

ผลของวิธีการสกัดต่อปริมาณผลผลิตน้ำมัน คุณสมบัติทางเคมี และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากน้ำมันเมล็ดมะละกอ

EFFECT OF EXTRACTION METHODS ON RECOVERY OF OIL CHEMICAL PROPERTIES AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF PAPAYA SEED OIL

หญิงฤทัย หนุญยศ ระจิตร์ สุวพานิช กิตติชัย บรรจง*
Nuengruethai Noonyos, Rachit Suwaphanich, Kittichai Banjong*

คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
Faculty of Agro-industry, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang.

*Corresponding author, e-mail: kittichai.ba@kmitl.ac.th

บทคัดย่อ

วิธีการสกัดเป็นปัจจัยสำคัญที่สามารถส่งผลกระทบต่อคุณภาพและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันที่สกัดได้ การสกัดแบบใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัดเป็นวิธีการสกัดทางเลือกที่ช่วยลดอุณหภูมิและเวลาในการสกัด งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบผลของวิธีการสกัดที่แตกต่างกันต่อปริมาณสมบัติทางเคมีที่แสดงถึงคุณภาพของน้ำมัน (Acid Value; AV หรือ Free Fatty Acid; FFA, Peroxide Value; PV, p-Anisidine Value; p-AV และ Iodine Value; IV) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันเมล็ดมะละกอที่สกัดได้ (ปริมาณสารประกอบฟีนอล การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH และ ABTS) โดยวิธีการสกัดที่ทำการศึกษา ได้แก่ การสกัดแบบแช่ที่ 30°C (ML) การสกัดแบบแช่ที่ 58°C (MH) การสกัดแบบรีฟลักซ์ (RE) และการสกัดแบบใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัด (UAE) จากการทดลองพบว่า วิธีการสกัดแบบ MH ให้ผลผลิตน้ำมันสูงที่สุด ตามด้วยวิธีการสกัดแบบ ML, RE และ UAE วิธีการสกัดที่แตกต่างกันส่งผลให้น้ำมันที่ได้มีคุณภาพทางเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ยกเว้นค่า Iodine Value (IV) โดยวิธีการสกัดแบบ UAE ให้น้ำมันที่มีคุณภาพทางเคมีดีที่สุด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันที่สกัดด้วยวิธีต่างๆ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่วิธีการสกัดแบบ RE ให้น้ำมันที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด จากการทดลองพบว่า วิธีการสกัดแบบ UAE เป็นวิธีการสกัดที่มีประสิทธิภาพสูงสุด เมื่อพิจารณาจากปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ คุณภาพและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันที่สกัดได้

คำสำคัญ: น้ำมันเมล็ดมะละกอ การสกัดแบบใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัด สมบัติทางเคมีของน้ำมัน ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

Abstract

Extraction method was an important factor affecting quality and antioxidant activity of oil recovery. Ultrasound-assisted extraction is an alternative method to traditional approaches because it reduces extraction temperature and time. The objective of this research was to compare the effect of different extraction methods on recovery of oil, chemical properties associated

with quality of oil (Acid Value; AV or Free Fatty Acid; FFA, Peroxide Value; PV, p-Anisidine Value; p-AV and Iodine Value; IV) and antioxidant activity (total phenolic compounds, DPPH and ABTS). Extraction method include maceration at 30°C (ML), maceration at 58°C, reflux (RE) and ultrasound-assisted extraction (UAE). The results revealed that MH gave the highest oil yield, followed by ML, RE and UAE, respectively. Chemical properties and antioxidant activities of oil extracted from different methods were significantly different. Oil obtained from UAE was the most superior to the others in terms of chemical properties while refluxed oil showed the highest antioxidant activities. The result led to conclude that UAE was the most effective method in terms of oil yield, chemical qualities and antioxidant activities of the oil recovered.

Keywords: Papaya Seeds Oil, Ultrasound-Assisted Extraction, Chemical Property of Oil, Antioxidant Activity

บทนำ

มะละกอบนเป็นพืชเศรษฐกิจของประเทศไทย ที่สร้างรายได้เข้าประเทศได้สูงถึงปีละ 50 ล้านบาท [1] เมล็ดมะละกอบดเป็นของเหลือใช้จากอุตสาหกรรมเกษตรเนื่องจากยังมีการศึกษาการนำมาใช้ไม่มากเท่าใดนัก ในมะละกอหนึ่งผลประกอบด้วยเมล็ดสูงถึง 22% [2] โดยเมล็ดมะละกอประกอบด้วยไขมันถึง 30% [3] ซึ่งสูงกว่าในมะกอกและถั่วเหลือง [4-5] ที่เป็นแหล่งไขมันพืชเพื่อการบริโภคในมนุษย์ ในปัจจุบัน Syed และ Xiang [6-7] ได้ทำการศึกษากรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันจากเมล็ดมะละกอ พบว่ามีปริมาณของ Oleic Acid และ Palmitic Acid สูง และมีสัดส่วนใกล้เคียงกับน้ำมันมะกอก เมล็ดมะละกอจึงเป็นแหล่งของไขมันเพื่อบริโภคจากพืชที่น่าสนใจเมื่อพิจารณาในเชิงปริมาณและคุณภาพ และยังถือเป็นการแปรรูปของเหลือใช้ให้กลับมาเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าอีกครั้ง นอกจากนี้เมล็ดมะละกอดังกล่าวยังมีสารประกอบฟีนอล [8] ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยสารที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมักถูกนำมาใช้เพื่อเพิ่มความคงตัวในการดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีโอกาสเกิดการเปลี่ยนแปลงระหว่างกระบวนการผลิต [9] และมีการนำมาใช้เพื่อป้องกันการ

