



การผลิตไขมันเนยเทียมที่ปราศจากกรดไขมันทรานส์ด้วยกระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันแบบใช้  
เอนไซม์จากน้ำมันถั่วเหลือง ปาล์มสเตียริน และมะพร้าวสเตียริน



โดย  
นางสาวรัชติยา ลาคำ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต

ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2560

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

การผลิตไขมันเนยเทียมที่ปราศจากกรดไขมันทรานส์ด้วยกระบวนการอินเทอร์เอสเตอริฟิ  
เคชั่นแบบใช้เอนไซม์จากน้ำมันถั่วเหลือง ปาล์มสเตียริน และมะพร้าวสเตียริน



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญาโทมหาบัณฑิต  
ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร  
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร  
ปีการศึกษา 2560  
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

THE PRODUCTION OF TRANS-FREE MARGARINE FAT BY ENZYMATIC  
INTERESTERIFICATION OF SOY BEAN OIL, PALM STEARIN AND COCONUT  
STEARIN



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for Master of Science (FOOD TECHNOLOGY)  
Department of FOOD TECHNOLOGY  
Graduate School, Silpakorn University  
Academic Year 2017  
Copyright of Graduate School, Silpakorn University

หัวข้อ การผลิตไขมันเนยเทียมที่ปราศจากกรดไขมันทรานส์ด้วย  
กระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันแบบใช้เอนไซม์จากน้ำมันถั่ว  
เหลือง ปาล์มสเตียริน และมะพร้าวสเตียริน

โดย รัชติยา ลาคำ

สาขาวิชา เทคโนโลยีอาหาร แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. โสภาค สอนไฉ

---

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา  
ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย  
(รองศาสตราจารย์ ดร.จุไรรัตน์ นันทานิช)

พิจารณาเห็นชอบโดย

..... ประธานกรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เอกพันธ์ แก้วมณีชัย )

..... อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. โสภาค สอนไฉ )

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย  
(รองศาสตราจารย์ ดร.ปิยฉัตร วัฒนชัย)

58403210 : เทคโนโลยีอาหาร แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญาโท

คำสำคัญ : ปรากฏจากไขมันทรานส์, น้ำมันถั่วเหลือง, ปาล์มสเตียรีน, มะพร้าวสเตียรีน, กระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันแบบใช้เอนไซม์, ไขมันเนยเทียม

นางสาว รัชติยา ลาคำ: การผลิตไขมันเนยเทียมที่ปราศจากกรดไขมันทรานส์ด้วยกระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันแบบใช้เอนไซม์จากน้ำมันถั่วเหลือง ปาล์มสเตียรีน และมะพร้าวสเตียรีน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. โสภาค สอนไ

ไขมันเนยเทียมที่ปราศจากไขมันทรานส์ถูกเตรียมด้วยกระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันของน้ำมันผสมสามชนิดคือ น้ำมันถั่วเหลือง (SBO) ปาล์มสเตียรีน (PS) และมะพร้าวสเตียรีน (CNS) ที่อัตราส่วน (0:70:30, 10:60:30, 20:50:30, 30:40:30 และ 40:30:30 % โดยน้ำหนัก) ทำปฏิกิริยาโดยใช้เอนไซม์ไลเปส ที่ผลิตจากเชื้อรา *Mucor michei* ที่อุณหภูมิ 65 °C นาน 8 ชั่วโมง โดยมีการกวนตลอดเวลาที่อัตราเร็ว 300 rpm แล้วทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมัน องค์ประกอบของไตรกลีเซอไรด์ ปริมาณการเป็นของแข็งของผลึกไขมัน (solid fat content: SFC) การตกผลึก และหลอมเหลว ลักษณะรูปร่างของผลึกและโครงสร้างผลึก ของน้ำมันผสม (physical blend: PB) และน้ำมันผสมที่ผ่านการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชัน (structure lipid: SL) พบว่าคุณสมบัติในหลายๆ ด้านของน้ำมันที่ผ่านและไม่ผ่านการทำปฏิกิริยามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้ปริมาณและชนิดกรดไขมันของ PB และ SL ในแต่ละสัดส่วนผสมพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน กรดไขมันสายกลางถูกพบมากขึ้นในไตรกลีเซอไรด์องค์ประกอบของ SL อุณหภูมิที่ไขมันจะหลอมสมบูรณ์ของ PB และ SL จะลดลงจาก 50-54 °C ไปเป็น 32-44 °C และค่า SFC ก็ลดลงในทุกๆ ตัวอย่าง ตัวอย่างเช่นค่า SFC ในตัวอย่าง SL ที่ได้จาก PB ของน้ำมันผสมอัตราส่วน 20:50:30 มีค่าลดลงจาก 11% เหลือ 2.6% รวมถึงมี SFC ต่ำกว่า 3.5% ที่อุณหภูมิ 33.3 °C นอกจากนี้ตัวอย่าง SL ดังกล่าวยังมีลักษณะรูปร่างผลึกรูปเข็มขนาดเล็ก กระจายสม่ำเสมอ และมีปริมาณผลึกในรูปแบบ  $\beta'$  เช่นเดียวกับมาการีนทางการค้า ดังนั้นการตัดแปลงไขมันด้วยกระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันที่อัตราส่วน 20:50:30 จึงมีความเหมาะสมในการนำไปผลิตเป็นไขมันเนยเทียม

58403210 : Major (FOOD TECHNOLOGY)

Keyword : trans-free, soy bean oil, palm stearin, coconut stearin, enzymatic interesterification, margarine fat

MISS RUTTIYA LAKUM : THE PRODUCTION OF TRANS-FREE MARGARINE FAT BY ENZYMATIC INTERESTERIFICATION OF SOY BEAN OIL, PALM STEARIN AND COCONUT STEARIN THESIS ADVISOR : ASSISTANT PROFESSOR DR. SOPARK SONWAI

*Trans*-free interesterified fats were prepared from blends of soybean oil (SBO), palm stearin (PS), and a hard fraction of coconut oil (coconut stearin, CNS) in different ratios (0:70:30, 10:60:30, 20:50:30, 30:40:30 and 40:30:30 % wt.) using Lipozyme RM IM at 65 °C for 8 h with a mixing speed of 300 rpm. The fatty acid composition (FA), triacylglycerol composition (TAG), solid fat content (SFC), crystallization and melting behavior, polymorphism and microstructural properties were investigated. Lipase-catalyzed interesterification significantly changed the physical and thermal properties of the PBs. After EI, the FA composition of the SLs exhibited no change from the physical blends (PBs). Medium-chain fatty acid was incorporated into the TAG of the structure lipids (SLs). The melting completion temperature of all SLs decreased from 50-54 °C of PBs to 32-44 °C with a reduction in solid fat content SFC at all temperatures. At 35 °C, the blends containing 20 % soybean oil had 11.00% solids, which reduced to 2.6 % on interesterification, and had SFC lower than 3.5% at 33.3 °C. The small needle-shaped crystals were observed in the SL samples and the  $\beta'$  polymorphic form was found to be the dominant polymorph in the samples after EI. The SL obtained from EI of 20:50:30 (SBO:PS:CNS) blend exhibited most potential to be used as a *trans*-free margarine fat as it showed a similar SFC curve to the commercial margarine fat and crystallized into  $\beta'$  polymorphic form.

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เรื่อง การผลิตไขมันเนยเทียมที่ปราศจากกรดไขมันทรานส์ด้วยกระบวนการอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชันแบบใช้เอนไซม์จากน้ำมันถั่วเหลือง ปาล์มสเตียรีน และมะพร้าวสเตียรีน (The production of trans-free margarine fat by enzymatic interesterification of soy bean oil, palm stearin and coconut stearin) ฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีเนื่องจากได้รับทุนสนับสนุนจาก ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร และทุนอุดหนุนการทำวิทยานิพนธ์จากบัณฑิตวิทยาลัย รวมถึงความกรุณาจากบุคคล หน่วยงาน และองค์กร ดังต่อไปนี้

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผศ. ดร. โสภาค สอนไว อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่กรุณาให้โอกาส ให้คำปรึกษา คำแนะนำ แนวความคิด ช่วยเหลือและสนับสนุน ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆในการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จได้อย่างสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ. ดร. เอกพันธ์ แก้วมณีชัย ประธานกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์ และ รศ. ดร. ปิยฉัตร วัฒนชัย กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิตรวจสอบวิทยานิพนธ์ที่กรุณาสละเวลามาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ให้คำแนะนำตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณคณาจารย์และนักวิทยาศาสตร์ ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่ให้คำแนะนำ ช่วยเหลือ สนับสนุน และให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือปฏิบัติการต่างๆ รวมถึงอำนวยความสะดวกในการวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณพี่ๆ นักศึกษาปริญญาเอกที่คอยชี้แนะแนวทางและให้ความรู้ เพื่อนๆ ที่คอยให้กำลังใจ ให้คำปรึกษา แนวทางแก้ปัญหาทั้งในระหว่างการดำเนินวิจัยตลอดจนการทำเล่มวิทยานิพนธ์ รุ่นน้องที่คอยช่วยเหลือและสนับสนุนการทำงานต่างๆ

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อและคุณแม่ น้องสาว รวมถึงทุกคนในครอบครัว ที่เป็นกำลังใจสำคัญ และให้การสนับสนุนช่วยเหลือข้าพเจ้าในทุก ๆ ด้านตลอดมา

รัชติยา ลาคำ

## สารบัญ

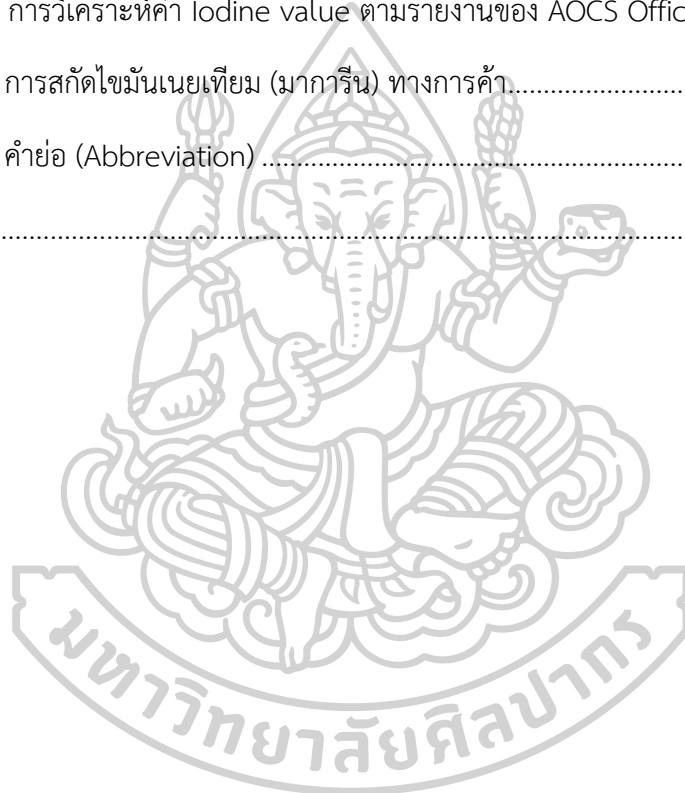
|                                                                 | หน้า |
|-----------------------------------------------------------------|------|
| บทคัดย่อภาษาไทย.....                                            | ง    |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....                                         | จ    |
| กิตติกรรมประกาศ.....                                            | ฉ    |
| สารบัญ.....                                                     | ช    |
| บทที่ 1 บทนำ .....                                              | 1    |
| 1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย.....                           | 1    |
| 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย .....                               | 3    |
| 1.3 สมมุติฐานของงานวิจัย.....                                   | 3    |
| 1.4 ขอบเขตของงานวิจัย.....                                      | 4    |
| บทที่ 2 การตรวจเอกสาร .....                                     | 5    |
| 2.1 เนยเทียม (Margarine).....                                   | 5    |
| 2.1.1 ความสามารถในการปาดหรือเกลี่ย (spreadability).....         | 6    |
| 2.1.2 การแยกตัวของน้ำมัน (Oil Separation).....                  | 7    |
| 2.1.3 การหลอมเหลว (Melting).....                                | 7    |
| 2.1.4 คุณสมบัติทางด้านผลึกของไขมันเนยเทียม.....                 | 8    |
| 2.2 ไขมันทรานส์ (Trans-fat).....                                | 9    |
| 2.2.1 การเกิดไขมันทรานส์.....                                   | 10   |
| 2.2.2 โทษของไขมันทรานส์ต่อสุขภาพผู้บริโภค.....                  | 11   |
| 2.3 กระบวนการอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชัน (Interesterification)..... | 11   |
| 2.3.1 Chemical Interesterification .....                        | 11   |
| 2.3.2 Enzymatic Interesterification.....                        | 12   |



