

# Reaction of Olive Oil with Iodine in the Presence of Ethanol: Formation of the Iodoethoxylated Fatty Acids Ethyl Ester for the Betterment of the Organic Chemistry Experiment in Cambodian High School with Using Cambodian Materials

Vannthy SIENG<sup>\*,\*\*</sup>, Seanghai HOR<sup>\*</sup>,  
Nao IKEGAMI<sup>\*\*\*</sup> and Hirofumi NAKANO<sup>\*\*\*\*</sup>

<sup>\*</sup>Graduated student, Aichi University of Education, Kariya 448-8542, Japan

<sup>\*\*</sup>Teacher, Hun Sen Smach Deng High School, Thmor Thom Village, Sun Moon Resort Rd, 18100, Cambodia

<sup>\*\*\*</sup>Undergraduate, Aichi University of Education, Kariya 448-8542, Japan

<sup>\*\*\*\*</sup>Department of Science Education (Chemistry), Aichi University of Education, Kariya 448-8542, Japan

## I. Introduction

In the continuation of our studies on creating experimental procedures which can be practically applicable to Cambodian high school, we developed procedures for conducting 4-methylbenzene-1-sulfonic acid-catalyzed esterification of benzoic acid with dodecan-1-ol in the absence of solvent.<sup>1,2</sup> It is important for Japanese researchers to realize the situation of high school in Cambodia such as classrooms, experimental rooms, experimental apparatus, reagents, and infrastructures in order to connect to the next research. We visited three high schools in Prey Nup (Prey Nub) which is located in Preah Sihanouk in the south-west of Cambodia because one of authors (V. S.) is chemistry teacher in this area.

នៅក្នុងការបន្តការសិក្សារបស់យើងស្តីពីការបង្កើតដំណើរការពិសោធន៍ដែលអាចអនុវត្តបានសម្រាប់វិទ្យាល័យនៅក្នុងប្រទេសកម្ពុជា យើងបានបង្កើតដំណើរការពិសោធន៍សម្រាប់អនុវត្ត អេស្ត្រិកេស៊ីយ៉ុងនៃអាស៊ីតបង់សូអ៊ីចជាមួយដេកាន-1-អុលដែលមានអាស៊ីត 4-មេទីលបង់សែនស៊ុលផូនិចជាការលើកដោយគ្មានសារធាតុរំលាយ។<sup>1,2</sup> វាមានសារៈសំខាន់សម្រាប់អ្នកស្រាវជ្រាវជនជាតិជប៉ុនដើម្បីដឹងអំពីស្ថានភាពនៃវិទ្យាល័យនៅកម្ពុជាដូចជា ថ្នាក់រៀន បន្ទប់ពិសោធន៍ ឧបករណ៍ពិសោធន៍ សារធាតុគីមីនិងហោងរចនាសម្ព័ន្ធដើម្បីភ្ជាប់ទៅនឹងការស្រាវជ្រាវបន្ទាប់។ យើងបានទៅទស្សនាវិទ្យាល័យចំនួន ៣ នៅព្រៃនប់ ដែលមានទីតាំងនៅខេត្តព្រះសីហនុនៅ ប៉ែកនិរតីនៃប្រទេសកម្ពុជាពីព្រោះម្នាក់ក្នុងចំណោមអ្នកនិពន្ធទស្សនាវិទ្យាល័យស្រុកនេះ(សៀង វ៉ាន់)គឺជាគ្រូគីមីវិទ្យាល័យនៅក្នុងតំបន់នេះ។

Preah Sihanouk Province has one urban area: Preah Sihanouk and three rural areas: Kampong Seila, Prey Nup, and Stung Hav. There were 20 junior high schools (grade 7-9), one lycee (grade 10-12: high school), and 6 lycee (grade 7-12: junior high school and high school), in 2014/2015. In Preah Sihanouk Province, there were 504 teachers in lower secondary level (grade 7-9) and 211 in upper secondary level (grade 10-12). There were 7393 students in lower secondary level (grade 7-9) and 4180 in upper secondary level (grade 10-12).<sup>3</sup>

ខេត្តព្រះសីហនុមានតំបន់ទីក្រុងតែមួយគឺក្រុងព្រះសីហនុនិងតំបន់ជនបទចំនួន ៣ គឺកំពង់សីលា ព្រៃនប់និងស្ទឹងហាវ។ នៅក្នុងខេត្តនេះមានមធ្យមសិក្សាបឋមភូមិចំនួន ២០ (ថ្នាក់ទី ៧-៩) មធ្យមសិក្សាទុតិយភូមិចំនួន ១ (ថ្នាក់ទី ១០-១២) និងមធ្យមសិក្សា (វិទ្យាល័យ យុវជន) ៦ ក្នុងឆ្នាំសិក្សា២០១៤-២០១៥ ។ នៅខេត្តព្រះសីហនុ មាន គ្រូនៅកម្រិតមធ្យមសិក្សាបឋមភូមិចំនួន ៥០៤ នាក់ និងនៅកម្រិតមធ្យមសិក្សាទុតិយភូមិចំនួន ២១១ នាក់ ដែលមានសិស្ស ៧៣៩៣ នាក់ នៅកម្រិតមធ្យមសិក្សាបឋមភូមិនិង ៤១៨០ នាក់ នៅកម្រិតមធ្យមសិក្សាទុតិយភូមិ។<sup>3</sup>

The demonstration of organic chemistry reaction with using domestic materials carried out in Hun Sen Veal Renh High School (grade 7-12), Prey Nup on November 3, 2018 was shown as the following (only performed 1–6):

ការបង្ហាញប្រតិកម្មគីមីសរីរាង្គជាមួយការប្រើប្រាស់វត្ថុធាតុដើមក្នុងស្រុកនៅវិទ្យាល័យ ហ៊ុនសែនវាលរេញ (ថ្នាក់ទី ៧-១២) ព្រៃនប់កាលពីថ្ងៃទី ៣ ខែវិច្ឆិកាឆ្នាំ ២០១៨ ត្រូវបានបង្ហាញដូចខាងក្រោម (អនុវត្តបានត្រឹមវគ្គ ១-៦)៖

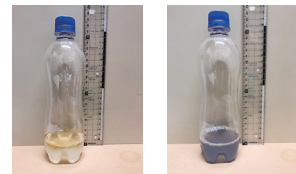
1. Tapioca starch (0.50 g) was added to a 500 mL-plastic bottle containing water (3 cm in a plastic bottle, 90 mL) with screw cap.

១ ម្សៅអាមីដុង (Tapioca) (0.50 g) ត្រូវបានដាក់ទៅក្នុងដបប្លាស្ទិចចំណុះ 500 mL ដែលមានទឹក 90 mL (កម្ពស់ 3 cm ក្នុងដបប្លាស្ទិច)(ដបទី១)។



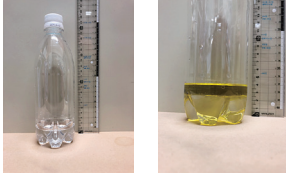
2. An aqueous solution of iodine-potassium iodide was added dropwise to the mixture with manual shaking until a dark blue color appeared clearly.

២ សូលុយស្យុងទឹកនៃថ្នាំតាស្យូមអ៊ីយ៉ូដួនិងអ៊ីយ៉ូដួនត្រូវបានបន្តកម្ទេងដំណាក់ក្នុងដប យូរម្យ៉ាងពណ៌ខៀវក្រហមលេចចេញយ៉ាងច្បាស់។



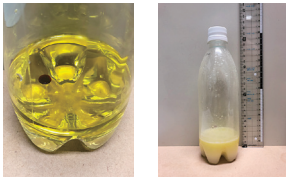
3. Olive oil (1 cm in a plastic bottle, 25 mL) and water (3 cm in a plastic bottle, 90 mL) were added to another 500 mL-plastic bottle.

៣. ប្រុងអ្វី 25 mL (កំពស់ 1 cm ក្នុងដបប្លាស្ទិច) និងទឹក 90 mL (កំពស់ 3 cm ក្នុងដបប្លាស្ទិច) ត្រូវបានបន្ថែមទៅក្នុងដបប្លាស្ទិចមួយទៀតដែលមានចំណុះ 500 mL (ដបទី២)។



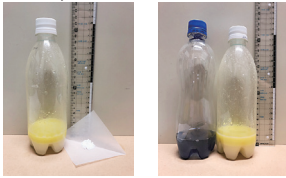
4. Then, the same amount of aqueous solution of iodine-potassium iodide of the first bottle was added to the second bottle. After the screw cap was closed, the second bottle was shaken for 10s well.

៤. បន្ទាប់មក សូលុយស្យុងទឹកនៃប៊ូតាស្យូមអ៊ីយ៉ូដួនីតដែលបានបន្ថែមទៅក្នុងដបទី១ ត្រូវបានបន្ថែមទៅក្នុងដបទី២ ហើយបិទក្របម្របនិងក្រឡុកប្រហែល ១០ វិនាទី។



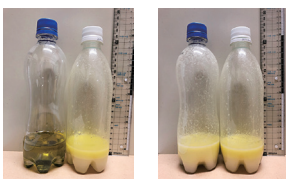
5. Tapioca starch (0.50 g) was added to the mixture in the second bottle, then the mixture was shaken well. The color of the mixture did not change into dark blue.

៥. ម្សៅអាមីដុង (Tapioca) (0.50 g) ត្រូវបានបន្ថែមទៅក្នុងដបទី ២ បន្ទាប់មកល្បាយត្រូវបានក្រឡុកឱ្យសព្វ។ ពណ៌នៃល្បាយមិនបានផ្លាស់ប្តូរទៅជាពណ៌ខ្មៅទេ។



6. Olive oil (1 cm in a plastic bottle, 25 mL) was added to the first bottle, then the mixture was shaken for long time well. The dark blue color gradually faded and finally completely disappeared.

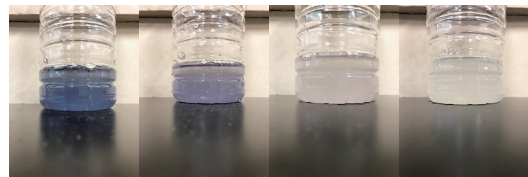
៦. ប្រុងអ្វី 25 mL (កំពស់ 1 cm ក្នុងដបប្លាស្ទិច) ត្រូវបានបន្ថែមទៅក្នុងដបទី១ បន្ទាប់មកល្បាយនេះត្រូវបានក្រឡុកឱ្យសព្វក្នុងរយៈពេលយូរ។ ពណ៌ខ្មៅរបស់វាក៏បាត់បង្អួចម្តងៗ រហូតមើលទៅដូចជាស្រដៀង។



7. If a mixture of starch and a solution of iodine-potassium iodide is heated up or cooled down, the color of the mixture changes. Tapioca starch (0.50 g) was added to a third 500 mL-plastic bottle containing water (3 cm in a plastic bottle, 90 mL) with screw cap. Then, the same

amount of aqueous solution of iodine-potassium iodide of the first bottle was added to the third bottle. When the mixture was heated up to 60 °C, the dark blue color gradually faded and finally disappeared.