เปลี่ยนแปลงของกลิ่น รส และสีของอาหารที่มีไขมัน [10] กระบวนการแยกสารประกอบทางธรรมชาติมาใช้ประโยชน์นิยมทำการสกัดโดยการสกัดแบบแช่เป็นวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมที่ใช้การแพร่ของสารละลายสารประกอบทางธรรมชาติเพื่อนำสารประกอบดังกล่าวมาใช้ประโยชน์ ในปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีต่างๆ เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัด เช่น การสกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัดเป็นวิธีการสกัดทางเลือกที่มีประสิทธิภาพสูงกว่าการสกัดแบบดั้งเดิม [11] ช่วยลดระยะเวลาและอุณหภูมิในการสกัดซึ่งส่งผลให้สภาวะการสกัดดังกล่าวส่งผลกระทบต่อสารประกอบทางธรรมชาติที่มีความเสถียรต่ำน้อยกว่าวิธีการสกัดแบบดั้งเดิม โดยอาศัยการเกิด Sonication ที่ก่อให้เกิดความร้อน ความดันและแรงกลเฉือน ที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัด [12] การสัมผัสออกซิเจน ความร้อนและแสงถือเป็นปัจจัยที่ช่วยเร่งการเกิดออกซิเดชัน [13-14] ที่ส่งผลต่อคุณภาพของน้ำมัน โดยวิธีการสกัดที่แตกต่างกันมีชนิดและปริมาณของปัจจัยที่ช่วยเร่งการเกิดออกซิเดชันแตกต่างกันซึ่งอาจส่งผลให้น้ำมันที่สกัดได้มีคุณภาพแตกต่างกัน

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อใช้เปรียบเทียบผลของวิธีการสกัดน้ำมันจากเมล็ดมะละกอโดยวิธีการสกัดแบบใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัดกับวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมต่อปริมาณผลผลิตน้ำมัน สมบัติทางเคมี และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันที่สกัดได้

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมวัตถุดิบ

ทำความสะอาดเมล็ดมะละกอสุกสายพันธุ์ฮอลแลนด์ (*Carica papaya Linn.*) ด้วยน้ำสะอาด อบให้แห้งโดยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นบดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 0.67 มิลลิเมตร ก่อนบรรจุในถุงพลาสติก PE ปิดผนึก เก็บรักษาในโถดูดความชื้นจนกว่าจะทำการทดลอง

2. การศึกษาองค์ประกอบของเมล็ดมะละกอ

ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของเมล็ดมะละกอสุกสายพันธุ์ฮอลแลนด์ที่ผ่านการอบแห้งแล้ว โดยองค์ประกอบที่ทำการวิเคราะห์ได้แก่ ปริมาณความชื้น (Moisture) ไขมัน (Crude Oil) โปรตีน (Protein) เถ้า (Ash) เยื่อใย (Crude Fiber) และคาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate) ตามวิธี AOAC (2011) [15]

3. การสกัด

ทำการสกัดน้ำมันจากเมล็ดมะละกอโดยวิธีการสกัดแบบแช่ที่อุณหภูมิ 30°C (ML) และ 58°C (MH) การสกัดแบบรีฟลักซ์ (RE) และการสกัดแบบใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัด (UAE)

3.1 การสกัดแบบแช่

นำเมล็ดมะละกอและเฮกเซน 100 มิลลิลิตร ใส่ลงยังขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร จุ่มขวดรูปชมพู่ลงยังอ่างควบคุมอุณหภูมิ ทำการสกัดตามสภาวะที่กำหนดในตารางที่ 1 ก่อนกรองด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ทำการระเหยเฮกเซนโดยตู้

อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง (ในการทดลองที่ต้องการศึกษาปริมาณน้ำมันในการสกัด) หรือระเหยเฮกเซนโดย Rotary Evaporator ที่อุณหภูมิ 60°C (ในการทดลองที่ต้องการศึกษาคุณภาพของน้ำมัน)

3.2 การสกัดแบบรีฟลักซ์

นำเมล็ดมะละกอ 40 กรัม และเฮกเซน 600 มิลลิลิตร ใส่ลงยังขวดก้นกลมขนาด 1000 มิลลิลิตร ต่อขวดก้นกลมเข้ากับคอนเดนเซอร์และเครื่องทำน้ำเย็น ดำเนินการสกัดที่อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ก่อนกรองและระเหยเฮกเซนตามการทดลองที่ 3.1

3.3 การสกัดแบบใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัด

นำเมล็ดมะละกอ และเฮกเซน 100 มิลลิลิตร ใส่ลงยังขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร จุ่มขวดรูปชมพู่ลงยังอ่างคลื่นเสียงความถี่สูง (50/60 kHz, 280W) โดยทำการสกัดดังกล่าวเป็นการสกัดแบบทางอ้อมโดยใช้น้ำเป็นตัวกลาง ดำเนินการสกัดตามสภาวะที่กำหนดในตารางที่ 2 ก่อนกรองและระเหยเฮกเซนตามการทดลองที่ 3.1

4. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันจากเมล็ดมะละกอ

ทำการศึกษาสภาวะการสกัดที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันจากเมล็ดมะละกอโดยวิธีการสกัดแบบแช่ และการสกัดแบบใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัดโดยเทคนิคพื้นผิวตอบสนอง เพื่อใช้เปรียบเทียบผลของวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมและวิธีการสกัดแบบทางเลือกกว่ามีความแตกต่างกันเพียงใด โดยศึกษาปัจจัยในการสกัดหรือตัวแปรต้น 3 ตัวแปร ได้แก่ อุณหภูมิ (x_1) เวลา (x_2) และน้ำหนักเมล็ดมะละกอต่อเฮกเซน (x_3) ปัจจัยละ 5 ระดับ (ดังตารางที่ 1 และ 2) ตัวแปรตามที่ศึกษาได้แก่ ปริมาณน้ำมันที่ได้จากการสกัด ใช้แผนการทดลองแบบ Central Composite Design (CCD) ประกอบด้วย 8 Factorial Point, 6 Star Point และ 6 Central Point รวมทั้งหมด 20 การทดลอง