|                                                                                                    |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.4 น้ำมันถั่วเหลือง .....                                                                         | 25 |
| 2.4.1 องค์ประกอบกรดไขมัน .....                                                                     | 26 |
| 2.4.2 องค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ .....                                                                | 28 |
| 2.4.3 คุณสมบัติทางกายภาพ .....                                                                     | 29 |
| 2.5 ปาล์มสเตียรีน .....                                                                            | 30 |
| 2.5.1 องค์ประกอบกรดไขมันและไตรกลีเซอไรด์ .....                                                     | 32 |
| 2.5.2 คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ .....                                                                 | 34 |
| 2.6 มะพร้าวสเตียรีน .....                                                                          | 37 |
| 2.6.1 คุณสมบัติทางด้านเคมีกายภาพของน้ำมันมะพร้าว .....                                             | 37 |
| 2.6.2 ประโยชน์ของน้ำมันมะพร้าวต่อสุขภาพ .....                                                      | 40 |
| 2.7 การตกผลึกของไขมันและน้ำมัน .....                                                               | 41 |
| 2.7.1 ความสำคัญของการตกผลึกในอาหาร .....                                                           | 41 |
| 2.7.2 อิทธิพลของโครงสร้างทางจุลภาพ (Microstructure) ของผลึกต่อคุณสมบัติของ<br>ผลิตภัณฑ์อาหาร ..... | 42 |
| 2.7.3 กระบวนการตกผลึก .....                                                                        | 44 |
| 2.7.4 ประเภทของผลึกและคุณสมบัติของผลึก .....                                                       | 46 |
| บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย .....                                                                   | 50 |
| 3.1 วัตถุประสงค์ อุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการดำเนินงานวิจัย .....                              | 50 |
| 3.1.1 วัตถุประสงค์หลักที่ใช้ในการดำเนินงานวิจัย .....                                              | 50 |
| 3.1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการดำเนินงานวิจัย .....                                                       | 50 |
| 3.1.3 เครื่องมือที่ใช้ในการดำเนินงานวิจัย .....                                                    | 51 |
| 3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการดำเนินงานวิจัย .....                                                       | 52 |
| 3.2 วิธีการทดลอง .....                                                                             | 53 |
| 3.2.1 การตกผลึกแยกส่วนน้ำมันมะพร้าว .....                                                          | 53 |

|                                                                                                                                      |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3.2.2 การผสมน้ำมันและการเตรียมเอนไซม์.....                                                                                           | 54  |
| 3.2.3 การศึกษาองค์ประกอบ คุณสมบัติทางเคมี กายภาพ และพฤติกรรมการตกผลึกของ<br>น้ำมันตั้งต้น น้ำมันผสม และน้ำมันผสมหลังทำปฏิกิริยา..... | 54  |
| 3.2.4 การทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันแบบใช้เอนไซม์.....                                                                        | 57  |
| 3.2.5 การเลือกน้ำมันที่ได้จากอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันแบบใช้เอนไซม์ สำหรับนำไปใช้เป็น<br>ไขมันเนยเทียม .....                           | 58  |
| 3.2.6 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ .....                                                                                                   | 59  |
| บทที่ 4 ผลและอภิปรายผลการดำเนินงานวิจัย.....                                                                                         | 60  |
| 4.1 ผลของอัตราส่วนน้ำมันต่อปริมาณของแข็งในรูปผลึกไขมันของไขมันผสม .....                                                              | 60  |
| 4.2 ผลของกระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันแบบใช้เอนไซม์ต่อองค์ประกอบ และคุณลักษณะ<br>ทางเคมีกายภาพของไขมันพลาสติก.....                | 64  |
| 4.2.1 องค์ประกอบกรดไขมัน.....                                                                                                        | 64  |
| 4.2.2 องค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์.....                                                                                                   | 66  |
| 4.2.3 ค่าไอโอดีน (Iodine Value).....                                                                                                 | 70  |
| 4.2.4 อุณหภูมิในการหลอมเหลว การตกผลึก และพลังงานที่เกี่ยวข้อง .....                                                                  | 73  |
| 4.2.5 ค่าเปอร์เซ็นต์การเป็นของแข็งในรูปผลึก .....                                                                                    | 77  |
| 4.2.6 ลักษณะรูปร่างผลึก (Morphology).....                                                                                            | 79  |
| 4.2.7 โครงสร้างผลึก (Crystal polymorphism).....                                                                                      | 81  |
| บทที่ 5 สรุปผลการดำเนินงานวิจัย.....                                                                                                 | 84  |
| รายการอ้างอิง .....                                                                                                                  | 85  |
| ภาคผนวก.....                                                                                                                         | 92  |
| ภาคผนวก ก ตารางข้อมูลแสดงค่าจากผลการทดลอง .....                                                                                      | 93  |
| ภาคผนวก ข การเตรียมสารละลายเกลืออิมิตัว .....                                                                                        | 102 |
| ภาคผนวก ค การเตรียมเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน.....                                                                                     | 104 |
| ภาคผนวก ง การแยกกรดไขมันอิสระ.....                                                                                                   | 106 |

|                                                                                                  |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| ภาคผนวก จ การวิเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์ในไขมันด้วยเทคนิค HPLC .....                                  | 108 |
| ภาคผนวก ฉ การวัดค่าปริมาณความเป็นของแข็งในรูปผลึก (SFC) โดยใช้ p-NMR.....                        | 110 |
| ภาคผนวก ช การศึกษาคุณสมบัติทางความร้อนของไขมันด้วยเทคนิค Differential Scanning Calorimeter ..... | 112 |
| ภาคผนวก ซ การศึกษา Polymorphism ด้วยเทคนิค XRD .....                                             | 114 |
| ภาคผนวก ฌ การศึกษาลักษณะรูปร่างผลึกไขมัน ด้วยเทคนิค PLM .....                                    | 116 |
| ภาคผนวก ญ การวิเคราะห์ค่า Iodine value ตามรายงานของ AOCS Official method .....                   | 118 |
| ภาคผนวก ฎ การสกัดไขมันเนยเทียม (มาการ์린) ทางการค้า.....                                          | 120 |
| ภาคผนวก ฏ คำย่อ (Abbreviation) .....                                                             | 122 |
| ประวัติผู้เขียน .....                                                                            | 124 |



## สารบัญตาราง

| ตาราง                                                                                                                                               | หน้า |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1. ค่า Solid fat content ของ table margarine.....                                                                                                   | 6    |
| 2. องค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันผสมแต่ละส่วนของปาล์มสเตียรีน.....                                                                                   | 15   |
| 3. องค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันผสมแต่ละส่วนของปาล์มสเตียรีนและน้ำมันเมล็ด<br>cinnamomumcamphora และน้ำมันผสมที่ผ่านการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชัน..... | 16   |
| 4. ค่า slip melting point ของน้ำมันผสม palm stearin กับ coconut stearin และ<br>น้ำมันผสมที่ผ่านการทำอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันแล้ว.....                | 17   |
| 5. องค์ประกอบของโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันผสมและน้ำมันผสมที่ผ่านการทำปฏิกิริยา<br>ของปาล์มสเตียรีนกับมะพร้าวสเตียรีน.....                        | 22   |
| 6. องค์ประกอบของถั่วเหลือง.....                                                                                                                     | 26   |
| 7. ปริมาณเฉลี่ยขององค์ประกอบกรดไขมัน (ในรูปของเมทิลเอสเตอร์) ของน้ำมันถั่วเหลืองจากถั่ว<br>เหลืองสายพันธุ์ปกติที่มีการปลูกอยู่ทั่วไป.....           | 27   |
| 8. องค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันถั่วเหลืองหลายตัวอย่างที่มีองค์ประกอบกรดไขมันที่<br>แตกต่างกันไป.....                                            | 29   |
| 9. คุณสมบัติทางกายภาพของน้ำมันถั่วเหลือง.....                                                                                                       | 30   |
| 10. องค์ประกอบของกรดไขมันและไตรกลีเซอไรด์ของปาล์มสเตียรีน.....                                                                                      | 33   |
| 11. ลักษณะทางเคมีกายภาพของปาล์มสเตียรีน.....                                                                                                        | 35   |
| 12. แสดงกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์.....                                                                                     | 39   |
| 13. ค่า long- และ short-spacing ของผลึกไขมันแต่ละรูปแบบ.....                                                                                        | 49   |
| 14. ค่า SFC ของไขมันเนยเทียมปราศจากไขมันทรานส์จากน้ำมันปาล์มสูตรต่าง ๆ.....                                                                         | 63   |
| 15. องค์ประกอบของกรดไขมัน ในน้ำมันผสมแต่ละสัดส่วนของน้ำมันถั่วเหลือง ปาล์มสเตียรีน<br>และมะพร้าวสเตียรีน.....                                       | 65   |

|                                                                                                                                                                                                           |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 16. องค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันถั่วเหลือง (SBO), ปาล์มสเตียรีน (PS), มะพร้าวสเตียรีน (CNS), น้ำมันผสมก่อนทำปฏิกิริยา (PB3) และน้ำมันผสมหลังทำปฏิกิริยา (SBO:PS:CNS) ที่อัตราส่วน 20:50:30 (SL3)..... | 68  |
| 17. ค่า Iodine value (wijs) น้ำมันตั้งต้นและน้ำมันผสมของน้ำมันถั่วเหลือง (SBO), ปาล์มสเตียรีน (PS) และมะพร้าวสเตียรีน (CNS) ก่อนและหลัง ทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชัน (IE).....                      | 72  |
| 18. องค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของ ของ น้ำมันผสม (SBO:PS:CNS) ก่อนทำปฏิกิริยา (PB) และน้ำมันผสมหลังทำปฏิกิริยา (SL).....                                                                                      | 94  |
| 19. Solid fat content (SFC) ของน้ำมันผสม น้ำมันถั่วเหลือง, ปาล์มสเตียรีน และมะพร้าว สเตียรีน (SBO/PS/CNS) ก่อนทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชัน.....                                                     | 96  |
| 20. Solid fat content (SFC) ของน้ำมันผสม น้ำมันถั่วเหลือง, ปาล์มสเตียรีน และมะพร้าว สเตียรีน (SBO/PS/CNS) หลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชัน.....                                                     | 96  |
| 21. Solid fat content (SFC) ของน้ำมันถั่วเหลือง (SBO), ปาล์มสเตียรีน (PS), มะพร้าวสเตียรีน (CNS).....                                                                                                     | 97  |
| 22. Solid fat content (SFC) ของไขมันจากการรีนทางการค้า.....                                                                                                                                               | 98  |
| 23. อุณหภูมิและเอนทัลปีในการตกผลึกของ น้ำมันถั่วเหลือง ปาล์มสเตียรีน มะพร้าวสเตียรีน และไขมันผสม ก่อนทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชัน .....                                                             | 99  |
| 24. อุณหภูมิและเอนทัลปีในการตกผลึกของไขมันผสม หลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชัน.....                                                                                                                 | 99  |
| 25. อุณหภูมิและเอนทัลปีในการหลอมเหลวของ น้ำมันถั่วเหลือง ปาล์มสเตียรีน มะพร้าวสเตียรีน และไขมันผสม ก่อนทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชัน.....                                                            | 100 |
| 26. อุณหภูมิและเอนทัลปีในการหลอมเหลวของไขมันผสมหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์ เอสเตอริฟิเคชัน.....                                                                                                               | 101 |

## สารบัญภาพ

| ภาพ                                                                                                                                                                                                    | หน้า |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1 การจัดเรียงตัวของกรดไขมันแบบ cis และ trans.....                                                                                                                                                      | 10   |
| 2 การเกิดปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเทอร์ฟิเคชันโดยไลเปสที่<br>ไม่จำเพาะบนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์.....                                                                                                           | 13   |
| 3 การเกิดปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเทอร์ฟิเคชันโดยไลเปสที่<br>จำเพาะบนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์.....                                                                                                              | 13   |
| 4 ปริมาณของของแข็ง หรือ solid fat index ของน้ำมันผสม PSt:CSt 1<br>(coconut stearin 24% yield) กับ PSt:CSt 2 (coconut stearin 42% yield)<br>ก่อน (a) และหลัง (b) ปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเทอร์ฟิเคชัน.....  | 19   |
| 5 ปริมาณของของแข็ง หรือ solid fat content ของน้ำมันผสม (A,60:40; B, 70:30;<br>C, 80:20) และน้ำมันผสมที่ผ่านกระบวนการอินเตอร์เอสเทอร์ฟิเคชัน<br>(A', 60:40; B', 70:30'; C, 80:20') ที่สัดส่วนต่างๆ..... | 20   |
| 6 HPLC โพรไฟล์ขององค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของมะพร้าวสดเตียริน<br>และปาล์มสดเตียรินเปรียบเทียบกับน้ำมันผสมและน้ำมันผสมผ่านการทำปฏิกิริยา.....                                                             | 21   |
| 7 HPLC โพรไฟล์ขององค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของปาล์มสดเตียรินและน้ำมันเมล็ดการบูร<br>(Cinnamomumcamphora) เปรียบเทียบกับน้ำมันผสมและน้ำมันผสม<br>ผ่านการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเทอร์ฟิเคชัน.....            | 24   |
| 8 ค่า short-spacing จาก X-ray diffraction ของน้ำมันผสมและน้ำมันผสมที่ผ่านการทำ<br>ปฏิกิริยาของปาล์มสดเตียรินและน้ำมันเมล็ด Cinnamomumcamphora.....                                                     | 25   |
| 9 ชนิดไขมันและน้ำมันปาล์มจากการแยกส่วนน้ำมันปาล์ม<br>ด้วยกระบวนการ dry fractionation.....                                                                                                              | 32   |
| 10 เทอโมแกรมการหลอมเหลวของปาล์มสดเตียรินชนิดต่างๆ ที่มีค่า IV ต่างกัน.....                                                                                                                             | 36   |
| 11 ลักษณะโครงสร้างการจัดเรียงตัวของโมเลกุลอาหารต่อ<br>ลักษณะทางประสาทสัมผัสของอาหาร.....                                                                                                               | 42   |
| 12 ลักษณะการเติบโตของผลึกที่มีผลต่อคุณสมบัติต่างๆของผลิตภัณฑ์.....                                                                                                                                     | 43   |

