

นำ fraction ทั้ง 3 ส่วนคือ Crude soybean gum, Semi-solid brown oil, residue ไปวิเคราะห์หาฟอสโฟลิปิด โดยวิธี Molybdovanadate spectrophotometer ได้ค่าดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดง % Yield และ % Phospholipid ส่วนประกอบต่างๆ ของ Crude soybean gum

| สาร                          | %yield | Phospholipid(%) |
|------------------------------|--------|-----------------|
| Crude Soybean gum            | 100    | 1.81-2.23       |
| ไขมัน (semi-solid brown oil) | 73.26  | 1.75            |
| Residue                      | 14.55  | 0.00            |

จากตาราง 6 ได้ทำการแยก Crude soybean gum ออกเป็นส่วนต่างๆ ได้ดังนี้ Semi-solid brown oil 73.26%, residue 14.55%

เมื่อนำส่วนต่างๆ มาทำการวิเคราะห์ Phospholipid พบ Phospholipid ใน Crude soybean gum 1.81-2.23% พบในไขมัน (semi-solid brown oil) 1.75% และ residue ไม่พบฟอสโฟลิปิด

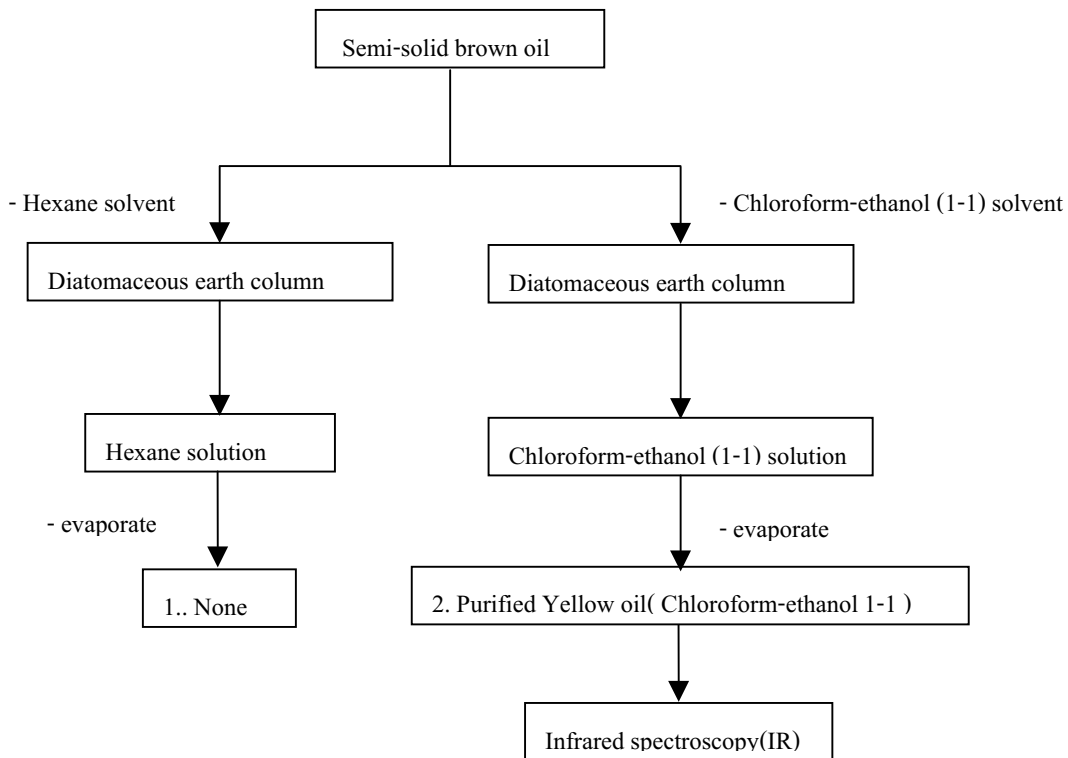
จากการวิเคราะห์ฟอสโฟลิปิด พบใน Crude soybean gum 1.81-2.24% เมื่อทำการกลั่นด้วย hexane เพื่อแยกเอาไขมัน (Semi-solid brown oil) ออกมา ปรากฏว่าฟอสโฟลิปิดส่วนใหญ่ออกมาอยู่ในส่วนไขมันถึง 1.75% และส่วนที่ไม่ละลาย hexane คือ residue หรือ insoluble นั้นไม่มี ฟอสโฟลิปิด หรือมีน้อยมาก

#### 4.3 การแยกไขมันจาก Crude soybean gum และการทำให้บริสุทธิ์

การแยกไขมันจาก Crude soybean gum และการทำให้บริสุทธิ์มี 2 วิธีคือ

1. การแยกไขมัน (Semi-solid brown oil) ที่ได้จาก Crude soybean gum และการทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี column chromatography

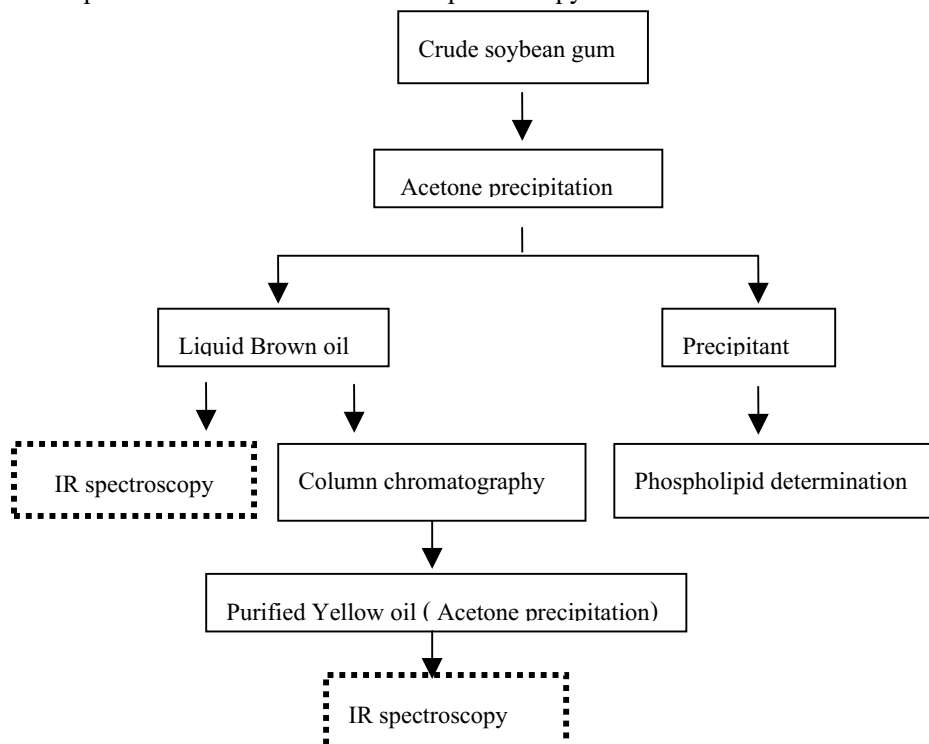
โดยนำ Crude soybean gum กลั่นด้วย hexane จากนั้นระเหย hexane ทำให้ได้ไขมัน (Semi-solid brown oil) ละลายด้วย Chloroform-ethanol (1-1) นำไปผ่าน Column chromatography นำสารละลายที่ได้ทั้งหมดระเหยตัวทำละลายออก จะได้ Purified yellow oil (Chloroform-ethanol 1-1) แล้วนำไปวัด IR spectroscopy ดังแผนผังที่ 3