៧. នៅពេលល្បាយត្រូវបានកំដៅ ឬបញ្ចុះសីតុណ្ហភាព ពណ៌នៃល្បាយនឹងផ្លាស់ប្តូរ។ ម្សៅអាមីដុង (Tapioca) (0.50 g) ត្រូវបានបន្ថែមទៅដបប្លាស្ទិចទី៣ចំណុះ 500 mL ដែលមានទឹក 90 mL (កំពស់ 3 cm ក្នុងដបប្លាស្ទិច) ជាមួយគ្របម្រប។ បន្ទាប់មក សូលុយស្យុងទឹកនៃប៊ូតាស្យូមអ៊ីយ៉ូដួនីតដែលបានបន្ថែមទៅក្នុងដបទី១ ត្រូវបានបន្ថែមទៅដបទី៣។ នៅពេលដែលល្បាយនេះត្រូវបានកំដៅដល់ 60 °C នោះពណ៌ខ្មៅក្រមៅស្រអាប់បង្អួចម្តងៗ ហើយទីបំផុតក៏បាត់ទៅវិញ។



8. When the mixture was cooled to room temperature, the dark blue color gradually appeared, but it was not as intense as that before heating. Then the mixture was cooled down in ice-water bath (3 °C), the color was deepened.

៨. នៅពេលដែលល្បាយនេះត្រូវបានបញ្ចុះសីតុណ្ហភាពរហូតដល់សីតុណ្ហភាពបន្តិចពណ៌ខ្មៅក្រមៅស្រអាប់បង្អួចម្តងៗ ប៉ុន្តែវាមិនខ្លាំងដូចមុនពេលកំដៅឡើយ។ បន្ទាប់មកល្បាយនេះត្រូវបានបញ្ចុះសីតុណ្ហភាពរហូតដល់ 3 °C នៅក្នុងទឹកកក ពណ៌នៃល្បាយកាន់តែទាប។



In the demonstration, mouthwash containing iodine (povidone-iodine) for example Isodine<sup>4</sup> in Japan, antiseptic Betadine<sup>5</sup> (10% povidone-iodine) outside Japan, and Povadine<sup>6</sup> solution in Thailand and Cambodia can be used instead of an aqueous solution of iodine-potassium iodide. Povidone-iodine<sup>7</sup> is water soluble complex of iodine with poly(*N*-vinylpyrrolidone). The complex in solution slowly releases I<sub>2</sub>. The generally accepted model structure of the complex was proposed as shown in Figure 1.<sup>8,9</sup> Recently, the revised model structure was reported as shown in Figure 2.<sup>10</sup> The single X-ray crystal structure of the model complex showed that protonated pyrrolidone units linked by intermolecular hydrogen bonds along with triiodide.

ថ្នាំ Mouthwash មានផ្ទុកអ៊ីយ៉ូដួនីត (povidone-iodine) ឧទាហរណ៍ Isodine<sup>4</sup> នៅប្រទេសជប៉ុន ថ្នាំសំលាប់មេរោគ Betadine<sup>5</sup> (10% povidone-iodine) នៅក្នុងប្រទេសថៃនិងកម្ពុជា ត្រូវបានគេចាត់ទុកថាជាសូលុយស្យុងទឹកនៃប៊ូតាស្យូមអ៊ីយ៉ូដួនីត។ Povidone-iodine<sup>7</sup> គឺជាកុំផ្លិចនៃអ៊ីយ៉ូដួនីតជាមួយប៉ូលី *N*-វីនីលពីរ៉ូលីដូនដែលអាចរលាយក្នុងទឹក។ ពេលកុំផ្លិចនេះរលាយក្នុងទឹក វាបញ្ចេញ I<sub>2</sub> យឺតៗទៅក្នុងសូលុយស្យុង។ ទម្រង់គំរូនៃកុំផ្លិចនេះដែលបានទទួលយកជាទូទៅ ត្រូវបានស្នើឡើងដូចបង្ហាញក្នុង Figure 1។<sup>8,9</sup> ថ្មីៗនេះ ទម្រង់គំរូត្រូវបានបោះពុម្ពផ្សាយដូចបានបង្ហាញក្នុង Figure 2។<sup>10</sup> ទម្រង់គំរូស្រដៀងគ្នាទៅនឹងអ៊ីយ៉ូដួនីតតែមួយនៃកុំផ្លិចនៃប៊ូតាស្យូមអ៊ីយ៉ូដួនីតដែលបានបង្ហាញថាវាមានលក្ខណៈស្រដៀងគ្នាជាមួយអ៊ីយ៉ូដួនីត។

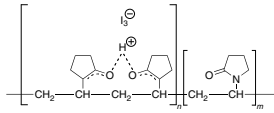


Figure 1. Generally accepted model structure for povidone-iodine.<sup>8,9</sup>

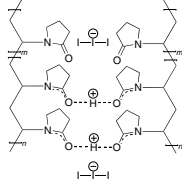


Figure 2. The revised structure for povidone-iodine.<sup>10</sup>

អ៊ីយ៉ូដឺតត្រីអ៊ីយ៉ូដ (triiodide)។

Iodine solution can be prepared by dissolving potassium iodide (1.0 g) and iodine (0.30 g) in water (250 mL). The solution should be stored in brown bottle to prevent decomposition by irradiation of light.

សូលុយស្យុងអ៊ីយ៉ូដអាចត្រូវបានទម្លើងដោយរំលាយប៊ូតាលីយ៉ូតាស្យូមអ៊ីយ៉ូដ (1.0 g) និងអ៊ីយ៉ូដ (0.30 g) ក្នុងទឹក (250 mL) ។ សូលុយស្យុងនេះគួរតែត្រូវបានរក្សាទុកក្នុងដបពណ៌ត្នោតដើម្បីការពារការបំបែកដោយពន្លឺ។

Starch consists of two types of polysaccharide: amylose and amylopectin. The structures of amylose and amylopectin are shown in Figure 3. Amylose has a long linear  $\alpha$ -1,4-glucopyranoside (glucose) repeating unit. Amylopectin has a linear  $\alpha$ -1,4-glucopyranoside repeating unit and sometimes branching  $\alpha$ -1,6-glucopyranoside.

អាមីឌុនមានពីរប្រភេទបង្កើតឡើងពីអាមីឌុននិងអាមីឌុនប៊ូប៊ីន។ ទម្រង់របស់អាមីឌុននិងអាមីឌុនប៊ូប៊ីនត្រូវបានបង្ហាញនៅក្នុង Figure 3។ អាមីឌុនជាប៊ូលីមែរខ្លាំងនៃគ្រួសារកូសតាមសម្ព័ន្ធ  $\alpha$ -1,4-glucopyranoside។ អាមីឌុនប៊ូប៊ីនជាប៊ូលីមែរខ្លាំងនៃគ្រួសារកូសតាមសម្ព័ន្ធ  $\alpha$ -1,4-glucopyranoside និងបែកខ្លែងតាមសម្ព័ន្ធ  $\alpha$ -1,6-glucopyranoside ។

According to Japanese standard high school chemistry textbook,<sup>11</sup> a combination of an aqueous solution of iodine-potassium iodide and that of starch gives a dark blue solution. The reaction has high sensibility to detect trace of starch or iodine. Free iodine molecules ( $I_2$ ) are taken into the spiral structure of starch to show the color change. And the schematic diagram containing the free iodine molecules is also shown in the textbook. The color of iodine-starch complex is dependent on length of a linear structure of starch.

យោងទៅតាមសៀវភៅគីមីវិទ្យា ថ្នាក់វិទ្យាល័យរបស់ប្រទេសជប៉ុន<sup>11</sup> ការរួមបញ្ចូលគ្នា

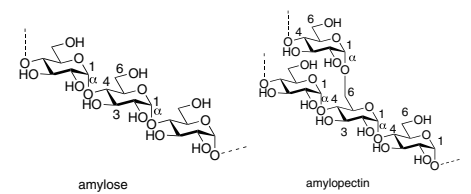


Figure 3. Structures for amylose and amylopectin.

នៃសូលុយស្យុងទឹកនៃអ៊ីយ៉ូដ ប៊ូតាលីយ៉ូតាស្យូមអ៊ីយ៉ូដនិងអាមីឌុនផ្តល់នូវសូលុយស្យុងពណ៌ខៀវចាស់។ ប្រតិកម្មមានភាពស្រដៀងគ្នាក្នុងការកម្រិតប្រមាណដ៏តិចតួចនៃអាមីឌុនអ៊ីយ៉ូដ។ ប៊ូលីមែរកូសតាមសម្ព័ន្ធ  $I_2$  ផ្លាស់ទីទៅក្នុងទម្រង់ស្បែកនៃអាមីឌុនធ្វើឱ្យមានការផ្លាស់ប្តូរពណ៌ហើយអ្នកក្រាមដែលបង្ហាញពីទម្រង់ប៊ូលីមែរកូសតាមសម្ព័ន្ធត្រូវបានដាក់បញ្ចូលនៅក្នុងសៀវភៅសិក្សាផងដែរ។ ពណ៌របស់កុំផ្លិចនៃអ៊ីយ៉ូដនិងអាមីឌុនគឺស្រស់យល់ប្រុងនៃទម្រង់លីនេអ៊ែររបស់អាមីឌុន។

However, the color change mechanism of iodine-starch reaction reported recently<sup>12, 13</sup> and Japanese textbooks are different. Iodine has a strong ability to form charge transfer (CT) complexes even with weak donors. As the result, charge transfer from donor  $I^-$  to acceptor  $I_2$  to form  $I_3^-$  and to form polyiodide  $I_n^-$  occur in the same manner. The color of the aqueous solution of polyiodides is brown. When the solution is added to a mixture of starch in water, charge transfer from starch (donor) to polyiodides (acceptor) to form deep-blue CT complexes. Chemists<sup>13</sup> in USA reported the preparation and single X-ray crystallographic studies of the first infinite polyiodide of polymer chain. The Raman spectrum of the compound showed the same band as the starch-iodine complex. This result indicates that the infinite polyiodides are taken into the spiral structure of starch.

