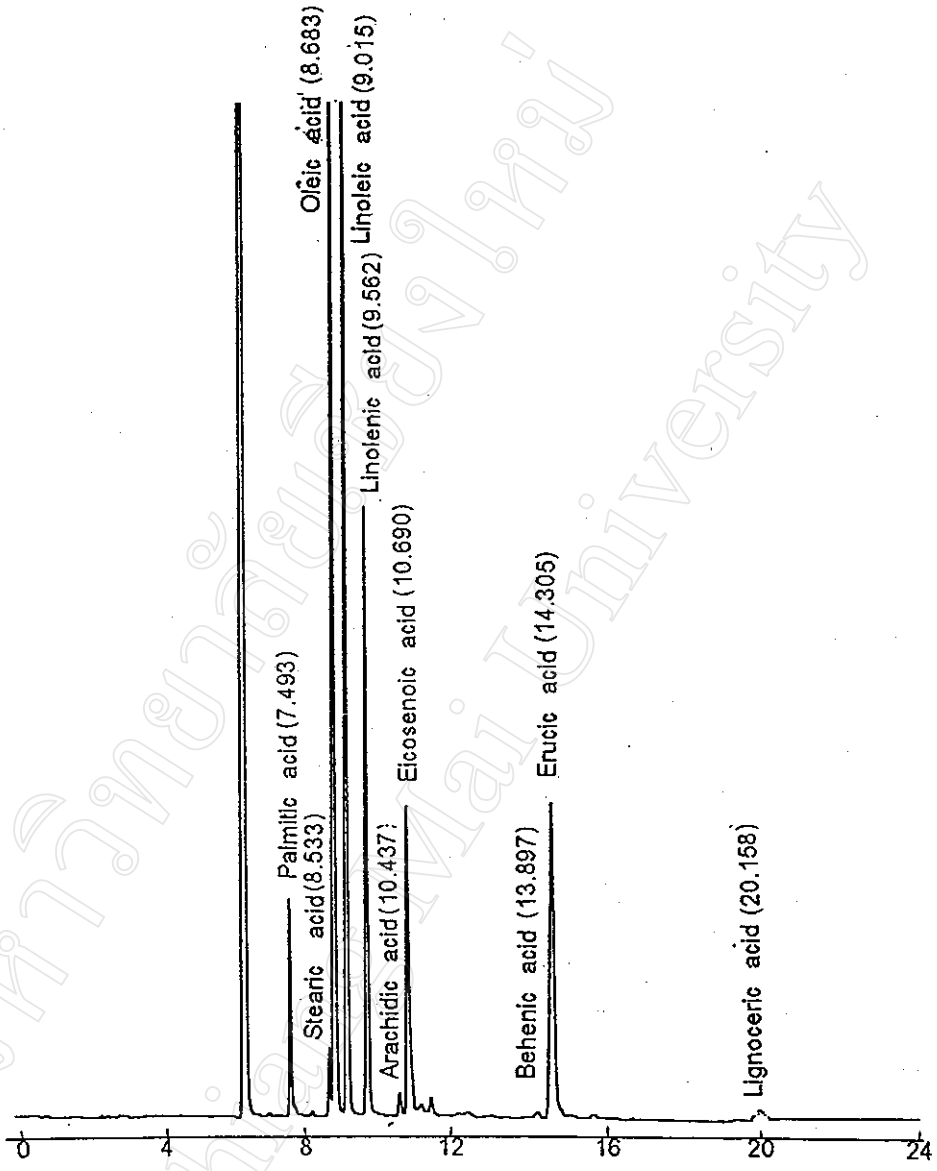
จากการทดลองทำการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Candida rugosa* โดยใช้เอนไซม์ไลเปสปริมาณ 2 มิลลิลิตร (0.01 กรัมต่อมิลลิลิตร แอคติวิตี 50 ยูนิต) โดยเวลาที่ใช้ในการย่อยสลาย 20 ชั่วโมงซึ่งเป็นเวลาที่มากเกินพอที่เอนไซม์ไลเปสสามารถย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดได้อย่างสมบูรณ์ จากนั้นนำกรดไขมันไปเตรียมเมธิลเอสเทอร์กรดไขมัน เพื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีกาซได้ และได้คำนวณหาปริมาณของกรดไขมันแต่ละชนิดโดยเทียบกับกรดไขมันผสมมาตรฐานได้ผลดังตารางที่ 3.5 และวิเคราะห์หาปริมาณของกรดไขมันอิสระทั้งหมดที่ได้จากการย่อยสลายโดยการไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และคำนวณหาปริมาณของกรดไขมัน

จากการวิเคราะห์หาปริมาณของกรดไขมันอิสระทั้งหมดโดยวิธีไทเทรตพบว่ากรดไขมันอิสระทั้งหมดมีปริมาณเท่ากับ 20.69% โดยน้ำหนักของน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ด และเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีกาซ พบว่าได้โครมาโทแกรมดังแสดงในรูปที่ 3.5 เมื่อพิจารณาจากตารางที่ 3.5 และจากโครมาโทแกรมที่ 3.5 พบว่าได้กรดไขมันทั้งหมด 10 ชนิด และมีปริมาณรวมทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้เท่ากับ 18.90% ของน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ด เมื่อเปรียบเทียบปริมาณของกรดไขมันที่ได้จากการวิเคราะห์ทั้งสองวิธีพบว่า ปริมาณของกรดไขมันที่ได้จากการวิเคราะห์โดยวิธีไทเทรตมีปริมาณมากกว่ากรดไขมันที่วิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีกาซ เนื่องจากการหาปริมาณโดยการไทเทรตเป็นการปริมาณของกรดไขมันอิสระทั้งหมดที่ได้จากการย่อยสลาย ส่วนการหาปริมาณโดยโครมาโมกราฟีกาซเป็นการวิเคราะห์หาองค์ประกอบของกรดไขมันแต่ละชนิดในน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ด และวิเคราะห์กรดไขมันชนิดที่พบว่าเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ของน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดเท่านั้น และเมื่อเปรียบเทียบกับการย่อยสลายด้วยสารละลายเบสในตารางที่ 3.4 พบกรดไขมันทั้งหมด 11 ชนิด และเมื่อเทียบปริมาณของกรดไขมันแต่ละตัวที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Candida rugosa* กับที่ย่อยด้วยสารละลายเบสพบว่า กรดไขมันที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ไลเปสจะมีปริมาณที่น้อยกว่าเมื่อย่อยด้วยสารละลายเบส และกรดไขมันที่พบปริมาณสูงส่วนใหญ่เหมือนกับกรดไขมันที่ได้จากการย่อยด้วยสารละลายเบส คือ พบกรดโอเลอิค 6.16% กรดลิโนเลอิค 3.35% กรดลิโนเลนิค 1.059% และกรดอีรูซิค 4.85% โดยเทียบเป็นกรัมต่อ100 กรัมของน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ด

การย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยเอนไซม์ไลเปสนั้น เป็นการย่อยที่มีความจำเพาะเข้ามาเกี่ยวข้องด้วย เพราะว่าเอนไซม์ไลเปสมีความจำเพาะต่อตำแหน่งของกรดไขมัน และบางตัวอาจมีความจำเพาะต่อชนิดกรดไขมัน สังเกตเห็นว่าการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เมื่อเทียบกับการย่อยสลายด้วยสารละลายเบส ได้ปริมาณน้อยกว่าแต่ปริมาณสัดส่วนของกรดอีรูซิคสูงขึ้นจาก 20.50% (ตารางที่ 3.4) เป็น 25.64% (ตารางที่ 3.5) เทียบกับปริมาณของกรดไขมันที่วิเคราะห์ได้ทั้งหมด ส่วนปริมาณของกรดไขมันอื่น เช่น กรดไลโนเลอิค และกรดไลโนเลนิค พบว่ามีปริมาณสัดส่วนลดลงจาก 24.97% และ 12.16% (ตารางที่ 3.4) เป็น 17.71% และ 5.77% (ตารางที่ 3.5) เทียบกับปริมาณกรดไขมันทั้งหมด ตามลำดับ

ตารางที่ 3.5 แสดง ปริมาณของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดเมื่อย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Candida rugosa*

กรดไขมัน	กรัมต่อ100กรัมน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ด	กรัมต่อกรดไขมันอิสระทั้งหมด
กรดปาล์มิติค	1.14	6.06
กรดสเตียริค	0.64	3.40
กรดโอเลอิค	6.16	32.59
กรดลิโนเลอิค	3.35	17.71
กรดลิโนเลนิค	1.09	5.77
กรดอะราชิดิค	0.36	1.90
กรดไอโคซิโนอิค	1.04	5.52
กรดเบเฮนิค	0.17	0.89
กรดอีรูซิค	4.85	25.64
กรดลิกโนเซอริค	0.10	0.52
กรดไขมันทั้งหมด	18.91	-



รูปที่ 3.5 **แสดงโครมาโทแกรมของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ได้จากการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ** *Candida rugosa* **เมื่อวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีกาซ** GC-14A **โดยใช้คอลัมน์คาร์บอแวกซ์ ภายใต้สภาวะที่อุณหภูมิของคอลัมน์** 220 °C **อุณหภูมิของอินเจคเตอร์** 250 °C **และอุณหภูมิของดีเทคเตอร์** 280 °C

3.3 การแยกกรดไขมันจากน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดโดยใช้เอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Aspergillus* sp.

3.3.1 การศึกษาสมบัติของเอนไซม์ไลเปสที่ผลิตได้จากเชื้อ *Aspergillus* sp.

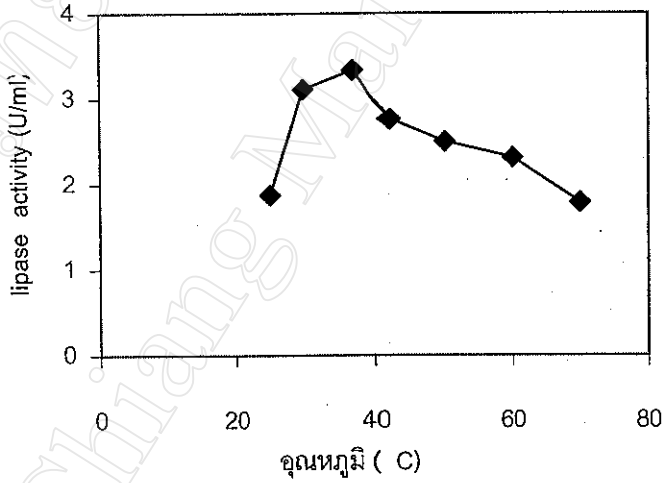
3.3.1.1. ผลของอุณหภูมิต่อแอคติวิตีของเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Aspergillus* sp.

ในการทดลองได้ตรวจหาแอคติวิตีของเอนไซม์ไลเปส โดยใช้น้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดเป็นสับสเตรท และสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.2 M pH 7.0 และสารละลายเอนไซม์ไลเปส 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25, 37, 42, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส ตามลำดับ และเขย่าในเครื่องเขย่าด้วยอัตรา 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลานาน 60 นาที แล้วหยุดปฏิกิริยาด้วยสารละลายผสมเอธานอลและอะซิโตน (อัตราส่วน 1:1) 20 มิลลิลิตร แล้วนำไปไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.5 โมลาร์โดยใช้ฟีนอฟธาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ จากนั้นใช้ปริมาตรของโซเดียมไฮดรอกไซด์ทำการคำนวณหาปริมาณของกรดไขมันอิสระที่ย่อยออกมาได้ผลดังตารางที่ 3.6 และรูปที่ 3.6 ซึ่งแสดงแอคติวิตีของเอนไซม์ไลเปสที่อุณหภูมิต่างๆ กัน

จากผลการทดลองพบว่าเมื่อตรวจสอบหาแอคติวิตีของเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Aspergillus* sp. ที่อุณหภูมิต่างๆ กัน พบว่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสสามารถตรวจหาแอคติวิตีของเอนไซม์ไลเปสได้สูงที่สูงที่สุด แสดงว่าที่อุณหภูมินี้เหมาะสมต่อการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสเพื่อให้ได้กรดไขมัน และในการทดลองนี้ได้ใช้น้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดเป็นสับสเตรท ดังนั้นจึงเป็นการศึกษาหาอุณหภูมิที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดเพื่อแยกกรดไขมันต่อไปได้

ตารางที่ 3.6 แสดงแอคติวิตีของเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Aspergillus* sp. ที่อุณหภูมิต่างกัน

อุณหภูมิ (°C)	Lipase activity (U/ml)	Relative activity (%)
37	3.3400	100.00
25	1.8704	56.00
30	3.1173	93.33
42	2.7611	82.67
50	2.4939	74.67
60	2.3157	69.33
70	1.7813	53.33



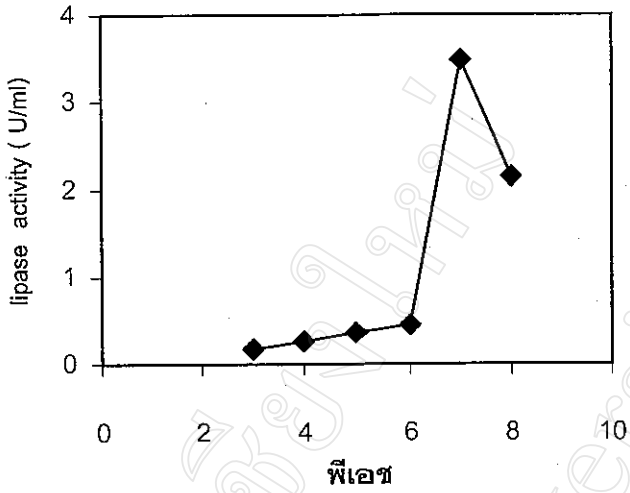
รูปที่ 3.6 แสดงแอคติวิตีของเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ Aspergillus sp. ที่อุณหภูมิต่างๆ กัน

3.3.1.2. ผลของพีเอชที่มีต่อแอคติวิตีของเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Aspergillus* sp.

ในการทดลองได้ศึกษาค่าของพีเอชที่มีต่อแอคติวิตีของเอนไซม์ เป็นการแสดงความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ไลเปส โดยใช้น้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดเป็นสับสเตรท และใช้สารละลายบัฟเฟอร์พีเอชต่างๆ กัน โดยสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 3-6 ใช้สารละลายซิเตรทบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.2 โมลาร์ และพีเอช 7-8 ใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.2 M หลังจากนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 60 นาที และไทเทรตหาปริมาณกรดไขมันที่ถูกย่อยสลายออกมาโดยนำไปไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.05 โมลาร์จากนั้นคำนวณหาแอคติวิตีของเอนไซม์ไลเปส โดยกำหนดให้ 1 ยูนิตของเอนไซม์ไลเปสคือปริมาณของเอนไซม์ไลเปสที่สามารถย่อยสลายไขมันให้ได้กรดไขมันอิสระ 1 ไมโครโมลในเวลา 1 นาที ภายใต้สภาวะที่ทำการทดลอง ได้แอคติวิตีของเอนไซม์ไลเปสดังแสดงในตารางที่ 3.7 แสดงค่าแอคติวิตีของเอนไซม์ไลเปสที่พีเอชต่างๆ กันและค่า relatiive activity ของเอนไซม์ไลเปส และรูปที่ 3.7 แสดงกราฟที่ได้จากการตรวจสอบหาแอคติวิตีของเอนไซม์

ตารางที่ 3.7 แสดงแอคติวิตีของเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Aspergillus* sp. ที่พีเอชต่างๆ กัน

พีเอช	Lipase activity (U/ml)	Relative activity (%)
7.0	3.4736	100.00
3.0	0.1781	5.13
4.0	0.2672	7.69
5.0	0.3563	10.26
6.0	0.4453	12.82
8.0	2.1376	61.54



รูปที่ 3.7 แสดงแอคติวิตี้ของเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ Aspergillus sp. ที่พีเอชต่างๆ กัน

จากการทดลองพบว่าที่พีเอชต่ำ แอคติวิตีของเอนไซม์ไลเปสมีค่าน้อยมาก เพราะว่ามีค่าพีเอชเป็นกรดมากเกินไปไม่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปส โดยอาจทำให้เอนไซม์เกิดการสูญเสียสมบัติได้ และจากการทดลองพบว่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปสคือพีเอช 7.0 โดยในการทดลองนี้ใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.2 โมลาร์เป็นสารละลายบัฟเฟอร์