แผนผังที่ 3 แสดงการทำไขมันจาก Crude soybean gum ให้บริสุทธิ์

## 2. การแยกไขมันโดยการตกตะกอนแยกสารที่ไม่บริสุทธิ์โดยใช้ Acetone

นำ Crude soybean gum ละลายด้วย Hexane แล้วใช้ Acetone ตกตะกอนเอาส่วนอื่นๆ ออกไป ทำให้ได้ Liquid brown oil แล้วนำไปวัด IR spectroscopy ดังแผนผังที่ 4



แผนผังที่ 4 แสดงการแยกน้ำมัน โดย Acetone precipitation

ผลการแยกน้ำมันและการทำให้บริสุทธิ์ได้ดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 แสดง % Phospholipid และ % yeild ส่วนประกอบต่างๆ

| สาร                                         | % yeild | Phospholipid(%) |
|---------------------------------------------|---------|-----------------|
| Purified Yellow oil(chloroform-ethanol 1:1) | 26.45   | 0.00            |
| Liquid brown oil (Acetone precipitation)    | 25.73   | 0.00            |

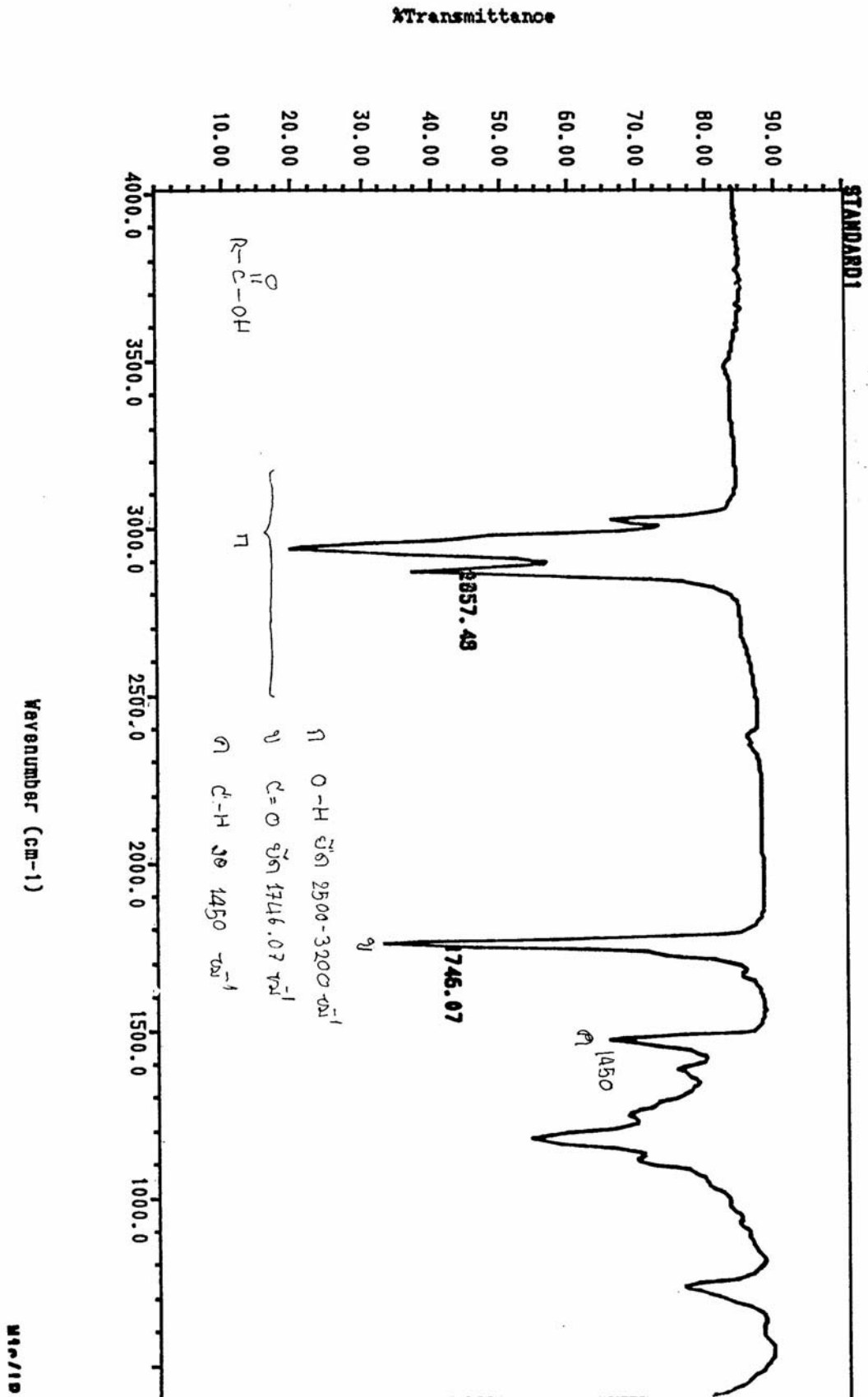
จากตารางที่ 7 เมื่อใช้ Chloroform-ethanol (1-1) เป็นตัวทำละลายได้ Purified Yellow oil 26.45% เมื่อนำ Purified yellow oil มาวิเคราะห์ Phospholipid ปรากฏว่าไม่พบ และ Liquid brown oil 25.73%