ប៉ុន្តែ ចលនការនៃការផ្លាស់ប្តូរពណ៌នៃប្រតិកម្មអ៊ីយ៉ូដនិងម្សៅអាមីឌុនដែលបានបោះពុម្ពផ្សាយថ្មីៗនេះ<sup>12, 13</sup> និងសៀវភៅសិក្សាជប៉ុនគឺខុសគ្នា។ អ៊ីយ៉ូដមានសមត្ថភាពខ្លាំងក្នុងការផ្តើមបន្ត (CT) កុំផ្លិច ទោះបីប្រភេទគីមីនោះជាអ្នកផ្តល់បន្តក្រោយពីដោយ។ ជាលទ្ធផលការផ្តើមបន្តពី  $I^-$  ទៅ  $I_2$  ដើម្បីបង្កើតទម្រង់  $I_3^-$  និងដើម្បីបង្កើតជាសារធាតុប៊ូលីមែរ ( $I_n^-$ ) ក្នុងលក្ខណៈដូចគ្នា។ សូលុយស្យុងទឹកនៃប៊ូលីមែរអ៊ីយ៉ូដមានពណ៌ត្នោត។ នៅពេលសូលុយស្យុងនេះត្រូវបានបន្ថែមទៅក្នុងល្បាយនៃម្សៅអាមីឌុនក្នុងទឹក បន្តក្រាមត្រូវបានផ្តើមពីម្សៅអាមីឌុនទៅជាប៊ូលីមែរអ៊ីយ៉ូដដើម្បីបង្កើតជាកុំផ្លិចផ្តើមបន្តដែលមានពណ៌ខៀវចាស់។ អ្នកគីមីវិទ្យា<sup>13</sup> សហរដ្ឋអាមេរិកបានបោះពុម្ពផ្សាយអំពីការសំយោគនិងការសិក្សាគ្រីស្តាលូកាមីនៃកុំផ្លិចតែមួយរបស់ប៊ូលីមែរអ៊ីយ៉ូដដំបូង។ ស្តីពី Raman របស់សារធាតុនេះគឺដូចគ្នាទៅនឹងស្តីពីប្រព័ន្ធនៃអាមីឌុននិងអ៊ីយ៉ូដ។ លទ្ធផលនេះបង្ហាញថាប៊ូលីមែរអ៊ីយ៉ូដត្រូវបានផ្លាស់ទីទៅក្នុងទម្រង់ស្បែកនៃអាមីឌុន។

In Cambodian high school textbook,<sup>14</sup> the structure of starch and the color change of the iodine-starch reaction are described, but there is no description of why the color changes.

ក្នុងសៀវភៅសិក្សាគោលគីមីវិទ្យានៅកម្រិតវិទ្យាល័យនៅប្រទេសកម្ពុជា<sup>14</sup> ទម្រង់នៃអាមីឌុននិងការផ្លាស់ប្តូរពណ៌នៃប្រតិកម្មរវាងអ៊ីយ៉ូដនិងអាមីឌុនត្រូវបានពិពណ៌នា ប៉ុន្តែមិនមានការពន្យល់អំពីមូលហេតុដែលពណ៌ផ្លាស់ប្តូរទេ។

Olive oil contains about 99% triacylglycerols. The general structure of triacylglycerol is shown in Figure 4. The acyl groups  $R^1$ ,  $R^2$ , and  $R^3$  in triacylglycerols are different; the main acyl group is an oleyl group having one C=C bond. The range of components of fatty acids in olive oil and their structures are also shown in Figure 5.

ប្រេងអូលីវមានផ្ទុកសារធាតុទ្រីគីសេរ៉ូលប្រហែល 99% ។ ទម្រង់ទូទៅនៃ ទ្រីគីសេរ៉ូលត្រូវបានបង្ហាញនៅក្នុង Figure 4។ ក្រុម អាស៊ីល  $R^1$ ,  $R^2$  និង  $R^3$  នៅក្នុងទ្រីគីសេរ៉ូលគឺខុសគ្នាហើយក្រុមអាស៊ីលសំខាន់គឺក្រុមអូលីវីនដែលមានសម្ព័ន្ធ  $C=C$  ។ ជួរនៃសមាសធាតុនៃអាស៊ីតខ្លាញ់នៅក្នុងប្រេងអូលីវនិងទម្រង់របស់វាក៏ត្រូវបានបង្ហាញនៅក្នុង Figure 5 ផងដែរ។

Iodine value is an important concept for expressing the

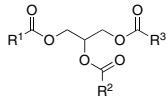


Figure 4. General structure of fat (triacylglycerol).

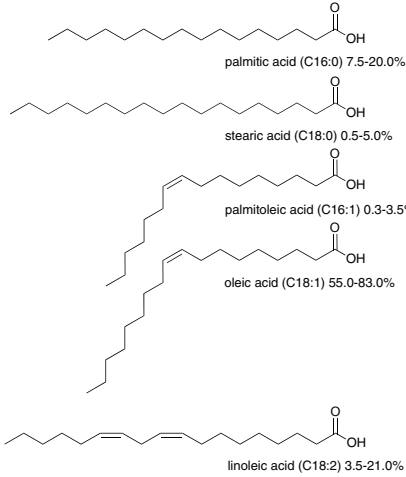


Figure 5. Structure of fatty acids and their composition of olive oil.<sup>15, 16</sup>

amount of unsaturated C=C bonds in fats and oils. There are two definitions.

តម្លៃអ៊ីយ៉ូដឺនគឺជាចំនួនសម្រាប់បង្ហាញពីចំនួននៃចំណង C=C ដែលមិនផ្ដុំនៅក្នុងខ្លួនវា និងប្រេង។ វាមានន័យដូចតទៅ៖

1. The iodine value is the mass of iodine in grams that is consumed by 100 grams of a chemical substance.
១. តម្លៃអ៊ីយ៉ូដឺនគឺជាម៉ាស់អ៊ីយ៉ូដឺនគិតជាប្រាក់មួយស្រាប់បង្ហាញពីចំនួននៃចំណង C=C ដែលមិនផ្ដុំនៅក្នុងខ្លួនវា និងប្រេង។
2. When a halogen is reacted with a 100 g sample, the iodine value is the number of grams of reacted halogen converted to the number of grams of I<sub>2</sub>.
២. នៅពេលដែលអាតូមអ៊ីយ៉ូដឺនមួយស្រាប់បង្ហាញពីចំនួននៃចំណង C=C ដែលមិនផ្ដុំនៅក្នុងខ្លួនវា និងប្រេង។

The definition 1 is derived from Wikipedia,<sup>17</sup> Japanese chemistry textbooks,<sup>18</sup> and so on.<sup>19</sup> The definition 2 is derived from JIS (Japanese Industrial Standards)<sup>20</sup> and Japanese Pharmacopoeia.<sup>21</sup> From the view point of the experimental procedure for determination of iodine value<sup>21, 22</sup> using iodine monochloride, the definition 2 is considered preferable. In Cambodian high school textbook,<sup>23</sup> the hydrogenation and hydrolysis of fats are described, but there is no description of iodine value.

និយមន័យទី១ មានប្រភពមកពី Wikipedia<sup>17</sup> សៀវភៅគីមីវិទ្យារបស់ជប៉ុន<sup>18</sup> និងពីប្រភពផ្សេងទៀត។<sup>19</sup> និយមន័យទី២ មានប្រភពមកពីស្តង់ដារស្បែកប្រេងជប៉ុន (J I S)<sup>20</sup> និងនិស្សន្ទស័កជប៉ុន។<sup>21</sup> តាមគោលការណ៍សម្រាប់ការកំណត់តម្លៃអ៊ីយ៉ូដឺន<sup>21, 22</sup> និយមន័យទី២ ត្រូវបានយកមកប្រើ។ ក្នុងសៀវភៅគីមីវិទ្យារបស់ជប៉ុន<sup>21, 22</sup> ត្រូវបានយកមកប្រើ។ ក្នុងសៀវភៅគីមីវិទ្យារបស់ជប៉ុន<sup>21, 22</sup> ត្រូវបានយកមកប្រើ។ ក្នុងសៀវភៅគីមីវិទ្យារបស់ជប៉ុន<sup>21, 22</sup> ត្រូវបានយកមកប្រើ។

Our method demonstrated that shaking olive oil and the deep blue mixture has an advantage; free iodine molecules

migrate gradually from the spiral structure of starch due to good solubility in olive oil and due to reaction with olive oil.

វិធីសាស្ត្ររបស់យើងបានបង្ហាញថាការប្រកួតប្រជែងរវាងស្រូវនិងស្រូវចាស់មានគុណប្រយោជន៍មួយ។ ម៉ូលេគុលអ៊ីយ៉ូដឺនស្រូវចាស់ទីបង្អស់មួយ ចេញពីទម្រង់ស្រូវចាស់មុនដោយសារតែការរលាយនៅក្នុងប្រេងអ៊ីយ៉ូដឺននិងដោយសារប្រតិកម្មជាមួយប្រេងអ៊ីយ៉ូដឺន។

After our demonstration in Hun Sen Veal Renh High School, one of chemistry teachers had a question “Have you ever checked the iodine molecule addition to olive oil?”. In order to answer the question, we carried out the reaction of olive oil with iodine-containing materials under several reaction conditions and the products were analyzed for structure determination by measurements of nuclear magnetic resonance (NMR) spectra.

បន្ទាប់ពីការធ្វើពិសោធបង្ហាញរបស់យើងនៅវិទ្យាល័យហ៊ុនសែនវាលរេន គ្រូគីមីវិទ្យាម្នាក់មានសំណួរថា “តើអ្នកធ្លាប់បានសិក្សាលំអិតអំពីប្រតិកម្មប្រេងអ៊ីយ៉ូដឺននិងប្រេងអ៊ីយ៉ូដឺនទម្រង់ម៉ូលេគុលរបស់វាទេ?” ដើម្បីឆ្លើយសំណួរនេះ យើងបានធ្វើប្រតិកម្មប្រេងអ៊ីយ៉ូដឺនជាមួយវត្ថុធាតុដើមដែលមានផ្ទុកអ៊ីយ៉ូដឺនក្នុងប្រេងអ៊ីយ៉ូដឺនផ្សេងៗគ្នា ហើយផលិតផលត្រូវបានវិភាគដើម្បីកំណត់ទម្រង់របស់វាដោយប្រើ NMR (nuclear magnetic resonance) ។

II. Results and discussion

In this study, reactions of olive oil with iodine-containing reagent were monitored by nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy. First, we measured the NMR spectra of a commercially available olive oil. Then we performed a reaction of the olive oil with Isodine from room temperature to 100 °C. The reaction mixtures were so complex to be analyzed for the products. In order to simplify a reaction mixture, we used iodine as reagent. After that, we found some products were unstable to be isolated. The reaction was carried out in ethanol because mouth wash contains large amount of ethanol. We isolated ethyl groups-containing product from the reactively simple reaction mixture.

