

การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันชนิดทรานส์ในอาหารบางชนิดโดยวิธีแอดเทนนูเอเทคโททล
รีเฟลกชัน - ฟลูออโรทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี



นางสาวนารีพรรณ นาควิเชียร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเกษตรศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอาหารเคมีและโภชนศาสตร์ทางการแพทย์ ภาควิชาอาหารและเกษตรเคมี
คณะเกษตรศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2551
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ANALYSIS OF *TRANS* FATTY ACID IN SOME FOODS BY ATTENUATED TOTAL
REFLECTION – FOURIER TRANSFORM INFRARED SPECTROSCOPY

Miss Nareepan Narkwichian

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Pharmacy Program in Food Chemistry and Medical Nutrition
Department of Food and Pharmaceutical Chemistry
Faculty of Pharmaceutical Sciences
Chulalongkorn University
Academic Year 2008
Copyright of Chulalongkorn University

511086

Thesis Title ANALYSIS OF *TRANS* FATTY ACID IN SOME FOODS BY
ATTENUATED TOTAL REFLECTION – FOURIER
TRANSFORM INFRARED SPECTROSCOPY


By Miss Nareepan Narkwichian

Field of Study Food and Pharmaceutical Chemistry

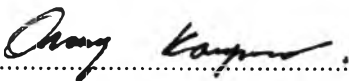
Advisor Assistant Professor Linna Tongyonk, D.Sc.

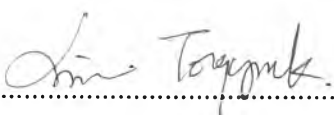
Co-Advisor Assistant Professor Chamnan Patarapanich, Ph.D.

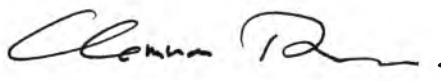
Accepted by the Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University in
Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree

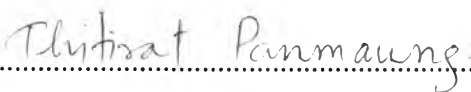
.....Dean of the Faculty of
Pharmaceutical Sciences
(Associate Professor Pornpen Pranyothin, Ph.D.)

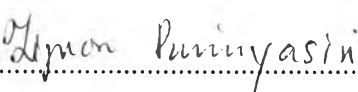
THESIS COMMITTEE

..... Chairman
(Associate Professor Oranong Kangsadalampai, Ph.D.)

.....Advisor
(Assistant Professor Linna Tongyonk, D.Sc.)

.....Co-Advisor
(Assistant Professor Chamnan Patarapanich, Ph.D.)

..... Examiner
(Associate Professor Thitirat Panmaung, M.Sc.)

.....External Examiner
(Miss Tipvon Parinyasiri, Ph.D.)

นารีพรรณ นาควิเชียร : การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันชนิดทรานส์ในอาหารบางชนิดโดยวิธี
แอตเทนนูเอตีดโททัลรีเฟลกชัน - ฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี.
(ANALYSIS OF *TRANS* FATTY ACID IN SOME FOODS BY ATTENUATED TOTAL
REFLECTION - FOURIER TRANSFORM INFRARED SPECTROSCOPY) อ.ที่ปรึกษา
วิทยานิพนธ์หลัก: ผศ.ดร.ลินนา ทองรงค์, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม : ผศ.ดร.ชำนาญ
ภัทรพานิช, 158 หน้า.