|    |                                                                                                                                                                                                        |    |
|----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 13 | อิทธิพลที่มีผลต่อคุณสมบัติของโครงสร้างตาข่ายผลึก.....                                                                                                                                                  | 44 |
| 14 | โครงสร้างรูปแบบของไตรกลีเซอไรด์.....                                                                                                                                                                   | 47 |
| 15 | รูปแบบของการเรียงตัวของผลึกแบบ 2 ชั้น.....                                                                                                                                                             | 47 |
| 16 | รูปแบบของการเรียงตัวของผลึกแบบ 3 ชั้น.....                                                                                                                                                             | 48 |
| 17 | ปริมาณ solid fat content (%SFC) ของน้ำมันผสม (a) และน้ำมันผสมหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชัน (b) ที่อัตราส่วน ต่างๆ ของ SBO:PS:CNO.....                                                         | 61 |
| 18 | HPLC profile ของน้ำมันถั่วเหลือง(SBO), ปาล์มสเตียรีน (PS), มะพร้าวสเตียรีน (CNS), น้ำมันผสมก่อนทำปฏิกิริยา (PB) และน้ำมันผสมหลังทำปฏิกิริยา (SL) (SBO:PS:CNS) ที่อัตราส่วน 20:50:30.....               | 67 |
| 19 | เทอร์โมแกรมของการตกผลึกของน้ำมันตั้งต้น น้ำมันผสม (a) และน้ำมันผสมหลังทำปฏิกิริยา (b).....                                                                                                             | 74 |
| 20 | เทอร์โมแกรมของการหลอมเหลวของน้ำมันตั้งต้น, น้ำมันผสม (a) และน้ำมันผสมหลังทำปฏิกิริยา (b).....                                                                                                          | 76 |
| 21 | ปริมาณ solid fat content (%SFC) ของน้ำมันตั้งต้นและน้ำมันผสม (a) และน้ำมันผสมหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชัน (b).....                                                                           | 78 |
| 22 | แสดงลักษณะรูปร่างและโครงข่ายผลึกของ PB และ SL ที่อัตราส่วนต่างๆ เปรียบเทียบกับไขมันเนยเทียมทางการค้า (Commercial).....                                                                                 | 80 |
| 23 | ค่า short-spacing จาก X-ray diffraction ของน้ำมันผสม (PB) และน้ำมันผสมที่ผ่านการทำปฏิกิริยา (SL) ของน้ำมันถั่วเหลือง:ปาล์มสเตียรีน:มะพร้าวสเตียรีน ที่อัตราส่วน 20:50:30 เทียบกับมาการีนทางการค้า..... | 82 |

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย

ไขมันพลาสติก (plastic fat) คือไขมันที่มีคุณสมบัติกึ่งแข็งกึ่งเหลว และมีความสามารถในการขาดเปลี่ยนได้ เช่น เนยเทียม หรือมาการีน (margarine) และเนยขาว เป็นต้น ซึ่งโดยทั่วไปผลิตภัณฑ์ไขมันพลาสติกที่มีขายในท้องตลาดนั้น จะผลิตขึ้นจากการนำน้ำมันพืชซึ่งเป็นของเหลวมาผ่านกระบวนการไฮโดรจิเนชัน หรือการเติมไฮโดรเจนเข้าไปบางส่วนแบบไม่สมบูรณ์ โดยการทำให้เช่นนั้นเพื่อต้องการดัดแปลงคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำมันให้กลายเป็นไขมันที่มีลักษณะกึ่งแข็งมากขึ้น จุดหลอมเหลวสูงขึ้น เนื่องจากการแทนที่ของไฮโดรเจนที่ตำแหน่งพันธะคู่ในสายโมเลกุลของน้ำมัน โดยแทนที่แบบจับคู่กันด้านของพันธะคู่หรือเรียกว่ามีการจัดเรียงตัวแบบทรานส์ทำให้นำมาซึ่งกรดไขมันทรานส์ (trans-fatty acids) ที่เรารู้จักกันดีว่าเป็นกรดไขมันตัวร้าย เนื่องจากการบริโภคไขมันทรานส์ในปริมาณมากจะไปเพิ่มความเสี่ยงการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ การอักเสบภายใน และโรคมะเร็ง (Hu และคณะ, 1996b) อาหารที่ประกอบด้วยกรดไขมันทรานส์จึงทำให้มีความกังวลเกี่ยวกับสุขภาพมากขึ้นในเมื่อไม่นานมานี้ในการเป็นปัจจัยเสี่ยงของการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ ซึ่งได้มีการรายงานว่าอาหารที่มีกรดไขมันทรานส์สูง (มากกว่า 4 เปอร์เซ็นต์ของแคลอรีทั้งหมด) มีผลต่อการทำให้หลอดเลือดตีบ โดยการเพิ่มระดับของคอเลสเตอรอลเสีย (low-density lipoprotein หรือ LDL) และลดระดับของคอเลสเตอรอลดี (high-density lipoprotein หรือ HDL) เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารที่ประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิด cis หรืออาหารที่มีกรดไขมันทรานส์ต่ำ การส่งผลกระทบต่อสุขภาพในแง่ลบของกรดไขมันทรานส์ทำให้ในปัจจุบันนี้มีความพยายามในการใช้กระบวนการอื่นๆ สำหรับการดัดแปลงน้ำมันเหลวให้กลายเป็นไขมันแข็ง เพื่อการนำไปผลิตเป็นไขมันเนยเทียมโดยไม่ก่อให้เกิดกรดไขมันทรานส์ เช่นกระบวนการอินเตอร์เอสเทอริฟิเคชัน ซึ่งเป็นกระบวนการที่มีแนวโน้มว่าจะเป็นที่นิยมใช้มากในปัจจุบันทั้งนี้เนื่องจากเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการปรับปรุงองค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันและไขมันให้ได้คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีและหน้าที่ตามที่ต้องการโดยปราศจากการสร้างกรดไขมันทรานส์ โดยเฉพาะกระบวนการอินเตอร์เอสเทอริฟิเคชันแบบใช้เอนไซม์ (enzymatic interesterification) นั้น เป็นกระบวนการดัดแปลงโครงสร้างของน้ำมันและไขมันที่มีประสิทธิภาพสูงและกำลังได้รับความสนใจเป็นอย่างมากจากภาคอุตสาหกรรม ทั้งนี้เป็นเพราะว่ากระบวนการดังกล่าวมีข้อดีที่เหนือกว่ากระบวนการอื่นๆ ในหลายๆ ด้าน เช่น เป็น



กระบวนการที่ใช้พลังงานต่ำ มี by-products น้อย และเป็น green process เนื่องจากก่อให้เกิดของเสียที่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมในปริมาณต่ำ

ดังนั้นอุตสาหกรรมในปัจจุบันจึงมีความพยายามที่จะลดปริมาณกรดไขมันทรานส์ในการผลิตไขมันพลาสติกที่ปราศจากกรดไขมันทรานส์ด้วยกระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันแบบใช้เอนไซม์ เพื่อเป็นทางเลือกใหม่ให้กับผู้บริโภคที่ใส่ใจต่อสุขภาพโดยอาศัยการนำน้ำมันหลายชนิดที่มีค่า SFC แตกต่างกันไปผสมกัน เช่น น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันปาล์ม น้ำมันเมล็ดดอกคำฝาย น้ำมันมะพร้าว ปาล์มสเตียริน และปาล์มโอเลอิน เป็นต้น แล้วดัดแปลงโครงสร้างเพื่อให้ได้ไขมันที่มีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลวที่เมื่อนำไปผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เช่นเนยเทียมแล้วจะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเนื้อสัมผัสที่เหมาะสม โดยส่วนประกอบที่สำคัญของการผลิตไขมันพลาสติกจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีส่วนของไขมันแข็ง เช่นปาล์มสเตียริน ซึ่งเป็นแหล่งของกรดไขมันอิ่มตัวตามธรรมชาติที่นิยมนำมาผสมกับน้ำมันเหลวต่างๆเพื่อให้ได้ไขมันที่มีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลวเป็นไขมันพลาสติกสำหรับการนำไปผลิตเป็นเนยเทียมหรือเนยขาวได้ ทั้งนี้เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการพยายามในการลดปริมาณกรดไขมันทรานส์ในอาหารของคนไทย งานวิจัยนี้จึงมีความสนใจที่จะทำการศึกษาการผลิตไขมันเนยเทียมที่ปราศจากกรดไขมันทรานส์ด้วยกระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันแบบใช้เอนไซม์ จากน้ำมันผสมระหว่างน้ำมันถั่วเหลือง ปาล์มสเตียริน และน้ำมันมะพร้าว ทั้งนี้เพื่อให้ได้ไขมันเนยเทียมสำหรับนำไปใช้ในการผลิตเนยเทียมที่ปราศจากกรดไขมันทรานส์ เพื่อเป็นทางเลือกใหม่ให้กับผู้บริโภคที่ใส่ใจต่อสุขภาพต่อไป น้ำมันถั่วเหลืองถูกเลือกเพราะเป็นน้ำมันที่มีราคาไม่สูงมาก และทางอุตสาหกรรมการผลิตเนยเทียม โดยเฉพาะในต่างประเทศ ได้ใช้เป็นน้ำมันหลักในการผลิตเนยเทียมเพื่อจำหน่ายอยู่แล้ว ส่วนปาล์ม สเตียรินนั้นเป็นแหล่งของกรดไขมันอิ่มตัวตามธรรมชาติที่นิยมนำมาผสมกับน้ำมันเหลวต่างๆ เพื่อให้ได้ไขมันที่มีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลวเป็นไขมันพลาสติกสำหรับการนำไปผลิตเป็นเนยเทียมหรือเนยขาว สุดท้ายน้ำมันมะพร้าวนั้นอุดมไปด้วยกรดไขมันอิ่มตัวที่มีความยาวของสายโมเลกุลปานกลาง (medium-chain fatty acids) คือมีอะตอมของคาร์บอน 6-12 อะตอม กรดไขมันในกลุ่มนี้จะมีขนาดของโมเลกุลเล็กกว่าและสามารถละลายเข้ากับน้ำได้ดีกว่ากรดไขมันที่มีสายโมเลกุลยาว (long-chain fatty acids) จึงแตกตัว ง่ายย่อยและถูกดูดซึมไปใช้ได้ง่ายกว่ากรดไขมันที่มีสายโมเลกุลยาว โดยจะถูกเปลี่ยนเป็นพลังงานได้หมด ไม่เกิดการสะสมเป็นไขมันในหลอดเลือด กรดไขมันอิ่มตัวที่มีความยาวของสายโมเลกุลปานกลางชนิดที่มีอยู่มากในน้ำมันมะพร้าวนั้นคือกรดลอริก (lauric acid) ซึ่งเป็นกรดไขมันที่ประโยชน์ต่อร่างกายมาก เช่น ช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันแก่ร่างกาย เสริมการทำงานของต่อมไทรอยด์ อีกทั้งยังมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เชื้อไวรัส และเชื้อรา เป็นต้น นอกจากนี้ทั้ง

ปาล์มสเตียร์นและน้ำมันมะพร้าว นั้นได้มาจากวัตถุดิบ คือปาล์มและมะพร้าว ที่มีอยู่มากภายในประเทศ การสร้างผลิตภัณฑ์ใหม่ที่ปราศจากกรดไขมันทรานส์ขึ้นมาจากน้ำมันเหล่านี้ นอกจากจะเป็นการช่วยลดปริมาณในการบริโภคกรดไขมันทรานส์ของคนไทยแล้ว ยังจะเป็นการส่งเสริมการใช้วัตถุดิบจากภาคเกษตรกรรมของประเทศ ซึ่งจะช่วยลดการนำเข้า และส่งผลให้เกิดการพัฒนาอย่างยั่งยืนโดยรวมต่อไปในอนาคตอีกด้วย

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาองค์ประกอบ คุณสมบัติทางเคมี กายภาพ และพฤติกรรมการตกผลึกของน้ำมันตั้งต้น (น้ำมันถั่วเหลือง ปาล์มสเตียร์น และมะพร้าวสเตียร์น) และของน้ำมันผสมในอัตราส่วนต่างๆ

1.2.2 เพื่อศึกษาองค์ประกอบ คุณสมบัติทางเคมี กายภาพ และพฤติกรรมการตกผลึกของน้ำมันผสมที่ผ่านปฏิกิริยาอินเตอริฟิเคชันแบบใช้เอนไซม์แล้ว

1.2.3 เพื่อให้ได้สูตรน้ำมันผสมตั้งต้นและกรรมวิธีการผลิตไขมันเนยเทียมที่ปราศจากกรดไขมันทรานส์ด้วยกระบวนการอินเตอริฟิเคชันแบบใช้เอนไซม์

## 1.3 สมมุติฐานของงานวิจัย

1.3.1 น้ำมันผสมที่อัตราส่วนแตกต่างกัน (น้ำมันถั่วเหลือง ปาล์มสเตียร์น และมะพร้าวสเตียร์น) มีผลต่อ องค์ประกอบ คุณสมบัติทางเคมี กายภาพ และพฤติกรรมการตกผลึกของน้ำมันแตกต่างกัน