การวิเคราะห์ phospholipid ใน Semi-solid brown oil ในเบื้องต้นพบ 1.75% แต่เมื่อนำมาทำให้บริสุทธิ์โดยผ่าน Diatomaceous earth column โดยมี Chloroform-ethanol (1-1) เป็นตัวทำละลายกลับไม่พบฟอสโฟลิปิดแสดงว่าฟอสโฟลิปิดติดอยู่กับ Column ไม่สามารถผ่านออกมาได้ ส่วนเมื่อนำ Crude soybean gum ตกตะกอนด้วย Acetone พบว่า Liquid brown oil ไม่มีฟอสโฟลิปิด

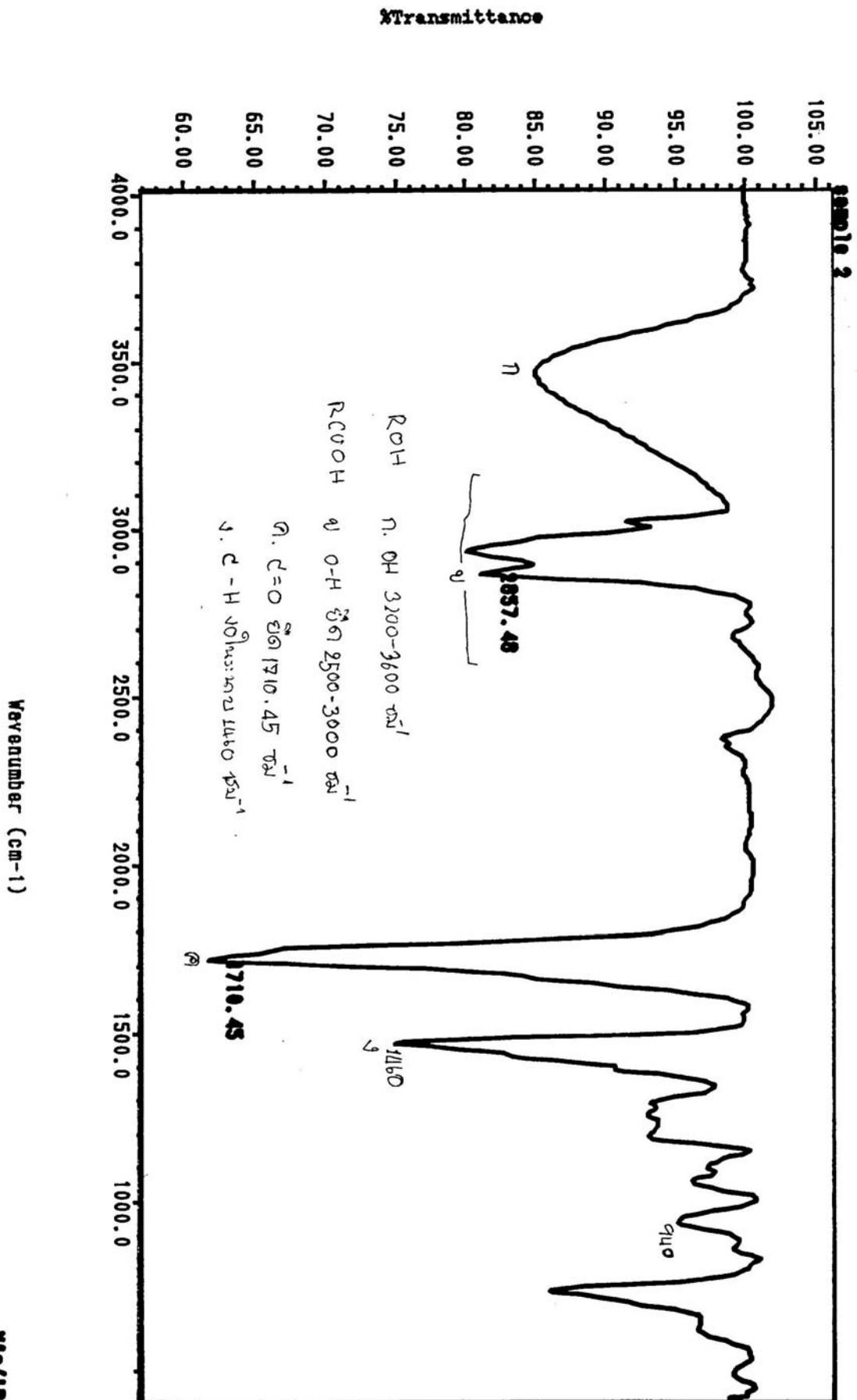
การวัด Infrared spectroscopy (IR) เพื่อวิเคราะห์หมู่สำคัญเทียบกับน้ำมันถั่วเหลือง ได้ Chromatogram ดังรูปที่ 5 , 6 , 7 และ รูปที่ 8

จากการพิจารณา Chromatogram ของตัวอย่างเทียบกับน้ำมันถั่วเหลืองที่ใช้เป็นมาตรฐาน (รูปที่ 5) ปรากฏว่า Purified yellow oil (Chloroform-ethanol 1-1) พบน้ำมันมีหมู่ – OH เพิ่มขึ้น (รูปที่ 6) Liquid brown oil (Acetone precipitation) พบองค์ประกอบที่แตกต่างจากน้ำมันถั่วเหลือง (รูปที่ 7) และ Purified yellow oil (Acetone precipitation) พบกรดไขมันเพิ่มขึ้น(รูปที่ 8)