ตารางที่ 1 ช่วงปัจจัยของการสกัดแบบแช่ที่ใช้ในแผนการทดลอง CCD

ปัจจัย	ระดับ				
	Axi (-∞)	Low	Center	High	Axial (+∞)
	-1.682	-1	0	+1	+1.682
อุณหภูมิ (x_1 , °C)	31.18	38.00	48.00	58.00	64.82
เวลา (x_2 , ชั่วโมง)	0.95	3.00	6.00	9.00	11.05
เมล็ดมะละกอต่อกเฮกเซน (x_3 , กรัม/100 มิลลิลิตร)	1.59	5.00	10.00	15.00	18.41

ตารางที่ 2 ช่วงปัจจัยของการสกัดแบบใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัดที่ใช้ในแผนการทดลอง CCD

ปัจจัย	ระดับ				
	Axi (-∞)	Low	Center	High	Axial (+∞)
	-1.682	-1	0	+1	+1.682
อุณหภูมิ (x_1 , °C)	31.18	38.00	48.00	58.00	64.82
เวลา (x_2 , นาที)	4.77	15.00	30.00	45.00	55.23
เมล็ดมะละกอต่อกเฮกเซน (x_3 , กรัม/100 มิลลิลิตร)	1.59	5.00	10.00	15.00	18.41

5. การวิเคราะห์

เปรียบเทียบผลของวิธีการสกัดที่ต่างกัน ต่อปริมาณ สมบัติทางเคมี และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันที่สกัดได้ ทำการสกัด 4 วิธี ได้แก่ การสกัดแบบแช่ที่ 30°C (ML) เป็นตัวแทนของวิธีการสกัดที่ปราศจากการใช้ความร้อนและใช้ระยะเวลาในการสกัดมาก การสกัดแบบแช่ที่ 58°C (MH) เป็นตัวแทนของวิธีการสกัดที่ใช้ความร้อนปานกลางและใช้ระยะเวลาในการสกัดมาก การสกัดแบบรีฟลักซ์ (RE) เป็นตัวแทนของวิธีการสกัดที่ใช้อุณหภูมิสูงและใช้ระยะเวลาในการสกัดปานกลาง และการสกัดแบบใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัด (UAE) เป็นตัวแทนของวิธีการสกัดทางเลือกที่มีการนำการเกิด Sonication มาประยุกต์ใช้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัด ใช้อุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดต่ำ โดยสภาวะที่ใช้ในการสกัดของ MH และ UAE ได้มาจากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในหัวข้อที่ 4 สภาวะการสกัดแบบ ML และ MH ใช้เวลาและน้ำหนัก

ของเมล็ดมะละกอต่อกเฮกเซนเหมือนกัน แตกต่างเพียงอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด เพื่อพิจารณาว่าอุณหภูมิมีผลต่อปริมาณ สมบัติทางเคมี และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผลผลิตน้ำมัน มากน้อยเพียงใด ส่วนสภาวะการสกัดแบบ RE เป็นสภาวะที่ถูกกำหนดขึ้นเพื่อความสะดวกต่อการดำเนินงาน

5.1 ผลผลิตน้ำมัน

ทำการเปรียบเทียบปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากการสกัดทั้งสี่วิธี เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการสกัดที่ต่างกัน ปริมาณน้ำมันผลผลิตที่นำมาเปรียบเทียบของแต่ละวิธีการสกัดได้จากการคำนวณตามสมการที่ (1) และ (2)

$$\text{ปริมาณน้ำมันที่ได้จากการสกัด (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักน้ำมันที่ได้จากการสกัด}}{\text{น้ำหนักเมล็ดมะละกอ}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{ร้อยละของปริมาณน้ำมันทั้งหมด (\%)} = \frac{\text{ปริมาณน้ำมันที่ได้จากการสกัด (\%)}}{\text{ปริมาณน้ำมันทั้งหมดของเมล็ดมะละกอ (\%)}} \times 100 \quad (2)$$

5.2 สมบัติทางเคมีของน้ำมัน

วิเคราะห์ค่าความเป็นกรด และกรดไขมันอิสระ (Acid Value; AV และ Free Fatty Acid; FFA), ค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide Value; PV) และค่าพาราวะนิซินดีน (p-Anisidine Valur; p-AV) ตามวิธี AOCS (1997) [16] และวิเคราะห์ค่าไอโอดีน (Iodine Value; IV) ตามวิธี AOCS (2009) [17]

5.3 ปริมาณฟีนอลิก (Total Phenolic) ดัดแปลงมาจาก Hrnčirik and Frit [18]

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอล โดยวิธี Folin-Ciocalteu ทำการทดลองโดยชั่งตัวอย่างน้ำมัน 2.5 กรัม เติมหะกอก 5 มิลลิลิตร และสารละลายเมทานอล/น้ำกลั่น (3:2 v/v) 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันก่อนนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3500 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที ปิดเตาสวนใส 2.5 มิลลิลิตร ก่อนปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย Folin-Ciocalteu 0.5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 3 นาที ก่อนเติมสารละลาย Sodium Carbonate (35% w/v) 1 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรรวม 10 มิลลิลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 725 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดจากกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกในช่วง 0-30 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

5.4 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

5.4.1 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ดัดแปลงมาจาก Lee และคณะ [19]

ทำการทดลองโดยนำน้ำมัน 0.2 กรัม ใส่ลงยังหลอดทดลอง ปรับปริมาตร

รวมโดยเอทิล อะซิเตทให้ได้ 1 มิลลิลิตร เติมหาสารละลาย DPPH 4.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย Vortex Mixer ก่อนตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 60 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 515 นาโนเมตร โดยใช้เอทิล อะซิเตทเป็นสารละลาย เปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระกับกราฟมาตรฐานของโทรลอกซ์ในช่วง 0-5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