1.3.2 กระบวนการอินเตอริฟิเคชันแบบใช้เอนไซม์สามารถดัดแปลงโครงสร้างของไขมันเนยเทียมซึ่งมีผลต่อ องค์ประกอบ คุณสมบัติทางเคมี กายภาพ และพฤติกรรมการตกผลึกของน้ำมัน

1.3.3 ไขมันเนยเทียมแบบปราศจากกรดไขมันทรานส์ที่ผลิตได้มีองค์ประกอบ คุณสมบัติทางเคมี กายภาพ และพฤติกรรมการตกผลึกของน้ำมันคล้ายคลึงกับไขมันเนยเทียมทางการค้าและเหมาะสมสำหรับการผลิตเนยเทียมแบบปราศจากกรดไขมันทรานส์

#### 1.4 ขอบเขตของงานวิจัย

1.4.1 ศึกษาองค์ประกอบ คุณสมบัติทางเคมี กายภาพ และพฤติกรรมการตกผลึกของน้ำมันตั้งต้น คือ น้ำมันถั่วเหลือง ปาล์มสเตียรีน และน้ำมันมะพร้าว และน้ำมันผสมจากการนำเอาน้ำมันทั้ง 3 ชนิด ดังกล่าวมาผสมกันที่อัตราส่วนต่างๆ

1.4.2 ศึกษาองค์ประกอบ คุณสมบัติทางเคมี กายภาพ และพฤติกรรมการตกผลึกของน้ำมันผสมที่อัตราส่วนต่างๆ หลังการทำปฏิกิริยาอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชันแบบใช้เอนไซม์เปรียบเทียบกับน้ำมันผสมตั้งต้นและไขมันที่สกัดมาจากเนยเทียมที่มีจำหน่ายตามท้องตลาด

1.4.3 การเลือกน้ำมันที่ได้จากอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชันแบบใช้เอนไซม์ สำหรับนำไปใช้ในเป็นไขมันเนยเทียม เพื่อการผลิตเนยเทียมแบบปราศจากกรดไขมันทรานส์ต่อไปในอนาคต



## บทที่ 2

### การตรวจเอกสาร

#### 2.1 เนยเทียม (Margarine)

เนยเทียมหรือมาการีน (margarine) เป็นอิมัลชันชนิด **water-in-oil** ที่ประกอบไปด้วย วัฏภาคหรือเฟส (phase) 2 เฟสคือวัฏภาคไขมันหรือเฟสมัน (fat phase) ซึ่งทำหน้าที่เป็นเฟสต่อเนื่อง (continuous phase) และวัฏภาคน้ำหรือเฟสน้ำ (aqueous phase) ซึ่งทำหน้าที่เป็นเฟสกระจายตัว (disperse phase) ตัวเฟสไขมันมีไขมันเป็นองค์ประกอบหลักและมีสารที่ละลายได้ในไขมันได้แก่ อิมัลซิไฟเออร์ สารให้กลิ่น รส สี วิตามิน และสารกันหืนเป็นส่วนประกอบรอง ส่วนเฟสน้ำประกอบด้วยน้ำเป็นองค์ประกอบหลักและมีองค์ประกอบย่อยเป็นสารที่ละลายได้ในน้ำคือสารกันเสีย กรด เกลือ โดยเกลือนั้นนอกจากจะเป็นตัวให้รสชาติแล้วยังช่วยป้องกันการเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์ โดยทั่วไปแล้วเนยเทียมควรมีองค์ประกอบที่เป็นไขมันไม่ต่ำกว่า 80% โดยไขมันเหล่านี้มักเป็นไขมันจากพืชทั้งหมด ซึ่งได้จากการนำน้ำมันพืชชนิดต่างๆ มาผสมกัน เช่นน้ำมันมะพร้าวผสมกับน้ำมันปาล์มที่ผ่านการทำไฮโดรจิเนชัน Shen และคณะ (2001) หรือรวมถึงน้ำมันปาล์มสเตียรินผสมกับน้ำมันรำข้าว (Mayamol และคณะ, 2009) เนยเทียมสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทกว้างๆ คือ 1) **table margarine** คือเนยเทียมแบบรับประทานบนโต๊ะ และ 2) **bakery margarine** คือเนยเทียมที่ใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตผลิตภัณฑ์เบเกอรี่เช่น เค้ก คุกกี้ และขนมปัง เป็นต้น สำหรับเนยเทียมประเภท **table margarine** นั้นในสหรัฐอเมริกานิยมใช้เนยเทียมประเภทนี้แทนเนย (butter) ใช้สำหรับวางบนโต๊ะอาหาร ใช้ทาบนขนมปังบิสกิต หรืออาหารอื่นๆ ซึ่ง **table margarines** จะมีอยู่ 2 ประเภทหลัก ๆ ก็คือ **packet margarine** ที่ออกแบบส่วนผสมมาเพื่อให้มีความสามารถในการปาดหรือเกลี่ย (spreadability) ที่อุณหภูมิห้องและ **tub margarine** ซึ่งมีความสามารถในการปาดหรือเกลี่ยเมื่อนำออกมาจากตู้เย็น ที่อุณหภูมิประมาณ 5-10 องศาเซลเซียส ตารางที่ 1 แสดงค่าปริมาณเปอร์เซ็นต์ไขมันแข็งที่อยู่ในรูปผลึกหรือ **solid fat content (SFC)** ของเนยเทียมทั้งสองชนิด ณ อุณหภูมิต่างๆ แสดงให้เห็นว่า **tub margarine** มีค่า **SFC** ต่ำกว่า และเนื่องจาก **packet margarine** ถูกใช้ในเขตร้อน ซึ่งอุณหภูมิห้องประมาณ 30 องศาเซลเซียส ดังนั้นจึงต้องการปริมาณ **SFC** สูงกว่า (Rasid, 1996)

ตารางที่ 1 ค่า Solid fat content ของ table margarine

| Margarine Type | solid fat content (%SFC) |        |        |        |        |
|----------------|--------------------------|--------|--------|--------|--------|
|                | 10°C                     | 21.1°C | 26.7°C | 33.3°C | 37.8°C |
| Packet         | 28                       | 16     | 12     | 2-3    | 0      |
| Tub            | 13                       | 8      | 6      | 2      | 0      |

ที่มา: Gunstone และ Norris (1983)

คุณสมบัติที่สำคัญหลายๆ ด้าน ที่ใช้ในการบ่งบอกคุณภาพ และคุณลักษณะของเนยเทียม เช่น ความสามารถในการปาดหรือเกลี่ย (spreadability) ลักษณะการเป็นมันเยิ้ม (oiliness) และ คุณสมบัติการหลอมเหลวของเนยเทียม (melting behavior) ซึ่งมีผลโดยตรงต่อการยอมรับของผู้บริโภคนั้น มีอิทธิพลมาจากหลายๆปัจจัย เช่น ประเภทของไขมัน ดังจะกล่าวต่อไปนี้

### 2.1.1 ความสามารถในการปาดหรือเกลี่ย (spreadability)

ความสามารถในการปาดหรือเกลี่ย หรือ spreadability เป็นหนึ่งในคุณสมบัติของเนยเทียมที่ถูกพิจารณาเป็นส่วนใหญ่ ผู้บริโภคชื่นชอบผลิตภัณฑ์ที่มีช่วงของค่า SFC ที่ 10-20% ที่อุณหภูมิขณะเสิร์ฟมากที่สุด (Deman และ Beers, 1987) วิธีมาตรฐานในการวัดค่าความแข็งของไขมันที่นำมาเป็นวัตถุดิบ คือการใช้เครื่อง penetrometer ซึ่งความแข็งนี้อาจจะไม่สัมพันธ์ค่า SFC นอกจากนั้นจำนวนของไขมันแข็ง ลักษณะของโครงข่ายผลึก ซึ่งเป็นสิ่งที่ขึ้นอยู่กับกระบวนการผลิต ยังมีความสำคัญต่อคุณสมบัติการไหล (rheological properties) อีกด้วย (Deman และ Beers, 1987) สำหรับการวัดโดยใช้เครื่อง penetrometer นั้น จะใช้หัววัดรูปกรวย โดยทำการปล่อยหัววัดที่ทราบน้ำหนักแล้วลงบนผลิตภัณฑ์แล้วหาระยะทางที่หัววัดเจาะทะลุผลิตภัณฑ์ โดยที่อาจจะมีการแปลงเป็นค่า hardness index (Deman, 1983) หรือ yield value (Haighton, 1959) ซึ่งขึ้นอยู่กับน้ำหนักของหัววัดและคำนวณได้จากสมการ [1] ดังนี้

$$c = \frac{kxW}{p^{1.6}} \quad [1]$$

เมื่อ C คือ yield value (g/cm<sup>3</sup>) k คือค่าคงที่ (มีค่าเป็น 5840 สำหรับหัววัดรูปกรวยมุม 40 องศา) W คือ น้ำหนักของหัววัดรูปกรวย และ p คือความลึกที่หัววัดเจาะทะลุเนยเทียม (มิลลิเมตร) และจากการทดสอบความชอบทางด้าน spreadability ณ อุณหภูมิต่างๆของผลิตภัณฑ์ด้วยวิธี hedonic scale

พบว่า มีความสัมพันธ์กับค่าที่ได้จากวิธีที่ใช้ penetrometer ซึ่งได้ค่า yield value ที่ทำให้มี spreadability ได้ดี ที่สุดจะอยู่ในช่วง 30-60 kPa และค่า SFC ควรจะน้อยกว่า 32% ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ถึงจะมี spreadability ที่ดี อุณหภูมิตู้เย็น และความสามารถในการเกลี่ยหรือปาดที่เหมาะสมของเนยเทียมจะอยู่ในช่วงค่า SFC ประมาณ 15-35% ซึ่งเรียกช่วงอุณหภูมิที่ไขมันมีค่า SFC อยู่ในช่วงดังกล่าวนี้ว่า plasticity range (Deman, 1983)

### 2.1.2 การแยกตัวของน้ำมัน (Oil Separation)

ปรากฏการณ์ oil separation หรือ oiling off (การสร้างตัวของน้ำมันที่เห็นได้ที่ผิวหน้าของผลิตภัณฑ์) ในเนยเทียมเกิดเมื่อส่วนที่เป็นผลึกมีประสิทธิภาพต่ำในการคงขนาดของผลึกไขมันหรือผลึกมีลักษณะแบบที่สามารถถูกหุ้มด้วยน้ำมันเหลวได้ ส่วนใหญ่แล้วปัญหานี้จะเกิดกับผลิตภัณฑ์แบบ packet margarine ซึ่งจะถูกห่อหุ้มด้วยตัวห่อหุ้ม (wrapper) ซึ่งด้านในจะชุ่มไปด้วยน้ำมัน และถ้าเกิดขึ้นอย่างรุนแรง น้ำมันก็จะไหลออกมาจากหีบห่อได้ การที่ผลิตภัณฑ์ถูกระทบหรือการถูกบีบอัดก็เป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดปรากฏการณ์ oiling-off ได้ แต่ผลิตภัณฑ์ soft margarine จะไม่มีปัญหาเกี่ยวกับปรากฏการณ์นี้ เพราะมีตัวห่อหุ้มหีบห่ออีกทีหนึ่ง การทดสอบ oiling-off ของผลิตภัณฑ์เนยเทียมนี้ทำได้โดยการนำเนยเทียมมาวางไว้บนตะแกรงลวด หรือบนกระดาษกรอง ที่อุณหภูมิ 26.7 องศาเซลเซียส (80 องศาฟาเรนไฮต์) แล้วสังเกตว่าน้ำมันหยดหรือไม่ หรือวัดปริมาณน้ำมันที่ถูกดูดซับอยู่ที่กระดาษกรอง ซึ่งควรวางไว้เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง และผลิตภัณฑ์เนยเทียมควรมีค่า SFC ไม่เกิน 10% เพื่อป้องกันการเกิด oiling-off ที่อุณหภูมิห้อง (Chrysan, 2005)

### 2.1.3 การหลอมเหลว (Melting)

Table margarine ที่มีคุณภาพดีนั้นจะต้องหลอมเหลวอย่างรวดเร็วและทำให้รู้สึกเย็นที่เพดานปาก กลิ่นรสและเกลือที่เป็นองค์ประกอบของ aqueous phase จะรับรู้ได้โดยปุ่มรับรส และไม่มีคราบไขมัน (greasiness) หรือความรู้สึกว่ามีไขมันติดลิ้น (waxiness) เกิดขึ้น ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพนี้ก็คือพฤติกรรมการหลอมเหลวของไขมัน ความคงตัวของอิมัลชัน และสภาวะในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์สำหรับเนยเทียมที่หลอมเหลวได้โดยไม่เกิดความเหนียวและไขมันติดลิ้น ควรจะถูกหลอมเหลวได้อย่างสมบูรณ์ที่อุณหภูมิร่างกายและมีค่า SFC ต่ำกว่า 3.5% ที่อุณหภูมิ 33.3 องศาเซลเซียส (92 องศาฟาเรนไฮต์) ความรู้สึกเย็นเมื่อเข้าปากนั้นเป็นผลมาจากการที่ผลิตภัณฑ์ดูดความร้อนเพื่อนำมาหลอมเหลวผลึก ซึ่งการทำให้เกิดความรู้สึกเย็นนี้จะสัมพันธ์กับปริมาณความร้อนที่ใช้ใน