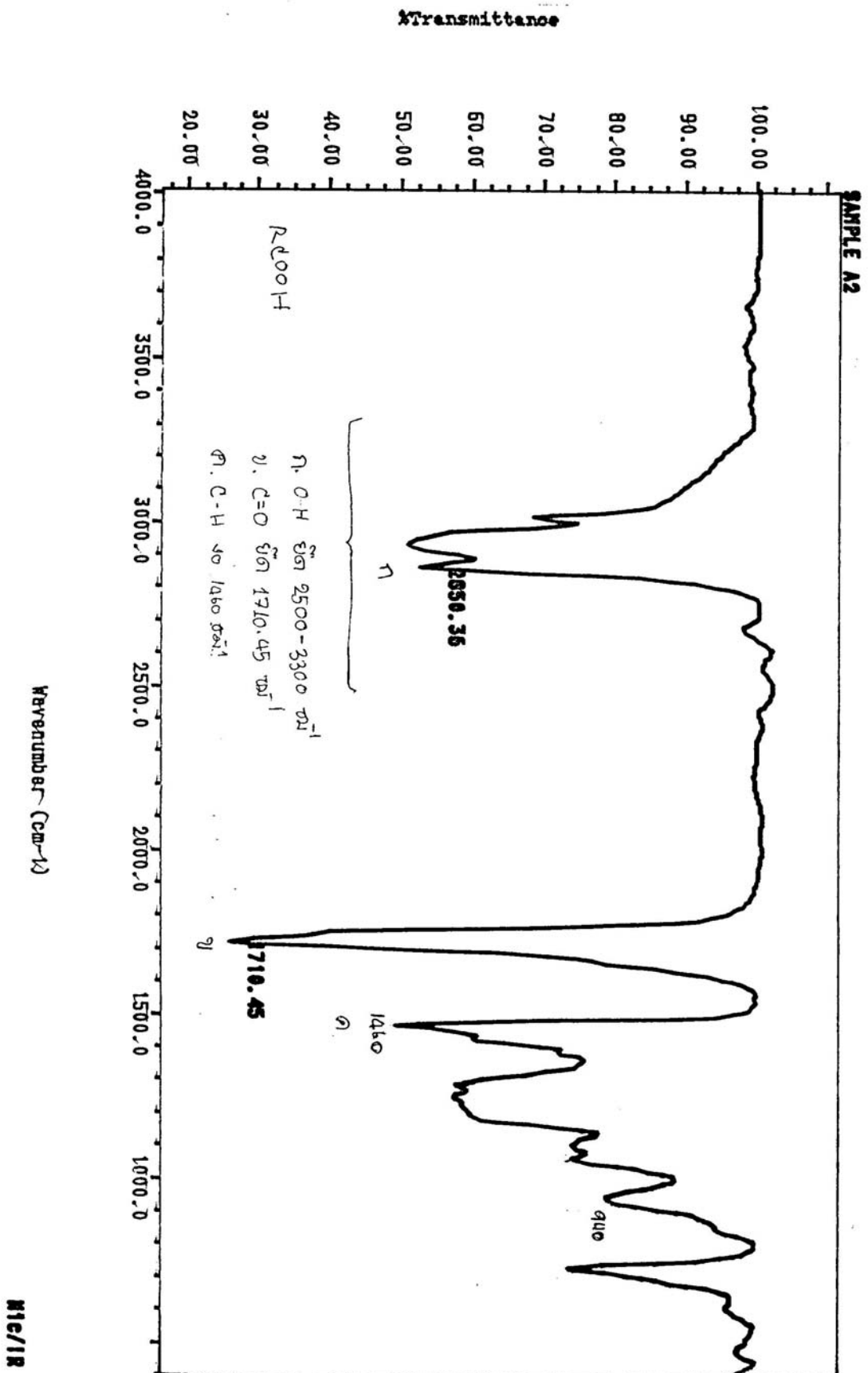
รูปที่ 5 น้ำยาล้างจาน



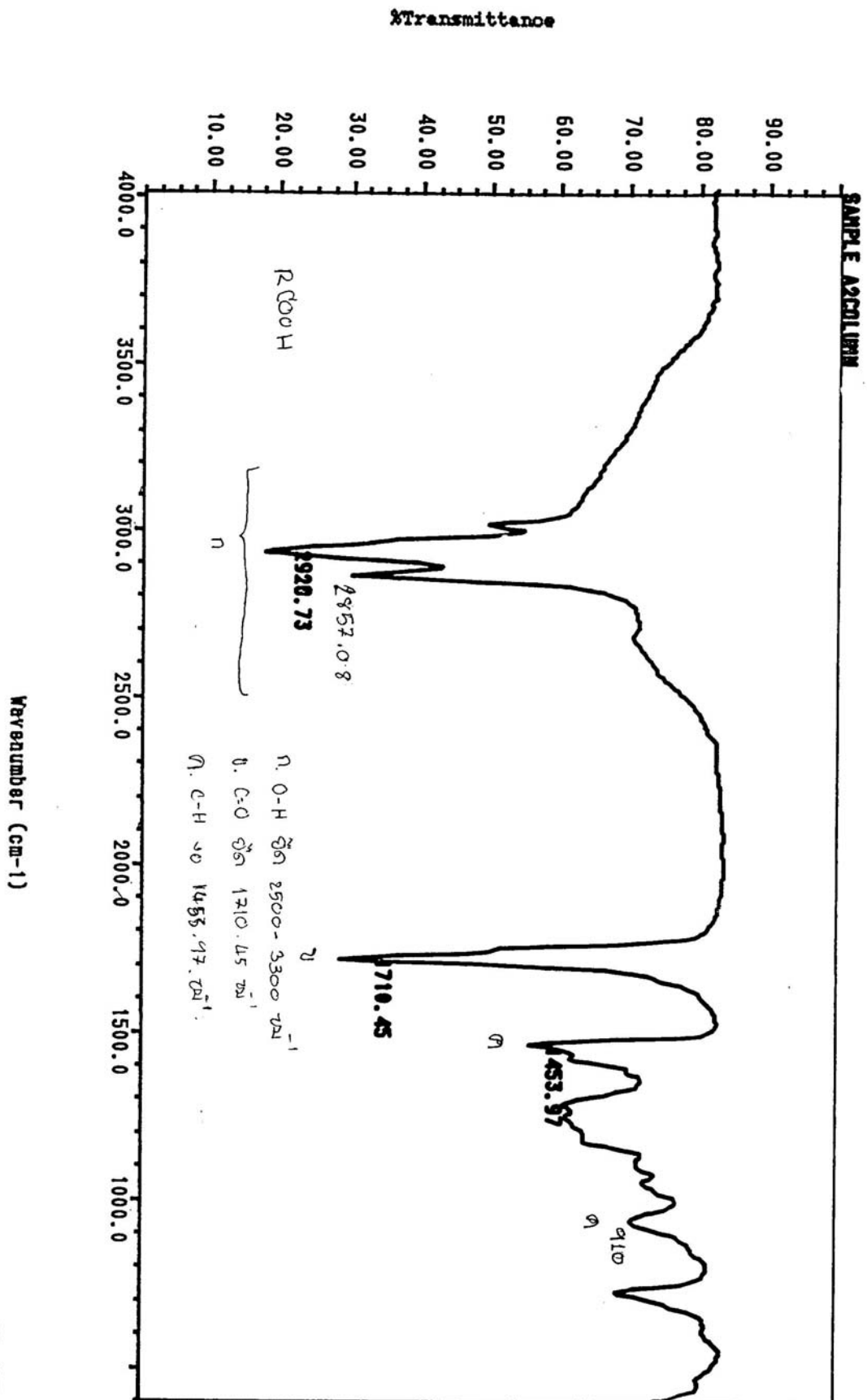
รูปที่ 6 Purified yellow oil (chloroform-ethanol 1-1)  
พบนํ้ามันที่มีหมู่ -OH เพิ่มขึ้น