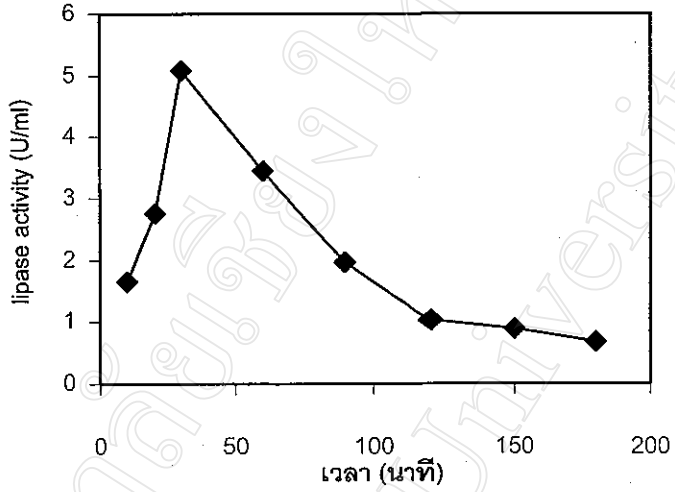
3.3.1.3. **ผลของเวลาที่มีต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Aspergillus* sp.**

จากการศึกษาผลของเวลาที่มีต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Aspergillus* sp. โดยใช้น้ำมันจากเมล็ดมัสตาร์ดเป็นสับสเตรท เติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.2 โมลาร์ แล้วทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พร้อมทั้งเขย่าเป็นเวลานานต่างๆ กัน ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 3.8 และ รูปที่ 3.8 แสดงค่าแอคติวิตีของเอนไซม์ไลเปสที่เวลาต่างๆ กัน

ตารางที่ 3.8 แสดงแอคติวิตีของเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Aspergillus* sp. ที่เวลาต่าง ๆกัน

เวลา (นาที)	Lipase activity(U/ml)	Relative activity(%)
30	5.0768	100.00
10	1.6497	32.50
20	2.7495	54.16
60	3.4533	68.02
90	1.9595	38.60
120	1.0243	20.18
150	0.8907	17.54
180	0.6828	13.45

จากการศึกษาสมบัติของเอนไซม์ไลเปสที่เวลาต่างๆ กัน พบว่าที่เวลา 30 นาที เอนไซม์มีความสามารถในการทำงานสูงที่สุด คือ มีแอคติวิตี 5.0768 ยูนิตต่อมิลลิลิตรของเอนไซม์ที่สกัดได้ ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดคือการย่อยสลายที่มีการเติมสารละลายฟอตเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.2 โมลาร์พีเอช 7.0 และนำไปบ่มพร้อมทั้งเขย่าตลอดเวลาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาที ดังนั้นจึงเป็นสภาวะที่เหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดเพื่อแยกกรดไขมันต่อไป



รูปที่ 3.8 แสดงแอคติวิตีของเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ Aspergillus sp. ที่เวลาต่างๆ กัน

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

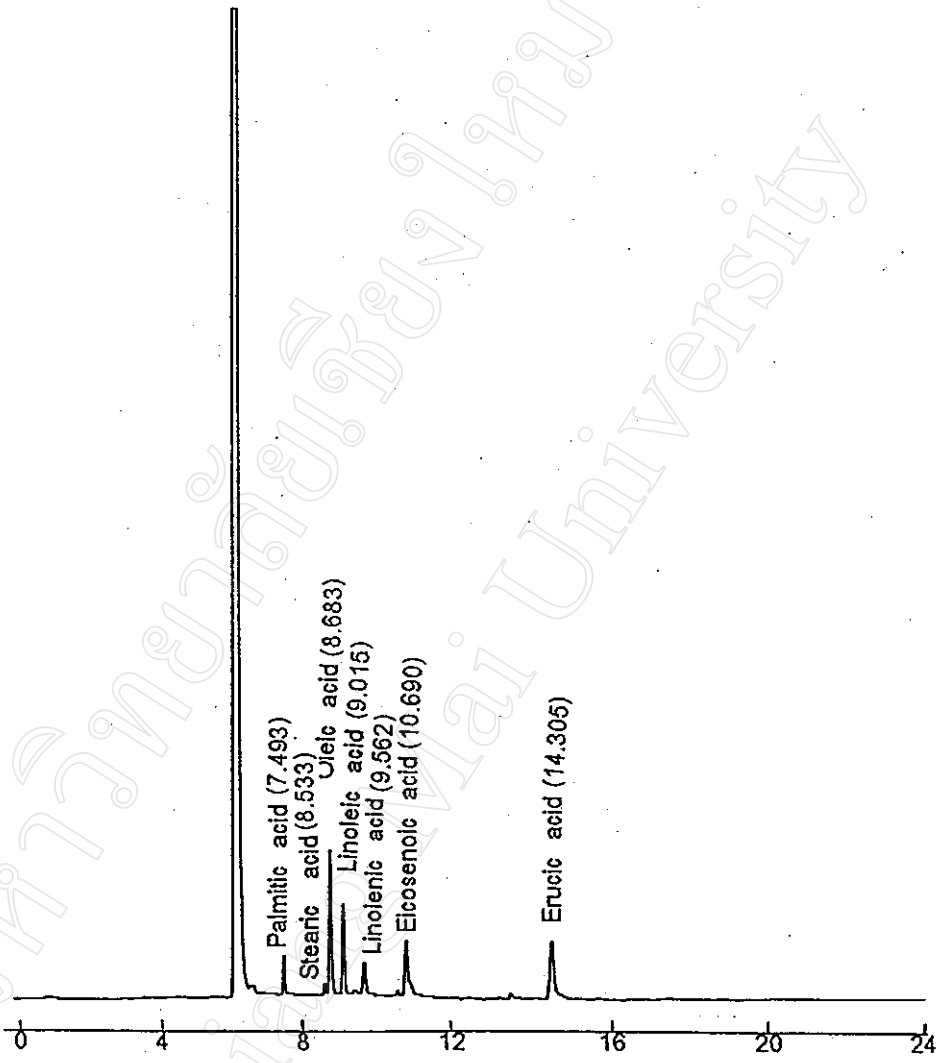
3.3.1.4. ผลของปริมาณเริ่มต้นของเอนไซม์ไลเปสที่มีต่อการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ด

จากการทดลองได้ทำการศึกษาปริมาณของเอนไซม์ไลเปสที่มีต่อการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ด โดยในการทดลองใช้ปริมาณของเอนไซม์ไลเปสต่างกันคือ 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตร(แอคติวิตี 5, 10, 15, 20 และ 25 ยูนิต) ตามลำดับ และย่อยสลายในสภาวะที่เหมาะสมที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แล้วเขย่าด้วยเครื่องเขย่าตลอดเวลาเป็นเวลานาน 30 นาที เพื่อให้เอนไซม์ไลเปสทำการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดได้อย่างเต็มที่ จากนั้นนำกรดไขมันที่ได้จากการย่อยสลายไปเตรียมเป็นอนุพันธุ์เมธิลเอสเทอร์เพื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีกาซ และคำนวณหาปริมาณของกรดไขมันแต่ละชนิดโดยเทียบกับพื้นที่ใต้พีกของกรดไขมันผสมมาตรฐานที่วิเคราะห์ภายใต้สภาวะเดียวกัน ตารางที่ 3.9 แสดงปริมาณของกรดไขมันแต่ละชนิดที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ด และนำกรดไขมันที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ในปริมาณต่างๆ กันมาวิเคราะห์หาปริมาณของกรดไขมันอิสระทั้งที่ได้จากการย่อยสลาย โดยการไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และคำนวณหาปริมาณของกรดไขมันทั้งหมดที่ถูกย่อยสลาย

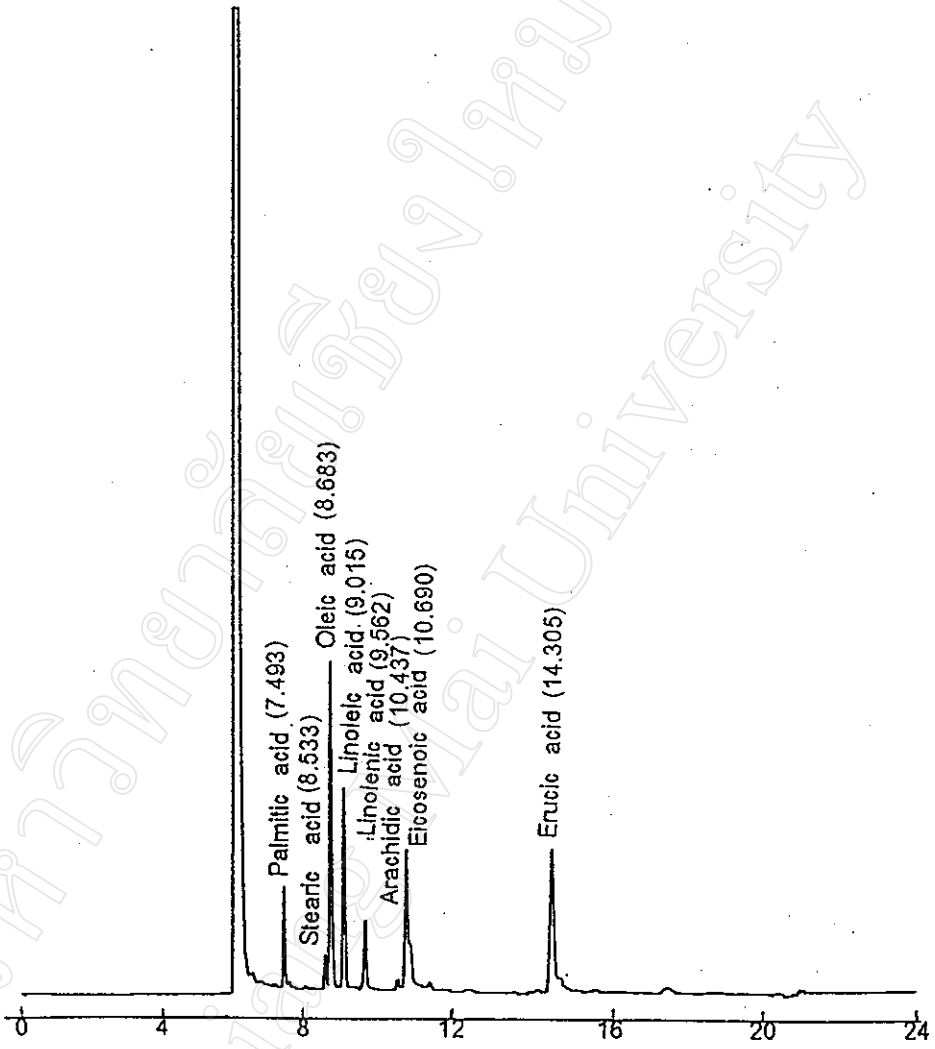
โครมาโทแกรมของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันแสดงในรูปที่ 3.9 เป็นโครมาโทแกรมของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดโดยการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปส โดยการทดลองนี้ศึกษาถึงปริมาณของเอนไซม์ไลเปสที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ด พบว่า ปริมาณเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Aspergillus* sp. ที่เหมาะสมในการย่อยสลายเท่ากับ 5 มิลลิลิตร มีแอคติวิตีเท่ากับเท่ากับ 25 ยูนิต และเมื่อวิเคราะห์กรดไขมันด้วยโครมาโทกราฟีกาซและคำนวณหาปริมาณของกรดไขมันที่วิเคราะห์ได้ พบว่าปริมาณของกรดไขมันรวมทั้งหมดมีเท่ากับ 0.12, 0.27, 0.38, 0.43 และ 0.45% โดยน้ำหนักของน้ำมันเมล็ดมัสตร์ดเมื่อใช้ปริมาณของเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Aspergillus* sp. 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรตามลำดับ พบว่าปริมาณของกรดไขมันรวมทั้งหมดมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณของเอนไซม์มากขึ้น และได้ทำการศึกษาที่ปริมาณเริ่มต้นของเอนไซม์ที่มากกว่า 5 มิลลิลิตร พบว่ามีปริมาณของกรดไขมันไม่แตกต่างจากที่แสดงไว้ในตาราง จึงไม่ได้แสดงผล และเมื่อวิเคราะห์หาปริมาณของกรดไขมันทั้งหมดโดยการไทเทรตพบว่าปริมาณของกรดไขมันที่วิเคราะห์ได้มีมากกว่าการวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีกาซ โดยพบว่ามีปริมาณเท่ากับ 0.35, 0.49, 0.57, 0.68 และ 0.71% ของน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ด เมื่อใช้ปริมาณของเอนไซม์ไลเปส 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรตามลำดับ

ตารางที่ 3.9 แสดงปริมาณของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดเมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Aspergillus* sp. ในปริมาณที่ต่างกัน

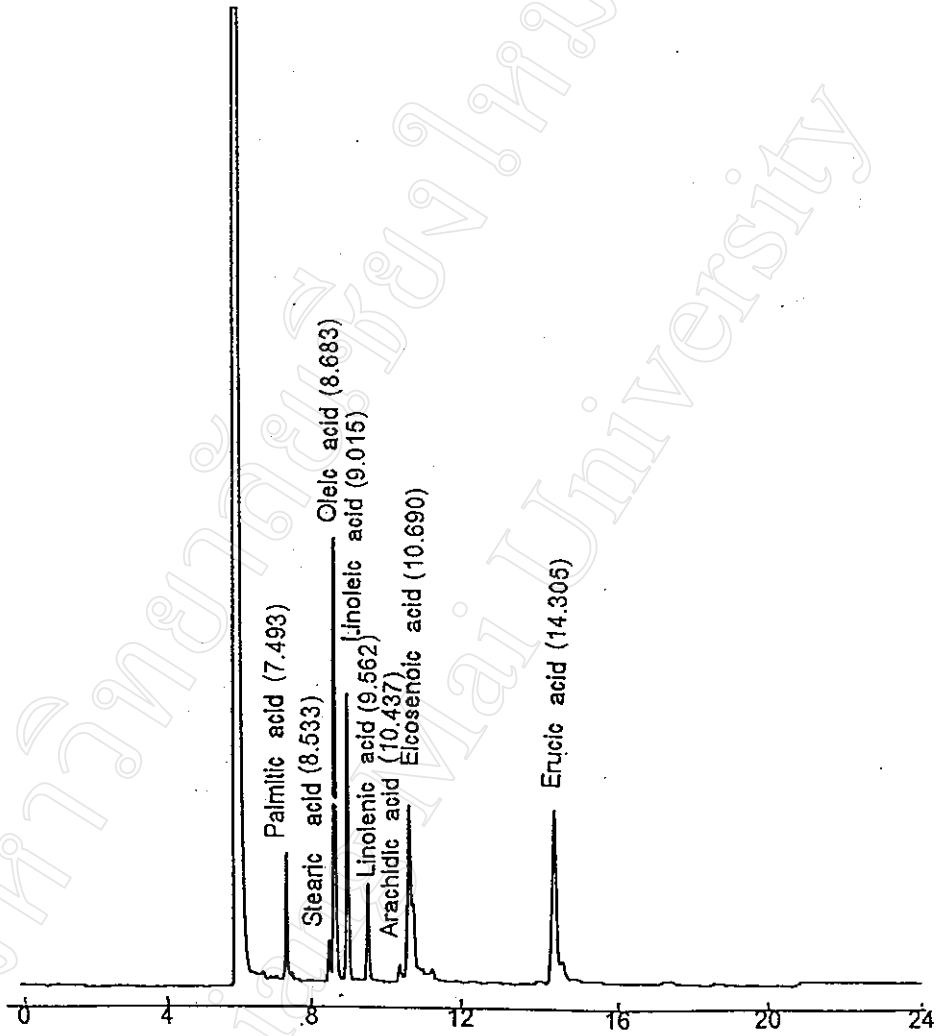
กรดไขมัน	เปอร์เซนต์ของกรดไขมันเทียบกับปริมาณไขมัน (เทียบกับปริมาณของกรดไขมันทั้งหมด)				
	1 ml. (5 U)	2 ml. (10 U)	3 ml. (15 U)	4 ml. (20 U)	5 ml.(25 U)
กรดปาล์มิติค	0.01 (8.62)	0.03 (9.56)	0.03 (8.57)	0.03 (6.88)	0.04 (9.09)
กรดสเตียริค	0.01 (3.45)	0.01 (3.68)	0.01 (3.43)	0.02 (3.67)	0.02 (3.64)
กรดโอเลอิค	0.03 (31.03)	0.08 (28.68)	0.11 (30.29)	0.13 (29.36)	0.13 (29.54)
กรดลิโนเลอิค	0.02 (20.69)	0.05 (19.12)	0.08 (22.86)	0.09 (20.64)	0.09 (20.45)
กรดลิโนเลนิค	0.01 (10.34)	0.02 (8.82)	0.04 (10.29)	0.04 (9.17)	0.04 (9.54)
กรดอะราชิดิค	-	0.01 (1.47)	0.01 (1.71)	0.01 (1.83)	0.01 (1.82)
กรดไอโคซิโนอิค	0.01 (8.62)	0.02 (8.82)	0.02 (4.57)	0.04 (10.09)	0.03 (7.27)
กรดอีรูซิค	0.02 (17.24)	0.05 (19.85)	0.06 (18.29)	0.08 (18.35)	0.08 (18.64)
กรดไขมันทั้งหมด	0.12	0.27	0.38	0.43	0.45