การละลายตัวอย่างที่สามารถวัดได้โดย differential scanning calorimeter (DSC) ซึ่งมีความสำคัญมากสำหรับเนยเทียมและผลิตภัณฑ์ spread อื่นๆ (Borwankar และคณะ, 1992) ในการผลิตเนยเทียมนั้น การทำเย็นอย่างรวดเร็วทำให้เกิดผลึกของไตรกลีเซอไรด์ทั้งที่มีจุดหลอมเหลวสูงและต่ำ ถ้าผลิตภัณฑ์ถูกเก็บไว้ในที่อุณหภูมิสูงหลาย ๆ วัน จะเกิดการตกผลึกใหม่ (recrystallization) ของส่วนที่มีจุดหลอมเหลวสูง ซึ่งอาจจะเป็นผลทำให้เกิดความรู้สึกไขมันเคลือบที่ลื่นและการปลดปล่อยกลิ่นรสออกมาได้ช้าลง

#### 2.1.4 คุณสมบัติทางด้านผลึกของไขมันเนยเทียม

คุณลักษณะการไหลของเนยเทียมจะเกี่ยวเนื่องสัมพันธ์กับความคงตัวและความชื้นเหนียว (consistency) เนื้อสัมผัส (texture) ความเป็นพลาสติก (plasticity) ความแข็ง (hardness) โครงสร้าง (structure) และ spreadability คุณสมบัติที่สัมพันธ์กับหลาย ๆ ปัจจัย นั่นคือ อุณหภูมิ ความเข้มข้นของเฟสกระจาย ค่า SFC ขนาดผลึก การกระจายขนาดของผลึก รูปร่างผลึก และประเภทของแรงวนเดอวาส์ที่ยืดระหว่างอนุภาค (Deman, 1983) สำหรับรูปร่างผลึก มีความสัมพันธ์กับพฤติกรรมทางกายภาพและพฤติกรรมของไขมันและน้ำมันในการเกิดโครงสร้างผลึกและรูปแบบการจัดเรียงโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ ซึ่งรูปแบบผลึก (polymorphism) และโครงสร้างผลึก (crystal structure) นั้นมีมากกว่า 1 ชนิด สำหรับไตรกลีเซอไรด์จะมีรูปแบบผลึกหลักๆ อยู่ 3 รูปแบบ คือ 1) อัลฟา  $\alpha$  ที่มี subcell เป็นแบบ hexagonal 2) เบต้าพราม  $\beta'$  ที่มี subcell เป็นแบบ orthorhombic และ 3) เบต้า  $\beta$  ที่มี subcell เป็นแบบ triclinic

สำหรับการตกผลึกของไขมันเชื่อกันว่าไขมันมีการตกผลึกแบบแรกเป็นแบบ  $\alpha$  ซึ่งจะถูกเปลี่ยนรูปร่างอย่างรวดเร็วกลายเป็นผลึกแบบ  $\beta'$  ซึ่งจะเกิดเปลี่ยนรูปขึ้นเล็กน้อยหรือเป็นส่วนใหญ่นั้นก็ขึ้นอยู่กับพฤติกรรมการเกิดผลึกของไขมัน อัตราเร็วการทำเย็น และสภาวะอื่นๆ ซึ่ง  $\beta'$  เป็นผลึกที่ต้องการในเนยเทียม เพราะจะทำให้เกิดลักษณะ plasticity ที่เหมาะสม รูปแบบผลึกแบบ  $\beta'$  ทำให้เกิดโครงข่ายสามมิติที่ดี มีประสิทธิภาพในการเก็บน้ำมันเหลวไว้ในโครงข่ายผลึก ส่วนผลึกแบบ  $\beta$  นั้นไม่มีแนวโน้มที่จะเกิดโครงข่ายสามมิติที่ดีแก่เนยเทียม โดยทั่วไปแล้วชนิดของน้ำมันที่ใช้เป็นส่วนผสม สภาวะที่ใช้ในการผลิตและการขนส่งตลอดจนการเก็บรักษา ต้องได้รับการคัดเลือกมาอย่างระมัดระวัง ทั้งนี้เพื่อไม่ให้ไขมันในเนยเทียมเกิดการตกผลึกเป็นโครงข่าย (network) ที่มีความแข็งแรงมากจนเกินไป และเพื่อไม่ให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึกจากรูปแบบ  $\beta'$  ไปเป็น  $\beta$  โดยปรากฏการณ์ทั้งสองแบบนี้จะส่งผลต่อคุณภาพของเนยเทียม (Miskandar และคณะ, 2002) ซึ่งการ

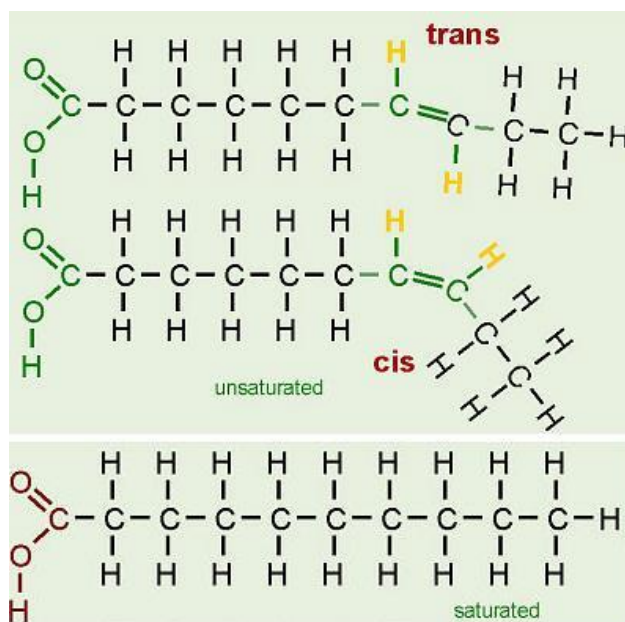
เกิดโครงข่ายของผลึกที่แข็งแรงมากนั้น จะทำให้เนื้อสัมผัสของเนยเทียมแข็ง เกลี่ยหรือปาดได้ยาก ส่วนการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างผลึกจาก  $\beta'$  ไปเป็น  $\beta$  ในระหว่างการเก็บนั้นจะทำให้เนื้อสัมผัสของเนยเทียมเป็นเมล็ดหรือเป็นเนื้อทรายเกิดลักษณะแข็งกระด้างจนเปราะแตกได้ รวมถึงอาจเกิดการแยกตัวของน้ำมัน ออกมาที่บริเวณผิว (oiling off) หรือมีลักษณะเป็นมันเยิ้ม (greasy) ทั้งก่อน

สำหรับเนยเทียมที่มีความคงตัว (consistency) ที่ดีนั้น จะมีผลึกไขมันที่เกิดเป็นโครงข่ายสามมิติที่มีพันธะปฐมภูมิ (primary bonds) และทุติยภูมิ (secondary bonds) ค่า SFC ต่ำสุดที่ไขมันยังคงโครงสร้างผลึกอยู่ได้ คือ 7.6% (Idris และคณะ, 1996) โดยทั่วไปผลึกอาจจะมีรูปร่างและลักษณะปรากฏที่หลากหลายสำหรับรูปร่างแบบเข็มเล็กๆหรือเป็นเกล็ดที่มีความยาวอยู่ในช่วงต่ำกว่า 0.1-20 ไมครอน หรือยาวกว่านี้ (Haighton, 1959) ที่มีการเติบโตของผลึกร่วมกัน ทำให้เกิดโครงข่ายที่แข็งแรง แต่ผลึกเหล่านี้ อาจจะมีการเกาะกลุ่มกันเกิดเป็นกลุ่มก้อนผลึกที่มีรูพรุนเล็กๆพร้อมกับมีจุดที่เชื่อมต่อกัน ด้วยเหตุนี้จึงเกิดผลึกที่มีรูปแบบเป็นกิ่งก้านและเป็นสายยาวเกี่ยวพันกัน สายผลึกที่เกี่ยวข้องกันจะเกิดเป็นโครงข่ายตาข่ายสามมิติ พันธะชั้นปฐมภูมิมีความแข็งแรง แต่จะไม่คืนรูปหลังเกิดการแตกออก เมื่อได้รับแรงทางกล ซึ่งถ้าเนยเทียมเกิดการตกผลึกโดยไม่ได้รับระดับของแรงกลที่พอเหมาะในกระบวนการผลิต จะทำให้เกิดพันธะแบบปฐมภูมิเป็นจำนวนมาก ทำให้เนยเทียมที่ได้มีเนื้อสัมผัสที่แข็งและเปราะ

## 2.2 ไขมันทรานส์ (Trans-fat)

ไขมันทรานส์ คือ ไขมันที่ผ่านกระบวนการเติมอะตอมไฮโดรเจนเข้าไปในโมเลกุล ทำให้คุณสมบัติของไขมันเปลี่ยนแปลงไป โดยจะแข็งตัวมีทรงมากขึ้น มีการเปลี่ยนแปลง เสื่อมเสีย เหม็นหืนช้าลง ดังนั้นอาหารที่มีส่วนผสมของไขมันทรานส์จึงเก็บได้นานขึ้นและมีความเป็นมันย่อน้อยลง มีรสชาติดี ไม่เละ และมีความนุ่มนวลมากขึ้น อุตสาหกรรมอาหารจึงนิยมใช้ผสมในอาหารและขนม





ภาพที่ 1 การจัดเรียงตัวของกรดไขมันแบบ cis และ trans

ที่มา: Dowswell (2012)

### 2.2.1 การเกิดไขมันทรานส์

กระบวนการหลักในการเปลี่ยนน้ำมันที่เหลวให้กลายเป็นไขมันแข็งสำหรับการใช้ในการผลิตไขมันเนยเทียมคือกระบวนการไฮโดรจิเนชันบางส่วน (partial hydrogenation) หรือการเติมไฮโดรเจนอะตอมเข้าไปที่พันธะคู่ระหว่างอะตอมคาร์บอน 2 ตัว โดยมีจัดเรียงตัวแบบทรานส์นั้นคืออะตอมไฮโดรเจนที่มาจับกับอะตอมคาร์บอนที่ตำแหน่งพันธะนั้นจะจับอยู่คนละด้านของพันธะคู่เป็นผลทำให้กรดไขมันดังกล่าวมีลักษณะเยียดตรงมากขึ้นตรงข้ามกับกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีการจัดเรียงตัวแบบซิส จะเห็นว่าสายโซ่ของกรดไขมันนั้นจะมีลักษณะโค้งงอมากกว่า ดังภาพที่ 1 ลักษณะของการยืดเยียดและการโค้งงอของสายโซ่กรดไขมันนั้น เป็นผลทำให้ไขมันมีคุณสมบัติต่างกับการจัดเรียงตัวแบบทรานส์จะมีลักษณะเลียนแบบกับกรดไขมันอิ่มตัว จึงทำให้มีคุณสมบัติในการหลอมเหลวสูงขึ้นมากกว่าการเรียงตัวแบบซิส เนื่องจากการแพ็คตัวของไตรกลีเซอไรด์จะเป็นระเบียบมากกว่า ไตรกลีเซอไรด์ที่มีกรดไขมันแบบซิสที่มีความโค้งงอ ดังนั้นจึงต้องใช้พลังงานในการทำให้หลอมเหลวมากกว่าแต่อย่างไรก็ตามการทำให้ไขมันมีความแข็งมากขึ้นด้วยกระบวนการดังกล่าวจะมาพร้อมกับการก่อตัวของกรดไขมันทรานส์ (trans-fatty acids) ซึ่งกระบวนการนี้จะก่อให้เกิดกรดไขมันทรานส์ 80 เปอร์เซ็นต์ในอาหารของประเทศสหรัฐอเมริกา

## 2.2.2 โทษของไขมันทรานส์ต่อสุขภาพผู้บริโภค

การบริโภคไขมันทรานส์ในปริมาณมากจะไปเพิ่มความเสี่ยงการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ การอักเสบภายใน และโรคมะเร็ง (Hu และคณะ, 1996a) อาหารที่ประกอบด้วยกรดไขมันทรานส์จึงทำให้มีความกังวลเกี่ยวกับสุขภาพมากขึ้นในเมื่อไม่นานมานี้ในการเป็นปัจจัยเสี่ยงของการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ ซึ่งได้มีการรายงานว่าอาหารที่มีกรดไขมัน ทรานส์สูง (มากกว่า 4 เปอร์เซ็นต์ของแคลอรีทั้งหมด) มีผลต่อการทำให้หลอดเลือดตีบ โดยการเพิ่มระดับของคอเลสเตอรอลเสีย (low-density lipoprotein หรือ LDL) และลดระดับของคอเลสเตอรอลดี (high-density lipoprotein หรือ HDL) ลงเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารที่ประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิด cis หรืออาหารที่มีกรดไขมันทรานส์ต่ำ องค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกาจึงออกประกาศบังคับให้อาหารที่ประกอบด้วยกรดไขมันทรานส์มากกว่าหรือเท่ากับ 0.5 กรัมต่อหนึ่งหน่วยบริโภค ต้องแสดงปริมาณกรดไขมันทรานส์บนฉลากของผลิตภัณฑ์อาหารนั้น ซึ่งมีผลบังคับใช้ตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม 2549 ทั้งนี้เพื่อเป็นการลดการบริโภคกรดไขมันทรานส์ของประชากรในประเทศนั่นเอง