รูปที่ 7 Liquid brown oil (acetone precipitation)  
พบองค์ประกอบแตกต่างจากน้ำมันถั่วเหลือง



รูปที่ 8 Purified yellow oil (acetone precipitation)  
พบกรดไขมันพหุวัณ



#### 4.4 การแยก Phospholipid ออกจาก Crude soybean gum โดยวิธี Aqueous phosphoric acid

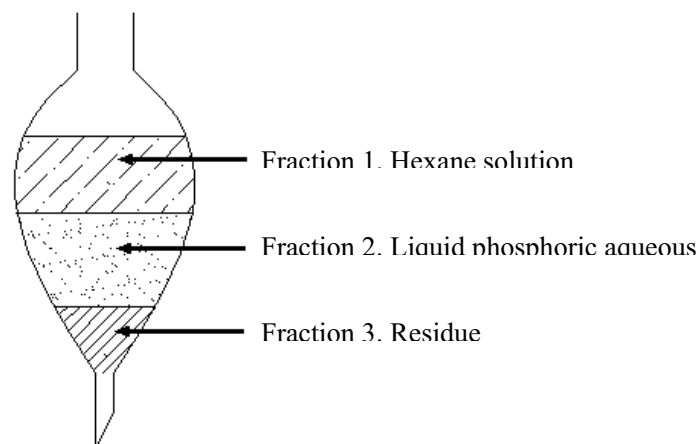
นำ Crude soybean gum ละลายด้วย Hexane แล้วทำการควบคุมอุณหภูมิและสถานะต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 แสดงสถานะของการทดลอง

| การทดลองที่ | อุณหภูมิ (°C) | กรด(%) | น้ำ (%) |
|-------------|---------------|--------|---------|
| 1           | 50            | 0.06   | 4       |
| 2           | 50            | 0.06   | 1       |
| 3           | 60            | 0.02   | 4       |

เมื่อเติมสารละลายครบแล้วทำการกวนตลอดเวลาจนครบ 1 ชั่วโมง จะได้สารละลายแยกเป็น 3 fraction ดังรูปที่ 9 จากนั้นนำ fraction ทั้งหมดไปวิเคราะห์ฟอสโฟลิปิดโดยวิธี

Molybdovanadate spectrophotometer



รูปที่ 9 แสดงการแยกชั้นของสารละลาย

ผลการวิเคราะห์ฟอสโฟลิปิดดังแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 แสดง %yeild และ %ฟอสโฟลิปิดที่แยกได้

| อุณหภูมิ ( C) | กรด(%) | น้ำ (%) | fraction  |      |                            |      |                        |      |
|---------------|--------|---------|-----------|------|----------------------------|------|------------------------|------|
|               |        |         | 1. hexane |      | 2. aqueous phosphoric acid |      | 3. insoluble substance |      |
|               |        |         | %yeild    | %P   | %yeild                     | %P   | %yeild                 | %P   |
| 50            | 0.06   | 4       | 88.98     | 1.45 | 8.36                       | 0.04 | 2.66                   | 0.32 |
| 50            | 0.06   | 1       | 81.06     | 2.23 | 18.94                      | 0.13 | -                      | -    |
| 60            | 0.02   | 4       | 86.28     | 2.22 | 10.57                      | 0.02 | -                      | -    |

จากตาราง9 จากการควบคุมอุณหภูมิที่ 50 °C เดิมกรด 0.06% น้ำ 4 % ทำให้สารละลายแยกเป็น 3 Fraction พบว่า Fractionที่ 1 เมื่อระเหยตัวทำละลายออกไปได้ไขมัน (Ssemi-solid brown oil) 88.9% และมีฟอสโฟลิปิด 1.45 % Fractionที่ 2 คือตะกอนที่ได้หลังการ Centrifuge 8.36% มี ฟอสโฟลิปิด 0.04 % และ Fractionที่ 3 คือ Residue 2.66 % มีฟอสโฟลิปิด 0.32 %

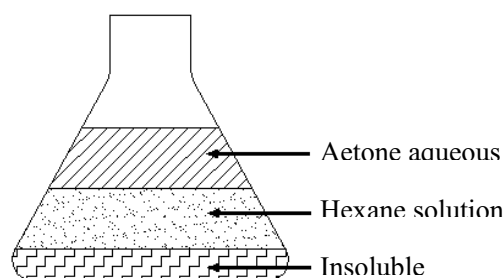
ที่อุณหภูมิ 50 °C เดิมกรด 0.06% น้ำ 1% ทำให้สารละลายแยกเป็น 3 fraction พบว่า Fractionที่ 1 ระเหยตัวทำละลายออกไปได้ไขมัน (Semi-solid brown oil) 81.06% และมี ฟอสโฟลิปิด 2.23% Fraction2 คือตะกอนที่ได้หลังการ Centrifuge 18.94% มีฟอสโฟลิปิด 0.13 %

ที่อุณหภูมิ 60 °C เดิมกรด 0.02% น้ำ 4 % ทำให้สารละลายแยกเป็น 3 Fraction พบว่า Fractionที่ 1 ระเหยตัวทำละลายออกไปได้ไขมัน (Semi-solid brown oil) 86.28% และมี ฟอสโฟลิปิด 2.22 % Fractionที่ 2 คือตะกอนที่ได้หลังการ Centrifuge 10.57% มีฟอสโฟลิปิด 0.02%

จากการพยายามแยกฟอสโฟลิปิดออกจากไขมันใน Crude soybean gum ปรากฏว่าไม่สามารถแยกได้เนื่องจากฟอสโฟลิปิดส่วนใหญ่ยังคงละลายอยู่ในไขมัน (Semi-solid brown oil)ใน Fraction ของ Hexane