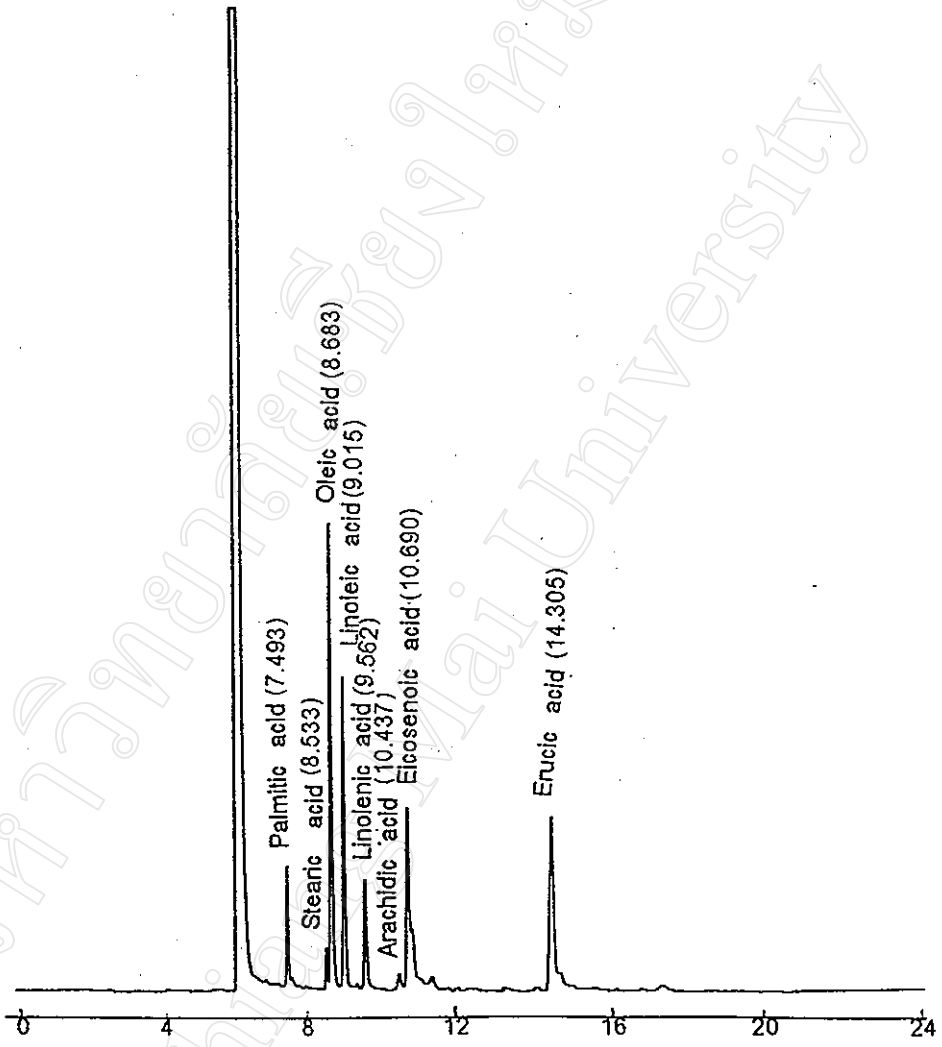
รูปที่ 3.9 **แสดงโครมาโทแกรมของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ได้จากการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ** Aspergillus sp. **ปริมาณ** 1 **มิลลิลิตร เมื่อวิเคราะห์สาร** 0.5 **ไมโครลิตรด้วยโครมาโทกราฟีกาซ** GC-14A **คอลัมน์คาร์บอแวกซ์ภายใต้สภาวะที่อุณหภูมิของคอลัมน์** 220 °C **อุณหภูมิของอินเจคเตอร์** 250 °C **และอุณหภูมิของดีเทคเตอร์** 280 °C



รูปที่ 3.9 **(ต่อ) แสดงโครมาโทแกรมของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ได้จากการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ** Aspergillus sp. **ปริมาณ** 2 **มิลลิลิตร เมื่อวิเคราะห์สาร** 0.5 **ไมโครลิตรด้วยโครมาโทกราฟีกาซ** GC-14A **คอลัมน์คาร์บอแวกซ์ภายใต้สภาวะที่อุณหภูมิของคอลัมน์** 220 °C **อุณหภูมิของอินเจคเตอร์** 250 °C **และอุณหภูมิของดีเทคเตอร์** 280 °C

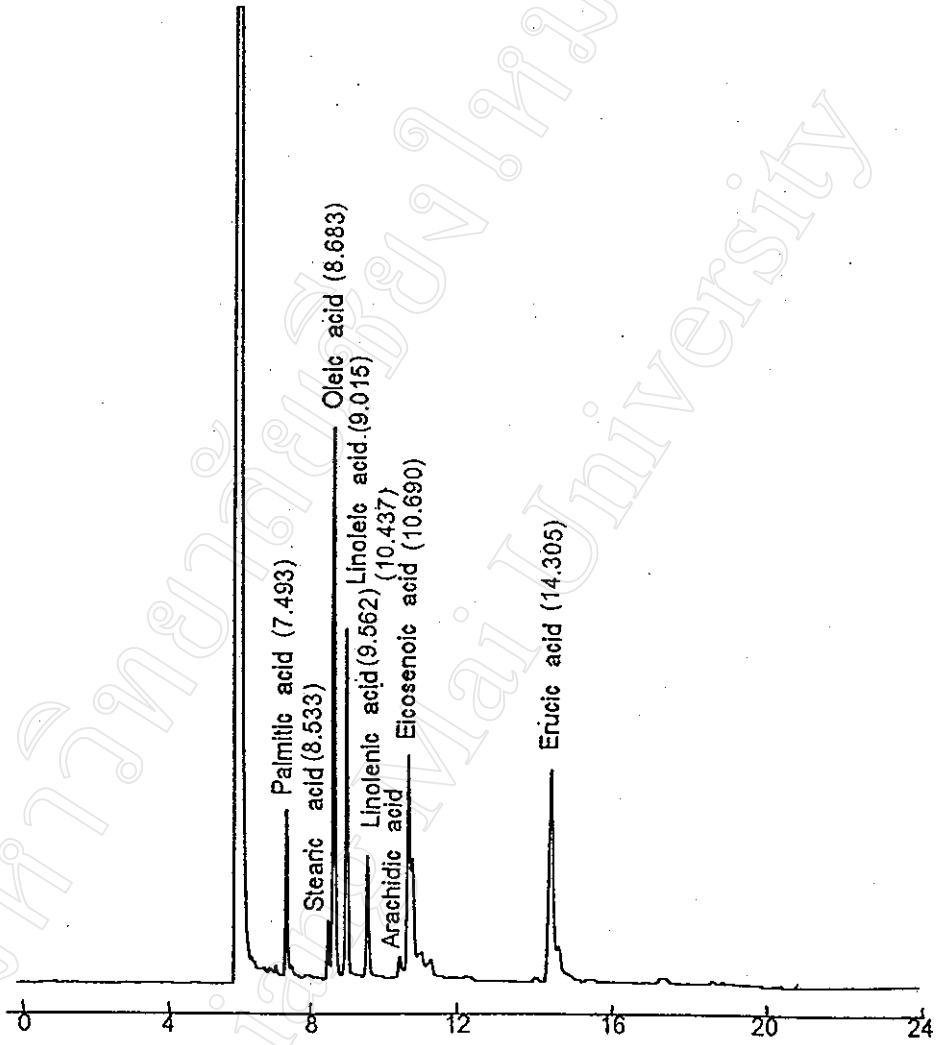


รูปที่ 3.9(ต่อ) **แสดงโครมาโทแกรมของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ได้จากการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ** Aspergillus sp. **ปริมาณ** 3 **มิลลิลิตร เมื่อวิเคราะห์สาร** 0.5 **ไมโครลิตรด้วยโครมาโทกราฟีกาซ** GC-14A **คอลัมน์คาร์บอแวกซ์ภายใต้สภาวะที่อุณหภูมิของคอลัมน์** 220 °C **อุณหภูมิของอินเจคเตอร์** 250 °C **และอุณหภูมิของดีเทคเตอร์** 280 °C



รูปที่ 3.9(ต่อ) **แสดงโครมาโทแกรมของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ได้จากการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ** Aspergillus sp. **ปริมาณ** 4 **มิลลิลิตร เมื่อวิเคราะห์สาร** 0.5 **ไมโครลิตรด้วยโครมาโทกราฟีกาซ** GC-14A **คอลัมน์คาร์บอแวกซ์ภายใต้สภาวะที่อุณหภูมิของคอลัมน์** 220 °C **อุณหภูมิของอินเจคเตอร์** 250 °C **และอุณหภูมิของดีเทคเตอร์** 280 °C

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University



รูปที่ 3.9(ต่อ) **แสดงโครมาโทแกรมของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ได้จากการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ** Aspergillus sp. **ปริมาณ** 5 **มิลลิลิตร เมื่อวิเคราะห์สาร** 0.5 **ไมโครลิตรด้วยโครมาโทกราฟีกาซ** GC-14A **คอลัมน์คาร์บอแวกซ์ภายใต้สภาวะที่อุณหภูมิของคอลัมน์** 220 °C **อุณหภูมิของอินเจคเตอร์** 250 °C **และอุณหภูมิของดีเทคเตอร์** 280 °C

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

นอกจากนี้ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าเมื่อใช้ปริมาณของเอนไซม์ไลเปส 4 มิลลิลิตร ซึ่งมีแอคติวิตี 20 ยูนิต ย่อยสลายน้ำมันได้ปริมาณของกรดไขมันแต่ละชนิดใกล้เคียงกับเมื่อใช้ปริมาณเอนไซม์ 5 มิลลิลิตร (แอคติวิตี 25 ยูนิต) ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าปริมาณของเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Aspergillus* sp. ที่เหมาะสมนำมาใช้ในการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดจะอยู่ในช่วง 20-25 ยูนิต ต่อน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ด 5 กรัม ดังนั้นในการใช้ปริมาณของเอนไซม์ในการย่อยสลายขึ้นอยู่กับปริมาณเริ่มต้นของน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดและเวลาที่ใช้ในการย่อยสลาย

3.4 เปรียบเทียบการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดโดยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Candida rugosa* และ Aspergillus sp.

ในการทดลองนี้ได้ศึกษาการเปรียบเทียบการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Candida rugosa* และจากเชื้อ *Aspergillus* sp. โดยใช้ปริมาณของเอนไซม์ไลเปสเท่ากับ 25 ยูนิต และทำการทดลองภายใต้สภาวะเดียวกันคือ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเขย่าด้วยเครื่องเขย่านานเป็นเวลา 20 ชั่วโมง จากนั้นนำกรดไขมันที่ได้ไปเตรียมอนุพันธ์เมธิลเอสเทอร์ เพื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีกาซ แล้วคำนวณหาปริมาณของกรดไขมันแต่ละชนิดโดยเทียบพื้นที่ใต้พีกกับกรดไขมันผสมมาตรฐาน ดังแสดงในตารางที่ 3.10 และวิเคราะห์หาปริมาณของกรดไขมันอิสระทั้งหมดที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อทั้งสองชนิด โดยการไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และคำนวณหาปริมาณของกรดไขมันทั้งหมด

การวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีกาซได้โครมาโทแกรมของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดที่ย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อทั้งสองชนิด ดังแสดงในรูปที่ 3.10 และจากการทดลองพบว่าการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อทั้งสองชนิด เมื่อเปรียบเทียบกันโดยใช้ปริมาณของเอนไซม์ไลเปสเท่ากันพบว่าปริมาณของกรดไขมันที่ถูกย่อยมีปริมาณรวมทั้งหมดมีค่าใกล้เคียงกัน มีค่าเท่ากับ 7.33 และ 7.32% ของน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดเมื่อย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Candida rugosa* และ *Aspergillus* sp. ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์หาปริมาณของกรดไขมันอิสระทั้งหมดโดยวิธีไทเทรตพบว่าปริมาณของกรดไขมันจากการย่อยของเอนไซม์จากเชื้อทั้งสองชนิดมีค่าไม่แตกต่างกันเช่นเดียวกันแต่และพบปริมาณของกรดไขมันมีปริมาณมากกว่าการวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีกาซ โดยมีค่าเท่ากับ 10.59 และ 9.34% เมื่อย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Candida*

rugosa และ *Aspergillus* sp. ตามลำดับ และจากการวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีกาซพบความแตกต่างของปริมาณของกรดไขมันแต่ละชนิด โดยจะพบว่าเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Aspergillus* sp. สามารถย่อยสลายได้กรดปาล์มิติค กรดโอเลอิค และกรดอะราชิดิคมากกว่าการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Candida rugosa* ซึ่งกรดไขมันดังกล่าวส่วนใหญ่เป็นกรดไขมันชนิดที่อิ่มตัว โดยพบกรดโอเลอิคมากที่สุดเท่ากับ 3.20 กรัมต่อ 100 กรัมของน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ด หรือ 43.73 กรัมต่อกรดไขมันอิสระที่วิเคราะห์ได้ทั้งหมด แต่จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Candida rugosa* พบว่าได้กรดอีรูซิคออกมามากกว่าการย่อยด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Aspergillus* sp. โดยพบกรดอีรูซิคมีปริมาณเท่ากับ 0.82 กรัมต่อ 100 กรัมของน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดหรือเท่ากับ 11.13 กรัมต่อกรดไขมันอิสระที่วิเคราะห์ได้ทั้งหมด ในการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Aspergillus* sp. พบกรดอีรูซิค 0.64 กรัมเมื่อเทียบกับปริมาณน้ำมันเมล็ดมัสตร์ดหรือเท่ากับ 8.69 กรัมเมื่อเทียบกับปริมาณของกรดไขมันที่วิเคราะห์ได้ทั้งหมด

3.5 การย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดโดยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ Candida rugosa และจากเชื้อ Aspergillus sp. ร่วมกับดีเทอร์เจนต์(detergent)

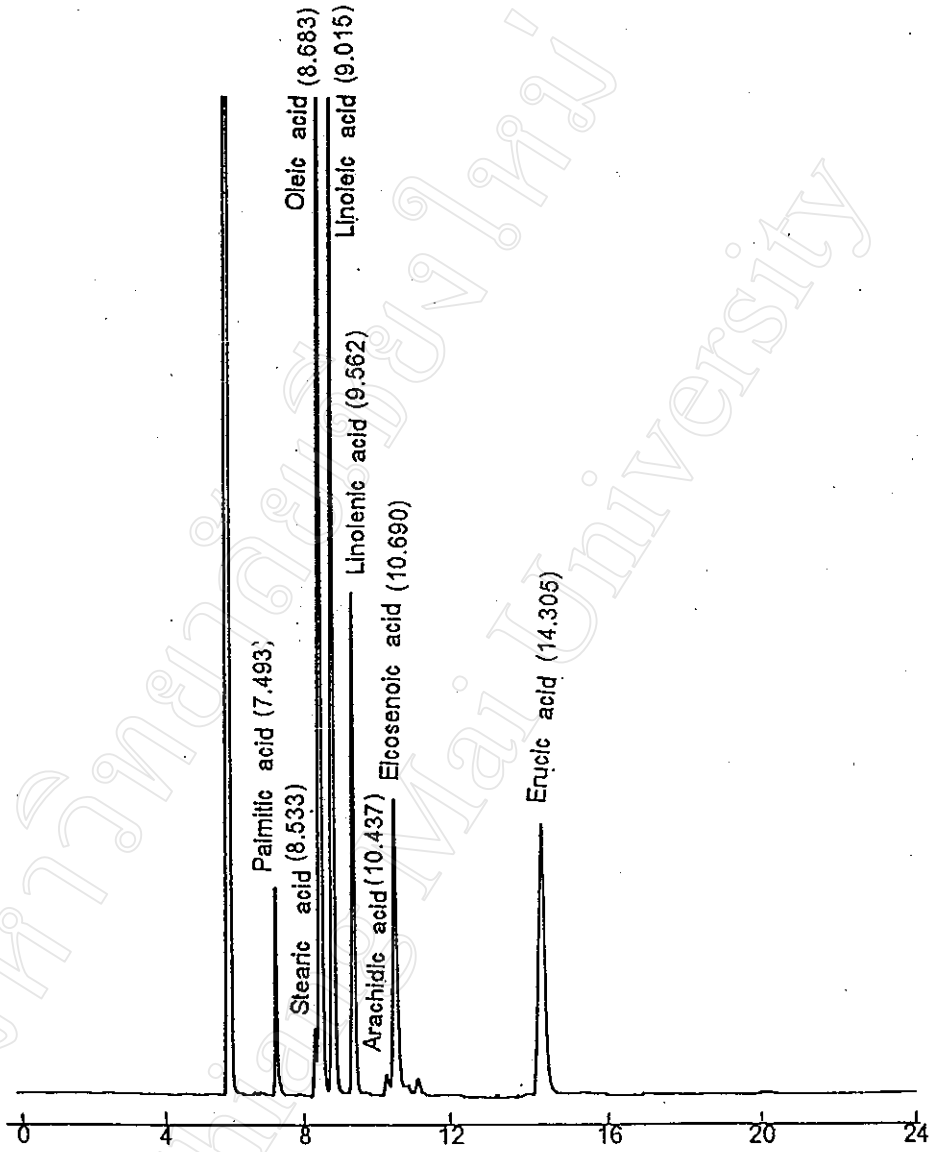
3.5.1 การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Candida rugosa* ร่วมกับดีเทอร์เจนต์

จากการศึกษาผลการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Candida rugosa* ร่วมกับดีเทอร์เจนต์ เป็นการศึกษาดีเทอร์เจนต์ที่มีต่อการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยเอนไซม์ไลเปส โดยดีเทอร์เจนต์ที่นำมาใช้ในการทดลองนี้เป็นดีเทอร์เจนต์ที่ต่างกัน 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่1 เป็นกลุ่มที่เมื่อเกิดการแตกตัวแล้วให้ประจุลบในโมเลกุล เรียกว่ากลุ่ม anionic detergent และการทดลองได้เลือกดีเทอร์เจนต์ในกลุ่มนี้ 2 ชนิดคือ โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (sodium dodecyl sulfate) และโซเดียมโดเดซิลเบนซินซัลโฟเนต (sodium dodecyl benzene sulfonate) และกลุ่มที่ 2 คือกลุ่มที่เมื่อเกิดการแตกตัวแล้วให้ประจุบวกในโมเลกุล เรียกว่ากลุ่ม cationic detergent และในการทดลองเลือกดีเทอร์เจนต์จากกลุ่มนี้มา 2 ชนิด คือ เทตระเอธิลแอมโมเนียมคลอไรด์ (tetraethylammonium chloride) และ โดเดซิลไตรเมธิลแอมโมเนียมโบรไมด์ (dodecyltrimethyl ammonium bromide) โดยใช้สภาวะในการย่อยสลายแบบเดียวกันคือทำการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Candida rugosa* ปริมาณ 25 ยูนิต

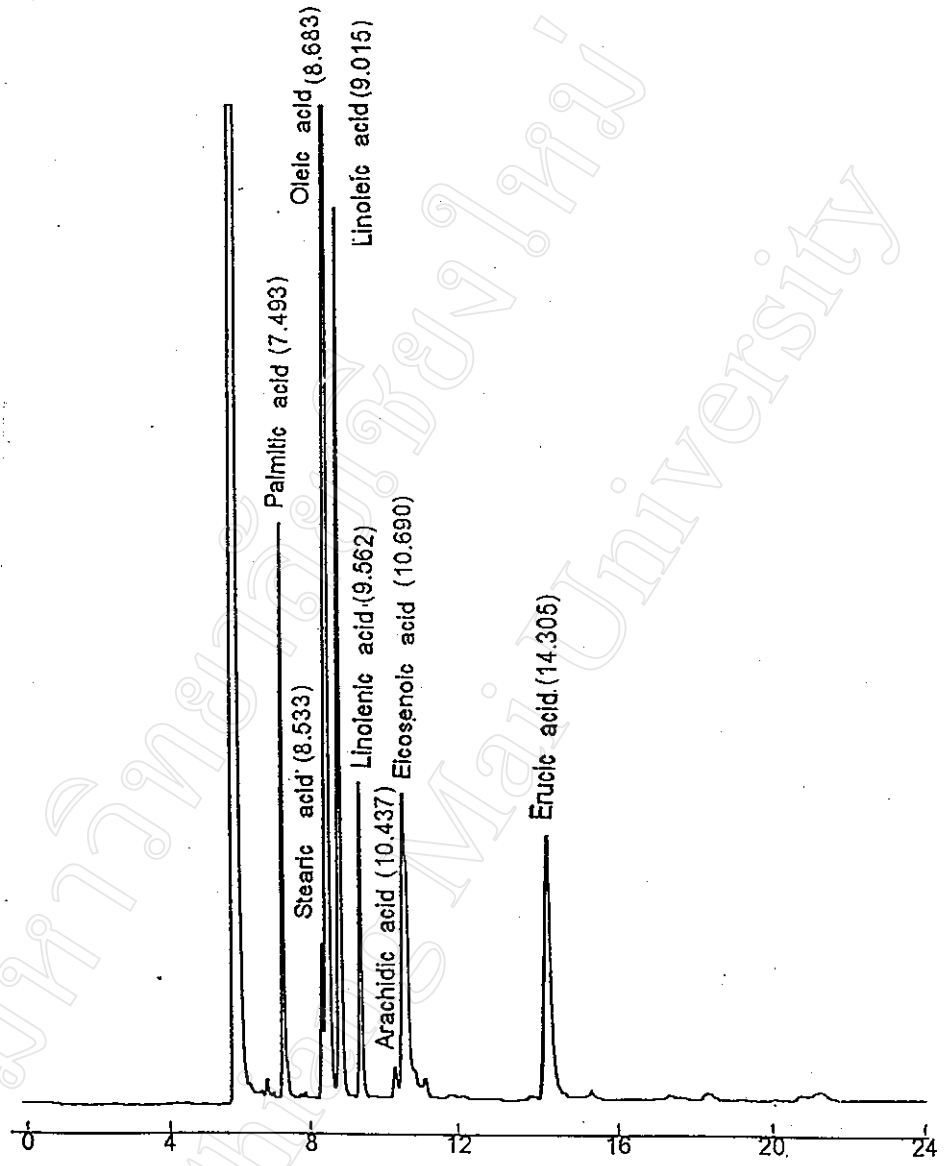
อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส สารละลายฟอตเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.0 และเขย่าด้วยเครื่องเขย่าเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเตรียมเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันและวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีกาซ และคำนวณหาปริมาณของกรดไขมันที่ถูกย่อยสลายออกมาเทียบกับกรดไขมันผสมมาตรฐาน โดยปริมาณของกรดไขมันที่คำนวณได้แสดงในตารางที่ 3.11 และได้โครมาโทแกรมของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยเอนไซม์ไลเปสร่วมกับดีเทอร์เจนต์ 4 ชนิด ดังในรูปที่ 3.11 และวิเคราะห์หาปริมาณของกรดไขมันอิสระทั้งหมดจากการยาอยสลายด้วยวิธีไทเทรต

ตารางที่ 3.10 แสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซนต์ของกรดไขมันที่ถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Candida rugosa* และ *Aspergillus* sp.

กรดไขมัน	เปอร์เซนต์ของกรดไขมันที่ถูกย่อยสลาย			
	Candida rugosa lipase		*Aspergillus* sp. lipase	
	เทียบกับปริมาณไขมัน	เทียบกับปริมาณกรดไขมันทั้งหมด	เทียบกับปริมาณไขมัน	เทียบกับปริมาณกรดไขมันทั้งหมด
กรดปาล์มิติค	0.35	4.82	0.78	10.73
กรดสเตียริค	0.13	1.77	0.22	3.07
กรดโอเลอิค	2.22	30.33	3.20	43.73
กรดลิโนเลอิค	2.16	29.40	1.21	16.51
กรดลิโนเลนิค	1.34	18.24	0.56	7.63
กรดอะราชิดิค	0.05	0.73	0.07	0.95
กรดไอโคซิโนอิค	0.26	3.57	0.64	8.69
กรดอีรูซิค	0.82	11.13	0.64	8.69
กรดไขมันทั้งหมด	7.33	-	7.32	-



รูปที่ 3.10 **แสดงโครมาโทแกรมของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ได้จากการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ** *Candida rugosa* **เมื่อวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีกาซ** GC-14A **คอลัมน์คาร์บอแวกซ์ ภายใต้สภาวะที่อุณหภูมิของคอลัมน์** 220 °C **อุณหภูมิของอินเจคเตอร์** 250 °C **และอุณหภูมิของดีเทคเตอร์** 280 °C



รูปที่ 3.10 **(ต่อ) แสดงโครมาโทแกรมของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ได้จากการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ** *Aspergillus* sp. **เมื่อวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีกาซ** GC-14A **คอลัมน์คาร์บอแวกซ์ ภายใต้สภาวะที่อุณหภูมิของคอลัมน์** 220 °C **อุณหภูมิของอินเจคเตอร์** 250 °C **และอุณหภูมิของดีเทคเตอร์** 280 °C

ตารางที่ 3.11 แสดงเปอร์เซนต์ของกรดไขมันที่ถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Candida rugosa* ร่วมกับดีเทอร์เจนต์

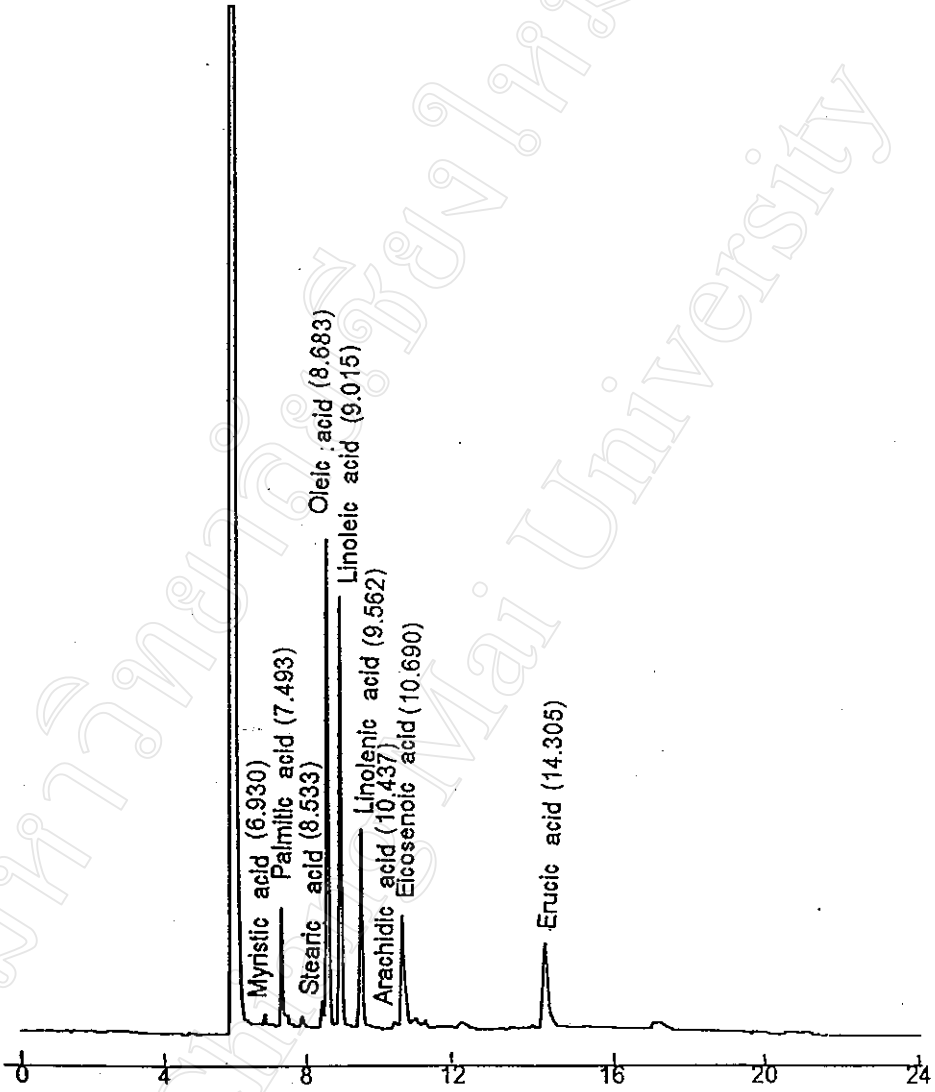
กรดไขมัน	เปอร์เซนต์ของกรดไขมันเทียบกับปริมาณไขมัน (เทียบกับปริมาณของกรดไขมันทั้งหมด)				
	C. rugosa lipase	C. rugosa lipase + A	C. rugosa lipase + B	C. rugosa lipase + C	C. rugosa lipase + D
กรดไมริสติค	-	0.01 (1.14)	0.02 (1.06)	0.02 (0.39)	0.01 (0.22)
กรดปาล์มิติค	0.18 (5.19)	0.07 (7.95)	0.13 (5.73)	0.38 (5.98)	0.37 (8.32)
กรดสเตียริค	0.07 (2.02)	0.02 (1.70)	0.04 (1.91)	0.16 (2.48)	0.13 (2.92)
กรดโอเลอิค	1.13 (32.76)	0.26 (28.98)	0.75 (32.06)	2.07 (32.22)	1.33 (30.03)
กรดไลโนเลอิค	0.98 (28.57)	0.24 (27.84)	0.65 (27.60)	1.56 (22.22)	0.97 (22.05)
กรดไลโนเลนิค	0.50 (14.57)	0.15 (17.61)	0.32 (13.59)	0.68 (10.64)	0.53 (11.92)
กรดอะราชิดิค	0.03 (0.72)	0.01 (0.57)	0.02 (0.64)	0.06 (1.01)	0.06 (1.35)
กรดไอโคซิโนดิค	0.15 (4.33)	0.04 (4.54)	0.15 (6.37)	0.41 (6.37)	0.45 (10.24)
กรดเบเฮนิค	-	-	-	0.03 (0.46)	0.02(0.34)
กรดอีรูซิค	0.41 (11.83)	0.08 (9.66)	0.26 (11.04)	1.04 (16.23)	0.56 (0.56)
กรดไขมันทั้งหมด	3.44	0.88	2.35	5.49	4.42

หมายเหตุ A = sodium dodecyl sulfate, B = sodium dodecylbenzene sulfonate, C = tetraethylammonium chloride, D = dodecyltrimethyl ammonium bromide

จากการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Candida rugosa* ร่วมกับดีเทอร์เจนต์ 4 ชนิด พบว่าการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสร่วมกับดีเทอร์เจนต์ในกลุ่ม cationic detergent คือ tetraethylammonium chloride และ dodecyltrimethyl ammonium bromide โดยมีปริมาณของกรดไขมันอิสระมากกว่าการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสเพียงอย่างเดียวภายใต้สภาวะที่ใช้ในการทดลอง โดยพบปริมาณของกรดไขมันทั้งหมดที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีกาซเท่ากับ 5.49 และ 4.42% ของน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดตามลำดับ และจากการวิเคราะห์โดยการไทเทรตพบปริมาณของกรดไขมันอิสระทั้งหมดเท่ากับ 6.34 และ 5.26% ของน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดตามลำดับ และเมื่อย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Candida rugosa* ร่วมกับดีเทอร์เจนต์กลุ่ม anionic detergent คือ sodium dodecyl sulfate และ sodium dodecylbenzene sulfonate พบปริมาณของกรดไขมันมีปริมาณน้อยกว่าการย่อยด้วยเอนไซม์ไลเปสเพียงอย่างเดียว โดยพบปริมาณของกรดไขมันที่วิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีกาซเท่ากับ 0.88 และ 2.35% ตามลำดับ และวิเคราะห์ด้วยการไทเทรตพบปริมาณของกรดไขมันอิสระทั้งหมดเท่ากับ 1.65 และ 2.94% ของน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดตามลำดับ จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ร่วมกับดีเทอร์เจนต์กลุ่ม anionic detergent พบว่ามีปริมาณน้อยกว่าการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสเพียงอย่างเดียว พบว่าดีเทอร์เจนต์กลุ่มนี้มีสมบัติเป็นตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสทำให้เอนไซม์ไม่สามารถย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดได้อย่างเต็มที่