5.4.2 วิเคราะห์ความสามารถในการฟอกสีอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ตามการทดลอง Pellegrini และคณะ [20]

6. วิธีการวิเคราะห์ทางสถิติ

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันจากเมล็ดมะละกอ วางแผนการทดลองแบบ Central Composite Design (CCD) โดยพิจารณาตัวแปรต้นสามตัวแปร ได้แก่ อุณหภูมิในการสกัด เวลาและน้ำหนักเมล็ดมะละกอต่อกเฮกเซน 100 มิลลิลิตร ตัวแปรตาม ได้แก่ ปริมาณน้ำมันที่ได้จากการสกัด (%) ใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน หรือ Analysis of Variance (ANOVA) ในการระบุความมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมัน วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) ให้วิธีการสกัดเป็นทรีทเมนต์ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลสถิติ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย New Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

การหาความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟีนอลและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันเมล็ดมะละกอโดยวิธีการกำจัดอนุมูลอิสระ (DPPH)

และฟอกสีอนุมลิวิธระ (ABTS) โดย Pearson Correlation ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ผลการวิจัย

1. การศึกษาองค์ประกอบของเมล็ดมะละกอ การวิเคราะห์องค์ประกอบของเมล็ดมะละกอ พันธุ์ฮอลแลนด์อบแห้ง พบว่ามีปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เยื่อใย เถ้าและคาร์โบไฮเดรต ร้อยละ 5.75 ± 0.04 , 28.04 ± 0.51 , 29.34 ± 0.32 , 0.26 ± 0.00 , 0.09 ± 0.00 และ 36.52 ± 0.00 (โดยน้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ ดังตารางที่ 3 แต่มีความแตกต่างเล็กน้อยกับ งานวิจัยของ Dakare และคณะ [3] ที่ทำการวิเคราะห์ องค์ประกอบของเมล็ดมะละกอสายพันธุ์ฮอลแลนด์

พบว่ามีปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เยื่อใย เถ้า และคาร์โบไฮเดรต 10.57 ± 0.31 , 21.72 ± 0.37 , 48.50 ± 0.45 , 0.57 ± 0.23 , 4.09 ± 0.16 และ 14.55 ± 0.52 (โดยน้ำหนักแห้ง) สอดคล้องกับ งานวิจัยของ Briones-Labarca และคณะ [12] ที่ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของเมล็ด มะละกอพันธุ์ชิลี พบว่าเมล็ดมะละกอมีปริมาณ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เยื่อใย เถ้า และคาร์โบไฮเดรต ร้อยละ 3.50, 31.84, 30.48, 24.41, 3.96 และ 30.22 (โดยน้ำหนักแห้ง) ตามลำดับจากการทดลองพบว่าเมล็ดมะละกอ มีปริมาณไขมันอยู่ในช่วงร้อยละ 30 โดยขึ้นอยู่กับ สายพันธุ์และสภาพแวดล้อมในการเพาะปลูก

ตารางที่ 3 องค์ประกอบของเมล็ดมะละกออบแห้ง

องค์ประกอบ	ร้อยละ (โดยน้ำหนักแห้ง)
ความชื้น	5.75 ± 0.04
โปรตีน	28.04 ± 0.51
ไขมัน	29.34 ± 0.32
เยื่อใย	0.26 ± 0.00
เถ้า	0.09 ± 0.00
คาร์โบไฮเดรต	36.52 ± 0.00

2. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด น้ำมันจากเมล็ดมะละกอ

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด แบบแช่และการสกัดแบบใช้คลื่นเสียงความถี่สูง ช่วยสกัด พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด แบบแช่ ได้แก่ การสกัด ณ อุณหภูมิ 58°C เป็นเวลา 9 ชั่วโมง โดยใช้เมล็ดมะละกอต่อกเฮกเซน 5 กรัม/100 มิลลิลิตร ให้น้ำมันที่สกัดได้ 29.18% หรือร้อยละ 99.45% ของปริมาณน้ำมันทั้งหมด และสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแบบใช้คลื่นเสียง ความถี่สูง ได้แก่ การสกัด ณ อุณหภูมิ 47°C เป็นเวลา 35 นาที 28 วินาที โดยใช้อัตราส่วน

ระหว่างเมล็ดมะละกอต่อกเฮกเซน 5 กรัม/100 มิลลิลิตร ให้น้ำมันที่สกัดได้ 26.35% หรือร้อยละ 89.81% ของปริมาณน้ำมันทั้งหมด จากการทดลอง พบว่า วิธีการสกัดแบบแช่ให้ผลผลิตน้ำมันสูง กว่าวิธีการสกัดแบบใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Puangsri และ Samaram [21-22] แต่แตกต่างจาก งานวิจัยของ Zhang และคณะ [23] ที่พบว่าการสกัด แบบใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัดให้ผลผลิต สูงกว่าการสกัดแบบแช่ ซึ่งจากผลการทดลองนี้ ปริมาณผลผลิตน้ำมันที่ได้แปรผันตามสภาวะ การสกัด โดยพิจารณาเลือกสภาวะที่พึงประสงค์

จากการสกัดที่ให้ปริมาณน้ำมันในการสกัดสูงสุด โดยใช้อุณหภูมิต่ำ ระยะเวลาในการสกัดน้อย และใช้เมล็ดมะละกอต่อกเฮกเซนมาก เพื่อลดพลังงานและสารละลายสิ้นเปลืองในการสกัด

3. ผลของวิธีการสกัดต่อปริมาณน้ำมันที่ได้จากการสกัด

ปริมาณน้ำมันของเมล็ดมะละกอกที่สกัดด้วยวิธี ML, MH, RE และ UAE แสดงดังตารางที่ 4 พบว่าวิธีการสกัดแบบ MH สกัดน้ำมันออกมาจากวัตถุดิบได้มากที่สุด ตามด้วย ML, RE และ UAE