នៅក្នុងការសិក្សានេះប្រតិកម្មនៃប្រេងអ៊ីយ៉ូដឺនជាមួយសារធាតុដែលមានផ្ទុកអ៊ីយ៉ូដឺនត្រូវបានគ្រូគីមីវិទ្យាដោយស្ម័គ្រចិត្តប្រើប្រាស់ជាដំបូង (NMR)។ ដំបូង យើងវាស់ស្ទង់ចំនួនអ៊ីយ៉ូដឺនប្រេងអ៊ីយ៉ូដឺន (NMR) របស់ប្រេងអ៊ីយ៉ូដឺនដែលមានលក់នៅទីផ្សារ។ បន្ទាប់មកយើងធ្វើប្រតិកម្មប្រេងអ៊ីយ៉ូដឺនជាមួយអ៊ីយ៉ូដឺននៅសីតុណ្ហភាពផ្សេងៗគ្នា ពីសីតុណ្ហភាពបន្តិចដល់ 100 °C។ ល្បាយប្រតិកម្មមានភាពស្មុគស្មាញណាស់ដែលធ្វើឱ្យពិបាកក្នុងការវិភាគផលិតផល។ ដើម្បីធ្វើឱ្យល្បាយប្រតិកម្មមានភាពសាមញ្ញ យើងប្រើអ៊ីយ៉ូដឺនជំនួសវិញ។ បន្ទាប់ពីនោះយើងបានរកឃើញថាផលិតផលមួយចំនួនមិនមានស្ថេរភាពដែលជាហេតុដែលធ្វើឱ្យយើងមិនអាចញែកវាបាន។ ប្រតិកម្មត្រូវបានអនុវត្តក្នុងអេតាណុល ព្រោះ Mouthwash មានផ្ទុកអេតាណុលច្រើន។ យើងញែកផលិតផលដែលមានក្រុមអេទីលពីល្បាយប្រតិកម្មមួយដែលសាមញ្ញជាងមុន។

1. Structural assignment for NMR spectrum of an olive oil

NMR spectra of olive oil had been reported previously.<sup>24, 25</sup> By measuring the NMR spectrum of commercial olive oil, the composition of fatty acid was approximated. HSQC spectrum of olive oil in CDCl<sub>3</sub> is shown in Figure 6.



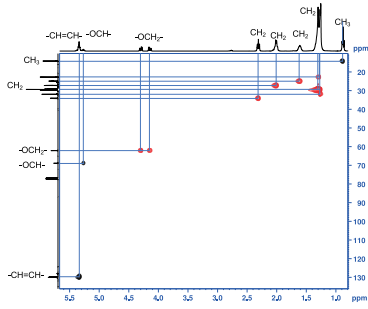


Figure 6. HSQC spectrum of olive oil in CDCl<sub>3</sub>

Each HSQC correlation shows direct connection of a proton with a carbon (H-C:  $^1J_{H,C}$ ). Assignments of  $^1H$  and  $^{13}C$  NMR are shown in Figures 7 and 8. The assignments were carried out by using COSY and HMBC correlations (Figure 8). COSY and HMBC correlations show couplings of protons (mainly H-C-C-H:  $^3J_{H,H}$ ) and 2 or 3 bonds away from a proton to a carbon (H-C-C:  $^2J_{H,C}$  or : H-C-C-C:  $^3J_{H,C}$ ). CH<sub>3</sub> groups of fatty acids were observed at 0.88 ppm in  $^1H$  NMR (Figure 7), and 14.13 and 14.09 ppm in  $^{13}C$  NMR. Larger coupling constant ( $J = 11.9$  Hz) of CH<sub>2</sub> group for glycerol moiety in  $^1H$  NMR was due to geminal coupling of 2 protons (4.30 and 4.14 ppm) of the CH<sub>2</sub> group. Vinyl protons of C=C bonds were observed at 5.40–5.30 ppm  $^1H$  NMR. Stronger peaks in  $^{13}C$  NMR for C=C bonds of oleic acid were observed at 130.01, 129.71, and 129.69 ppm, and weaker peaks for C=C bonds of linoleic acid were observed at 130.21, 129.97, 129.92, 129.83, 128.09, 128.08, and 127.90 ppm. Carbonyl carbons were observed at 173.27, 173.25, and 172.84 ppm. The chemical shifts were different depending on attaching to an oxygen atom at methine or methylene of glycerol unit.

ស្បៀងនិងក្លរូអ៊ែរម៉ាញ៉េទិចមេសូណង់ (NMR) របស់ប្រុងអូលីវត្រូវបានបោះពុម្ពផ្សាយពីមុន រួមមានហើយ។<sup>24, 25</sup> តាមរយៈការវាស់ស្បៀងនិងក្លរូអ៊ែរម៉ាញ៉េទិចមេសូណង់ (NMR) របស់ប្រុងអូលីវដែលមានលក្ខណៈទីផ្សារ ធាតុផ្សំរបស់អាស៊ីតខ្លាញ់ត្រូវបានកំណត់។ ស្បៀង របស់ប្រុងអូលីវក្នុងក្រុមប្រុងត្រូវបានបង្ហាញក្នុង Figure 6។ ចំណុចនីមួយៗនៃ HSQC បង្ហាញពីទំនាក់ទំនងផ្ទាល់រវាងប្រូតុងមួយនិងកាបូនមួយ។ ការកំណត់តម្លៃនៃស្បៀងនិងក្លរូអ៊ែរម៉ាញ៉េទិចមេសូណង់ (NMR) របស់ប្រុងអូលីវនិងកាបូននីមួយៗត្រូវបានបង្ហាញក្នុង Figures 7 និង 8។ ការកំណត់តម្លៃនៃស្បៀងនេះផ្អែកទៅលើទំនាក់ទំនង COSY និង HMBC ដូចបង្ហាញក្នុង Figure 8។ COSY បង្ហាញពីអន្តរកម្មរវាងអាតូមអ៊ីដ្រូសែនដែលនៅលើអាតូមកាបូនផ្សេងគ្នា ចំណែក HMBC បង្ហាញពីអន្តរកម្មរវាងអាតូមកាបូនមួយជាមួយនឹងអាតូមកាបូនផ្សេងៗទៀតដែលនៅលើអាតូមកាបូនជាប់រយៈពេលពីរ។

ក្រុមមេទីលនៃអាស៊ីតខ្លាញ់ត្រូវបានគេសង្កេតឃើញនៅ 0.88 ppm ក្នុងស្បៀងនិងក្លរូអ៊ែរម៉ាញ៉េទិចមេសូណង់នៃប្រុងអូលីវ ( $^1H$  NMR) ក្នុង Figures 7 និង 14.13 ppm 14.09 ppm ក្នុងស្បៀងនិងក្លរូអ៊ែរម៉ាញ៉េទិចមេសូណង់នៃកាបូន ( $^{13}C$  NMR)។

មេរន្តបង្កប់នៃមេទីល ( $J = 11.9$  Hz) របស់ក្លរូអ៊ែរម៉ាញ៉េទិចមេសូណង់  $^1H$  NMR គឺដោយសារតែការផ្លាស់ប្តូរក្នុងពីរ (4.30 និង 4.14 ppm) លើកាបូននីមួយៗនៃក្រុម CH<sub>2</sub>។ វិនិច្ឆ័យនៃសម្ព័ន្ធពីរវាង C=C ត្រូវបានគេសង្កេតឃើញនៅ 5.40–5.30 ppmក្នុង  $^1H$  NMR ។ ពីករបស់កាបូននៃសម្ព័ន្ធពីរវាងរបស់អាស៊ីតអូលេអ៊ីតត្រូវបានសង្កេតឃើញនៅ 130.01 129.71 និង 129.69 ppm ហើយពីករបស់កាបូននៃសម្ព័ន្ធពីរវាងរបស់អាស៊ីតលីណូអ៊ីតត្រូវបានសង្កេតឃើញនៅ 130.21 129.97 129.92 129.83

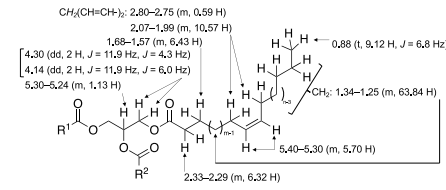


Figure 7. Assignments and relative ratio of protons for  $^1H$  NMR spectrum (CDCl<sub>3</sub>) of an olive oil.

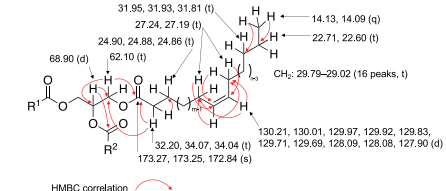


Figure 8. Assignments of  $^{13}C$  NMR spectrum (CDCl<sub>3</sub>) and HMBC correlations of an olive oil.

128.09 128.08 និង 127.90 ppm។ កាបូនដែលកាបូនត្រូវបានសង្កេតឃើញនៅ 173.27 173.25 និង 172.84 ppm។ Chemical shifts មានភាពខុសគ្នាអាស្រ័យលើការភ្ជាប់អាតូមអុកស៊ីសែននៅមេទីលនិងមេទីលនៃកាតាតិមួយៗរបស់ក្លរូអ៊ែរម៉ាញ៉េទិចមេសូណង់។

**2. Reaction of an olive oil with of a povidone-iodine-containing mouthwash**

As a preliminary experiment, olive oil used in our Cambodian high school practice was mixed with iodine-containing gargle that is easily available in Japan, stirred and reacted under various reaction conditions with changing temperature and reaction time. As a result of NMR analysis in Figure 9, it was found that the analysis was almost impossible with a very complicated reaction mixture and low concentration of the products due to large recovery of the olive oil. Although mouthwash contains ethanol, glycerol, water, and povidone-iodine, it was presumed that their inclusion would make the reaction very complicated. Moreover, the reaction rate was so slow due to low concentration of I<sub>2</sub> in the gargle. Therefore, the reaction with olive oil was carried out using a single substance iodine instead of a povidone-iodine-containing mouthwash.