กรดไขมันชนิดทรานส์เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่อย่างน้อย 1 พันธะที่อยู่ในรูปแบบ
ทรานส์ (*trans* configuration) กรดไขมันชนิดนี้พบมากในผลิตภัณฑ์นมอบ เนยขาว เนยเทียม และ
น้ำมันที่ใช้ประกอบอาหาร การบริโภคอาหารที่มีกรดไขมันชนิดทรานส์อยู่สูงอาจทำให้เกิดความเสี่ยง
ต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจได้ ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมัน
ชนิดทรานส์ในอาหารประเภทขนมอบจำนวน 24 รายการ และน้ำมันพืชที่ผ่านกระบวนการเติม
ไฮโดรเจนบางส่วนจำนวน 6 รายการ โดยสุ่มเก็บตัวอย่างอาหารที่ผลิตและจำหน่ายในประเทศไทย
ในช่วงเดือนกันยายน 2550 ถึง กุมภาพันธ์ 2551 ซึ่งวิธีที่ใช้วิเคราะห์คือ วิธีแอตเทนนูเอตีดโททัล
รีเฟลกชัน-ฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี ปริมาณกรดไขมันชนิดทรานส์ทั้งหมดที่
วิเคราะห์ได้แสดงเป็นหน่วยกรัมของกรดไขมันชนิดทรานส์ต่ออาหาร 100 กรัม ในอาหารทั้ง 10 กลุ่มมี
ดังนี้ เนยขาว 1.84 - 3.37 ลูกก๊วยเนย 0.25 - 5.27 เนยเทียม 1.54 - 1.89 ขนมปังเนยสด 0.21 - 0.88
พายกรอบ 0.41 - 0.58 บราวนี่ 0.18 - 0.67 ครั้วทอง 0.14 - 0.83 เค้กครีมโรล 0.16 - 0.73
แครกเกอร์ ND - 0.15 และลูกก๊วยช็อกโกแลตสอดไส้ครีม ND - 0.14 โดยค่าเฉลี่ยปริมาณกรดไขมันชนิด
ทรานส์ในอาหารกลุ่มตัวอย่างอยู่ในช่วง 0.14 - 2.43 กรัมต่ออาหาร 100 กรัม ซึ่งในกลุ่มดังกล่าวพบว่า
ลูกก๊วยเนยหนึ่งยี่ห้อที่มีปริมาณกรดไขมันชนิดทรานส์สูงมากคือ 5.07 กรัมต่ออาหาร 100 กรัมและ
เนื่องจากกระทรวงเกษตรของสหรัฐอเมริกาได้กำหนดว่าไม่ควรรับประทานกรดไขมันชนิดทรานส์
มากกว่า 2.5 - 3 กรัมต่อวัน ดังนั้นประชาชนจึงควรมีความตระหนัก และหลีกเลี่ยงการรับประทาน
อาหารที่มีส่วนประกอบของไขมันดังกล่าวเพื่อลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคหลอดเลือดหัวใจ
นอกจากนี้ในการวิจัยครั้งต่อไปควรวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันชนิดทรานส์ในอาหารประเภทอื่นๆด้วย
เพื่อให้ประชาชนได้นำข้อมูลไปประกอบการตัดสินใจเลือกรับประทานอาหารต่อไป

ภาควิชา อาหารและเภสัชเคมี
สาขาวิชา อาหารเคมีและ โภชนศาสตร์ทางการแพทย์
ปีการศึกษา 2551.....

ลายมือชื่อนิติ..... พงษ์ธนา ๒๕๕๑ นาควิเชียร.....
ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก..... ลินนา ทองรงค์.....
ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม..... น. น.

497 65721 33 : MAJOR FOOD CHEMISTRY AND MEDICAL NUTRITION

KEYWORDS: *TRANS* FATTY ACID / FOURIER TRANSFORM INFRARED SPECTROSCOPY / BAKERY PRODUCTS / PARTIALLY HYDROGENATED VEGETABLE OIL

NAREEPAN NARKWICHIAN : ANALYSIS OF *TRANS* FATTY ACID IN SOME FOODS BY ATTENUATED TOTAL REFLECTION – FOURIER TRANSFORM INFRARED SPECTROSCOPY. ADVISOR : ASST. PROF. LINNA TONGYONK, D.Sc, CO-ADVISOR : ASST. PROF. CHAMNAN PATARAPANICH, Ph.D., 158 pp.

Trans fatty acids (TFA) are unsaturated fatty acids containing at least one double bond in the *trans* configuration. TFA are commonly found in bakery products, shortenings, margarines and cooking oils. High consumption of diet high in TFA has been shown to be associated with greater risk of cardiovascular disease. Due to these reported detrimental health effects of diets high in TFA, twenty four samples of bakery products and six samples of partially hydrogenated vegetable oils available at the market in Bangkok area between September 2007 and February 2008 were investigated on TFA, using attenuated total reflection fourier transform infrared spectroscopy. The total TFA content in this study expressed as grams of total TFA per 100 grams of food sample in ten groups of foods were as follows: shortening 1.84 – 3.37, butter cookie 0.25 – 5.27, margarine 1.54 – 1.89, rich butter bun 0.21 – 0.88, crispy pie 0.41 – 0.58, brownie 0.18 – 0.67, croissant 0.14 – 0.83, cake cream roll 0.16 – 0.73, cracker ND - 0.15, and sandwich chocolate cookie ND - 0.14. The mean TFA values in all selected foods ranged from 0.14 -2.43 g/100 g food. High amounts of TFA were found in butter cookie (5.07 g/100 g). The US Department of Agriculture recommends that the consumption of TFA should be kept below 1 percent of total energy intake (2.5 – 3 g/d), therefore consumers should realize and avoid TFA containing products. In order to support decision making regarding risk management, there is a need to continue to assess the contents of TFA in the other categories of fat containing food in Thailand.