คือ 99.45, 91.51, 90.73 และ 89.81% ของปริมาณน้ำมันทั้งหมด เนื่องจาก MH ใช้อุณหภูมิสูง และใช้เวลาในการสกัดมาก สอดคล้องกับงานวิจัยของ Samaram และคณะ [24] ซึ่งทำการศึกษาผลของปัจจัยในการสกัดที่มีผลต่อปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากเมล็ดมะละกอก พบว่าปริมาณสารละลายอุณหภูมิและเวลาที่มากขึ้นมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณน้ำมันที่ได้จากการสกัดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 4 ผลผลิตน้ำมันเมล็ดมะละกอกที่ได้จากการสกัดจากสภาวะที่เหมาะสม

วิธีการสกัด	สภาวะการสกัด			ปริมาณน้ำมันที่ได้จากการสกัด (%)	ร้อยละของปริมาณน้ำมันทั้งหมด
	อุณหภูมิ	เวลา	เมล็ดมะละกอต่อกเฮกเซน		
ML	30°C	9 ชม.	5 กรัม / 100 มิลลิลิตร	26.85	91.51
MH	58°C	9 ชม.	5 กรัม / 100 มิลลิลิตร	29.18	99.45
RE	70°C	6 ชม.	40 กรัม / 600 มิลลิลิตร	26.62	90.73
UAE	47°C	35.47 น.	5 กรัม / 100 มิลลิลิตร	26.35	89.81

4. ผลของวิธีการสกัดต่อสมบัติทางเคมีของน้ำมัน

สมบัติทางเคมีของน้ำมันเมล็ดมะละกอกที่สกัดด้วยวิธี ML, MH, RE และ UAE แสดงดังตารางที่ 5 ค่า Acid Value (AV) และ Free Fatty Acid (FFA) เป็นตัวชี้วัดกรดไขมันอิสระในน้ำมันที่เกิดจากการแตกตัวของไตรเอซิลกลีเซอรอล [20] โดยกรดไขมันที่เกิดขึ้นจะส่งผลให้น้ำมันที่สกัดได้มีคุณภาพลดลง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Tamzid และคณะ [25] จากการทดลองนี้พบว่า น้ำมันที่ได้จากการสกัดแบบ UAE มีค่า AV และ FFA น้อยที่สุดและมีความแตกต่างจากวิธีอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยการสกัดแบบ ML และ RE ให้ค่า AV

และ FFA ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ส่วนการสกัดแบบ MH มีผลกระทบต่อไตรเอซิลกลีเซอรอลมากที่สุดเมื่อพิจารณาจากค่า AV และ FFA อาจเกิดจากสภาวะการสกัดที่มีปัจจัยที่ช่วยเร่งการเกิดออกซิเดชัน เช่น การสัมผัสออกซิเจน ความร้อนและแสง [13-14] มากกว่าวิธีการสกัดอื่นๆ ความร้อนเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่ส่งผลให้น้ำมันมีคุณภาพลดลง [26] และอุณหภูมิที่สูงยังส่งผลให้น้ำมันมี Acid Value สูงขึ้น [27] ส่วนวิธี UAE เป็นการสกัดด้วยหลักการ Sonication ที่อุณหภูมิก่อนข้างต่ำ (47°C) เมื่อเทียบกับการสกัดอื่นๆ (RE 70°C และ MH 58°C) จึงส่งผลต่อการเสื่อมเสียของไตรเอซิลกลีเซอรอลน้อยที่สุด

ตารางที่ 5 สมบัติทางเคมีของน้ำมันเมล็ดมะละกอที่สกัดด้วยวิธีต่างๆ ดังตารางที่ 4

วิธีการสกัด	AV (mg KOH.g ⁻¹)	FFA (%)	PV (mequiv./kg)	p-AV	IV ^{ns} (mg I ₂ /100g)
ML	1.01 ± 0.00 ^b	0.51 ± 0.00 ^b	2.42 ± 0.01 ^b	6.39 ± 0.61 ^{ab}	60.62 ± 1.58
MH	1.32 ± 0.03 ^c	0.66 ± 0.01 ^c	4.47 ± 0.23 ^c	5.14 ± 0.25 ^a	61.68 ± 1.19
RE	1.03 ± 0.03 ^b	0.52 ± 0.01 ^b	NA	7.75 ± 0.78 ^b	61.52 ± 2.05
UAE	0.94 ± 0.01 ^a	0.47 ± 0.00 ^a	1.08 ± 0.49 ^a	5.54 ± 1.05 ^a	63.27 ± 1.22

หมายเหตุ : a, b, c คือ อักษรกำกับในแนวตั้งต่างกันหมายความว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (P ≤ 0.05), NA คือ ไม่มีข้อมูล

จากงานวิจัยนี้พบว่า การสกัดแบบ UAE ให้น้ำมันที่มีค่า Peroxide Value (PV) น้อยที่สุด คือ 1.08 mequiv/kg ตามด้วยการสกัดแบบ ML และ MH คือ 2.42 และ 4.47 mequiv/kg ตามลำดับ ส่วนน้ำมันที่ได้จากการสกัดแบบ RE มีค่า PV น้อยมากจนไม่สามารถตรวจสอบได้ ค่า Peroxide Value หรือ PV เป็นดัชนีบ่งชี้ขั้นเริ่มต้นของการเกิดกลิ่นหืนและใช้ตรวจวัดผลิตภัณฑ์ขั้นเริ่มต้นของการเกิดออกซิเดชันในไขมัน [20] โดยการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันชนิดนี้จำเพาะกับกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว [28] ซึ่งนำไปสู่การลดลงของคุณภาพน้ำมัน [29] หากน้ำมันที่สกัดได้มีค่า PV สูง แสดงถึงการเกิดออกซิเดชันมาก จากงานวิจัยนี้พบว่า PV ของน้ำมันที่สกัดได้จาก UAE มีค่าน้อยที่สุด เป็นไปในทิศทางเดียวกับ AV เนื่องจากการสกัดแบบ UAE ส่งผลให้น้ำมันเกิดการออกซิเดชันน้อยที่สุด จากงานวิจัยของ Dawodu และคณะ [30] พบว่าน้ำมันถั่วลิสงคั่ว น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันดอกทานตะวัน น้ำมันมะกอกและน้ำมันปาล์มมีค่า PV เท่ากับ 1.80-2.31, 2.01-3.60, 2.30-3.82, 5.20-6.10 และ 6.01-7.02 Meq/kg โดยน้ำมันจะมีค่า PV แตกต่างกันไปตามชนิดและวิธีการสกัดที่แตกต่างกันซึ่งมีสภาวะในการสกัดที่แตกต่างกัน โดยเปอร์ออกไซด์เป็นสารประกอบที่ไม่เสถียรสามารถเปลี่ยนเป็นสารทุติยภูมิได้ เช่น อัลดีไฮด์ คีโตน และกรดอินทรีย์ [30] ดังนั้นการที่น้ำมัน