ក្នុងការពិសោធន៍ជាដំបូង ប្រុងអូលីវដែលបានប្រើពេលពិសោធន៍នៅវិទ្យាល័យមួយក្នុងប្រទេសកម្ពុជា ត្រូវបានលាយជាមួយទឹកខ្លួនរាត់ដែលមានផ្ទុកអ៊ីយ៉ូដដែលងាយរកបាននៅក្នុងប្រទេសជប៉ុន ហើយទុកឱ្យមានប្រតិកម្មនៅក្រោមលក្ខខណ្ឌប្រតិកម្មផ្សេងៗជាមួយនឹងការប្រែប្រួលសីតុណ្ហភាពនិងរយៈពេលប្រតិកម្ម។ ស្បៀងនិងក្លរូអ៊ែរម៉ាញ៉េទិចមេសូណង់របស់ល្បាយប្រតិកម្មត្រូវបានបង្ហាញក្នុង Figure 9។ ការវិភាគផ្ទៃក្រចកនៃផលិតផលទៅបានជាមួយនឹងល្បាយប្រតិកម្មស្មុគស្មាញ់និងកំហាប់ផលិតផលទាបដោយសារតែបរិមាណដ៏ច្រើននៃប្រុងអូលីវមិនចូលប្រតិកម្ម។ ទឹកខ្លួនរាត់មានផ្ទុកអេតាណុល គ្លីសេរីន ទឹកនិង ផ្លូវីអ៊ុន-អ៊ីយ៉ូដ (povidone-iodine) ទាំងអស់នេះហើយដែលត្រូវបានចាត់ទុកថាធ្វើឱ្យប្រតិកម្មស្មុគស្មាញ់។ លើសពីនេះទៅទៀត ល្បាយប្រតិកម្មយឺតយ៉ាវដោយសារតែកំហាប់អ៊ីយ៉ូដទាប។ ដូច្នេះ ប្រតិកម្មជាមួយប្រុងអូលីវត្រូវបានអនុវត្តដោយប្រើអ៊ីយ៉ូដជំនួសឱ្យការប្រើប្រាស់ទឹកខ្លួនរាត់ដែលមានជាតិ ផ្លូវីអ៊ុន-អ៊ីយ៉ូដវិញ។

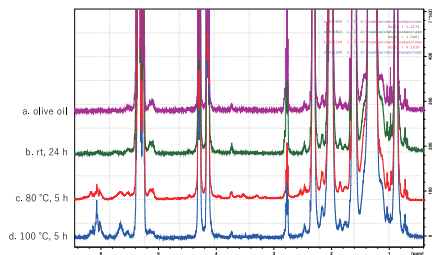


Figure 9. <sup>1</sup>H NMR spectra (CDCl<sub>3</sub>) of reaction mixtures of an olive oil with a povidone-iodine-containing mouthwash.

**3. Reaction of an olive oil with iodine**

The reaction with olive oil was carried out using a single substance iodine instead of a povidone-iodine-containing mouthwash. Reaction time dependent <sup>1</sup>H NMR spectra of the reaction mixture in CDCl<sub>3</sub> are shown in Figure 10. After 1 h, new peaks of the products were appeared, finally starting material, olive oil, was almost disappeared until 72 h. HSQC spectrum (CDCl<sub>3</sub>) of the reaction mixtures of an olive oil with I<sub>2</sub> after 72 h is shown in Figure 11. Surprisingly, the spectrum showed the presence of CH<sub>2</sub>= moiety. The methylene unit was formed by iodine-mediated elimination reaction of triacylglycerol as shown in Scheme 1. The methylene unit was also detected in the reaction mixture after 24 h by measuring HSQC spectrum. Furthermore, strange CH<sub>2</sub> peaks (<sup>1</sup>H: 3.9–3.2 ppm, <sup>13</sup>C: 8.1–2.5 ppm) were appeared in the HSQC spectrum. The peaks were disappeared by washing with saturated aq Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. This result showed that the intermediate was not stable to be isolated. So, we thought a possibility of formation of iodine-fatty acyl complex, but there was no evidence.

ប្រតិកម្មជាមួយប្រេងអូលីវត្រូវបានអនុវត្តដោយប្រើអ៊ីយ៉ូដឌីនសិបប្រាំមួយម៉ែត្រក្រាមប្រើមាត់ទឹកខ្ពុរមាត់ដែលមានជាតិ អ៊ីយ៉ូដឌីនអ៊ីយ៉ូដអ៊ីយ៉ូដ។ ស្ប៉ូចនុយក្លេអ៊ីតម៉ាញ៉េទិចអសូណាងនៃប្រូតុង (<sup>1</sup>H NMR) របស់ល្បាយប្រតិកម្មតាមពេលក្នុង CDCl<sub>3</sub> ត្រូវបានបង្ហាញក្នុង Figure 10។ បន្ទាប់ពីរយៈពេល ១ ម៉ោង ពិក (peaks) របស់ផលិតផលបានលេចចេញហើយបន្ទាប់ពីរយៈពេល ៧២ ម៉ោង ពិក (peaks) របស់ប្រេងអូលីវបានបាត់ស្ទើរតែអស់។ ស្ប៉ូច HSQC (CDCl<sub>3</sub>) របស់ល្បាយប្រតិកម្មនៃប្រេងអូលីវជាមួយអ៊ីយ៉ូដ ពីរយៈពេល ៧២ ម៉ោងត្រូវបានបង្ហាញក្នុង Figure 11។ គួរឱ្យកត់សម្គាល់ ស្ប៉ូចនុយក្លេអ៊ីតម៉ាញ៉េទិចអសូណាងបានបង្ហាញពីវត្តមានមេទីទ្រូន (CH<sub>2</sub>=)។ មេទីទ្រូន (CH<sub>2</sub>=) បានកើតឡើងដោយប្រតិកម្មបណ្តាច់ចេញនៃទ្រីគីសេរ៉ុលដែលសម្របសម្រួលដោយអ៊ីយ៉ូដឌីនបង្កបង្កាញក្នុង Scheme 1 ។ ឯកតាមេទីទ្រូន (CH<sub>2</sub>=) ក៏ត្រូវបានសង្កេតឃើញនៅក្នុងល្បាយប្រតិកម្ម

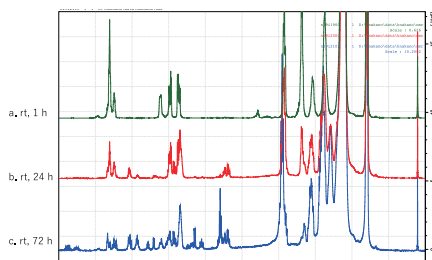


Figure 10. Reaction time dependent <sup>1</sup>H NMR spectra (CDCl<sub>3</sub>) of the reaction mixtures of an olive oil with I<sub>2</sub>.

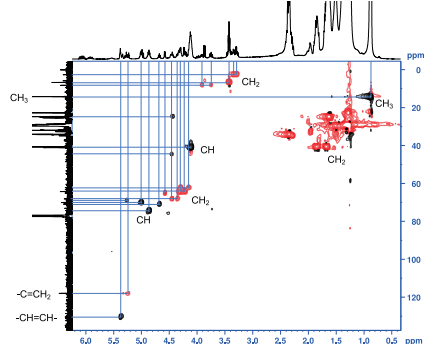
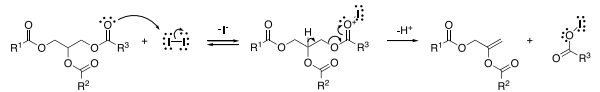


Figure 11. HSQC spectrum (CDCl<sub>3</sub>) for the reaction mixtures of an olive oil with I<sub>2</sub> after 72 h.



Scheme 1. Plausible formation mechanism of CH<sub>2</sub>= moiety from the reaction of an olive oil with I<sub>2</sub>.

ធ្លាប់ពីរយៈពេល ២៤ ម៉ោងដោយការវាស់ស្ទង់ HSQC ផងដែរ ។ លើសពីនេះទៅទៀតពិការបស់មេទីទ្រូន (CH<sub>2</sub>=) (<sup>1</sup>H: 3.9–3.2 ppm, <sup>13</sup>C: 8.1–2.5 ppm) លេចចេញក្នុងស្ប៉ូច HSQC។ ពិការទាំងនេះបានបាត់ដោយការលាងជាមួយក្នុងទឹកស្អុយស្ប៉ុងផ្អែកនៃ Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ក្នុងទឹក។ លទ្ធផលនេះបានបង្ហាញថា អង្គធាតុកណ្តាលមិនមានស្ថេរភាពសម្រាប់ការញែកនោះទេ។ ដូច្នេះ យើងបានគិតថា កុំផ្លិចអ៊ីយ៉ូដ-ខ្លាញ់បានកើតឡើងប៉ុន្តែមិនមានកស្មតាទេ។

**4. Reaction of an olive oil with iodine in the presence of ethanol**

Because of mouth wash containing large amount of ethanol, we carried out the reaction of olive oil with I<sub>2</sub> in the presence of ethanol.

ដោយសារតែទឹកខ្ពុរមានផ្ទុកបរិមាណអេតាណុលច្រើន យើងអនុវត្តប្រតិកម្មនៃប្រេងអូលីវជាមួយអ៊ីយ៉ូដ ក្នុងអេតាណុល។

A solution of olive oil and I<sub>2</sub> in ethanol was stirred at room temperature for 12 d. The mixture was dissolved in chloroform, then the solution was washed with saturated aq Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. The organic layer was concentrated under reduced pressure to give a reaction mixture. We measured the NMR spectra of the reaction mixture in CDCl<sub>3</sub> before washing with saturated aq Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. After washing treatment, several peaks were disappeared. The color of the solution changed from brown to colorless. These changes might be due to the decomposition of reactive chemical species and the disappearance of interactions of iodine. The HSQC spectrum of the mixture showed three cross peaks of methyl groups (from <sup>1</sup>H to <sup>13</sup>C, **a.** 1.25 ppm–14.26 ppm, **b.** 1.20 ppm–15.63 ppm, and **c.** 0.88 ppm–14.11 ppm) as shown in Figures 12 and 13. The proton of methyl group **a** had COSY correlation with of CH<sub>2</sub> group at 4.12 ppm. The CH<sub>2</sub> group had a correlation with carbonyl carbon at 173.88, 173.86, 173.83, 173.81 ppm in HMBC spectrum. These results suggested

that the product was ethyl ester. The proton of methyl group **b** had COSY correlation with asymmetrical OCH<sub>2</sub> group at 3.65–3.56 ppm and 3.56–3.48 ppm. The CH<sub>2</sub> group had a correlation with fatty acyl CH carbons connecting to oxygen at 83.26 ppm and 83.25 ppm in HMBC spectrum. The CH group (3.19–3.15 ppm) also had a <sup>3</sup>J<sub>H,C</sub> correlation with the OCH<sub>2</sub> group in HMBC spectrum. The result for measurement of NOESY spectrum showed that CHI group (4.20 ppm) located near the CH group (3.19–3.15 ppm) and one of the asymmetrical OCH<sub>2</sub> group at 3.65–3.56 ppm with one another. The CHI group (<sup>1</sup>H: 4.20 ppm) was assigned as 41.35 ppm in <sup>13</sup>C NMR with the aid of HSQC spectrum. These results showed that the methyl group **b** was a moiety of iodoethoxylation of alkene unit of fatty acyl group. Finally, the proton of methyl group **c** had two correlations with CH<sub>2</sub> groups at 22.67 ppm and around 31.9 ppm in HMBC spectrum. From the correlations, methyl group **c** was located in the termination of fatty acyl group.