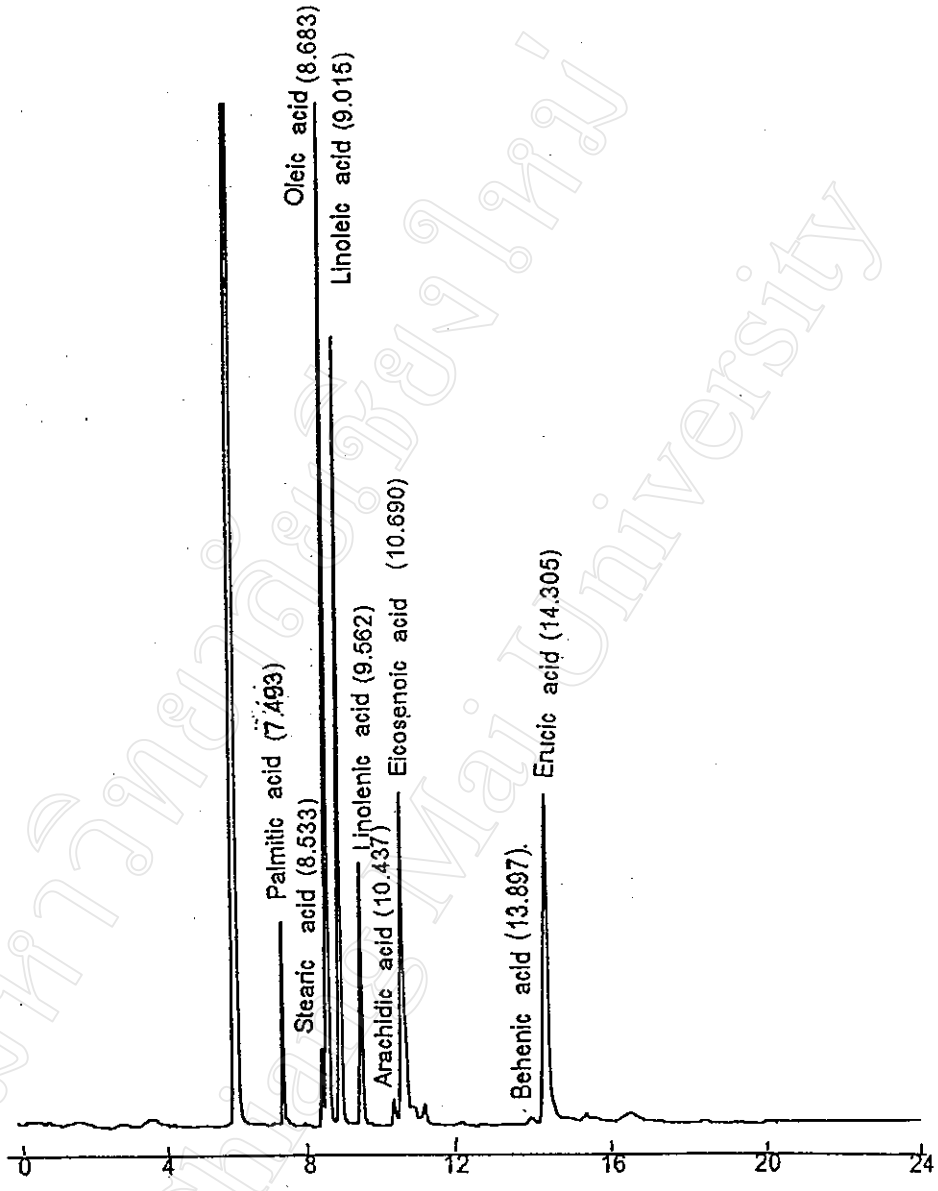
3.5.2 การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Aspergillus* sp. ร่วมกับดีเทอร์เจนต์

จากการศึกษาการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Aspergillus* sp. ร่วมกับดีเทอร์เจนต์ 4 ชนิดเช่นเดียวกับข้อ 3.6.1 ภายใต้สภาวะเดียวกันโดยใช้ปริมาณของเอนไซม์ไลเปส 25 ยูนิต จากนั้นนำกรดไขมันที่ได้ไปเตรียมเป็นเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันโดยผ่านกระบวนการเมธิลเลชั่น แล้ววิเคราะห์เพื่อหาปริมาณและชนิดของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบด้วยวิธีโครมาโทกราฟีกาซ ได้ผลการคำนวณหาปริมาณของกรดไขมันแต่ละชนิดที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสร่วมกับดีเทอร์เจนต์ ดังแสดงในตารางที่ 3.12 และรูปที่ 3.12 แสดงโครมาโทแกรมของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ถูกย่อยออกมา และคำนวณหาปริมาณของกรดไขมันอิสระทั้งหมดจากการวิเคราะห์โดยการไทเทรต ได้แสดงปริมาณของกรดไขมันในหมายเหตุของตารางที่ 3.12

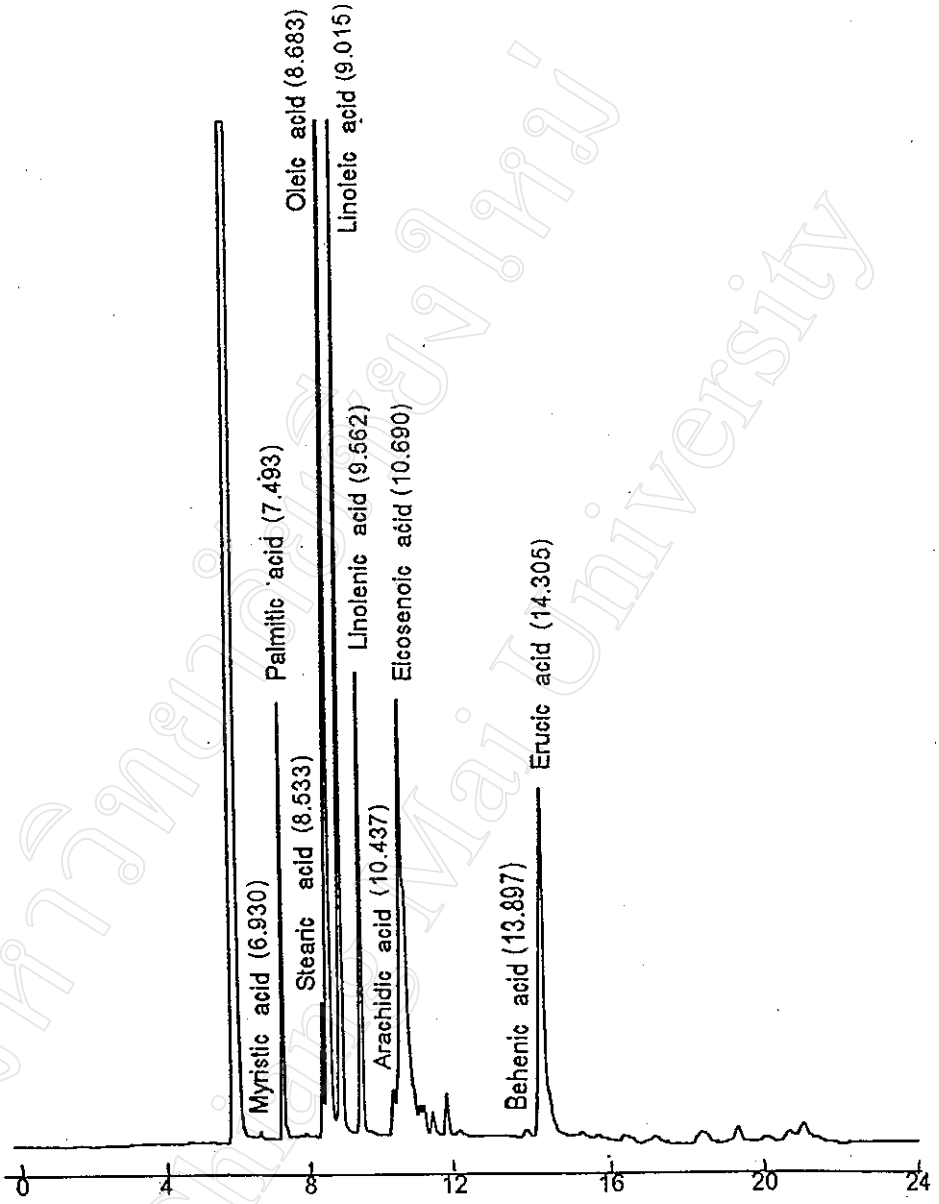


รูปที่ 3.11 **แสดงโครมาโทแกรมของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ได้จากการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ** *Candida rugosa* **ร่วมกับดีเทอร์เจนต์** sodium dodecyl sulfate **โดยวิเคราะห์โครมาโทกราฟีกาซ** GC-14A **คอลัมน์คาร์บอแวกซ์ ภายใต้สภาวะที่อุณหภูมิของคอลัมน์** 220 °C **อุณหภูมิของอินเจคเตอร์** 250 °C **และอุณหภูมิของดีเทคเตอร์** 280 °C

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

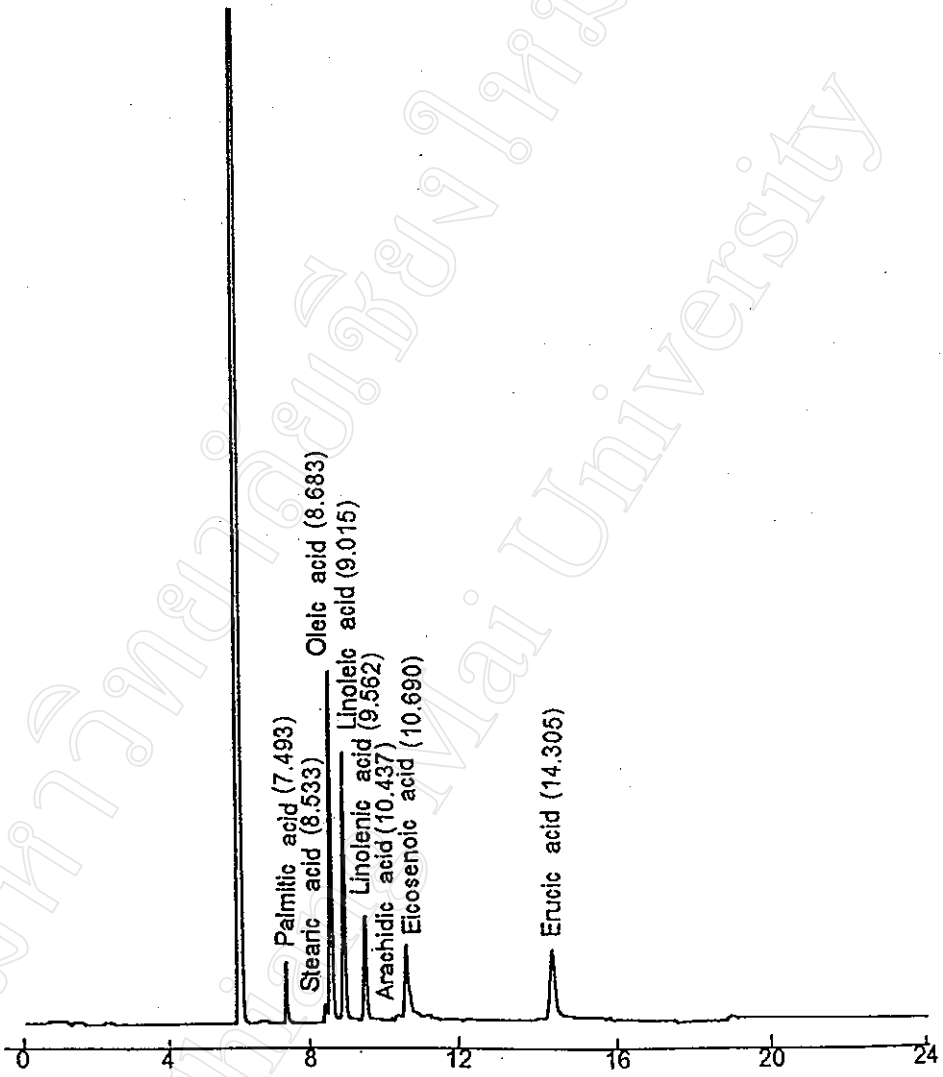


รูปที่ 3.11(ต่อ) **แสดงโครมาโทแกรมของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ได้จากการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ** *Candida rugosa* **ร่วมกับดีเทอร์เจนต์** sodium dodecylbenzene sulfonate **โดยวิเคราะห์โครมาโทกราฟีกาซ** GC-14A **คอลัมน์คาร์บอแวกซ์ ภายใต้สภาวะที่อุณหภูมิของคอลัมน์** 220 °C **อุณหภูมิของอินเจคเตอร์** 250 °C **และอุณหภูมิของดีเทคเตอร์** 280 °C



รูปที่ 3.11(ต่อ) **แสดงโครมาโทแกรมของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ได้จากการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ** *Candida rugosa* **ร่วมกับดีเทอร์เจนต์** tetraethylammonium chloride **โดยวิเคราะห์โครมาโทกราฟีกาซ** GC-14A **คอลัมน์คาร์บอแวกซ์ ภายใต้สภาวะที่อุณหภูมิของคอลัมน์** 220 °C **อุณหภูมิของอินเจคเตอร์** 250 °C **และอุณหภูมิของดีเทคเตอร์** 280 °C

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University



รูปที่ 3.11(ต่อ) **แสดงโครมาโทแกรมของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ได้จากการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ** *Candida rugosa* **ร่วมกับดีเทอร์เจนต์** dodecyltrimethyl ammonium bromide **โดยวิเคราะห์โครมาโทกราฟีกาซ** GC-14A **คอลัมน์คาร์บอแวกซ์ ภายใต้สภาวะที่อุณหภูมิของคอลัมน์** 220 °C **อุณหภูมิของอินเจคเตอร์** 250 °C **และอุณหภูมิของดีเทคเตอร์** 280 °C

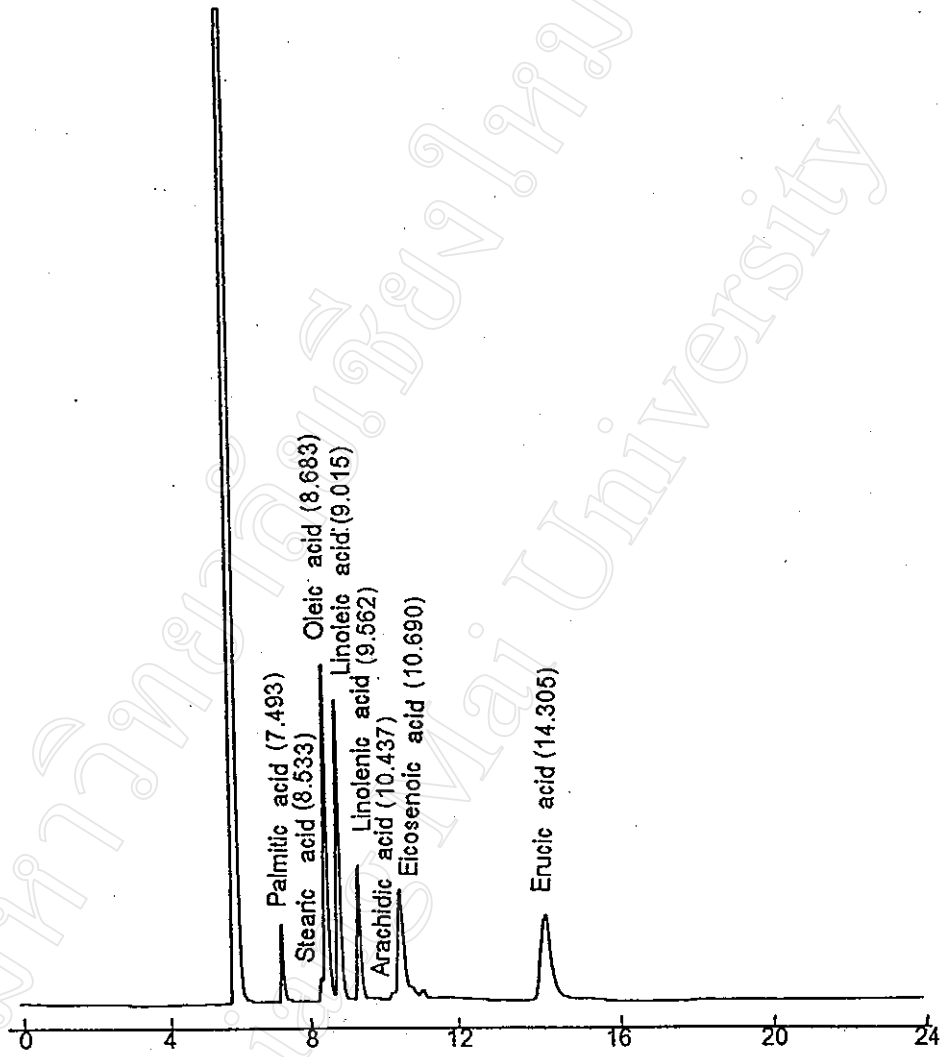
จากตารางที่ 3.12 สังเกตเห็นว่าปริมาณของกรดไขมันที่ย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสที่มีดีเทอร์เจนต์ร่วมด้วยมีปริมาณมากกว่าที่ไม่มีดีเทอร์เจนต์ร่วม และพบว่าดีเทอร์เจนต์ชนิด dodecyltrimethylammonium bromide ให้ปริมาณของกรดไขมันมากที่สุดเท่ากับ 1.79% ของน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดคิดเป็นเปอร์เซนต์ที่มากขึ้นเท่ากับ 138.86% เป็นดีเทอร์เจนต์ในกลุ่มที่มีประจุบวกในโมเลกุล และให้ผลการทดลองเหมือนกับการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Candida rugosa* โดยดีเทอร์เจนต์ในกลุ่ม cationic detergent คือ tetraethylammonium chloride และ dodecyltrimethyl ammonium bromide พบปริมาณของกรดไขมันอิสระมากกว่าการใช้เอนไซม์ไลเปสเพียงอย่างเดียว เท่ากับ 1.79 และ 1.10% ของน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดตามลำดับ ส่วนดีเทอร์เจนต์ในกลุ่ม anionic detergent คือ sodium dodecyl sulfate และ sodium dodecylbenzene sulfonate พบปริมาณของกรดไขมันทั้งหมดน้อยกว่าการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสอย่างเดียว โดยพบปริมาณของกรดไขมันอิสระเท่ากับ 0.67 และ 0.57% ของน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดตามลำดับ

จากการทดลองพบว่า ดีเทอร์เจนต์ที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นตัวช่วยในการเร่งการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ด เป็นดีเทอร์เจนต์ชนิดประจุบวก (cationic detergent) โดยจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Candida rugosa* พบว่าดีเทอร์เจนต์ที่เหมาะสมที่จะใช้เป็นตัวช่วยในการเร่งการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดคือ tetraethyl ammonium chloride และดีเทอร์เจนต์ที่เหมาะกับการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดของเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Aspergillus* sp. คือ dodecyl trimethylammonium bromide และพบว่าดีเทอร์เจนต์ในกลุ่ม anionic detergent มีสมบัติเป็นตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อทั้งสองชนิด โดยพบปริมาณของกรดไขมันทั้งหมดน้อยกว่าการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสอย่างเดียว

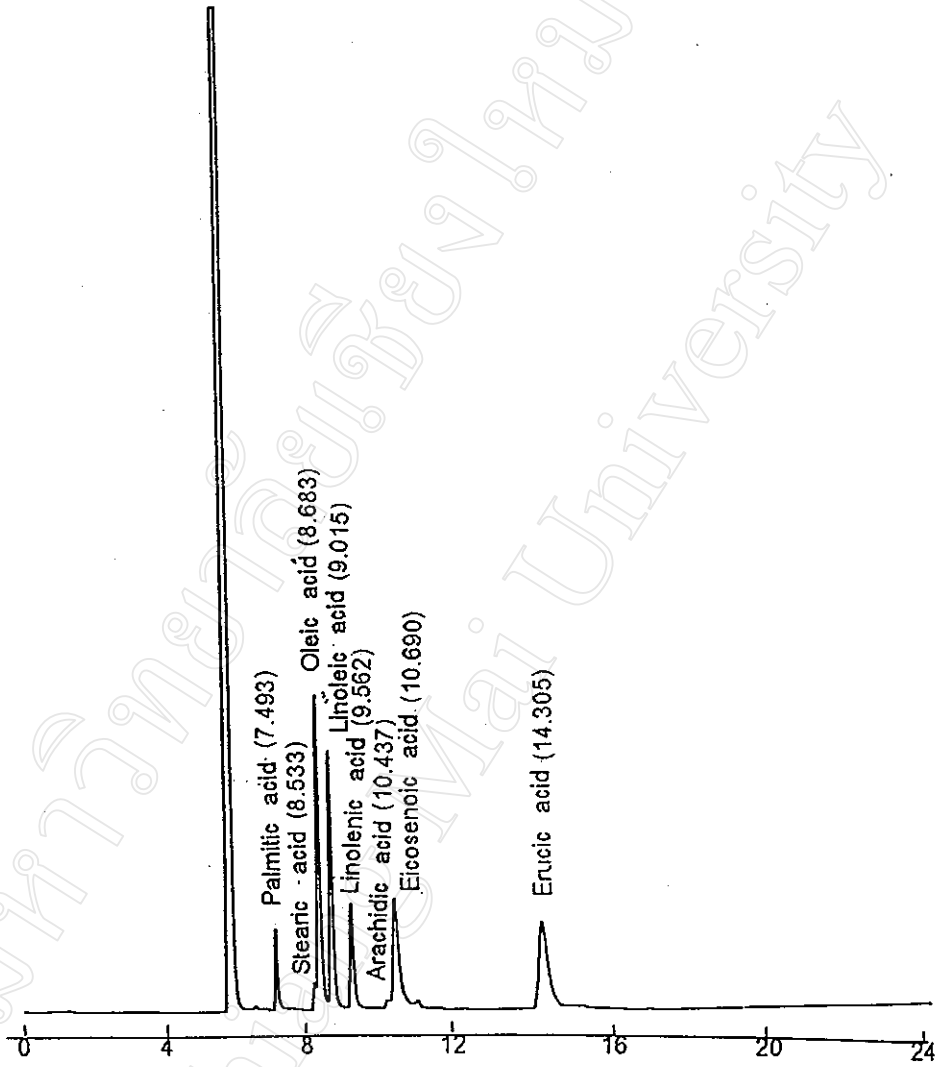
ตารางที่ 3.12 แสดงเปอร์เซนต์ของกรดไขมันจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Aspergillus* sp. ร่วมกับดีเทอร์เจนต์

กรดไขมัน	เปอร์เซนต์ของกรดไขมันอิสระ				
	Aspergillu sp. lipase	Aspergillu sp. lipase + A	Aspergillu sp. lipase + B	Aspergillu sp. lipase + C	Aspergillu sp. lipase + D
กรดไมริสติค	0.06 (7.41)	0.04 (6.16)	0.05 (7.69)	0.08 (7.31)	0.15 (8.16)
กรดสเตียริค	0.02 (2.31)	0.01 (1.90)	0.01 (2.10)	0.02 (2.33)	0.04 (2.49)
กรดโอเลอิค	0.21 (28.24)	0.18 (27.49)	0.19 (33.57)	0.31 (27.91)	0.49 (27.44)
กรดไลโนเลอิค	0.18 (24.07)	0.18 (26.67)	0.18 (31.47)	0.27 (23.92)	0.38 (21.54)
กรดไลโนเลนิค	0.09 (12.04)	0.10 (14.69)	0.01 (1.40)	0.14 (12.62)	0.19 (10.66)
กรดอะราชิดิค	0.01 (1.39)	0.01 (0.95)	-	0.01 (1.33)	0.02 (1.13)
กรดไอโคซิโนอิค	0.06 (8.33)	0.04 (6.16)	0.04 (7.69)	0.09 (7.97)	0.17 (9.30)
กรดอีรูซิค	0.12 (16.20)	0.11 (16.59)	0.09 (16.08)	0.18 (16.61)	0.35 (19.27)
กรดไขมันทั้งหมด	0.75	0.67	0.57	1.10	1.79

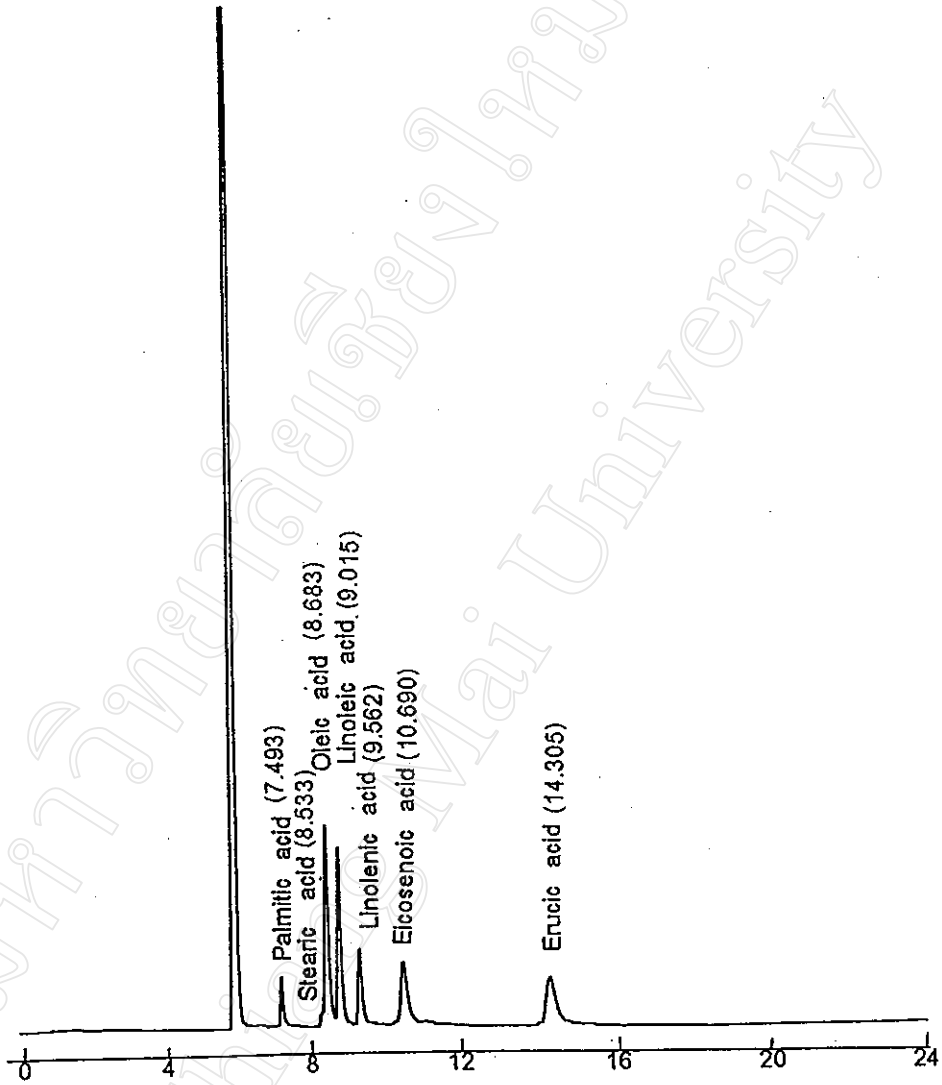
หมายเหตุ A = sodium dodecyl sulfate, B = sodium dodecylbenzene sulfonate, C = tetraethylammonium chloride, D = dodecyltrimethyl ammonium bromide และปริมาณของกรดไขมันเมื่อวิเคราะห์โดยการไทเทรตมีปริมาณ 0.87, 0.77, 0.83, 1.56 และ2.16%เมื่อย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ*Aspergillus* sp.ร่วมกับดีเทอร์เจนต์ตามลำดับ



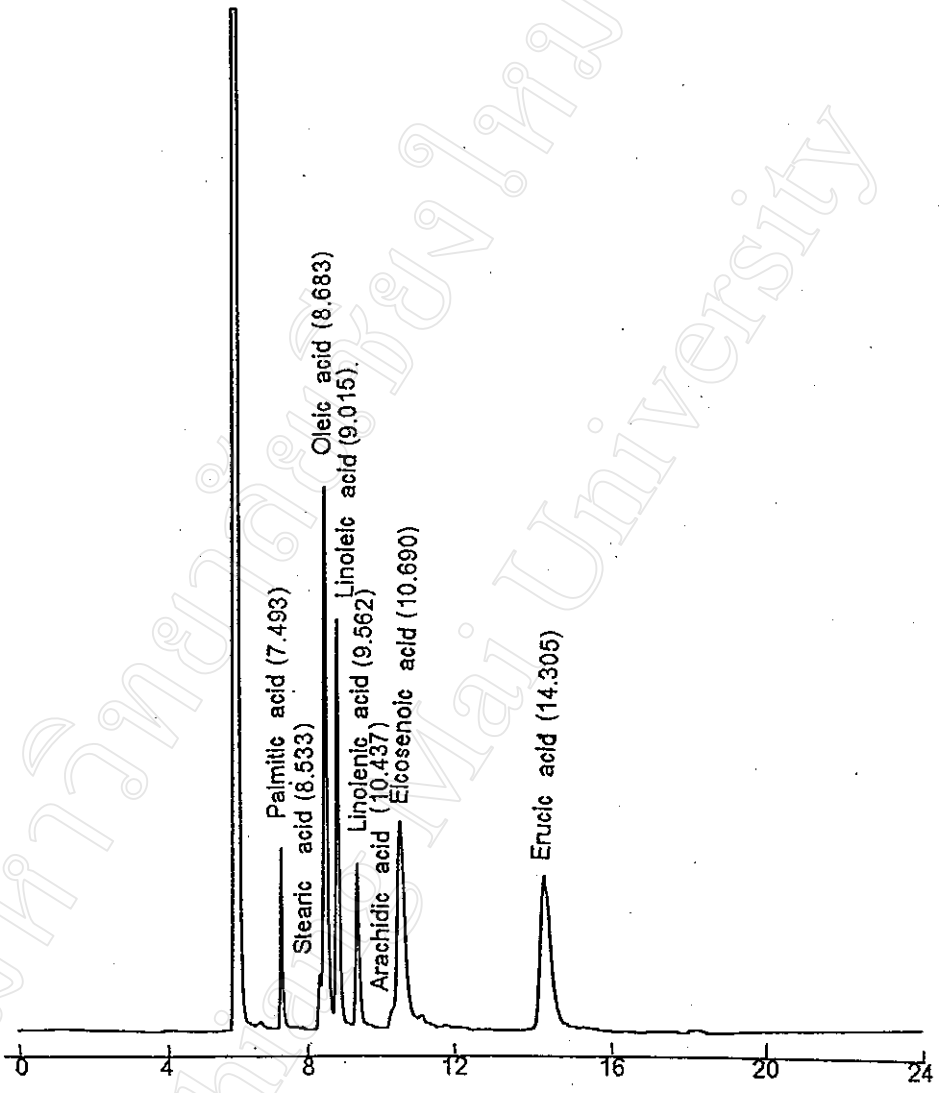
รูปที่ 3.12 **แสดงโครมาโทแกรมของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ได้จากการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ** *Aspergillus* sp.**ร่วมกับดีเทอร์เจนต์** sodium dodecyl sulfate **โดยวิเคราะห์โครมาโทกราฟีกาซ** GC-14A **คอลัมน์คาร์บอแวกซ์ ภายใต้สภาวะที่อุณหภูมิของคอลัมน์** 220 °C **อุณหภูมิของอินเจคเตอร์** 250 °C **และอุณหภูมิของดีเทคเตอร์** 280 °C



รูปที่ 3.12 (ต่อ) **แสดงโครมาโทแกรมของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ได้จากการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ** *Aspergillus* sp **ร่วมกับดีเทอร์เจนต์** sodium dodecylbenzene sulfonate **โดยวิเคราะห์โครมาโทกราฟีกาซ** GC-14A **คอลัมน์คาร์บอแวกซ์ ภายใต้สภาวะที่อุณหภูมิของคอลัมน์** 220 °C **อุณหภูมิของอินเจคเตอร์** 250 °C **และอุณหภูมิของดีเทคเตอร์** 280 °C



รูปที่ 3.12 **(ต่อ) แสดงโครมาโทแกรมของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ได้จากการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ** *Aspergillus* sp. **ร่วมกับดีเทอร์เจนต์** tetraethylammonium chloride **โดยวิเคราะห์โครมาโทกราฟีกาซ** GC-14A **คอลัมน์คาร์บอแวกซ์ ภายใต้สภาวะที่อุณหภูมิของคอลัมน์** 220 °C **อุณหภูมิของอินเจคเตอร์** 250 °C **และอุณหภูมิของดีเทคเตอร์** 280 °C



รูปที่ 3.12 (ต่อ) **แสดงโครมาโทแกรมของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ได้จากการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ** *Aspergillus* sp. **ร่วมกับดีเทอร์เจนต์** dodecyltrimethyl ammonium bromide **โดยวิเคราะห์โครมาโทกราฟีกาซ** GC-14A **คอลัมน์คาร์บอแวกซ์ ภายใต้สภาวะที่อุณหภูมิของคอลัมน์** 220 °C **อุณหภูมิของอินเจคเตอร์** 250 °C **และอุณหภูมิของดีเทคเตอร์** 280 °C

3.6 การแยกกรดอีรูซิคโดยวิธีตกผลึกที่อุณหภูมิต่ำ (crystallization at low temperature)

3.6.1 การย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Candida rugosa* และเชื้อ *Aspergillus* sp.