ที่ได้จากการสกัดแบบ RE มีค่า PV น้อยมาก อาจเกิดจากการแตกตัวของเปอร์ออกไซด์ไปเป็นสารทุติยภูมิ ทำให้ค่า PV ที่ได้จากการวิเคราะห์น้อยกว่าปริมาณการเกิดออกซิเดชันในน้ำมัน นอกจากนี้ยังต้องพิจารณาค่า p-Anisidine Value (p-AV) ซึ่งเป็นดัชนีบ่งชี้ระดับสารทุติยภูมิที่เกิดจากปฏิกิริยา Lipid Oxidation เนื่องจาก p-AV เป็นสารประกอบที่เกิดจากการแตกตัวของเปอร์ออกไซด์ ซึ่งสอดคล้องกับผลการสกัดแบบ RE ที่ให้น้ำมันที่มี p-AV มากที่สุด ตามด้วย ML, UAE และ MH มีค่า 7.75, 6.39, 5.54 และ 5.14 ตามลำดับ จากงานวิจัยของ Guillermo และคณะ [31] พบว่า ระยะเวลาที่มีผลต่อการแตกตัวของ PV เป็น p-Anisidine น้อยมาก ดังนั้นในผลการวิจัยนี้ การแตกตัวของ PV เป็น p-Anisidine จึงมีแนวโน้มเกิดจากผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดเป็นหลัก

เมื่อพิจารณาค่า Iodine Value (IV) เป็นค่าบ่งชี้ความไม่อิ่มตัวของน้ำมันและไขมัน มีความสัมพันธ์โดยตรงกับพันธะคู่ของน้ำมัน [32-33] จากงานวิจัยนี้พบว่า น้ำมันเมล็ดมะละกอมีค่า IV อยู่ในช่วง 60.62-63.27 mg I₂/100g แต่ IV น่าจะเป็นผลมาจากปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่แตกต่างกันในวัตถุดิบแต่ละชนิด เช่น น้ำมันมะพร้าว ถั่วลิสงคั่ว เมล่อน ถั่ว และเมล็ดปาล์ม ที่มีค่า IV เท่ากับ 20.0, 17.6, 11.2, 19.2, 18.7 และ 33.3 g/100g ตามลำดับ

[30-36] และค่า IV ของน้ำมันที่ได้จากการสกัดทั้งสี่วิธีไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) จากงานวิจัยของ Dawodu และคณะ [30] ได้ทำการศึกษาผลของอุณหภูมิในช่วง 25-300°C ต่อค่า IV ของน้ำมัน พบว่าอุณหภูมิดังกล่าวไม่มีผลต่อ Iodine Value อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) วิธีการสกัดทั้งสี่วิธีไม่มีวิธีใดใช้อุณหภูมิสูงเกิน 300°C จึงไม่ส่งผลต่อค่า IV ในน้ำมันที่สกัดได้ นอกจากนี้ยังพบว่า Sonication ที่นำมาใช้ในการสกัดแบบ UAE ไม่มีผลต่อระดับความไม่อิ่มตัวหรือ IV ของน้ำมันที่สกัดได้ เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Samaram และคณะ [22] ได้ทำการเปรียบเทียบปริมาณกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบของน้ำมันเมล็ดมะละกอที่ได้จากการสกัดแบบซอท์กิลเลตและการสกัดแบบใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัด พบว่าน้ำมันที่ได้จากการสกัดทั้งสองวิธีไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

5. ผลของวิธีการสกัดต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลของน้ำมันเมล็ดมะละกอที่สกัดด้วยวิธี ML, MH, RE และ UAE แสดงดังตารางที่ 6 พบว่า ผลผลิตน้ำมันที่ได้จากวิธีการสกัดแบบ RE มีปริมาณสารประกอบฟีนอลสูงสุด ตามด้วยวิธีการสกัดแบบ MH, UAE และ ML น้ำมันเมล็ดมะละกอจากวิธีการสกัดแบบ RE ที่อุณหภูมิ 70°C มีปริมาณสารประกอบฟีนอลสูงสุดเนื่องจากความร้อนและเวลาในการสกัดที่มากของ RE ช่วยเอื้ออำนวยให้สารประกอบในเนื้อเยื่อพืชออกสู่สารละลายได้มากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Zuzana Reblova [37] ที่ได้ทำการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระกลุ่มใหญ่ที่สุดในเมล็ดมะละกอ [8] พบว่าสารประกอบฟีนอลสามารถทนต่อความร้อนได้สูงถึง 90°C

ตารางที่ 6 ปริมาณฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันเมล็ดมะละกอ