## 2.3 กระบวนการอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชัน (Interesterification)

กระบวนการอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชัน (interesterification) จัดเป็นปฏิกิริยา transesterification ประเภทที่มีการแลกเปลี่ยนหมู่เอซิลในโครงสร้างไตรกลีเซอไรด์จากตัวหนึ่งไปยังอีกตัวหนึ่ง หรือรับหมู่เอซิลมาจากตัวให้อะซิล เพื่อให้เกิดการจัดเรียงตัวใหม่ของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบ ได้เป็นไตรเอซิลกลีเซอไรด์รูปแบบใหม่ ซึ่งทำให้สมบัติทางเคมีและกายภาพของไขมันแตกต่างไปจากเดิมตามต้องการจะเกิดการเปลี่ยนแปลงมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับองค์ประกอบและการจัดเรียงตัวของกรดไขมันและสภาวะที่เหมาะสม ไขมันและน้ำมันที่ผ่านการอินเทอร์เอสเตอริฟายด์สามารถแบ่งได้เป็น 2 วิธี คือ

### 2.3.1 Chemical Interesterification

เป็นวิธีที่มีการใช้มานานแล้วในอุตสาหกรรม เพื่อดัดแปลงโครงสร้างของน้ำมันและไขมัน (Jeyarani และ Reddy, 2010) โดยใช้สารเคมีเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เช่น Sodium metal และ Sodium alkoxide ซึ่งมีราคาไม่แพง (Yazdi และ Alemzadeh, 2011) และสามารถใช้ได้สะดวก แต่อย่างไรก็ตามจะพบว่าการจัดเรียงตัวของ fatty acid ในโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์เป็นแบบสุ่ม นอกจากนี้

กระบวนการยังต้องทำที่สภาวะอุณหภูมิสูง ทำให้เกิดการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์สุดท้าย (Kurashige และคณะ, 1993)

### 2.3.2 Enzymatic Interesterification

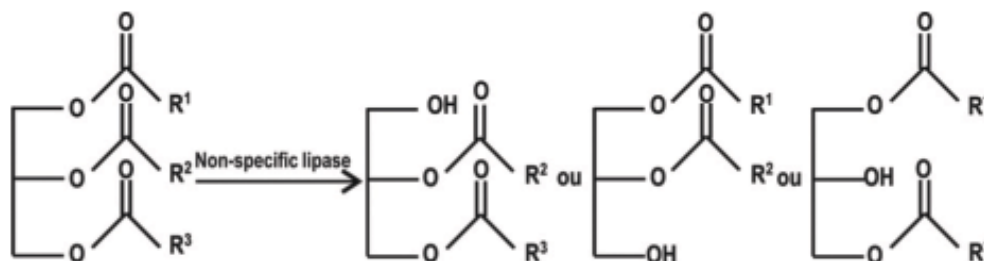
จะใช้เอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เป็นวิธีที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อตำแหน่งของ **acyle groups** ในโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์มากกว่า สามารถผลิตผลิตภัณฑ์ให้มีรูปแบบของไตรกลีเซอไรด์ใหม่ตามต้องการได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งการใช้เอนไซม์ไลเปสนี้ยังช่วยให้มีปริมาณ **by products** น้อยกว่าการใช้สารเคมีเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา นอกจากนี้ยังใช้พลังงานน้อย เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และสามารถควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ได้ดีกว่าอีกด้วย การใช้เอนไซม์ไลเปสที่มีความจำเพาะที่ตำแหน่งไตรกลีเซอไรด์ **sn-1** และ **sn-3** นั้น เอนไซม์จะไปทำลายพันธะของโครงสร้างไตรกลีเซอไรด์เฉพาะตำแหน่งที่ **1** และ **3** โดยไม่เปลี่ยนกรดไขมันที่ตำแหน่งที่ **2** ในขณะที่เอนไซม์ไลเปสชนิดไม่จำเพาะเจาะจงจะตัดแบบสุ่มทุกตำแหน่งของไตรกลีเซอไรด์ ส่งผลให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีชนิดของโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ตามที่ต้องการน้อย

#### 2.3.2.1 เอนไซม์ไลเปส

เอนไซม์ไลเปสเป็นเอนไซม์กลุ่มไฮโดรเลส ซึ่งเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายพันธะเอสเทอร์ในไขมันน้ำมันในสภาวะที่มีน้ำมีชื่อตามระบบว่า กลีเซอรอลเอสเทอร์ไฮโดรเลส (**glycerol ester hydrolase**) และมีชื่อตามรหัสคือ **EC.3.1.1.3** โดยทั่วไปพบในคนและสัตว์ มีหน้าที่เกี่ยวกับกระบวนการย่อยอาหารปัจจุบันมีการสกัดไลเปสจากจุลินทรีย์และผลิตจำหน่ายปฏิกิริยาของเอนไซม์ไลเปสนี้มี 2 ลักษณะใหญ่ๆคือ ทำปฏิกิริยาแบบไม่จำเพาะตำแหน่งพันธะเอสเทอร์ (**non-specific lipase**) และทำปฏิกิริยาแบบจำเพาะที่พันธะเอสเทอร์ตำแหน่ง **1,3** (**1,3-specific lipase**) อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาอยู่ที่ประมาณ **35-60 °C** และระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาที่เพียงพออาจอยู่ในช่วงตั้งแต่ **30 นาที** ไปจนถึง **100 ชั่วโมง** ขึ้นกับความเข้มข้น แอคติวิตีของเอนไซม์ และอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา (Brown และคณะ, 1994)

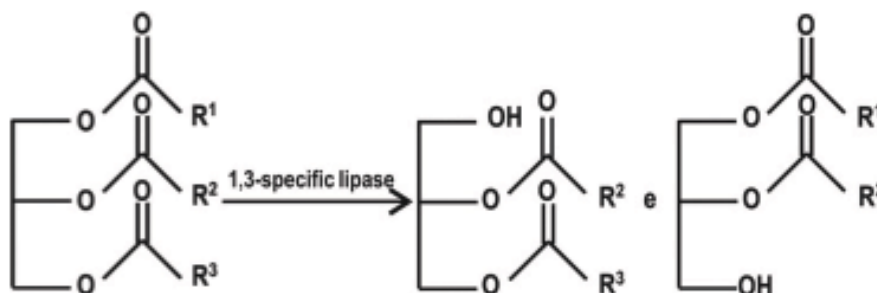
ปฏิกิริยาสังเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์จากการแลกเปลี่ยนกรดไขมัน (**interesterification**) แบ่งออกเป็น 2 ปฏิกิริยาหลัก ดังนี้

i) ปฏิกริยาไม่จำเพาะพันธะเอสเทอร์ (non-specific lipase) (ภาพที่ 2) ไลเปสทำปฏิกริยาไฮโดรไลซิสไตรกลีเซอไรด์ได้เป็นกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอลอย่างสมบูรณ์แบบสุ่ม ซึ่งจะได้โมโนเอซิลกลีเซอรอลและไดเอซิลกลีเซอรอลเป็นผลิตภัณฑ์



ภาพที่ 2 การเกิดปฏิกริยาอินเทอร์เอสเทอริฟิเคชันโดยไลเปสที่ไม่จำเพาะบนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์  
ที่มา: Barros และคณะ (2010)

ii) ปฏิกริยาจำเพาะพันธะเอสเทอร์ที่ 1,3 (ภาพที่ 3) ไลเปสทำปฏิกริยาไฮโดรไลซิสไตรกลีเซอไรด์เฉพาะที่พันธะของคาร์บอนตำแหน่งที่ 1 และคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ได้เป็นกรดไขมันอิสระ 2-โมโนกลีเซอไรด์ และ 1,2- หรือ 2,3 ไดกลีเซอไรด์ ซึ่ง 2 ผลิตภัณฑ์หลังไม่เสถียรทางเคมี อาจช่วยส่งเสริมการย้ายหมู่ acyl กลายเป็น 1,3 - ไดเอซิลกลีเซอรอล และ 1-หรือ 3- โมโนเอซิลกลีเซอรอล (Barros และคณะ, 2010)



ภาพที่ 3 การเกิดปฏิกริยาอินเทอร์เอสเทอริฟิเคชันโดยไลเปสที่จำเพาะบนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์  
ที่มา: Barros และคณะ (2010)

กระบวนการอินเทอร์เอสเทอริฟิเคชันโดยใช้สารเคมีหรือเอนไซม์ ใช้ในการปรับปรุงสมบัติทางกายภาพและสมบัติเชิงหน้าที่ของไขมันและน้ำมันโดยการเปลี่ยนตำแหน่งหรือชนิดของกรดไขมันบนกลีเซอรอล ไขมันและน้ำมันที่ถูกเปลี่ยนโครงสร้างเพื่อให้มีสมบัติทางกายภาพ เคมี และทาง

โภชนาการนี้เรียกว่า Structured lipid (SL) (Fomuso และ Akoh, 2001) ซึ่งโดยทั่วไปจะเป็นไตรเอซิลกลีเซอรอล (TAG) แต่ยังสามารถรวมถึงโมโนเอซิลกลีเซอรอล (MAG) ไดเอซิลกลีเซอรอล (DAG) และกลีเซอโรฟอสโฟลิปิด (GPL) (Pande และ Akoh, 2013a) แม้ว่ากระบวนการอินเตอร์เอสเทอริฟิเคชันโดยสารเคมีเป็นกระบวนการที่ต้นทุนต่ำกว่าและสามารถเพิ่มขนาดการผลิตได้ง่าย แต่มันเป็นกระบวนการที่ขาดความจำเพาะเจาะจง เอนไซม์ไลเปส (EC.3.1.1.3, triacylglycerol acylhydrolase) จึงถูกใช้ในกระบวนการอินเตอร์เอสเทอริฟิเคชันโดยใช้เอนไซม์ และเป็นที่ต้องการมากกว่า เพราะเอนไซม์มีความจำเพาะต่อตำแหน่งและโครงสร้าง ช่วยควบคุมผลิตภัณฑ์สุดท้ายได้ดีกว่า เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม จำเพาะต่อปฏิกิริยา และให้พลังงานต่ำ เอนไซม์ไลเปสที่ใช้ทั่วไปจะผลิตจากเชื้อ *Rhizomucormiehei*, *Candidirugose*, *Rhizopusoryzae*, *Thermomyceslauginosus* และ *Candida Antarctica* (Pande และ Akoh, 2013a)

กระบวนการอินเตอร์เอสเทอริฟิเคชันโดยใช้เอนไซม์ไม่ก่อให้เกิดกรดไขมันทรานส์เหมือนในกรณีที่ใช้สารเคมี ดังนั้นจึงไม่เป็นอันตรายต่อลิโปโปรตีนในพลาสมา ทำให้มีปริมาณไขมันแข็งตามต้องการมักใช้ไขมันแข็งตัว เช่น ปาล์มสเตียรีน หรือน้ำมันที่ผ่านกระบวนการไฮโดรจิเนชันอย่างสมบูรณ์ (น้ำมันถั่วเหลือง, น้ำมันเมล็ดฝ้าย) ปาล์มสเตียรีนเป็นผลึกของแข็งที่ได้จากกระบวนการแยกส่วน (Fractionation) ของน้ำมันปาล์มหลังจากการตกผลึกที่อุณหภูมิที่มีการควบคุม และประกอบด้วยสัดส่วนของไขมันชนิดอิ่มตัวสูงและกรดไขมันทรานส์ ที่มีจุดหลอมเหลวสูง ปาล์มสเตียรีนเป็นแหล่งของไขมันแข็งธรรมชาติ ซึ่งจะช่วยเพิ่มความคงตัวแก่อาหารหลายชนิด (Pande และ Akoh, 2013a) และมักใช้ร่วมกับน้ำมันชนิดอื่น ๆ มากมาย ในการผลิตไขมันทางการที่ปราศจากไขมันชนิดทรานส์

Khatoon และคณะ (2012) ทำการศึกษาไขมันแข็งที่ได้จากกระบวนการตกผลึกลำดับส่วนน้ำมันปาล์มและน้ำมันมะพร้าว ผสมกันในอัตราส่วน 90:10, 85:15, 80:20 และ 75:25 (ตารางที่ 2) ถูกนำไปผ่านกระบวนการอินเตอร์เอสเทอริฟิเคชันเป็นเวลา 8 ชั่วโมง โดยใช้เอนไซม์ Lipozyme TL IM 10 เปอร์เซ็นต์ของสับสเตรทพบว่ากรดไขมันหลักในน้ำมันผสม คือ palmitic acid (41.7-48.4%) และ oleic acid (26.2-30.8%) และมีกรดไขมันสายยาวปานกลาง เช่น ลอริก 4.5-13.1% ซึ่งองค์ประกอบของกรดไขมันหลังจากกระบวนการอินเตอร์เอสเทอริฟิเคชันมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ไม่ได้แสดงผล) เนื่องจากการผสมน้ำมันและการเอสเทอริไฟน์น้ำมันคือการเปลี่ยนโครงสร้างไตรกลีเซอไรด์ เพื่อให้ได้โครงสร้างใหม่ขึ้น โดยโครงสร้างใหม่นั้นก็เกิดจากกรดไขมันที่มีอยู่ตั้งต้นในตอนแรกนั่นเอง

ตารางที่ 2 องค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันผสมแต่ละส่วนของปาล์มสเตียรีน และ coconut stearin

| Blends (w/w) PST:Cst 1 | Fatty acids (relative %) |           |            |           |            |           |            |           |  |
|------------------------|--------------------------|-----------|------------|-----------|------------|-----------|------------|-----------|--|
|                        | 8:0                      | 10:0      | 12:0       | 14:0      | 16:0       | 18:0      | 18:1       | 18:2      |  |
| 90/10                  | ND                       | ND        | 4.5 ± 0.3  | 2.4 ± 0.2 | 48.4 ± 2.5 | 6.6 ± 0.7 | 30.8 ± 2.1 | 7.3 ± 0.4 |  |
| 85/15                  | 0.3 ± 0.04               | 0.5 ± 0.1 | 6.8 ± 0.8  | 3.7 ± 0.4 | 47.5 ± 3.6 | 6.1 ± 0.4 | 28.5 ± 1.6 | 6.6 ± 0.8 |  |
| 80/20                  | 0.5 ± 0.06               | 0.7 ± 0.1 | 9.0 ± 0.9  | 5.7 ± 0.5 | 44.4 ± 3.1 | 5.8 ± 0.3 | 27.8 ± 2.1 | 6.1 ± 0.9 |  |
| 75/25                  | 0.8 ± 0.07               | 1.0 ± 0.1 | 11.3 ± 0.2 | 7.1 ± 0.4 | 41.7 ± 3.0 | 6.1 ± 0.4 | 26.2 ± 2.2 | 5.8 ± 0.7 |  |

All values are mean ± SD of three analyses.