เมื่อย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Candida rugosa* และ *Aspergillus* sp. โดยใช้ปริมาณของเอนไซม์เท่ากับ 25 ยูนิตและย่อยสลายภายใต้อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เขย่าเป็นเวลานาน 20 ชั่วโมง แล้วนำกรดไขมันที่ได้ไปเตรียมเป็นอนุพันธ์เมธิลเอสเทอร์เพื่อวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีกาซ ตารางที่ 3.13 แสดงปริมาณของกรดไขมันที่ได้จากการย่อยสลายโดยคำนวณเทียบพื้นที่ใต้กับของกรดไขมันผสมมาตรฐานและปริมาณของกรดไขมันที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยการไทเทรตแสดงในหมายเหตุของตารางที่ 3.13

จากตารางเป็นการแสดงถึงปริมาณของกรดไขมันที่ถูกย่อยจากน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อทั้งสองชนิด ก่อนนำไปทำการตกผลึกที่อุณหภูมิต่ำเพื่อแยกกรดอีรูซิคออกจากกรดไขมันเจือปนชนิดอื่น ซึ่งแสดงไว้เพื่อเปรียบเทียบกับปริมาณของกรดไขมันที่ได้หลังจากการตกผลึกที่อุณหภูมิต่ำแล้ว โดยพบปริมาณของกรดอีรูซิคจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Candida rugosa* และ *Aspergillus sp.* เท่ากับ 0.82 และ 0.64 % ของน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดหรือเท่ากับ 11.13 และ 8.69% ของปริมาณของกรดไขมันที่วิเคราะห์ได้ทั้งหมด

3.6.2 การตกผลึกที่อุณหภูมิต่ำเพื่อแยกกรดอีรูซิคออกจากกรดไขมันอื่นที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Candida rugosa* โดยใช้ตัวทำละลายผสมต่างชนิดกัน

เมื่อทำการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยเอนไซม์ไลเปสทั้งสองซึ่งได้แสดงในข้อ 3.6.1 แล้ว จากนั้นนำมาตกผลึกที่อุณหภูมิต่ำ โดยได้ศึกษาสารละลาย 3 ชนิดที่ใช้ในการตกผลึกกรดอีรูซิคคือ เอธานอล เมธานอล และอะซิโตน โดยใช้ในลักษณะเป็นสารละลายน้ำผสมในอัตราส่วนที่เหมาะสม สารละลายน้ำผสมเอธานอลในอัตราส่วน 3:1 สารละลายน้ำผสมเมธานอล ในอัตราส่วน 8 : 1 และสารละลายน้ำผสมอะซิโตนในอัตราส่วน 5 : 1 และจะเติมสารละลายน้ำผสมลงไปเท่า 5.8 , 4.4 และ 5.8 มิลลิลิตรต่อกรัมของกรดไขมัน โดยทำการตกผลึกที่อุณหภูมิ -11 องศาเซลเซียส สารละลายทั้งหมดที่นำมาใช้ต้องแช่ที่อุณหภูมิ -11 องศา

เซลเซียสและทำการตกผลึกเพื่อแยกกรดอีรูซิคเป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง whatmam เบอร์ 1 แล้วนำผลึกที่ได้ไปเตรียมเป็นเมธิลเอสเทอร์เพื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีกาซ และคำนวณหาปริมาณของกรดอีรูซิคที่แยกได้รวมทั้งหาปริมาณของกรดไขมันอื่นที่ปนมาด้วย ดังแสดงในตารางที่ 3.14 และรูปที่ 3.13 แสดงโครมาโทแกรมของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ตกผลึกได้

ตารางที่ 3.13 แสดงเปอร์เซนต์ของกรดไขมันที่ย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Candida rugosa* และ จากเชื้อ *Aspergillus* sp. ก่อนการตกผลึกที่อุณหภูมิต่ำเพื่อแยกกรดอีรูซิค

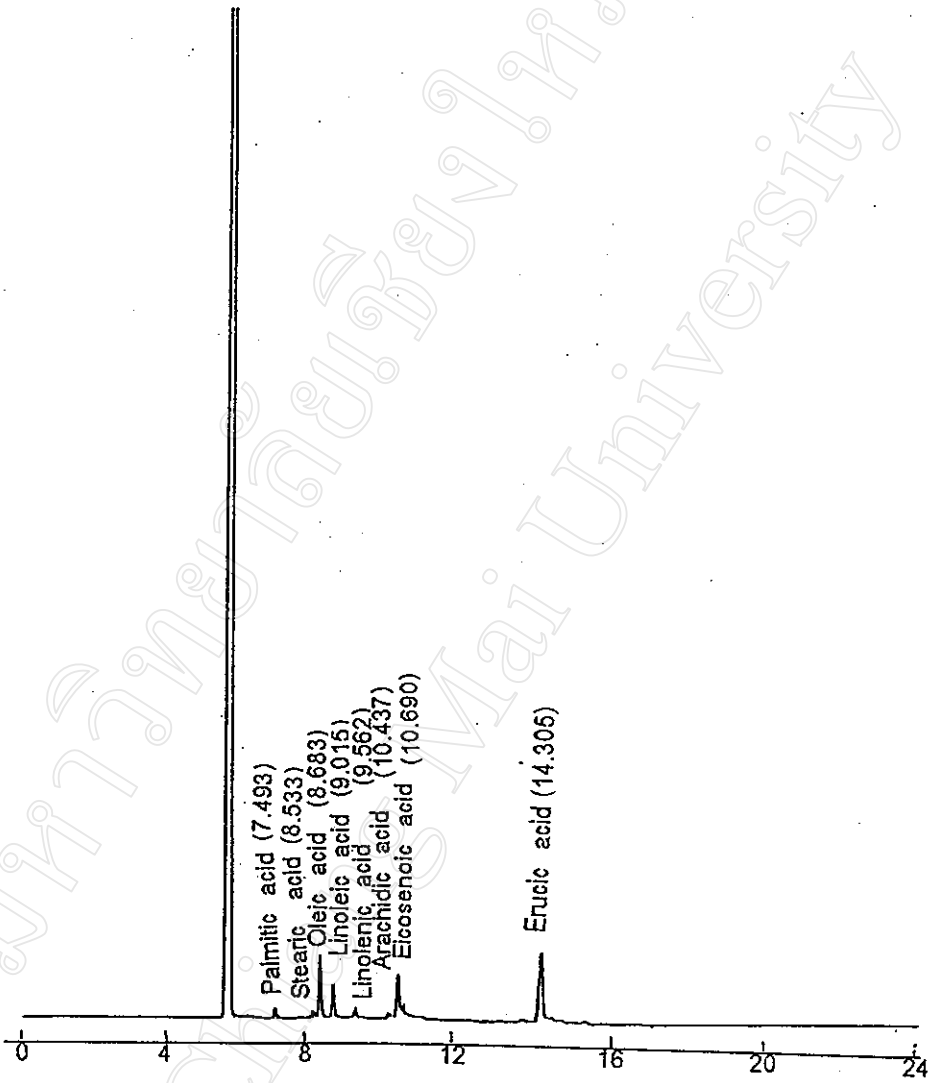
กรดไขมัน	เปอร์เซนต์ของกรดไขมันที่ถูกย่อยสลาย			
	Candida rugosa lipase		*Aspergillus* sp. lipase	
	เทียบกับปริมาณไขมัน	เทียบกับปริมาณกรดไขมันทั้งหมด	เทียบกับปริมาณไขมัน	เทียบกับปริมาณกรดไขมันทั้งหมด
กรดปาล์มิติค	0.35	4.82	0.78	10.73
กรดสเตียริค	0.13	1.77	0.22	3.07
กรดโอเลอิค	2.22	30.33	3.20	43.73
กรดไลโนเลอิค	2.16	29.40	1.21	16.51
กรดไลโนเลนิค	1.34	18.24	0.56	7.63
กรดอะราชิดิค	0.05	0.73	0.07	0.95
กรดไอโคซิโนอิค	0.26	3.57	0.64	8.69
กรดอีรูซิค	0.82	11.13	0.64	8.69
กรดไขมันทั้งหมด	7.33	-	7.32	-

หมายเหตุ ปริมาณของกรดไขมันอิสระทั้งหมดที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อทั้งสองชนิดมีค่าเท่ากับ 10.59 และ 9.34% ของน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดตามลำดับ

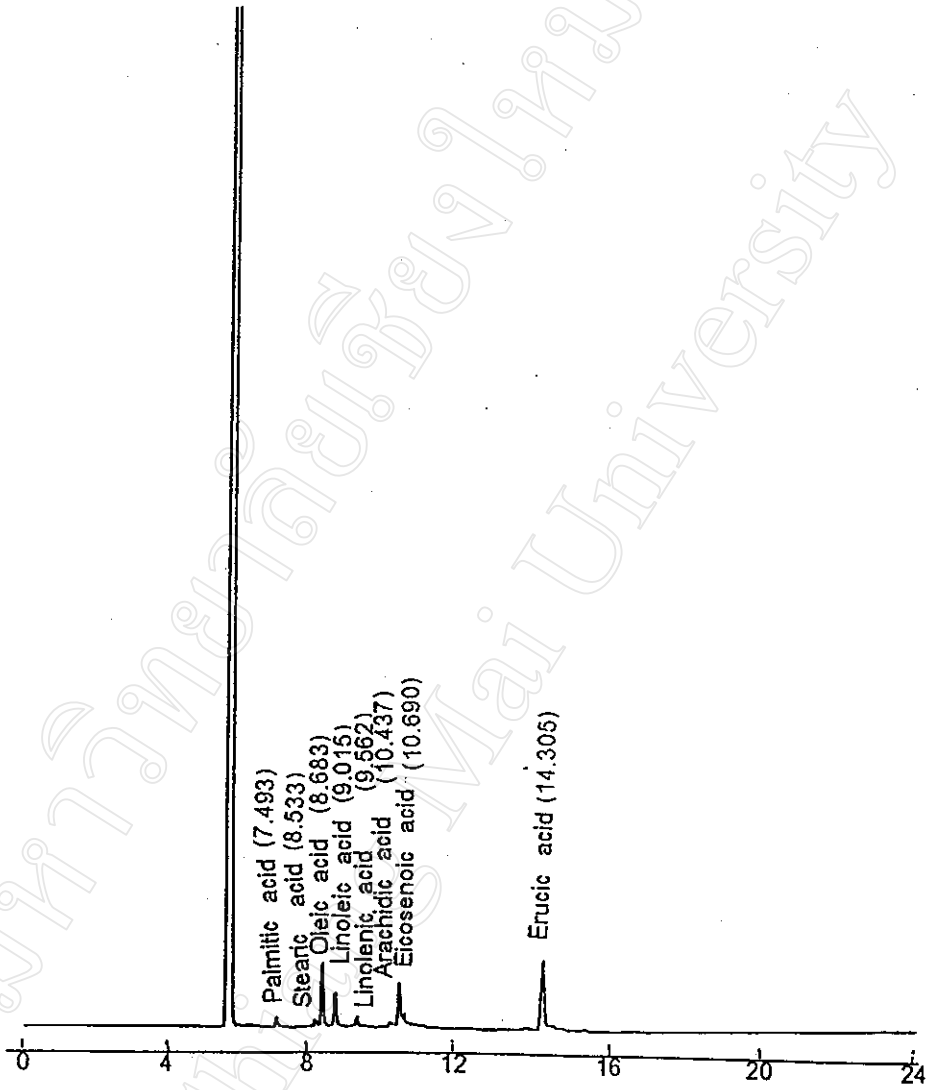
จากตารางที่ 3.14 แสดงปริมาณของกรดไขมันที่ได้จากการตกผลึกที่ -11 องศาเซลเซียสพบว่า เมื่อทำการตกผลึกกรดอีรูซิคด้วยสารละลายน้ำผสมเอธานอลพบว่า ได้กรดอีรูซิคมากกว่ากรดไขมันชนิดอื่น โดยพบปริมาณของกรดอีรูซิคเท่ากับ 0.08% ของน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดหรือเท่ากับ 31.75% เทียบกับปริมาณของกรดไขมันที่วิเคราะห์ได้ทั้งหมด และคิดเป็นเปอร์เซนต์โดยเทียบกับปริมาณของกรดอีรูซิคก่อนตกผลึกได้ประมาณ 10% และจากการตกผลึกที่อุณหภูมิ -11 องศาเซลเซียสด้วยสารละลายเมธานอลพบว่า ปริมาณของกรดอีรูซิคที่แยกได้มีน้อยมากเมื่อเทียบกับปริมาณของกรดโอเลอิคและกรดไลโนเลอิค โดยมีปริมาณเท่ากับ 13.98% ของกรดไขมันทั้งหมด ดังนั้นสารละลายน้ำผสมเมธานอลไม่เหมาะสมในการนำมาใช้เป็นตัวทำละลายในการแยกกรดอีรูซิคออกจากกรดไขมันเจือปนอื่น ส่วนการตกผลึกด้วยสารละลายน้ำผสมอะซิโตนพบว่า ปริมาณของกรดอีรูซิคมีน้อยกว่าการตกผลึกด้วยสารละลายน้ำผสมเอธานอล โดยพบมีปริมาณเท่ากับ 22.02% ของกรดไขมันทั้งหมด ซึ่งน้อยกว่าปริมาณของกรดโอเลอิคที่ได้

ตารางที่ 3.14 แสดงเปอร์เซนต์ของกรดอีรูซิคและกรดไขมันอื่นที่ได้จากการตกผลึกที่อุณหภูมิ -11 องศาเซลเซียสเมื่อย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Candida rugosa* และตกผลึกด้วยสารละลายผสมต่างชนิดกัน

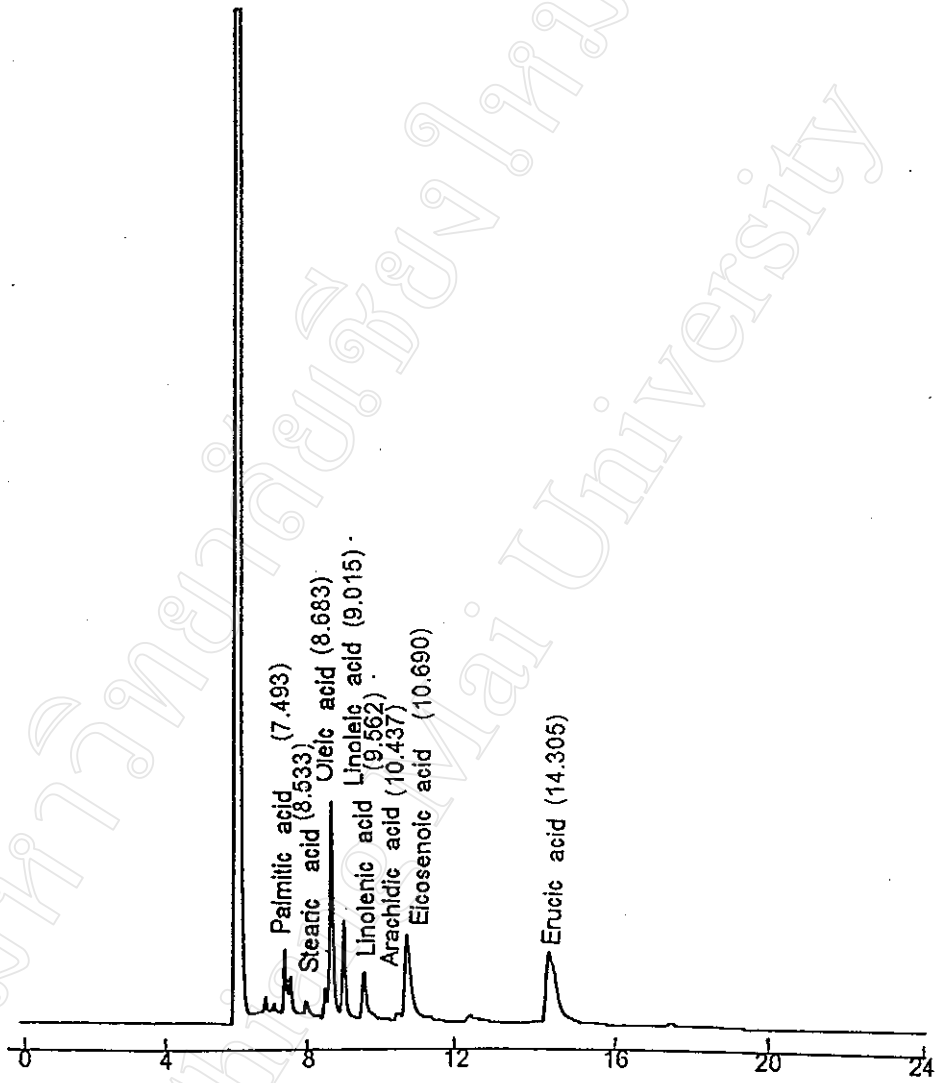
กรดไขมัน	เปอร์เซนต์ของกรดไขมันเทียบกับปริมาณไขมัน (เทียบกับปริมาณกรดไขมันทั้งหมด)		
	สารละลายน้ำผสมเอธานอล	สารละลายน้ำผสมเมธานอล	สารละลายน้ำผสมอะซิโตน
กรดปาล์มิติค	0.0142 (5.55)	0.2009 (7.02)	0.0206 (9.17)
กรดสเตียริค	0.0102 (3.97)	0.0827 (2.85)	0.0091 (4.59)
กรดโอเลอิค	0.0642 (25.40)	1.0430 (36.37)	0.0626 (28.44)
กรดไลโนเลอิค	0.0381 (15.68)	0.7666 (26.70)	0.0310 (14.68)
กรดไลโนเลนิค	0.0144 (5.55)	0.3121 (10.85)	0.0215 (10.09)
กรดอะราชิดิค	0.0076 (3.17)	0.0347 (1.18)	0.0034 (1.83)
กรดไอโคซิโนอิค	0.0232 (9.52)	0.1491 (5.22)	0.0203 (9.17)
กรดอีรูซิค	0.0801 (31.75)	0.4002 (13.98)	0.0478 (22.02)
กรดไขมันทั้งหมด	0.25	2.99	0.22



รูปที่ 3.13 **แสดงโครมาโทแกรมของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ได้จากการตกผลึกที่อุณหภูมิ** -11 **องศาเซลเซียสด้วยสารละลายน้ำผสมเอธานอลจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ** *Candida rugosa* **โดยวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีกาซ** GC-14A **คอลัมน์คาร์บอแวกซ์ ภายใต้อุณหภูมิคอลัมน์** 220 °C **อุณหภูมิของอินเจคเตอร์** 250 °C **และอุณหภูมิของดีเทคเตอร์** 280 °C