សូលុយស្យុងនៃប្រុងអ៊ូលីវនិងអ៊ីយ៉ូដាញ់ក្នុងអេតាណុលត្រូវបានកូរនៅសីតុណ្ហភាពបន្តិចបន្តួច៖ ពេល ១២ ម៉ោង។ ល្បាយនេះត្រូវបាននាំទៅក្នុងក្រដាសបន្ទាបមក លាងជាមួយសូលុយស្យុងផ្លែតនៃ Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ក្នុងទឹក។ ជាសំណាកត្រូវបានស្រួតនៅក្រោមសម្ពាធជាបដើម្បីទទួលបានល្បាយប្រតិកម្មមួយ។ យើងបានវាស់ស្ទង់ចំនួនអ៊ីយ៉ូដាញ់ដែលនៅសល់នៃល្បាយប្រតិកម្មនេះនៅក្នុង CDCl<sub>3</sub> មុនពេលលាងជាមួយសូលុយស្យុងផ្លែតនៃ Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ក្នុងទឹក។ បន្ទាប់ពីលាងសម្អាតពិការជាច្រើនបានចាត់។ ពណ៌នៃសូលុយស្យុងបានផ្លាស់ប្តូរពីពណ៌ត្នោតទៅគ្មានពណ៌។ ការផ្លាស់ប្តូរទាំងនេះអាចបណ្តាលមកពីការបំបែកនៃប្រភេទគីមីសកម្មនិងការបាត់នៃអន្តរកម្មនៃអ៊ីយ៉ូដាញ់។ ស្តីពី HSQC របស់ល្បាយនេះបានបង្ហាញពីទំនាក់ទំនងរវាងក្រុមមេទីលចំនួនបី (from <sup>1</sup>H to <sup>13</sup>C, **a**. 1.25 ppm–14.26 ppm, **b**. 1.20 ppm–15.63 ppm, and **c**. 0.88 ppm–14.11 ppm) ដូចបានបង្ហាញក្នុង Figures 12 និង 13។ ប្រូតុងនៃក្រុមមេទីល **a** មានទំនាក់ទំនង COSY ជាមួយក្រុមមេទីល (CH<sub>2</sub>) នៅ 4.12 ppm ។ ក្រុម CH<sub>2</sub> មានទំនាក់ទំនងជាមួយកាបូនីលកាបូននៅ 173.88, 173.86,

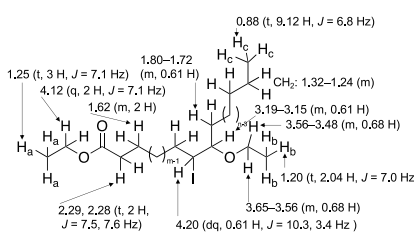


Figure 12. Assignments and relative ratio of protons for <sup>1</sup>H NMR spectrum (CDCl<sub>3</sub>) of the product of an olive oil with I<sub>2</sub> in ethanol.

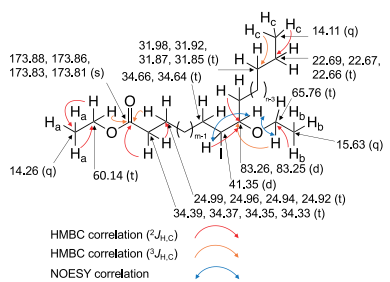


Figure 13. Assignments of <sup>13</sup>C NMR spectrum (CDCl<sub>3</sub>) for the product of an olive oil with I<sub>2</sub> in ethanol.

173.83, 173.81 ppm ក្នុងស្តីពី HMBC។ លទ្ធផលទាំងនេះបានបង្ហាញថាផលិតផលនេះគឺជា

អេទីលអេស្ត័រ។ ប្រូតុងនៃក្រុមមេទីល **b** មានទំនាក់ទំនង COSY ជាមួយក្រុម OCH<sub>2</sub> អស៊ីមេទ្រីនៅ 3.65–3.56 ppm និង 3.56–3.48 ppm។ ក្រុម CH<sub>2</sub> នេះមានទំនាក់ទំនងជាមួយកាបូនក្រុមអាស៊ីល (acyl CH carbons) នៃខ្លាញ់ដែលភ្ជាប់ទៅអ៊ុកស៊ីសែននៅ 83.26 ppm និង 83.25 ppm ក្នុងស្តីពី HMBC ។ ក្រុម CH (3.19–3.15 ppm) ក៏មានទំនាក់ទំនង <sup>3</sup>J<sub>H,C</sub> ជាមួយក្រុម OCH<sub>2</sub> នៅក្នុងស្តីពី HMBC ។ លទ្ធផលនៃការវាស់ស្ទង់ NOESY បានបង្ហាញថាក្រុម CHI (4.20 ppm) មានទំនាក់ទំនងជាមួយក្រុម CH (3.19–3.15 ppm) និងក្រុម OCH<sub>2</sub> មួយនៅ 3.65–3.56 ppm ជាមួយក្រុមមួយទៀត។ ក្រុម CHI (<sup>1</sup>H: 4.20 ppm) បានលេចចេញនៅ 41.35 ppm ក្នុង <sup>13</sup>C NMR ដោយមានជំនួយពីស្តីពី HSQC។ លទ្ធផលទាំងនេះបានបង្ហាញថា ក្រុមមេទីល **b** គឺជាផ្នែកមួយរបស់

អ៊ីយ៉ូដាញ់ដែលភ្ជាប់ទៅអ៊ុកស៊ីសែនរបស់ក្រុមអាស៊ីតខ្លាញ់។ ប្រូតុងនៃក្រុមមេទីល **c** មានទំនាក់ទំនងជាមួយក្រុម CH<sub>2</sub> នៅ 22.67 ppm និងប្រហែល 31.9 ppm ក្នុងស្តីពី HMBC។ ទំនាក់ទំនងនេះ ក្រុមមេទីល **c** មានទំនាក់ទំនងជាមួយខ្លាញ់នៃក្រុមអាស៊ីតខ្លាញ់។

The NMR spectra of the reaction mixture showed the presence of C=C bond. Assignments of <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectrum (CDCl<sub>3</sub>) of the C=C bond remaining product is shown in Figure 14.

ស្តីពីន្ទុយក្រុមអ៊ីយ៉ូដាញ់ដែលនៅសល់នៃល្បាយប្រតិកម្មបានបង្ហាញពីវត្តមាននៃ សម្ព័ន្ធ C=C ។ ការវាស់ស្ទង់នៃស្តីពី <sup>1</sup>H និង <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) របស់ C=C នៃផលិតផលដែលនៅសល់ត្រូវបានបង្ហាញនៅក្នុង Figure 14។

In order to further identify the products, the reaction mixture was separated by column chromatography, and then preparative TLC to give the C=C bond remaining ethyl ester (*R<sub>f</sub>* = 0.22) and the iodoethoxylated ethyl ester (*R<sub>f</sub>* = 0.17). The high resolution mass spectrum (ESI positive) of the latter showed the presence of [M+Na]<sup>+</sup> at *m/z* = 505.2139, which corresponded to the iodoethoxylated oleic acid ethyl ester (calcd for C<sub>22</sub>H<sub>43</sub>INaO<sub>3</sub><sup>+</sup>; *m/z* = 505.2149). Approximately 61% of all ethyl esters were iodoethoxylated from the <sup>1</sup>H NMR spectrum of the reaction mixture.

ដើម្បីកំណត់អត្តសញ្ញាណផលិតផល ល្បាយប្រតិកម្មត្រូវបានបំបែកដោយ column chromatography បើបន្ទាប់ TLC ដើម្បីទទួលបានអេទីលអេស្ត័រដែលនៅសល់ (*R<sub>f</sub>* = 0.22) និងអេទីលអេស្ត័រដែលមានអ៊ីយ៉ូដាញ់ភ្ជាប់ទៅអ៊ុកស៊ីសែន (*R<sub>f</sub>* = 0.17)។ ស្តីពីម៉ាស់ (ESI positive) របស់អេទីលអេស្ត័រដែលមានអ៊ីយ៉ូដាញ់ភ្ជាប់ទៅអ៊ុកស៊ីសែន បង្ហាញ [M+Na]<sup>+</sup> ត្រង់ *m/z* = 505.2139 ដែលត្រូវនឹងអេទីលអេស្ត័រនៃអាស៊ីតខ្លាញ់ដែលមានអ៊ីយ៉ូដាញ់ភ្ជាប់ទៅអ៊ុកស៊ីសែន (calcd for C<sub>22</sub>H<sub>43</sub>INaO<sub>3</sub><sup>+</sup>; *m/z* = 505.2149)។ តាមរយៈស្តីពី <sup>1</sup>H NMR របស់ល្បាយប្រតិកម្ម ប្រមាណជា 61% នៃអេទីលអេស្ត័រទាំងអស់រង

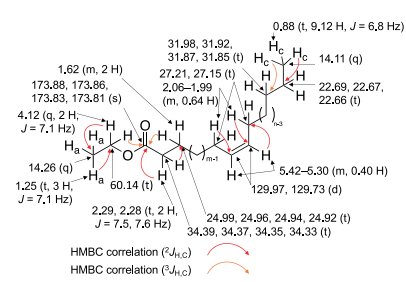


Figure 14. Assignments of <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectrum (CDCl<sub>3</sub>) for the C=C bond remaining product of an olive oil with I<sub>2</sub> in ethanol.

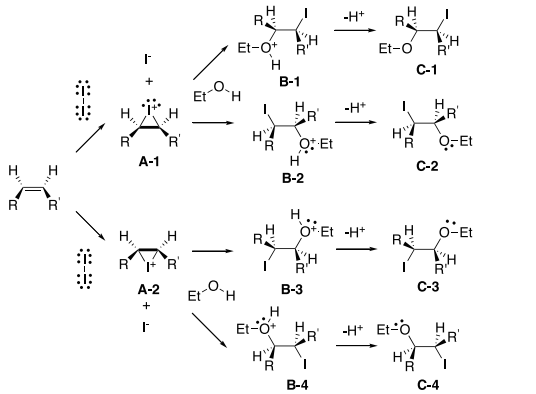
អ៊ីយ៉ូដូអេតុកស៊ីកម្ម

Triacylglycerols or fatty acid ethyl esters are recognized as *cis*-alkenes. The reaction mechanism of iodoalkoxylation of the alkene are shown in Scheme 2. The mechanism is the same type as an addition of Br<sub>2</sub> to alkene as described in standard textbook.<sup>26</sup> At first, I<sub>2</sub> attacked to an electrophilic carbon of alkene with loss of iodide to give an iodonium ion A-1 or A-2. The sterically stabilized isolable iodonium was reported.<sup>27</sup> Ethanol attacked from *anti* to iodine atom with 3-membered ring opening A-1 or A-2, followed by deprotonation of B-1-B-4 to give the final racemic mixtures C-1-C-4.