ND, not detected ; PST, palm stearin ; Cst 1, coconut stearin

ที่มา: Khatoon et al. (2012)

เช่นเดียวกันกับการทดลองของ Tang และคณะ (2012) ที่ได้ทำการทดลอง การผลิตไขมันพลาสติกที่ปราศจากกรดไขมันทรานส์ด้วยกระบวนการอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชันและใช้เอนไซม์เช่นเดียวกัน โดยทำการทดลองผสมปาล์มสเตียริน (PS) ซึ่งจำเป็นต้องใช้เป็นส่วนหนึ่งของของแข็งหลัก กับน้ำมันเมล็ด cinnamomumcamphora (CCSO) ที่อัตราส่วน (60:40, 70:30, 80:20) ทำปฏิกิริยาที่ระยะเวลาานาน 8 ชั่วโมงโดยใช้เอนไซม์ Lipozyme TL IM 10 เปอร์เซ็นต์ของสับสเตรท พบว่า องค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันผสม กับน้ำมันผสมที่ถูกทำปฏิกิริยา มีค่าใกล้เคียงกันในทุกอย่างและไม่มี ความแตกต่างทางสถิติ เช่นเดียวกับที่ Khatoon และคณะ (2012) กล่าวไว้

ตารางที่ 3 องค์ประกอบของกรดไขมัน ในน้ำมันผสมแต่ละส่วนของปาล์มสเตียริน และ น้ำมันเมล็ด cinnamomumcamphora และน้ำมันผสมที่ผ่านการอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชัน

|       | Physical blend<br>(PS:CCSO) |       |       |       |       | Interesterified Product<br>(PS:CCSO) |       |       |
|-------|-----------------------------|-------|-------|-------|-------|--------------------------------------|-------|-------|
|       | PS                          | CCSO  | 60:40 | 70:30 | 80:20 | 60:40                                | 70:30 | 80:20 |
| C8:0  | ND <sup>a</sup>             | 0.36  | 0.14  | 0.09  | 0.07  | 0.11                                 | 0.08  | 0.06  |
| C10:0 | 0.00                        | 53.96 | 21.15 | 16.30 | 10.76 | 21.26                                | 15.94 | 10.14 |
| C12:0 | 0.11                        | 37.70 | 14.45 | 11.45 | 6.99  | 14.34                                | 11.25 | 7.73  |
| C14:0 | 1.32                        | 1.08  | 1.27  | 1.27  | 1.30  | 1.22                                 | 1.25  | 1.31  |
| C16:0 | 62.96                       | 0.89  | 38.78 | 44.02 | 50.35 | 38.85                                | 45.12 | 50.59 |
| C18:0 | 4.91                        | 0.23  | 3.07  | 3.74  | 3.98  | 3.39                                 | 3.67  | 4.06  |
| C18:1 | 25.55                       | 4.80  | 17.34 | 18.66 | 21.81 | 17.37                                | 17.92 | 21.15 |
| C18:2 | 5.06                        | 0.87  | 3.71  | 4.34  | 4.64  | 3.26                                 | 4.62  | 4.77  |
| C18:3 | 0.09                        | 0.11  | 0.09  | 0.13  | 0.10  | 0.20                                 | 0.15  | 0.19  |
| ΣMCFA | 0.12                        | 92.02 | 35.73 | 27.84 | 17.82 | 35.71                                | 27.27 | 17.93 |
| ΣSFA  | 69.31                       | 94.22 | 78.86 | 76.87 | 73.45 | 79.17                                | 77.31 | 73.89 |
| ΣUFA  | 30.69                       | 5.77  | 21.15 | 23.14 | 26.55 | 20.82                                | 22.69 | 26.12 |
| ΣTFA  | ND                          | ND    | ND    | ND    | ND    | ND                                   | ND    | ND    |

<sup>a</sup>Not detected.

ที่มา: Tang และคณะ (2012)

จากการทดลองจะเห็นว่าน้ำมันเมล็ด cinnamomumcamphora จะมีองค์ประกอบของกรดไขมัน คาพริก และลอริก ปริมาณ 53.96% และ 37.70% ตามลำดับ เป็นหลัก ซึ่งเป็นกรดไขมันสายโซ่ขนาดกลาง ดังนั้นจึงทำให้มี MCFA อยู่มากเป็นส่วนใหญ่คือ 92.02% ดังตารางที่ 3 สำหรับกรดไขมันหลักในน้ำมันผสม คือ palmitic acid (38.78-50.35%) และ oleic acid (17.34-21.81%) และมีกรดไขมันสายยาวปานกลางเช่น 6.9-14.4% จะเห็นว่าค่ากรดไขมันต่างๆของ ไขมันพลาสติกจากปาล์มสเตียริน กับน้ำมันเมล็ด cinnamomumcamphora (CCSO) ใกล้เคียงกับ ไขมันพลาสติกจากปาล์มสเตียรินและ coconut stearin ทั้งนี้เนื่องจากน้ำมันมะพร้าวจะประกอบด้วยกรดไขมันสายกลางค่อนข้างมาก เช่นเดียวกับน้ำมันเมล็ด cinnamomumcamphora (CCSO) และมีการใช้ปาล์มสเตียรินในอัตราส่วนที่ใกล้เคียงกัน

Khatoon และคณะ (2012) ทำการศึกษาไขมันแข็งที่ได้จากกระบวนการตกผลึกลำดับส่วนน้ำมันปาล์มและน้ำมันมะพร้าว ผสมกันในอัตราส่วน 90:10, 85:20, 80:20 และ 75:25 ถูกนำไปผ่านกระบวนการอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชันเป็นเวลา 8 ชั่วโมง โดยใช้เอนไซม์ Lipozyme TL IM รายงานว่าหลังจากกระบวนการอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชันพบว่า slip melting point ลดลงจาก 44.8-46.8 องศาเซลเซียส เป็น 28.5-34.0 องศาเซลเซียส ดังตารางที่ 4 ทั้งนี้เนื่องจากการลดลงของปริมาณ solid fat content ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 4 ค่า slip melting point ของน้ำมันผสม palm stearin กับ coconut stearin และน้ำมันผสมที่ผ่านการทำอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชันแล้ว

| Fat blends      | SMP (°C)    |             |
|-----------------|-------------|-------------|
|                 | Before IE   | After IE*   |
| PSt:CSt 1 (w/w) |             |             |
| 90/10           | 46.8 ± 0.4a | 34.0 ± 0.2b |
| 85/15           | 46.5 ± 0.3a | 32.0 ± 0.3b |
| 80/20           | 45.4 ± 0.5a | 29.6 ± 0.2b |
| 75/25           | 44.8 ± 0.2a | 28.8 ± 0.1b |



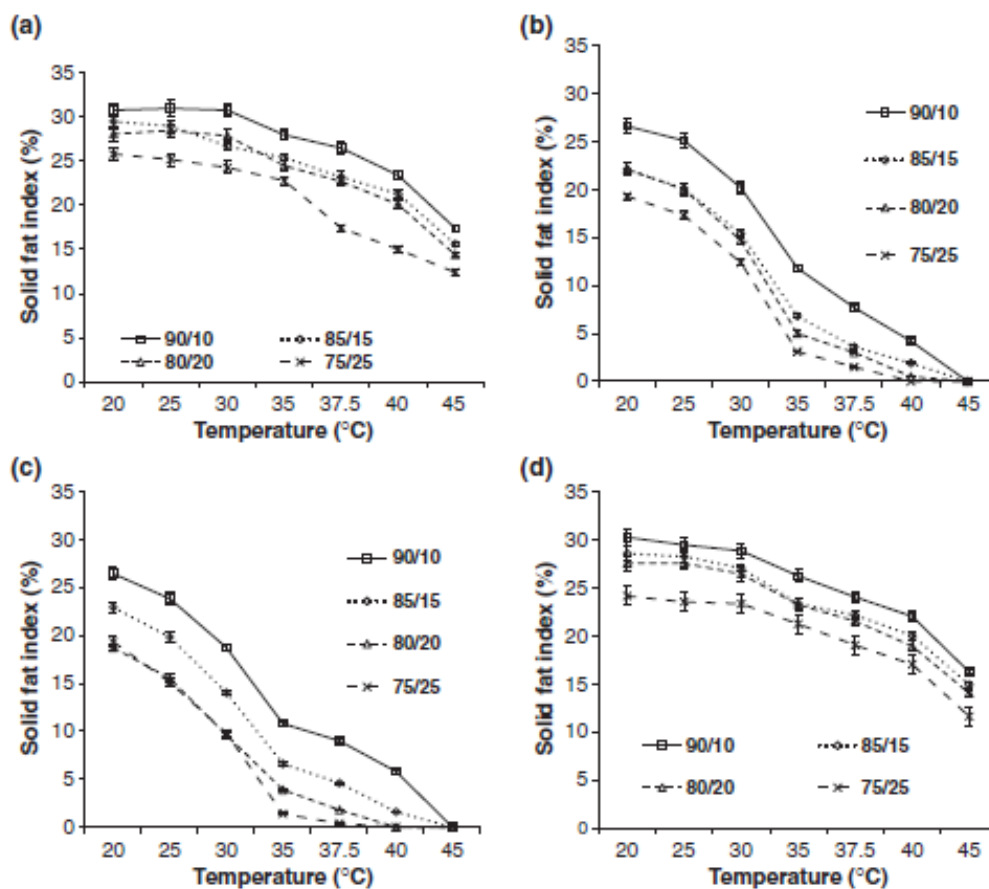
ตารางที่ 4 (ต่อ)

| Fat blends      | SMP (°C)    |             |
|-----------------|-------------|-------------|
|                 | Before IE   | After IE*   |
| PSt:CSt 2 (w/w) |             |             |
| 90/10           | 46.8 ± 0.4a | 33.6 ± 0.3b |
| 85/15           | 45.2 ± 0.5a | 31.5 ± 0.2b |
| 80/20           | 44.8 ± 0.4a | 28.5 ± 0.2b |
| 75/25           | 43.3 ± 0.3a | 28.6 ± 0.1b |
| PSt             | 50.4 ± 0.3  | NA          |
| CSt 1           | 25.7 ± 0.2  | NA          |
| CSt 2           | 24.9 ± 0.2  | NA          |

Mean values with different letters are significantly different at  $P < 0.05$  ( $n = 3$ ). PSt, palm stearin; CSt 1, coconut stearin; CSt 2, coconut stearin; IE, interesterified; NA, not applicable; SMP, slip melting point.