วิธีการสกัด	Total phenolic ($\mu\text{g GAE/g}$)	DPPH ($\mu\text{Eq Trolox/g}$)	ABTS ($\mu\text{Eq Trolox/g}$)
ML	188.43 \pm 10.58 ^a	6.47 \pm 1.06 ^a	11.35 \pm 0.23 ^a
MH	204.62 \pm 15.65 ^a	10.36 \pm 2.36 ^b	14.61 \pm 1.71 ^b
RE	276.05 \pm 31.12 ^b	19.89 \pm 0.37 ^d	25.39 \pm 0.32 ^d
UAE	195.33 \pm 15.49 ^a	14.59 \pm 0.48 ^c	19.87 \pm 1.35 ^c

หมายเหตุ: a, b, c คือ อักษรกำกับในแนวตั้งต่างกันหมายความว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq 0.05$)

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันเมล็ดมะละกอที่สกัดด้วยวิธี ML, MH, RE และ UAE โดยวิธี DPPH และ ABTS พบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันที่ได้จากการสกัดสี่วิธีที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq 0.05$) โดยพบว่าน้ำมันที่ได้จากการสกัดแบบ RE มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดตามด้วยวิธีการสกัดแบบ UAE, MH และ ML

เนื่องจากสารประกอบฟีนอลเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระกลุ่มใหญ่ที่สุดในเมล็ดมะละกอ [8] นอกจากนี้พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการฟอกสีอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS โดยมีค่า $R^2 = 0.713$ และ 0.703 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามน้ำมันที่ได้จากการสกัดแบบ UAE มีปริมาณสารประกอบฟีนอลต่ำกว่า MH แต่มีฤทธิ์

ด้านอนุมูลอิสระสูงกว่า อาจเนื่องมาจากสภาวะในการสกัดของ UAE ไม่ไปยับยั้งฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระชนิดอื่นที่มีอยู่ในน้ำมัน นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลส่งผลให้น้ำมันที่ได้จากการสกัดแบบ UAE มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่า

สรุปและอภิปรายผล

มะละกอประกอบด้วยไขมันประมาณ 30% โดยปริมาณไขมันขึ้นกับสายพันธุ์และสภาพแวดล้อมในการเพาะปลูก เมื่อพิจารณาจากค่า IV พบว่า น้ำมันจากเมล็ดมะละกามีสัดส่วนของกรดไขมันไม่อิ่มตัว (Unsaturated Fatty Acid) สูง แสดงให้เห็นว่าน้ำมันจากเมล็ดมะละกอเหมาะสมที่จะนำมาบริโภคแบบไม่ผ่านความร้อน เช่น ใช้เป็นส่วนผสมในน้ำสลัด เป็นต้น จากการทดลองนี้

พบว่าวิธีการสกัดที่แตกต่างกันมีผลต่อปริมาณผลผลิตน้ำมัน สมบัติทางเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยขึ้นกับสภาวะที่เลือกใช้จากเกณฑ์การตัดสินใจที่แตกต่างกัน แต่ในทางตรงกันข้ามวิธีการสกัดที่แตกต่างกันไม่มีผลต่อกรดไขมันไม่อิ่มตัวของน้ำมันที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) จากการทดลองพบว่าการสกัดแบบใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัดเป็นวิธีการสกัดที่มีประสิทธิภาพเมื่อพิจารณาจากปริมาณ คุณภาพและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันที่สกัดได้ โดย Sonication ที่นำมาประยุกต์ใช้ในการสกัดไม่ส่งผลกระทบต่อการศึกษาออกซิเดชันในไตรเอซิลกลีเซอรอลและกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวของน้ำมัน

เอกสารอ้างอิง

- [1] Srivichai, S. (1988). *Papaya*. Bangkok: Agricultural Society Project.
- [2] Siew-Teng, O.; Shiau-Ping, Y.; Pei-Sin, K.; and Siew-Ling, L. (2012). Papaya (*carica papaya*) seed as a low-cost sorbent for zinc removal. *African Journal of Agricultural Research*. 7(5): 810-819.
- [3] Dakare, M.A.; Ameh, D.A.; and Agbaji, A.S. (2011). Biochemical assessment of 'daddawa' food seasoning produced by fermentation of pawpaw (*carica papaya*) seeds. *Nutrition*. 10(3): 220-223.
- [4] Salvador, M. (2001). Simple and hydrolysable compound in virgin olive oil. *Food Chemistry*. 248: 95-112.
- [5] Sidney, J.; and Smith, A.H. (1972). *Soybeans: Chemistry and Technology*. Singapore: Avi Publishing.
- [6] Syed, H.M.; Kunte, S.P.; Jadhav, B.A.; and Salve, R.V. (2012). The extraction and properties of *carica papaya* seeds oil. *International Journal of Applied, Physical and Bio-Chemistry Research*. 2: 33-43.
- [7] Xiang, C.; Xu, Z.; Liu, J.; Li, T.; Yang, Z.; and Ding, C. (2016). Quality, composition and antioxidant activity of virgin olive oil from introduced varieties at Liangshan. *Food Science and Technology*. 78: 18-19.
- [8] Malacrida, C.R.; Kimura, M.; and Jorge, N. (2011). Characterization of a high oleic oil extracted from Papaya (*carica papaya L.*). *Journal of Nutrition*. 31(4): 929-934.
- [9] ilamaz, M.T.; and Karakaya, M. (2009). Differential scanning calorimetry analysis of goat fats: Comparison of chemical composition and thermal properties. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 86(9): 877-883.