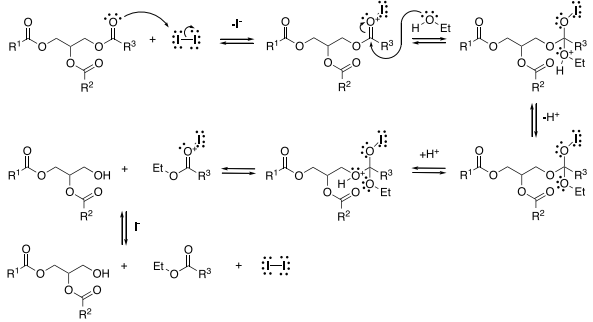
ទ្រឹស្តីស្តីពីស្រុល ឬអេទីលអេស្ត័រអាស៊ីតខ្លាញ់ត្រូវបានគេទទួលស្គាល់ថាជា *cis*-អាស៊ីតស្រុល។ ចលនការប្រតិកម្មរបស់ អ៊ីយ៉ូដូអាល់កុកស៊ីកម្មនៃអាស៊ីតស្រុលត្រូវបានបង្ហាញនៅក្នុង Scheme 2។ ចលនការប្រតិកម្មនេះគឺជាប្រភេទដូចគ្នានឹងចលនការប្រតិកម្មប្រភេទ Br<sub>2</sub> ទៅលើអាស៊ីតស្រុលដែលបានពិពណ៌នានៅក្នុងសៀវភៅ សិក្សាស្តង់ដារ។<sup>26</sup> ដំបូង I<sub>2</sub> ប្រយុទ្ធនឹងលើកាបូនអេទ្រីចត្រីកូណេនីយ៉ាស៊ីតខ្លាញ់នៃអាស៊ីតស្រុលជាមួយនឹងការចាក់ចេញនៃអ៊ីយ៉ូដូអាល់កុកស៊ីកម្មផលជាអ៊ីយ៉ូដូអាល់កុកស៊ីកម្ម A-1 ឬ A-2។ អ៊ីយ៉ូដូអាល់កុកស៊ីកម្មដែលមានស្ថេរភាពត្រូវបានបោះពុម្ពផ្សាយ។<sup>27</sup> អេតាណុលប្រយុទ្ធនឹងលើកាបូនអេទ្រីចត្រីកូណេនីយ៉ាស៊ីតខ្លាញ់នៃអាស៊ីតស្រុលជាមួយនឹងការបើកវង់ដែលមានបីអាតូម A-1 ឬ A-2 បន្ទាប់មកទៀតដេប្រូតុងកម្មនៃ B-1-B-4 ឱ្យផលជាល្បាយរ៉ាស៊ីមេមីច C-1-C-4។

The plausible formation mechanism of the transesterification<sup>28, 29</sup> is considered as shown in Scheme 3. Carbonyl oxygen atom attacks I<sub>2</sub> with loss of iodide. This process is the same as protonation of activating carbonyl carbon in an acid-catalyzed esterification. Iodine act as a catalyst. Transesterification of soybean oil to biodiesel with Zn/I<sub>2</sub> catalyst in methanol was reported in 2006 by Li and Xie.<sup>30</sup> The authors checked the reaction only using I<sub>2</sub> in methanol, they found that combination of Zn and I<sub>2</sub> was important. In our reaction, by using larger amount of I<sub>2</sub> for longer reaction time, the iodoethoxylation of alkene moiety was occurred.

ចលនការដែលអាចជឿទុកចិត្តបាននៃត្រង់អេស្ត័រកម្ម<sup>28, 29</sup> ត្រូវបានបង្ហាញដូចក្នុង Scheme 3។ អាតូមអុកស៊ីសែននៃកាបូនីយ៉ាស៊ីតខ្លាញ់ទៅលើ I<sub>2</sub> ជាមួយនឹងការចាក់ចេញនៃអ៊ីយ៉ូដូអាល់កុកស៊ីកម្មផលជាការនេះ គឺដូចគ្នានឹងការធ្វើឱ្យសកម្មនៃកាបូនីយ៉ាស៊ីតខ្លាញ់នៅក្នុងប្រតិកម្មអេស្ត័រកម្មដែល



Scheme 2. Reaction mechanism of the iodoethoxylation.



Scheme 3. Reaction mechanism of the iodine-catalyzed esterification.

មានអស៊ីតជាភាគល្អិត។ អ៊ីយ៉ូដូអេស្ត័រអាស៊ីតខ្លាញ់ ត្រង់អេស្ត័រកម្មនៃប្រេងសណ្តែកសៀងទៅជាជីវម៉ាស៊ីតដែលមានភាគល្អិតជា Zn/I<sub>2</sub> ក្នុងអេតាណុលត្រូវបានបោះពុម្ពផ្សាយក្នុងឆ្នាំ ២០០៦ ដោយ Li និង Xie<sup>30</sup> គាត់បានត្រួតពិនិត្យដោយប្រើតែ I<sub>2</sub> ក្នុងអេតាណុល។ គាត់រកឃើញថា បន្ទុកនៃ ស័ង្កសី និងអ៊ីយ៉ូដូអេស្ត័រអាស៊ីតខ្លាញ់សំខាន់ៗ នៅក្នុងប្រតិកម្មរបស់យើង ដោយប្រើបរិមាណ I<sub>2</sub> លើស រយៈពេលប្រតិកម្មយូរ អ៊ីយ៉ូដូអេតុកស៊ីកម្មនៃអាស៊ីតស្រុលក៏បានកើតឡើងដែរ។

From our results, under the demonstrated reaction conditions in a plastic bottle, in the case of containing ethanol, the same products would be obtained. In the case of containing water, hydrolysis of esters and iodoethoxylation of alkene moiety would be occurred. Further researches are underway to determine the structure of the products from the reactions of structurally defined model fats.

ពីលទ្ធផលរបស់យើង ក្រោមលក្ខខណ្ឌប្រតិកម្មដែលបានធ្វើនៅក្នុងដបប្លាស្ទិចក្នុងករណីមានអេតាណុល ផលិតផលដូចគ្នានឹងទទួលបាន។ ក្នុងករណីមានទឹកក្នុង អ៊ីយ៉ូដូអេស្ត័រអាស៊ីតខ្លាញ់និងអ៊ីយ៉ូដូអេតុកស៊ីកម្មនៃអាស៊ីតស្រុលក៏បានកើតឡើង។ ការស្រាវជ្រាវបន្ថែមកំពុងដំណើរការដើម្បីកំណត់ទម្រង់នៃផលិតផលដែលបានពីប្រតិកម្មនៃខ្លាញ់។

III. Conclusion

We found that the reaction of olive oil with iodine in the presence of ethanol gave the iodoethoxylated fatty acids ethyl ester and fatty acids ethyl ester. Our findings were important for understanding our demonstration of olive oil, tapioca starch, and iodine in a plastic bottle using Cambodian materials. The demonstration can give benefits chemistry teachers who have difficulty purchasing or accessing reagents.

យើងបានរកឃើញថា ប្រតិកម្មនៃប្រេងសណ្តែកសៀងជាមួយអ៊ីយ៉ូដូអេស្ត័រអាស៊ីតខ្លាញ់ ឱ្យផលជាអេទីលអេស្ត័រអាស៊ីតខ្លាញ់ដែលមានអ៊ីយ៉ូដូអេតុកស៊ីកម្មនិងអេទីលអេស្ត័រអាស៊ីតខ្លាញ់។ ការរកឃើញរបស់យើងមានសារៈសំខាន់សម្រាប់ការស្វែងយល់ពីការបង្ហាញប្រេងសណ្តែកសៀង ម្សៅអាមីដុងនិងអ៊ីយ៉ូដូអេស្ត័រអាស៊ីតខ្លាញ់ដោយប្រើវត្ថុធាតុដើមដែលមានលក្ខណៈស្រដៀងគ្នាជាមួយប្រេងសណ្តែកសៀង។ ការបង្ហាញនេះអាចផ្តល់អត្ថប្រយោជន៍ដល់គ្រូគីមីវិទ្យាល័យដែលមានការពិបាកក្នុងការទិញឬក្នុងការទទួលបានសារធាតុគីមី។



#### IV. Experimental section

##### 1. General

All reagents and solvents were of reagents grade quality and purchased commercially. Structure of synthetic compounds were confirmed by <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectroscopy. <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectra were recorded with a Bruker AVANCE III instrument operating at 400.13 and 100.62 MHz, respectively. Chemical shifts were referenced to TMS in CDCl<sub>3</sub> as internal standard. Structures of the reaction products were confirmed by <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR, and two-dimensional NMR (COSY, HSQC, HMBC, and NOESY) spectroscopy. Electrospray ionization (ESI) mass spectra were obtained on a Bruker Daltonics micrOTOF-QII. Thin layer chromatography (TLC) was performed on precoated silica gel 60 F254 plates. Column chromatography was performed on silica gel 60N (spherical neutral) that was purchased from Kanto Chemical Company, Japan.

ធាតុបញ្ជី និងធាតុរំលាយទាំងអស់សុទ្ធតែមានគុណភាពល្អនិងបានទិញជាលក្ខណៈពាណិជ្ជកម្ម។ ទម្រង់នៃសារធាតុដែលបានសំយោគត្រូវបានបញ្ជាក់ដោយស្ត្រីច <sup>1</sup>H NMR <sup>13</sup>C NMR ត្រូវបានថតជាមួយឧបករណ៍ Bruker AVANCE III ដែលដំណើរការនៅ 400.13 និង 100.62 MHz តាមរៀង។ TMS ក្នុង CDCl<sub>3</sub> ត្រូវបានប្រើជាស្តង់ដារក្នុង។ ទម្រង់នៃផលិតផលរបស់ប្រតិកម្មត្រូវបានបញ្ជាក់ដោយស្ត្រីច <sup>1</sup>H NMR <sup>13</sup>C NMR និង NMR វិមាត្រពីរ(COSY HSQC HMBC និង NOESY) ។ ម៉ាស់ស្ត្រីច (ESI) ត្រូវបានវាស់ដោយ Bruker Daltonics micrOTOF-QII។ Thin layer chromatography (TLC) ត្រូវបានអនុវត្តនៅលើបន្ទះស៊ីលីកាដែល 60 F254 ។ Column chromatography ត្រូវបានអនុវត្តលើស៊ីលីកាដែល 60N (spherical neutral) ដែលត្រូវបានទិញពីក្រុមហ៊ុន Kanto Chemical ប្រទេសជប៉ុន។

##### 2. Reaction of an olive oil with a povidone-iodine-containing mouthwash

Mouthwash (Isodine 2 mL, 2.21 g) was added to olive oil (2.0 mL, 2.01 g). The mixture was stirred at rt for 1 day. The reaction mixture was extracted by chloroform (90 mL) and the organic layer was washed with distilled water (20 mL x 2), and saturated aq NaCl (20 mL x 2). The organic layer was dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and filtered. The filtrate was concentrated under reduced pressure to give the reaction mixture (1.75 g).