Department: Food and Pharmaceutical Chemistry

Student's Signature Nareepan Narkwichian

Field of Study: Food Chemistry and Medical Nutrition

Advisor's Signature Linna Tongyongk

Academic Year: 2008.....

Co-Advisor's Signature Chamnana Patrapanich

ACKNOWLEDGEMENTS

For this thesis, I would like to express my deeply appreciation and gratitude to my advisor Assistant Professor Dr. Linna Tongyonk for her encouragement and motivation in the whole time for this work. I would like to express my thankfulness to Assistant Professor Dr. Chamnan Patarapanich for advantageous guidance and suggestion.

I am very grateful to the members of the thesis committee, Associate Professor Dr. Oranong Kangsadalampai, Associate Professor Thitirat Panmaung and Dr. Tipvon Parinyasiri for their supportive attitude and constructive criticisms over my thesis.

I am really thankful to Miss Kaew Kajornchaikul, officer of Scientific and Technological Research Equipment Center Chulalongkorn University and graduate students of the Department of Pharmaceutical Chemistry for suggestions.

I would like to thank to all officers of the Department of Food Chemistry and Department of Microbiology for their collaboration.

Honestly thank to the Graduate School of Chulalongkorn University and Department of Food Chemistry for financial support.

I am duly grateful to my friends for many cheering and meaningful words when I exhausted.

Finally, I would like to express my earnest gratitude to my parents for their understanding and loving, and my older sister for her support and encouragement.

CONTENTS

	PAGE
ABSTRACT (THAI).....	iv
ABSTRACT (ENGLISH).....	v
ACKNOWLEDGEMENTS.....	vi
CONTENTS.....	vii
LISTS OF TABLES.....	ix
LISTS OF FIGURES.....	xi
LIST OF ABBREVIATIONS.....	xii
CHAPTER	
I. INTRODUCTION.....	1
II. LITERATURE REVIEW.....	3
2.1 Physicochemical properties of <i>trans</i> fatty acids.....	3
2.2 Sources of <i>trans</i> fatty acids in food.....	4
2.3 The transformation of <i>cis</i> and <i>trans</i> fatty acids in vegetable oils.....	5
2.4 Health aspects of <i>trans</i> fatty acid	
2.4.1 <i>Trans</i> fatty acid and cardiovascular disease.....	6
2.4.2 Other effects of <i>trans</i> fatty acid on health problem.....	11
2.5 Legislation relating to the level of <i>trans</i> fatty acids in commercial food.....	12
2.6 A situation of <i>trans</i> fatty acids levels in some foods in other countries.....	13
2.7 Fat extraction methods.....	18
2.8 Solvent for extraction of fat from food.....	19
2.9 <i>Trans</i> fatty acids determination	
2.9.1 Gas chromatography (GC) method.....	20
2.9.2 Infrared spectroscopy (IR) method.....	21
III. MATERIALS AND METHODS.....	24
3.1 Instruments.....	24
3.2 Reagents.....	24
3.3 Methods.....	24

CHAPTER	PAGE
3.3.1 Sampling.....	24
3.3.2 Experimental design.....	25
3.3.3 Fat extraction.....	26
3.4 Determination of <i>trans</i> fatty acid content of the bakery product and partially hydrogenated vegetable oil.....	27
IV. RESULTS.....	29
4.1 Optimization of fat extraction conditions from bakery products.....	29
4.2 Determination of total fat contents in selected foods.....	31
4.3 Determination of <i>trans</i> fatty acid content of the bakery product and partially hydrogenated vegetable oil.....	32
V. DISCUSSION.....	40
VI. CONCLUSION.....	44
REFERENCES.....	45
APPENDICES.....	53
APPENDIX A.....	54
APPENDIX B.....	58
APPENDIX C.....	149
BIOGRAPHY	158