- [10] Bitar, A.; Ghaddar, T.; Malek, A.; and Am, J. (2008). Sensory thresholds of selected phenolic constituents from thyme and their antioxidant potential in sunflower oil. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 85: 641-646.
- [11] Bimakr, M.; Abdul Rahman, R.; Taip, F.S.; Adzahan, N.M.; and Sarker, M.Z.I. (2012). Optimization of ultrasound-assisted extraction of crude oil from winter melon (*benincasa hispida*) seed using response surface methodology and evaluation of its antioxidant activity, total phenolic content and fatty acid composition. *Molecules*. 17: 11748-11762.
- [12] Briones-Labraca, V.; Plaza-Morales, M.; Giovagnoli-Vicuna, C.; and Jamett, F. (2014). High hydrostatic pressure and ultrasound extraction of antioxidant compounds, sulforaphane and fatty acids from Chilean papaya (*vasconcellea pubescens*) seeds: Effect of extraction conditions and methods. *Food Science and Technology*. 60: 525-634.
- [13] Ulu, H. (2004). Evaluation of three 2-thiobarbituric acid methods for the measurement of lipid oxidation in various meats and meat products. *Meat Science*. 67: 683-687.
- [14] Liu, L.; Liu, Z.; Tang, G.; and Tan, W. (2014). Esterification of free fatty acids in waste cooking oil by heterogeneous catalysts. *Transactions of Tianjin University*. 20: 266-272.
- [15] AOAC. (2011). *Official method of analysis of the association of official analytical chemists*. 19th ed. Virginia.
- [16] AOCS. (1997). *Official methods and recommended practices of the american oil chemists' Society*. 5th ed. USA.
- [17] AOCS. (2009). *Official methods and recommended practices of the american oil chemists' society*. 6th ed. USA.
- [18] Hrnčirik, K.; and Fritsche, S. (2004). Comparability and reliability of difference techniques for the determination of phenolic compounds in virgin olive oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 106: 540-549.
- [19] Lee, J.; Chang, P.S.; and Lee, J. (2007). Development of a method predicting the oxidative stability of edible oils using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). *Food Chemistry*. 103: 662-669.
- [20] Pellegrini, N.; Visioli, F.; Buratti, S.; and Brighenti, F. (2011). Direct analysis of total antioxidant activity of olive oil and studies on the influence. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 49: 2532-2538.
- [21] Puangsri, T.; Abdulkarim, S.M.; and Ghazali, H.M. (2005). Properties of carica papaya L. (Papaya) seed oil following extraction using solvent and aqueous enzymatic methods. *Journal of Food Lipids*. 12: 62-67.

- [22] Samaram, S.; Mirhosseini, H.; Tan, C.P.; and Ghazali, H.M. (2013). Ultrasound-assisted extraction (UAE) and solvent extraction of papaya seed oil: Yield, fatty acid composition and triacylglycerol profile. *Molecules*. 18: 12474-12487.
- [23] Zhang, Z.S.; Wang, L.J.; Li, D.; Jiao, S.S.; Chena, X.D.; and Mao, Z.H. (2008). Ultrasound-assisted extraction of oil from flaxseed. *International Food Research Journal*. 62: 192-198.
- [24] Samaram, S.; Mirhosseini, H.; Tan, C.P.; Ghazali, H.M.; Bordbar, S.; and Serjouie, A. (2015). Optimization of ultrasound-assisted extraction of oil from papaya seed by response surface methodology: Oil recovery, radical scavenging antioxidant activity, and oxidation stability. *Food Chemistry*. 172: 7-17.
- [25] Tamzid, H.M.; Alam, M.T.; and Islam, M.A.U. (2007). Physico-chemical and nutritional studies of Terminalia bellerica Roxb. seed oil and seed kernel. *Journal of Bioscience*. 15: 117-126.
- [26] Ulu, H. (2004). Evaluation of three 2-thiobarbituric acid methods for the measurement of lipid oxidation in various meats and meat products. *Meat Science*. 67: 683-687.
- [27] Atinafu, D.G.; and Bedemo, B. (2011). Estimation of total free fatty acid and cholesterol content in some commercial edible oils in Ethiopia, Bahir DAR. *Journal of Cereals and Oil Seeds*. 2: 71-76.
- [28] Fernandes, D.M.; Serqueira, D.S.; Portela, F.M.; Assuncao, R.; Munoz, R.A.; and Terrones, M.G. (2012). Preparation and characterization of methylic and ethylic biodiesel from cottonseed oil and effect of tert-butylhydroquinone on its oxidative stability. *Fuel*. 97: 658-661.
- [29] Babalola, T.O.O.; and Apata, D.F. (2011). Chemical and quality evaluation of some alternative lipid sources for aqua feed production. *Agriculture and Biology Journal of America*. 2(6): 935-943.
- [30] Dawodu, M.O.; Olutona G.O.; and Obimakinde, S.O. (2015). Effect of temperature on the chemical characteristics of vegetable oils consumed in ibadan. *Journal of Nutrition*. 14(10): 698-707.
- [31] Guillermo, H.C.; Marta, I.V.; and Amalia, A.C. (1999). Oxidation of sunflower oil during storage. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 76(12): 1437-1443.
- [32] Aberounmand, A. (2010). Identification and quantification of some iranian fishes oils properties. *Journal of Fishes and Marine Science*. 2: 78-81.
- [33] Sanli, H.; Canakci, M.; and Alptekin, E. (2014). Predicting the higher heating values of waste frying oils as potential biodiesel feedstock. *Fuel*. 115: 850-854.
- [34] Onyeike, E.N.; and Acheru, G.N. (2002). Chemical composition of selected Nigerian oil seeds and physicochemical properties of the oil extracts. *Food Chemistry*. 77: 431-437.

- [35] Okogeri, O.; and Okoro, B. (2014). Storage stability and sensory attributes of crude palm oil adulterated with red dye. *Journal of Agriculture and Forestry Science*. 2: 10-17.
- [36] Moreno, A.O.; Dorantes, L.; Galindez, J.; and Guzmán, R.I. (2003). Effect of different extraction methods on fatty acids, volatile compounds, and physical and chemical properties of avocado (*persea americana* mill.) oil. *Journal of Agric Food Chemistry*. 8: 16-21.
- [37] Zuzana, Reblova. (2012). Effect of Temperature on the antioxidant activity of phenolic acids. *Journal of Food Science*. 2: 171-177.