#### 4.5 การแยกฟอสโฟลิปิดออกจาก Crude soybean gum โดยวิธี Acetone precipitation

นำ Crude soybean gum ละลายด้วย Hexane จากนั้นเติม Acetone เพื่อตกตะกอน ฟอสโฟลิปิดนำสารละลายไปแช่เย็น ทำให้สารละลายแยกออกเป็น 3 Fraction ดังรูปที่ 10 จากนั้นนำ Fraction ทั้งหมดไปวิเคราะห์ Phospholipid โดยวิธี Molybdovanadate spectroscopy



รูปที่ 10 แสดงการแยกชั้นของสารละลาย

ผลการวิเคราะห์ฟอสโฟลิปิดได้ดังตารางที่ 10

ตาราง 10 แสดง%ฟอสโฟลิปิดที่แยกได้จาก Crude soybean gum

| สาร                                             | % yeild | % Phospholipid |
|-------------------------------------------------|---------|----------------|
| Fraction1. Liquid brown oil จาก Acetone aqueous | 25.73   | 0.00           |
| Fraction2. ตะกอน จากHexane solution             | 58.27   | 1.07           |
| Fraction3. Insoluble                            | 16.00   | 0.18           |

จากการทดลองแยกฟอสโฟลิปิดโดยใช้ Acetone ตกตะกอนปรากฏว่าได้สารละลายแยกเป็น 3 Fraction ดังนี้

Fraction 1. Liquid brown oil จาก Acetone aqueous 25.73% เมื่อนำมาวิเคราะห์ ฟอสโฟลิปิดไม่พบหรือพบในปริมาณน้อยมาก

Fraction 2. ตะกอน จาก Hexane solution 58.73% เมื่อนำมาวิเคราะห์ฟอสโฟลิปิดพบ 1.07% และ Fraction 3. Insoluble 16.00% มีฟอสโฟลิปิด 0.18%

## บทที่ 5 สรุป

### 5.1 สรุปผลการทดลองกำจัดกัม

จากการกำจัดกัมโดยใช้ กรดฟอสฟอริก และใช้น้ำเป็นตัวจับฟอสโฟลิปิดให้ตกลงมาเป็นตะกอนในรูปของ Phosphatide hydrate จากการศึกษาผลของเปอร์เซ็นต์น้ำที่เติม พบว่าการใช้ปริมาณน้ำมากขึ้นทำให้ได้ตะกอนมาก แต่เมื่อนำตะกอนที่ได้ไปวิเคราะห์ทางเคมีเพื่อหาปริมาณของฟอสโฟลิปิดที่ตกตะกอน พบว่าปริมาณฟอสโฟลิปิดที่ได้ไม่ได้มากตามปริมาณน้ำที่เติม ซึ่งจากผลการทดลองจะเห็นว่าเปอร์เซ็นต์น้ำที่เหมาะสมที่ใช้ในการกำจัดกัมคือ 1%

จากการศึกษาผลของเปอร์เซ็นต์กรดฟอสฟอริกที่เติมจากการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มเปอร์เซ็นต์กรดที่เติมมากขึ้นสามารถตกตะกอนของฟอสโฟลิปิดได้มากขึ้นโดยเปอร์เซ็นต์กรดที่เหมาะสมคือ 0.06% จากการศึกษาผลของอุณหภูมิที่ใช้ พบว่า ที่อุณหภูมิ 50 °C และ 70 °C เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการตกตะกอนของฟอสโฟลิปิด แต่ที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สามารถตกตะกอนของฟอสโฟลิปิดได้มากที่สุด

ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดกัม หรือการตกตะกอนของฟอสโฟลิปิด คือที่อุณหภูมิ 70 °C โดยใช้ปริมาณกรดฟอสฟอริก 0.06% และใช้ปริมาณน้ำ 1% จะได้ปริมาณตะกอนหรือกัม 1.34 กรัม ซึ่งมีปริมาณของฟอสโฟลิปิดในกัม 2.861% และได้ปริมาณน้ำมันคีนมา 94% และเมื่อนำกัมจากน้ำมันถั่วเหลืองไปหาค่าความร้อน พบว่ากัมมีค่าความร้อน 7,072.49 แคลอรี/กรัม หรือ 29.59 กิโลจูล/กรัม เมื่อเทียบกับค่าความร้อนของน้ำมันถั่วเหลืองดิบซึ่งมีค่าความร้อน 9,064.51 แคลอรี/กรัม หรือ 37.92 กิโลจูล/กรัม จะเห็นว่ากัมมีค่าความร้อนที่สูงใกล้เคียงกับค่าความร้อนของน้ำมันดิบ อย่างไรก็ตามการเผาไหม้กัมในถ้วยโลหะพบว่า เกิดผงแข็งติดกับโลหะอย่างแน่นซึ่งหมายถึงการเผาไหม้กัมจะให้ความร้อนพร้อมๆ กับมีปฏิกิริยากับโลหะทำให้เกิดผงแข็งติดโลหะการนำกัมมาผสมเป็นเชื้อเพลิงจึงไม่สามารถกระทำได้

สำหรับการทดลองกำจัดกัมโดยใช้เครื่อง Disc-type Bowl ที่ทางโรงงานมีอยู่นั้นไม่สามารถกระทำได้นี้เนื่องจากทางโรงงานได้ทำการรื้ออุปกรณ์บางส่วนออกไปก่อน และการดำเนินการบำรุงให้สามารถทำงานได้จะต้องใช้งบประมาณจำนวนมาก

ส่วนข้อเสนอแนะที่จะให้โรงงานเกษตรกิจลานนาทำการแยกกัมจากน้ำมันก่อนที่จะส่งไปยังโรงงานต่อเนื่องนั้นไม่สมควรดำเนินการ ทั้งนี้เนื่องจากการ Degum จะต้องเติมน้ำเมื่อกำจัดกัมแล้วทำให้น้ำมันตกล้างในน้ำมันซึ่งจะต้องกำจัดทันที ซึ่งโดยปกติแล้วกระบวนการนี้จะต้องกระทำในกระบวนการทำให้บริสุทธิ์อยู่แล้ว กล่าวคือ การแยกเฉพาะกัม และน้ำจะทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้น โดยกระบวนการทั้งสองจะต้องกระทำอีกในโรงงานต่อเนื่อง แนวทางที่เป็นไปได้ที่เสนอในที่นี้คือ