ទឹកខ្ពុរមាត់ (Isodine 2 mL, 2.21 g) ត្រូវបានបន្ថែមទៅក្នុងប្រុងអូលីវ (2.0 mL, 2.01 g)។ ល្បាយនេះត្រូវបានកូរនៅសីតុណ្ហភាពបន្តបំប្លែង រយៈពេល ១ ថ្ងៃ។ ល្បាយប្រតិកម្មត្រូវបានយោបកដោយក្លរូមីម (90 mL) និងជាសសរីក្សត្រូវបានលាងជាមួយទឹកច្រមុះ (20 mL x 2) និងសូលុយស្យុងផ្អែកនៃ NaCl ក្នុងទឹក (20 mL x 2)។ ជាសសរីក្សត្រូវបានសម្ងួតនៅលើ Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> អាទិតហើយប្រោះ បន្ទាប់មក សម្ងួតក្រោមសម្ពាធទាបឱ្យផលជាល្បាយប្រតិកម្មមួយ (1.75 g)។

##### 3. Reaction of an olive oil with I<sub>2</sub>

Iodine (1.66 g, 7.02 mmol) was added to olive oil (2.0 mL, 1.97 g). The solution was stirred at rt for 1 h. The reaction

mixture was extracted by chloroform (90 mL) and the organic layer was washed with saturated aq Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (20 mL x 2), distilled water (20 mL x 2), and saturated aq NaCl (20 mL x 2). The organic layer was dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and filtered. The filtrate was concentrated under reduced pressure to give the reaction mixture (2.05 g).

អ៊ីយ៉ូដ (1.66 g, 7.02 mmol) ត្រូវបានបន្ថែមទៅក្នុងប្រុងអូលីវ (2.0 mL, 1.97 g)។ សូលុយស្យុងនេះត្រូវបានកូរនៅសីតុណ្ហភាពបន្តបំប្លែង រយៈពេល ១ ម៉ោង។ ល្បាយប្រតិកម្មត្រូវបានយោបកដោយក្លរូមីម (90 mL) និងជាសសរីក្សត្រូវបានលាងជាមួយសូលុយស្យុងផ្អែកនៃ Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ក្នុងទឹក (20 mL x 2) ទឹកច្រមុះ (20 mL x 2) និងសូលុយស្យុងផ្អែកនៃ NaCl ក្នុងទឹក (20 mL x 2)។ ជាសសរីក្សត្រូវបានសម្ងួតនៅលើ Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> អាទិតហើយប្រោះ បន្ទាប់មក សម្ងួតក្រោមសម្ពាធទាបឱ្យផលជាល្បាយប្រតិកម្មមួយ (2.05 g)។

##### 4. Reaction of an olive oil with I<sub>2</sub> in ethanol

Iodine (0.74 g, 5.80 mmol) and ethanol (20 mL) was added to olive oil (1.0 mL, 0.87 g). The solution was stirred at rt for 12 days. The reaction mixture was extracted by chloroform (90 mL) and the organic layer was washed with saturated aq Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (20 mL x 2) and distilled water (20 mL x 2), saturated aq NaCl (20 mL x 2). The organic layer was dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and filtered. The filtrate was concentrated under reduced pressure and purified by silica column chromatography eluting with hexane, and separated by preparative thin-layer chromatography to give iodoethoxylated ethyl ester (4.1 mg) and the C=C bond remaining ethyl ester (3.9 mg).

អ៊ីយ៉ូដ (0.74 g, 5.80 mmol) និងអេតាណុល (20 mL) ត្រូវបានបន្ថែមទៅក្នុងប្រុងអូលីវ (1.0 mL, 0.87 g)។ សូលុយស្យុងនេះត្រូវបានកូរនៅសីតុណ្ហភាពបន្តបំប្លែង រយៈពេល ១២ ថ្ងៃ។ ល្បាយប្រតិកម្មត្រូវបានយោបកដោយក្លរូមីម (90 mL) និងជាសសរីក្សត្រូវបានលាងជាមួយសូលុយស្យុងផ្អែកនៃ Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ក្នុងទឹក (20 mL x 2) ទឹកច្រមុះ (20 mL x 2) និងសូលុយស្យុងផ្អែកនៃ NaCl ក្នុងទឹក (20 mL x 2)។ ជាសសរីក្សត្រូវបានសម្ងួតនៅលើ Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> អាទិតហើយប្រោះ បន្ទាប់មក សម្ងួតក្រោមសម្ពាធទាបឱ្យផលជាល្បាយប្រតិកម្មមួយ។ ចុងក្រោយ ល្បាយប្រតិកម្មនេះត្រូវបានបន្តដោយ silica column chromatography ជាមួយអិចសាន និងបន្តដោយ thin-layer chromatography (TLC) ដោយទទួលបាន អេទីលអេស្ត័រដែលមានសម្ព័ន្ធពីរដាន C=C (3.9 mg)។

##### Acknowledgment

This work was supported by Aichi University of Education's "Teaching Profession Practice Improvement Priority Research Fund (Kyōshoku jissen-ryoku kōjō jūten kenkyū-hi)".

ការស្រាវជ្រាវនេះត្រូវបានគាំទ្រដោយ "មូលនិធិស្រាវជ្រាវអាទិភាពនៃការពង្រឹងការអនុវត្តអាទិភាពវិជ្ជាជីវៈបង្រៀន" នៃសាកលវិទ្យាល័យអាយជិ។

## References

- Sieng, V.; Terao, M.; Nakano, H. *Bulletin of Natural Science, Aichi University of Education* **2018**, *67-I*, 47–52.
- Hor, S.; Shibasawa, A.; Kondo, R.; Nakano, H. *Bulletin of Natural Science, Aichi University of Education* **2019**, *68*, 33–39.
- Ministry of Education, Youth and Sport, Kingdom of Cambodia, *Education Statistics and Indicators: Phreah Sihanouk Province 2014/2015*: EMIS Office, Department of Planning Phnom Penh, January 2015.
- Isodine. <https://mundipharma.co.jp/medical/isodine/> (accessed Jun 26, 2019).
- Betadine (Povidone-iodine). <https://betadine.com/> (accessed Aug 16, 2019).
- Povadine. <https://www.drugs.com/international/povadine.html> (accessed Jun 26, 2019).
- Povidone Iodine - an overview | ScienceDirect Topics. <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/povidone-iodine> (accessed Jun 26, 2019).
- Schenck, H.-U.; Simak, P.; Haedicke, E. *J. Pharm. Sci.* **1979**, *68*, 1505–1509.
- Povidone-iodine. <https://en.wikipedia.org/wiki/Povidone-iodine> (accessed Aug 16, 2019).
- Goodwin, M. J.; Steed, B. W.; Yuft, D. S.; Musa, O. M.; Berry, D. J.; Steed, J. W. *Cryst. Growth des.* **2017**, *17*, 5552–5558.
- Takeuchi, Y. *et al. Kaitei Kagaku (Chemistry)*; Tokyo Syoseki Co., Ltd.: Tokyo, 2019; pp 421.
- Why Does Iodine Turn Starch Blue? DOI: 10.1002/chemv.201600103 (accessed Jun 6, 2019).
- Madhu, S.; Evans, H. A.; Doan-Nguyen, V. V. T.; Labram, J. G.; Wu, G.; Chabinye, M. L.; Seshadri, R.; Wudl, F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 8032–8035.
- Ministry of Education Youth and Sports, *Science Chemistry*; Grade 12; Publishing and Distribution House: Phnom Penh, 2017; pp 240-241.
- Beltrán, G.; Rio, C. D.; Sánchez, S.; Martínez, L. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 3434-3440.
- Boskou, D.; Blekas, G.; Tsimidou, M. 4-Olive Oil Composition. *Olive Oil*, Second Edition; Chemistry and Technology; AOCS Press: Illinois, 2006; pp 41–72. <https://doi.org/10.1016/B978-1-893997-88-2.50008-0> (accessed Jun 26, 2019).
- Iodine value. [https://en.wikipedia.org/wiki/Iodine\\_value](https://en.wikipedia.org/wiki/Iodine_value) (accessed Jun 7, 2019).
- Takeuchi, Y. *et al. Kaitei Kagaku (Chemistry)*; Tokyo Syoseki Co., Ltd.: Tokyo, 2019; pp 355.
- Sandha, G. K.; Swami, V. K. *RASĀYAN J. Chem.* **2009**, *2*, 300–306.
- Test methods for acid value, saponification value, ester value, iodine value, hydroxyl value and unsaponifiable matter of chemical products, JIS K 0070/1992. <https://kikakurui.com/k0/K0070-1992-01.html> (accessed Jun 7, 2019).
- The Japanese Pharmacopoeia, Seventeenth Edition (JP17), Electronic version. *General Tests, Processes and Apparatus*: pp 40. <http://jpdbs.nihs.go.jp/jp17e/> (accessed Aug 17, 2019).
- ASTM D5768 - 02 (2018), Standard Test Method for Determination of Iodine Value of Tall Oil Fatty Acids. <https://www.astm.org/Standards/D5768.htm> (accessed Jul 7, 2019).
- Ministry of Education Youth and Sports, *Science Chemistry*; Grade 12; Publishing and Distribution House: Phnom Penh, 2017; pp 194-197.
- Sacchi, R.; Addeo, F.; Paolillo, L.. <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR of virgin olive oil. An overview. *Magnetic Resonance in Chemistry* -. *Mag. Reson. Chem.* **1997**, *35*, S133–S135. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-458X\(199712\)35:13<S133::AID-OMR213>3.0.CO;2-K](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-458X(199712)35:13<S133::AID-OMR213>3.0.CO;2-K) (accessed Aug 1, 2019).
- Alonso-Salces, R. M.; Holland, M. V.; Guillou, C.; Héberger, K. *Quality Assessment of Olive Oil by <sup>1</sup>H-NMR Fingerprinting*; 2012; DOI: 10.5772/28701 (accessed Aug 1, 2019).
- Vollhardt, P.; Schore, N. *Organic Chemistry, Structure and Function*, Seventh Edition; W. H. Freeman and Company: New York, 2014; pp 494–501.
- Brown, R. S.; Nagorski, R. W.; Bennet, A. J.; McClung, R. E. D.; Aarts, G. H. M.; Klobukowski, M.; McDonald, R.; Santarsiero, B. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 2448–2456.
- Transesterification. <https://www.sciencedirect.com/topics/chemical-engineering/transesterification> (accessed Aug 2, 2019).
- Vollhardt, P.; Schore, N. *Organic Chemistry, Structure and Function*, Seventh Edition; W. H. Freeman and Company: New York, 2014; pp 854–856.
- Li, H.; Xie, W. *Catal. Lett.* **2006**, *107*, 25–30.

(Received September 20, 2019)