รูปที่ 3.13(ต่อ) **แสดงโครมาโทแกรมของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ได้จากการตกผลึกที่อุณหภูมิ** -11 **องศาเซลเซียสด้วยสารละลายน้ำผสมเมธานอลจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ** *Candida rugosa* **โดยวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีกาซ** GC-14A **คอลัมน์คาร์บอแวกซ์ ภายใต้อุณหภูมิคอลัมน์** 220 °C **อุณหภูมิของอินเจคเตอร์** 250 °C **และอุณหภูมิของดีเทคเตอร์** 280 °C



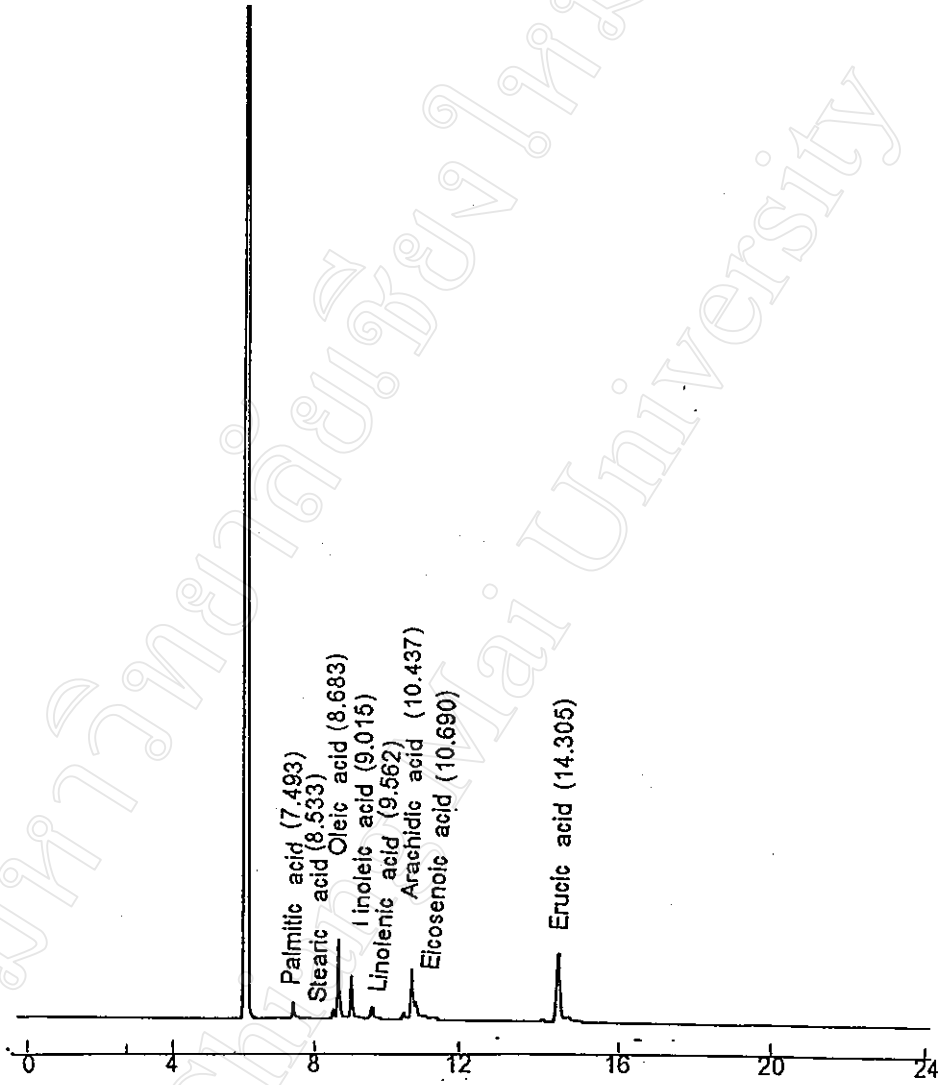
รูปที่ 3.13 (ต่อ) **แสดงโครมาโทแกรมของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ได้จากการตกผลึกที่อุณหภูมิ** -11 **องศาเซลเซียสด้วยสารละลายน้ำผสมอะซิโตนจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ** *Candida rugosa* **โดยวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีกาซ** GC-14A **คอลัมน์คาร์บอแวกซ์ ภายใต้อุณหภูมิคอลัมน์** 220 °C **อุณหภูมิของอินเจคเตอร์** 250 °C **และอุณหภูมิของดีเทคเตอร์** 280 °C

3.6.3 การตกผลึกที่อุณหภูมิต่ำเพื่อแยกกรดอีรูซิคออกจากกรดไขมันอื่นที่ย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Aspergillus* sp. โดยใช้สารละลายผสมต่างชนิดกัน

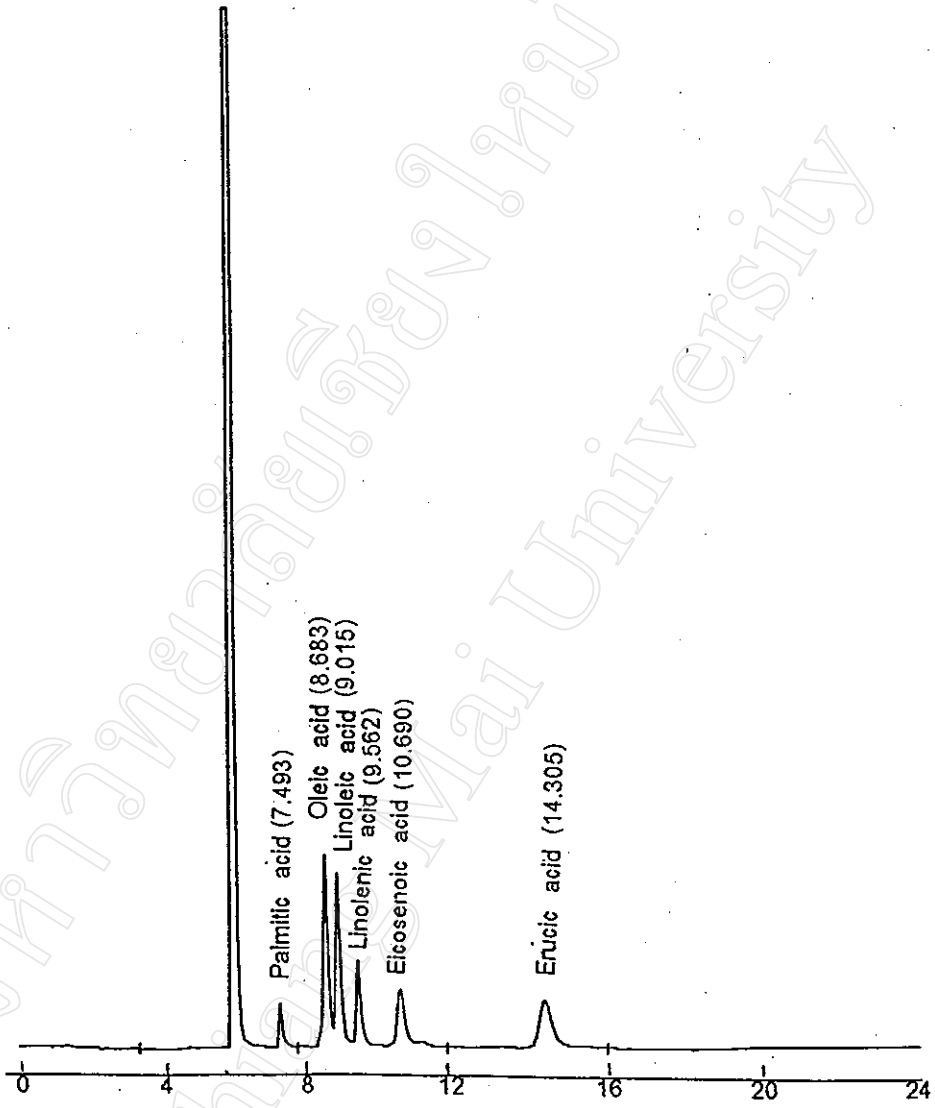
จากการศึกษาแยกกรดอีรูซิคออกจากกรดไขมันชนิดอื่นทั้งเพื่อนำกรดอีรูซิคไปใช้ประโยชน์ เมื่อทำการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Aspergillus* sp. จากนั้นนำกรดไขมันที่ย่อยสลายได้มาทำการตกผลึกที่อุณหภูมิต่ำ เพื่อแยกกรดอีรูซิคจากกรดไขมันเจือปนอื่น โดยทำการตกผลึกที่อุณหภูมิ -11 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเตรียมอนุพันธ์เมธิลเอสเทอร์ และวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีกาซเพื่อคำนวณหาปริมาณของกรดไขมัน และคำนวณปริมาณของกรดไขมันได้ผลดังแสดงในตารางที่ 3.15 และรูปที่ 3.14 แสดงโครมาโทแกรมของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ได้จากการตกผลึกที่อุณหภูมิ -11 องศาเซลเซียสด้วยสารละลายน้ำผสมตัวทำละลายต่างชนิดกัน

ตารางที่ 3.15 แสดงเปอร์เซนต์ของกรดอีรูซิคและกรดไขมันอื่นที่ได้จากการตกผลึกที่อุณหภูมิ -11 องศาเซลเซียสเมื่อย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Aspergillus* sp. และตกผลึกด้วยตัวทำละลายผสมต่างกัน

กรดไขมัน	เปอร์เซนต์ของกรดไขมันเทียบกับปริมาณไขมัน (เทียบกับปริมาณกรดไขมันทั้งหมด)		
	สารละลายน้ำผสมเอธานอล	สารละลายน้ำผสมเมธานอล	สารละลายน้ำผสมอะซิโตน
กรดปาล์มิติค	0.0009 (4.59)	0.0027 (6.40)	0.0026 (5.88)
กรดโอเลอิค	0.0042 (22.96)	0.0124 (32.00)	0.0131 (29.41)
กรดไลโนเลอิค	0.0023 (12.37)	0.0120 (24.00)	0.0124 (29.41)
กรดไลโนเลนิค	0.0010 (5.30)	0.0068 (16.00)	0.0066 (14.71)
กรดไอโคซิโนอิค	0.0015 (7.07)	0.0024 (5.60)	0.0029 (5.88)
กรดอีรูซิค	0.0050 (27.51)	0.0055 (16.00)	0.0083 (14.71)
กรดไขมันทั้งหมด	0.01	0.04	0.05

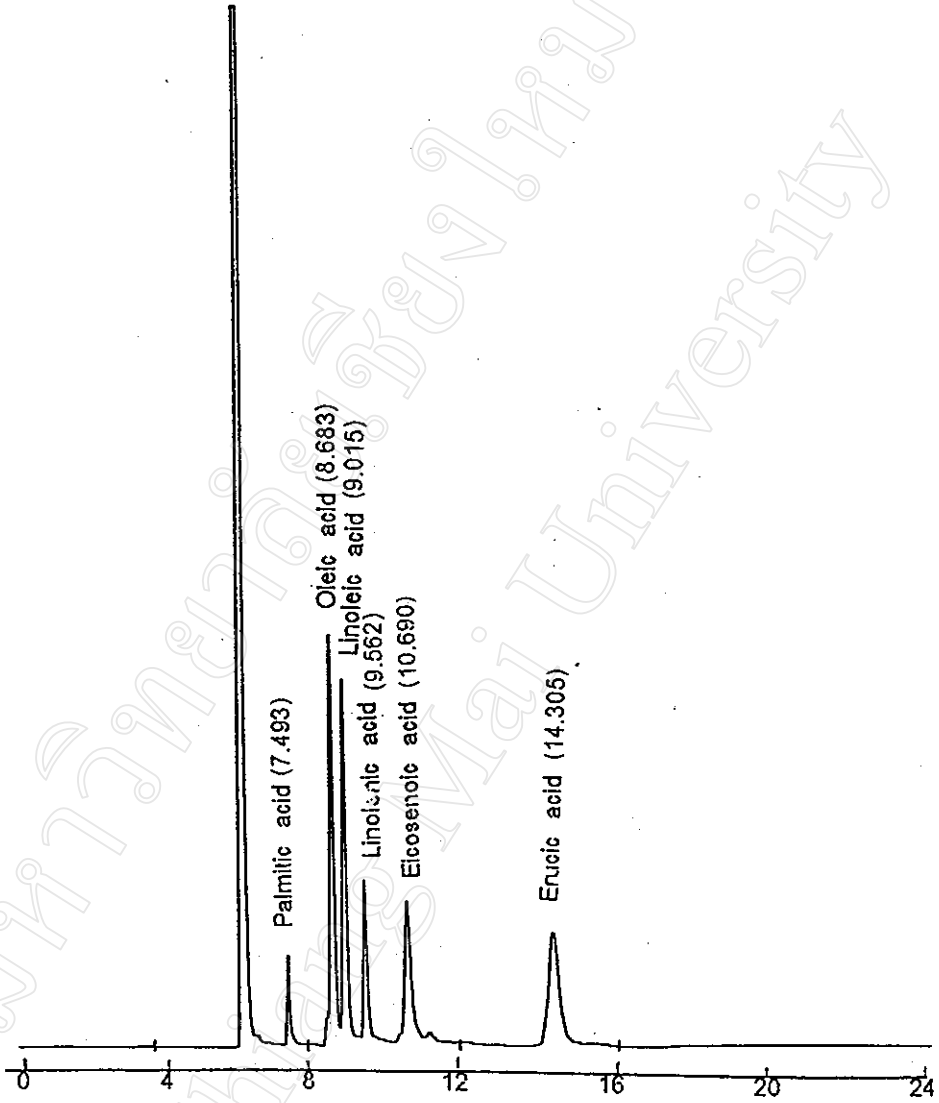


รูปที่ 3.14 **แสดงโครมาโทแกรมของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ได้จากการตกผลึกที่อุณหภูมิ** -11 **องศาเซลเซียสด้วยสารละลายน้ำผสมเอธานอลจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ** *Aspergillus* sp. **โดยวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีกาซ** GC-14A **คอลัมน์คาร์บอแวกซ์ ภายใต้อุณหภูมิคอลัมน์** 220 °C **อุณหภูมิของอินเจคเตอร์** 250 °C **และอุณหภูมิของดีเทคเตอร์** 280 °C



รูปที่ 3.14 **(ต่อ) แสดงโครมาโทแกรมของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ได้จากการตกผลึกที่อุณหภูมิ** -11 **องศาเซลเซียสด้วยสารละลายน้ำผสมเมธานอลจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ** *Aspergillus* sp. **โดยวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีกาซ** GC-14A **คอลัมน์คาร์บอแวกซ์ ภายใต้อุณหภูมิคอลัมน์** 220 °C **อุณหภูมิของอินเจคเตอร์** 250 °C **และอุณหภูมิของดีเทคเตอร์** 280 °C

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University



รูปที่ 3.14 **(ต่อ) แสดงโครมาโทแกรมของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ได้จากการตกผลึกที่อุณหภูมิ** -11 **องศาเซลเซียสด้วยสารละลายน้ำผสมอะซิโตนจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ** *Aspergillus* sp. **โดยวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีกาซ** GC-14A **คอลัมน์คาร์บอแวกซ์ ภายใต้อุณหภูมิคอลัมน์** 220 °C **อุณหภูมิของอินเจคเตอร์** 250 °C **และอุณหภูมิของดีเทคเตอร์** 280 °C

จากการแยกกรดอีรูซิคออกจากกรดไขมันชนิดอื่นที่ได้จากการย่อยสลายน้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Aspergillus* sp. ด้วยการตกผลึกที่อุณหภูมิ –11 องศาเซลเซียสพบว่า กรดอีรูซิคถูกแยกโดยมีปริมาณมากที่สุดเมื่อใช้สารละลายน้ำผสมเอธานอลในการตกผลึก โดยคิดเป็นเปอร์เซนต์ต่อ 100 กรัมของกรดไขมันที่วิเคราะห์ได้ทั้งหมด เท่ากับ 27.51% ดังนั้นสรุปได้ว่าสารละลายน้ำผสมที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการแยกกรดอีรูซิคด้วยการตกผลึกที่อุณหภูมิต่ำคือ สารละลายน้ำผสมเอธานอล และจากการทดลองการแยกกรดอีรูซิคด้วยการตกผลึกที่อุณหภูมิ -11 องศาเซลเซียสพบว่าจะมีกรดไขมันชนิดอื่นปนมาด้วย ทั้งนี้เนื่องมาจากว่ากรดไขมันแต่ละชนิดมีลักษณะโครงสร้างและจุดเยือกแข็งที่ค่อนข้างใกล้เคียงกัน จึงทำให้พบกรดไขมันชนิดอื่นปนมากับผลึกของกรดอีรูซิคด้วย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University