1. โรงงานเกษตรกิจลานนาเพิ่มกระบวนการทำให้บริสุทธิ์เป็นขบวนการต่อเนื่อง ซึ่งการแยกกันและอื่นๆจะสามารถกระทำได้ที่
2. หาแนวทางในการกำจัดกัมโดยวิธีอื่นๆที่ไม่ใช้น้ำ เช่น การใช้เอนไซม์ ซึ่งจะต้องทำการวิจัยในเชิงวิชาการเป็นอย่างมากต่อไป

## 5.2 สรุปผลการวิเคราะห์มูลค่าเพิ่มในกัม

จากผลการทดลองทั้งหมดพบว่าใน Crude soybean gum ยังคงมีน้ำมันอยู่ถึง 73.26% ซึ่งมี %ฟอสโฟลิปิดประมาณ 1.81-2.23% จากการทดลองแยกน้ำมันออกจาก Crude soy bean gum และทำให้บริสุทธิ์พบว่าน้ำมันในสภาพดีคือมีสีเหลืองใสประมาณ 25-26% ซึ่งเมื่อตรวจสอบหมู่สำคัญโดย IR พบมีองค์ประกอบทางเคมีเปลี่ยนไปจากน้ำมันเดิมบ้างซึ่งต้องมีการศึกษาอย่างละเอียดเพิ่มเติมถึงจะทราบได้ว่ามีการเปลี่ยนแปลงอย่างไร เมื่อพยายามแยกฟอสโฟลิปิดออกจาก Crude soybean gum โดยวิธี Aqueous phosphoric acid พบว่าฟอสโฟลิปิดประมาณ 0.02-0.13% แต่เมื่อแยกฟอสโฟลิปิดโดยวิธี Acetone precipitation พบว่ามีปริมาณฟอสโฟลิปิดประมาณ 1.07% คิดเป็น 47-59% ของฟอสโฟลิปิดทั้งหมดใน Crude soybean gum เมื่อคิดค่าใช้จ่ายในการแยกน้ำมันจาก Crude soybean gum ไม่คุ้มค่าเนื่องจากค่าใช้จ่ายเกี่ยวกับสารละลายที่ใช้มีมูลค่าสูง

## 5.3 แนวทางการวิจัยในอนาคต

ผลจากการศึกษานี้ พบว่า การดำเนินการแยกกัมที่โรงงานเกษตรกิจลานนาไม่มีความเหมาะสมในเชิงการผลิต ดังนั้นแนวทางในการพัฒนาวิธีการแยกกัม (อย่างเดี่ยว) ในเชิงวิศวกรรมจึงไม่เหมาะสมประการหนึ่ง

ผลการศึกษาการเพิ่มมูลค่าของกัม พบว่า ยังไม่มีการค้ำทุนทางด้านเศรษฐศาสตร์ แนวทางการวิจัยต่อเนื่องจึงไม่สามารถกระทำได้

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ที่ว่าจะมีการพัฒนาข้อเสนอโดยการวิจัยต่อเนื่องจึงไม่ได้มีการดำเนินการ

## เอกสารอ้างอิง

1. ชัยฤทธิ์ โพธิสุข, การศึกษาความเป็นพิษและการศึกษาเอนไซม์ในพิษงูแมวเซา, วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีวเคมี บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2515
2. สมพร คุ่มชาติ, นฤมล จิยโชค และคณิต กฤษณังกูร, “การคัดเลือกเอนไซม์ฟอสโฟไลเปสเพื่อใช้ขจัดกัมในน้ำมันถั่วเหลือง”, วารสารสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, ปีที่ 18, ฉบับที่ 2, ธันวาคม 2538, หน้า 32-40
3. สันต์ พณิชกุล, การศึกษาแยกพิษงูแมวเซาออกเป็นส่วนๆ เพื่อการศึกษาทางเอนไซม์, วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีวเคมี บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2510
4. นฤมล เศรษฐไพศาล, การขจัดกัมน้ำมันถั่วเหลืองโดยใช้เอนไซม์ฟอสโฟไลเปส เอสอง, วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, หน้า 4-53
5. สายสนม ธรรมพิทักษ์, นฤมล พัทธณี, สุภาภรณ์ ปิยะศิริกุล, วรรณฯ ธรรมพาลิศ, รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ เรื่อง การศึกษาเปรียบเทียบแอนติฟอสโฟไลเปสเอทู่ของพิษงูแมวเซาและงูเห่า, 2538, หน้า 5-9
6. สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ และเพ็ญศรี ตังคณาสิงห์, ชีวิตวิทยาของผึ้ง, ฟันนี้พับลิชชิ่ง, 2529, หน้า 73-82
7. Adhikari S. and Adhikari J. (1986) . “Indian Ricebran Lecithin”. *JAOCS*. Vol.63. pp.1367 – 1369.
8. Angulo Y., Olamendi-portugal T., Possani L. D. and Lomonte B., “Isolation and characterization of myotoxin II from Atropodies ( Bothrops ) nummifer snake venom, a new Lys 49 phospholipase A<sub>2</sub> homologue”, *Toxicon*, December 1999
9. Andriao-Escarso S.H., Soares A. M., Rodrigues V. M., Angulo Y., Diaz C., Lomonte B., Gutierrez J. M. and Giglio J. R., “myotoxic phospholipase A<sub>2</sub> in Bothrops snake venom : Effect of chemical modifications on the enzymatic and pharmacological properties of bothropstoxins from Bothrops jararacussu”, *Biochimie*, Vol.82, Issue 8, August 2000, p. 755-763
10. Beae B. (1958) . “Recent Progress in the Continuous Refining of Fatty Oil”. *Chemistry and Industry*. Vol.36. pp.1152 – 1161.