LIST OF TABLES

		PAGE
Table 1	<i>Trans</i> fatty acid contents in bakery and snack products in various countries.....	15
Table 2	<i>Trans</i> fatty acid contents in oil and partially hydrogenated vegetable oil in various countries.....	16
Table 3	<i>Trans</i> fatty acid contents in meat and dairy products in various Countries.....	17
Table 4	<i>Trans</i> fatty acid contents in other products in various countries.....	17
Table 5	Effect of ultrasonic intensity levels on lipid yields.....	29
Table 6	Effect of extraction time on lipid yields.....	30
Table 7	Efficiency of different solvent mixtures of fat extraction form butter cookie at 40% ultrasonic intensities for 120 minute.....	30
Table 8	Total fat contents of bakery products and partially hydrogenated vegetable oils.....	31
Table 9	Characteristic infrared bands of bakery products and partially hydrogenated vegetable oils.....	32
Table 10	The height of the negative second derivative of <i>trans</i> absorption band of selected foods.....	35
Table 11	Composition of elaidic acid and oleic acid in standard mixture.....	37
Table 12	<i>Trans</i> fatty acid contents in selected foods.....	38
Table 13	Lipid contents of butter cookie extracted by n-hexane at 40 and 80% ultrasonic intensity.....	55

	PAGE
Table 14	Lipid contents of butter cookie and butter cake extracted by n-hexane at 40% ultrasonic intensity and different extraction time.....55
Table 15	Lipid contents of butter cookie by sonication at 40% ultrasonic intensity for 120 minute in different solvent.....55
Table 16	Lipid contents of partially hydrogenated vegetable oil extracted by modified Bligh & Dyer extraction method and petroleum ether as a solvent.....56
Table 17	Lipid contents of bakery products extracted by n-hexane at 40% ultrasonic intensity for 120 minute56

LIST OF FIGURES

	PAGE
Figure 1	Structures of <i>cis</i> and <i>trans</i> fatty acids.....3
Figure 2	The path of infrared light that reflect inside of ATR crystal.....22
Figure 3	Overall experiment to determine total fat and <i>trans</i> fatty acid contents in selected foods.....25
Figure 4	¹ H NMR spectral region relative to olefinic protons.....33
Figure 5	¹³ C NMR spectral region relative to olefinic group.....33
Figure 6	¹³ C NMR spectral region relative to allylic carbon.....34
Figure 7	Negative second derivative ATR-FTIR spectrum of standard Mixtures.....37
Figure 8	The graph of standard calibration of <i>trans</i> fatty acid.....38

LIST OF ABBREVIATIONS

TFA	<i>trans</i> fatty acids
GC	gas chromatography
IR	infrared spectroscopy
PHVO	partially hydrogenated vegetable oil
ND	non quantified at the level of traces
wt%	percent by weight
LA	linoleic acid
ALA	alpha linolenic acid
°C	degree celsius
CHD	coronary heart disease
CVD	cardiovascular disease
WHO	World Health Organization
LDL-C	low density lipoprotein cholesterol
HDL-C	high density lipoprotein cholesterol
VLDL-C	very low density lipoprotein cholesterol
CETP	cholesteryl ester transfer protein
IL-6	interleukin-6
CRP	C-reactive protein
TNF	tumor necrosis factor
TNF-R	tumor necrosis factor receptor
VCAM-1	vascular cell adhesion molecule-1
ICAM-1	intercellular adhesion molecule-1
OR	odds ratio
CI	confidence interval
MUFA	monounsaturated fatty acid
SFE	Supercritical fluid extraction
FMASE	focused microwave assisted soxhlet extraction
DUAE	dynamic ultrasound-assisted extraction
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
AOCS	the American Oil Chemists Society
FAME	fatty acid methyl esters
ATR	attenuated total reflection cell
FTIR	fourier transform infrared spectroscopy
NMR	nuclear magnetic resonance spectroscopy
no.	number
ml	milliliter
min	minute
v/v	volume by volume
rpm	rounds per minute
mg	milligram
g	gram
ppm	part per million
et al	<i>et alia</i> (and others)