11. Bosch H. V. D., De Jong J.G.N and Aarsman A.J., "Phospholipase A<sub>2</sub> from Rat Liver Mitochondria", *Methods in Enzymology*, Vol. 197 Phospholipase, Academic Press, Inc., 1991, p. 365-373
12. Chijiwa T., Deshimaru M., Nobuhisa I., Nakai M., gawaT.O, Oda N., Nakashima K., Fukumaki Y., Shimohigashi Y., Hattori S. and Ohno M., "Regional evolution of venom-gland phospholipase A<sub>2</sub> isoenzymes of *Trimeresurus flavoviridis* snakes in the southwestern islands of Japan", *Biochemical Journal*, Vol. 347, Issue 2, April 2000, p. 491-499
13. Chu Y.H. (1995) . "Effects of Soybean Pretreatments on Crude Oil Quality". *JAOCs*.Vol.72.pp.117-181.
14. Devine J. and Williams P.N. (1961) . "The Chemistry and Technology of Edible Oils and Fats". Pergamon Press , New York.
15. Harvey A. I., From venoms to toxins to drugs, <http://ci.mond.org/9522/952214.htm>, November 1995, p. 1-5
16. Henry B. and Yarbrough C., Experimental Drug Derived From Snake Venom Shows Promise in Reversing Effects of Stroke, <http://www.eurekalert.org/releases/aha-edd020199.html>, February 1999, p. 1-2
17. Hui Y.H. (1996) . "Degumming Process". *Bailey's Industrial Oil&Fat Products*.Fifth edition.Vol.4.pp.168 – 170.
18. Indira T.N. , Hemavathy J. , Khatoon S. , Krishna A.G. (2000) . "Water degumming of rice bran oil: a respinse surface approach". *Journal of food engineering*.Vol.43.pp.83 – 90.
19. Iwuoha C.I. , Ubbaonu N. , Ugwo R.C. , Okereke N.U. (1995) . "Chemical and physical characteristics of palm, palm kernel and groundnut oils as affected by degumming". *Food Chemistry*.Vol.55.pp.29 – 34.
20. Kanomoto R. , Wada Y. , Miyajima G. and Kito M. (1981) . "Phospholipid – Phospholipid Interaction in Soybean Oil". *JAOCs*.Vol.58.pp.1050 – 1053.
21. Lester P.H. and Wolff H. (1956) . "Novel Method for Refining Soybean Oil". *JOACS*.Vol.33.pp.440 – 442.
22. List G.R. , Mounts T.L. , Warner K. and Heakin A.J. (1978) . "Steam-Refined Soybean Oil: I. Effect of Refining and Degumming Methods on Oil Quality". *JOACS*.Vol.55.pp.277 – 279.
23. List G.R. , Avellaneda J.M. and Mounts T.L. (1981) . "Effect of Degumming Conditions on Removal and Quality of Soybean Lecithin". *JAOCs*.Vol.58.pp.892 – 898.

24. Marcia G. (1979) . “Purification of Edible Oils”. *Edible Oil and Fats Recent Developments*. Noyes Data Corporation. New Jersey USA.pp.24 – 31.
25. Mounts T.L., wolf W.J. and martinez W.H., “Processing and Utilization”, Soybeans : Improvement, Production, and Uses, Second Edition, J.R.Wilcox, Editor , American Society of Agronomy , Inc., 1987, p.829
26. Myers N.W. (1957) . “Design and Operation of a Commercial Soybean-Oil Refining Plant, Using Acetic Anhydride as a Degumming Reagent”. *JOACS*.Vol.34.pp93 – 96.
27. Nieuwenhuyzen W.V.(1976) . “Lecithin Production and Properties”. *JAACS*.Vol53.pp.425 – 427.
28. Nget-Hong Tan, A. Armugum, Chon-Seng Tan, “Comparative Enzymology of Asian Cobra ( *Naja naja* ) venoms”, Progress in venom and toxin research, Published by Faculty of Medicine, National University of Singapore, November 1987 , p. 199-208
29. Nzai J.M. and Proctor A. (1998) . “Phospholipids determination in vegetable oil by thin-layer chromatography and imaging densitometry”. *Food Chemistry*.Vol.63.pp.571 – 576.
30. Ohlson R. and Svensson C. (1976) . “Comparison of Oxalic Acid and Phosphoric Acid as Degumming Agents for Vegetable Oils”. *JOACS*.Vol.53.pp.8 – 11.
31. Pastuszewska B. , Jablecki G. , Swiech E. , Buraczewska L. , Ochtabinska A. (2000). “ Nutritional value of rapeseed meal containing gums precipitated with citric acid”. *Animal Feed Science and Technology*.Vol.86.pp.117 – 123.
32. Phillips K. D., Study of Rattle snake venom may lead to Anti-Cancer drug, <http://agnews.tamu.edu/stories/BICH/venom.htm>, April 1996, p.1-2
33. Roy A.C. (1978) . “Refining and Degumming Systems for Edible Fats and Oils”. *JOACS*.Vol.55.pp.765 – 771.
34. Smiles A. , Kakuda Y. and MacDonald B.E. (1988) . “Effect of Degumming Reagents on the Recovery and Nature of Lecithins From Crude Canola, Soybean and Sunflower Oils”. *JAACS*.Vol.65.pp.1151 – 1155.
35. Smiles A. , Kakuda Y. and MacDonald B.E. (1989) . “Effect of Degumming Reagents on the Composition and Emulsifying Properties of Canola , Soybean and Sunflower Acetone Insolubles”. *JAACS*.Vol.66.pp.348 – 352.
36. Smith A.K and Circle S.J., Soybean : Chemistry and Technology, Vol.1 Proteins, The AVI Publishing Company, Inc., 1972, p. 5-6

37. Snyder H.E., “Understanding Soybean Products and processing”, Understanding Technology Series, <http://idh.vita.org/pubs/docs/book33.html>, 1998, p.1-3
38. Terry P., Enzymes contained in the Snake Venom, Manbir Online,<http://www.manbir-online.com/htm2/snake.24.htm>
39. Toyama M. H., Soures A. M., Wen-Hwa L., Polikarpov I., Giglio J. R. and Marangoni S., “Amino acid sequence of piratoxin-II / a myotoxic Lys 49 phospholipase A<sub>2</sub> homologue from *Bothrops pirajai* venom”, Biochimie, Vol 82, Issue3, March 2000, p.245-250
40. Uma B. and Veerabasappa Gowda T., “Molecular mechanism of lung hemorrhage induction by VRV-PL-Vlla from Russell ‘s viper (*Vipera russelli*) venom”,Toxicon, Vol.38, Issue 8, August 2000, p. 1129-1147
41. WebMD National News Center, “Study: Snake Venom Slows Breast Cancer Growth” , Snake venom slows breast tumor growth, <http://onhealthnetworkcompany.com/conditions/briefs/item%2C14592.aps>, P.1-2