ที่มา: Khatoon และคณะ (2012)

จากตารางที่ 4 จะเห็นว่าจุดหลอมเหลวของน้ำมันผสม กับน้ำมันที่ผ่านการดัดแปลงด้วยกระบวนการอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชันนั้น มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่  $p < 0.05$  โดยแสดงว่าการทำอินเทอร์เอสเตอริไฟด์จะช่วยลดจุดหลอมเหลวของน้ำมันผสมลงได้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการที่กรดไขมันในไตรกลีเซอไรด์อาจเกิดการแลกเปลี่ยนตำแหน่งกัน ทำให้เกิดการจัดเรียงแบบใหม่ที่ทำให้จุดหลอมเหลวของน้ำมันลดลงได้ เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง PSt:CSt 1 (coconut stearin 24% yield) กับ PSt:CSt 2 (coconut stearin 42% yield) จะพบว่า PSt:CSt 2 ให้จุดหลอมเหลวที่ต่ำกว่าเล็กน้อย ทั้งนี้เนื่องจากว่า coconut stearin 42% yield จะให้ความเป็นของแข็ง หรือ SFC ต่ำกว่า coconut stearin 24% yield แต่อย่างไรก็ตาม PSt:CSt 1 (coconut stearin 24% yield) กับ PSt:CSt 2 (coconut stearin 42% yield) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ หรือกล่าวได้ว่า ระดับของการแยกส่วนสเตอรินของมะพร้าวเพียงเท่านี้ไม่มีผลต่อจุดหลอมเหลวที่ต่างกันของน้ำมันผสมที่ผ่านการอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชัน



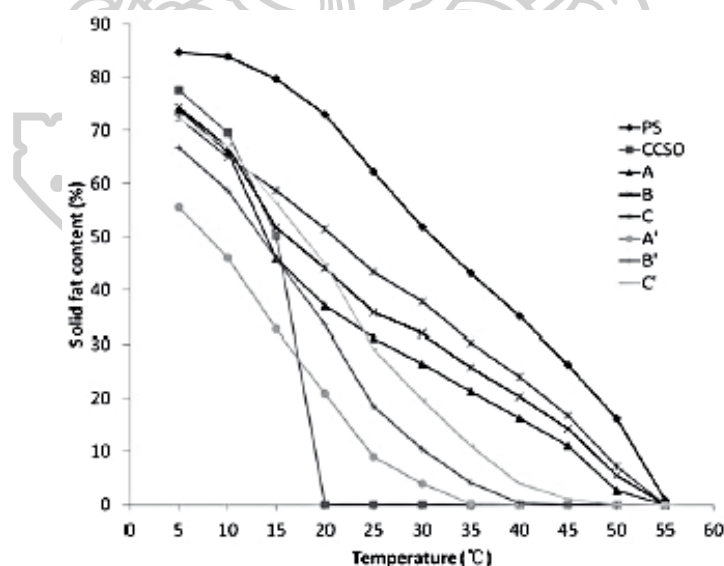
ภาพที่ 4 ปริมาณของแข็ง หรือ solid fat index ของน้ำมันผสม PSt:CSt 1 (coconut stearin 24% yield) กับ PSt:CSt 2 (coconut stearin 42% yield) ก่อน (a) และหลัง (b) ปฏิกริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชัน

ที่มา: Khatoon และคณะ (2012)

จากภาพที่ 4 แสดงให้เห็นว่าน้ำมันผสมมีช่วงการหลอมเหลวที่กว้าง ในช่วง 20 องศาเซลเซียส จะมีปริมาณ solid fat 24.1-30.8% และที่ 45 องศาเซลเซียสจะมี solid fat ปริมาณ 11.6-17.4% และพบว่าที่สูตรน้ำมันผสม PSt:CSt 1 (coconut stearin 24% yield) กับ PSt:CSt 2 (coconut stearin 42% yield) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบน้ำมันผสมก่อนทำปฏิกริยาและหลังทำปฏิกริยา พบว่า ลักษณะกราฟจะเปลี่ยนไปอย่างเห็นได้ชัดคือปริมาณ solid fat index จะลดลงในทุกอุณหภูมิ โดย ที่ 37.5 องศาเซลเซียส ที่สัดส่วน substrate ratio 25% coconut stearin จะเห็นว่า solid fat index จะลดลงจาก 17.4-19% ไปเป็น 0.4-1.5% ในตัวอย่างน้ำมันผสมที่ผ่านการทำปฏิกริยา หมายความว่าไขมันพลาสติกจะสามารถละลายได้เกือบหมดที่

อุณหภูมิร่างกาย และถือเป็นค่าขอบช่วง SFC ที่เหมาะสม ณ อุณหภูมินั้นๆ ซึ่งเหมาะกับการนำไปผลิตเป็นมาการีนที่ดี

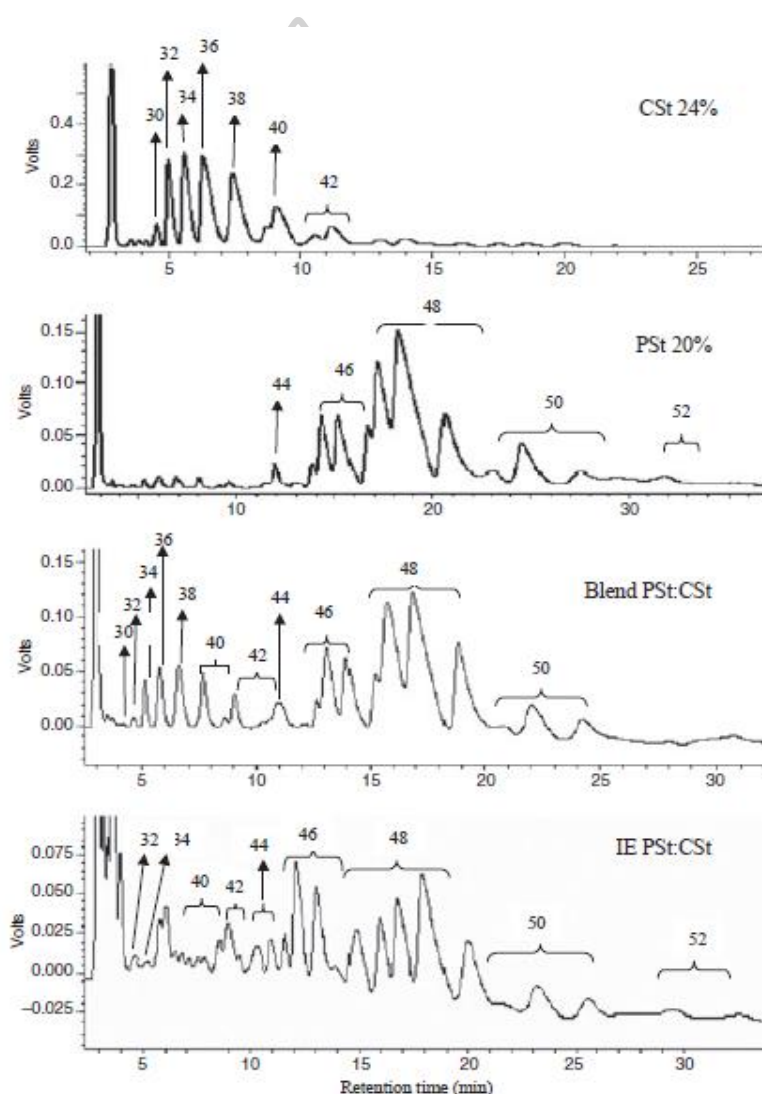
Tang และคณะ (2012) ได้ทำการศึกษาปริมาณ solid fat content (SFC) ของ น้ำมันผสมปาล์มสเตียรีน (PS) กับน้ำมันเมล็ด cinnamomumcamphora (CCSO) ที่อัตราส่วน (60:40, 70:30, 80:20) โดยทำการหาปริมาณ SFC ที่ช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 5-55 องศาเซลเซียส จากภาพที่ 5 จะเห็นว่าไขมันปาล์มสเตียรีนมีจุดหลอมที่สูงมากและช่วงการหลอมเหลวแคบ ส่วนน้ำมัน cinnamomumcamphora (CCSO) จะมีจุดหลอมเหลวต่ำ และช่วงการหลอมเหลวที่แคบมากๆ อยู่ในช่วง 15-20 องศาเซลเซียส เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันที่ผสมแล้วจะพบว่า การผสมน้ำมันจะทำให้ได้ช่วงการหลอมเหลวของไขมันพลาสติกกว้างขึ้น และช่วงการหลอมเหลวจะกว้างมากขึ้นไปอีกเมื่อน้ำมันผสมผ่านการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชัน ดังแสดงในกราฟ A' B' และ C' โดย SFC จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับสัดส่วนของปาล์มสเตียรีนที่มีของแข็งปริมาณมากอยู่แล้วเป็นหลัก ดังนั้น ค่า SFC ของไขมันพลาสติก จะลดลงตามสัดส่วนของปริมาณปาล์มสเตียรีนที่น้อยลงด้วย การที่ค่า SFC ลดลงในทุกตำแหน่งของอุณหภูมิที่เริ่มสูงขึ้น จึงเป็นผลทำให้ไขมันพลาสติกนั้น ๆ มีจุดหลอมเหลวที่ต่ำกว่า



ภาพที่ 5 ปริมาณของของแข็ง หรือ solid fat content ของน้ำมันผสม (A, 60:40; B, 70:30; C, 80:20) และน้ำมันผสมที่ผ่านกระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชัน (A', 60:40; B', 70:30'; C, 80:20') ที่สัดส่วนต่างๆ

ที่มา: Tang และคณะ (2012)

จากการศึกษาของ Khatoon และคณะ (2012) ทำการศึกษาไขมันแข็งที่ได้จากกระบวนการตกผลึกลำดับส่วนน้ำมันปาล์มและน้ำมันมะพร้าว ผสมกันในอัตราส่วน 90:10, 85:20, 80:20 และ 75:25 ถูกนำไปผ่านกระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันเป็นเวลา 8 ชั่วโมง โดยใช้ เอนไซม์ Lipozyme TL IM 10 % รายงานว่าหลังจากกระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันพบว่า coconut stearin ประกอบด้วยไตรกลีเซอไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่า palm stearin ที่จะประกอบไปด้วยโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลหนักกว่าจึงมี retention time ที่เวลานานกว่าดังแสดงในภาพที่ 6



ภาพที่ 6 HPLC โปรไฟล์ขององค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของมะพร้าวสเตอรินและปาล์มสเตอริน เปรียบเทียบกับน้ำมันผสมและน้ำมันผสมผ่านการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชัน

ที่มา: Khatoon และคณะ (2012)

เมื่อ coconut stearin ผสมกับ palm stearin จึงทำให้ในไขมันผสมมีโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ที่มีทั้งน้ำหนักโมเลกุลต่ำและน้ำหนักโมเลกุลสูงอยู่ด้วยกัน เพราะเหตุนี้จึงเป็นผลให้ไขมันผสมมีช่วงการหลอมเหลวและตกผลึกที่กว้างขึ้นตามองค์ประกอบของชนิดและปริมาณไตรกลีเซอไรด์ในไขมันผสมนั่นเอง ในขณะที่ไขมันผสมที่ผ่านกระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันจะเห็นว่ามีลักษณะพีคของไตรกลีเซอไรด์ที่แตกต่างไปจากพีคไตรกลีเซอไรด์ที่พบใน coconut stearin และ palm stearin แต่จะปรากฏพีคใหม่ขนาดย่อย ๆ มากขึ้น ทั้งนี้เนื่องมาจากการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันจะมีผลทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนองค์ประกอบของกรดไขมัน เกิดโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ใหม่ที่หลากหลายมากขึ้นดังแสดงในตารางที่ 5 จึงเป็นผลทำให้จุดหลอมเหลวต่ำลง ช่วงการหลอมเหลวกว้างขึ้น

ตารางที่ 5 องค์ประกอบของโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันผสมและน้ำมันผสมที่ผ่านการทำปฏิกิริยาของปาล์มสเตียรีนกับมะพร้าวสเตียรีน

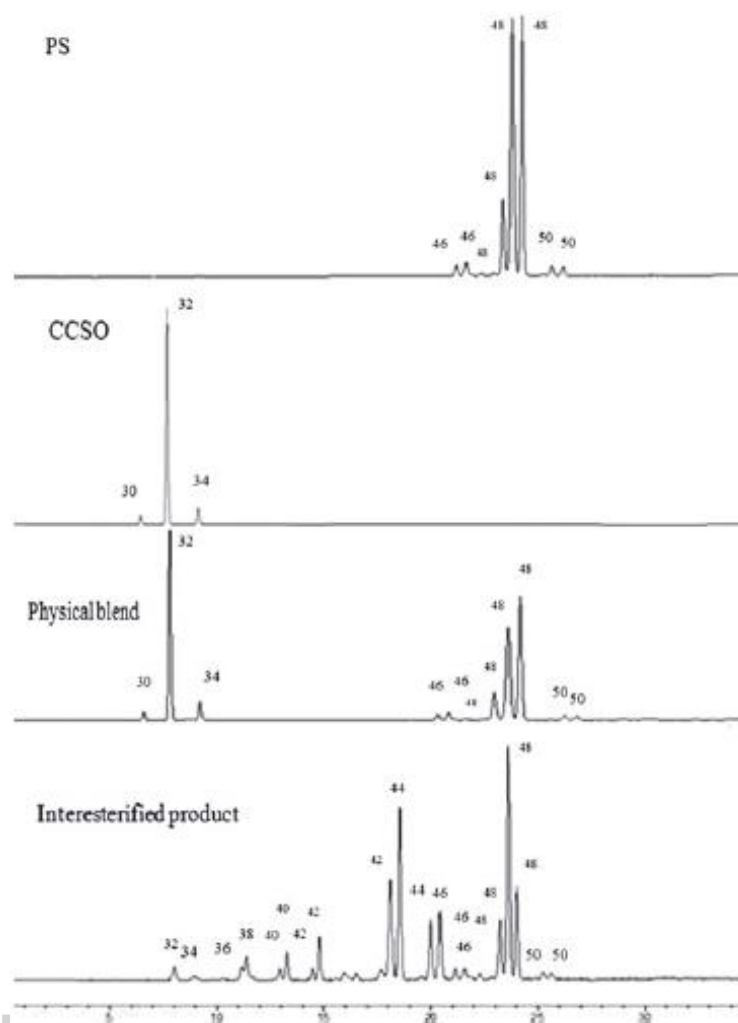
| TAG     | PSt:CSt 1 (75/25, w/w) |            |     |            |            |
|---------|------------------------|------------|-----|------------|------------|
| species | ECN                    | CSt 1      | PSt | BI         | IE         |
| CpCpC   | 26                     | 0.1 ± 0.02 | ND  | 0.1 ± 0.02 | ND         |
| CpCC    | 28                     | 0.3 ± 0.06 | ND  | 0.1 ± 0.01 | ND         |
| CpCpLa  | 28                     | 0.6 ± 0.03 | ND  | tr         | 3.0 ± 0.2  |
| CpCLa   | 30                     | 2.7 ± 0.06 | ND  | 0.5 ± 0.06 | 1.0 ± 0.1  |
| CCLa    | 32                     | 11.9 ± 0.2 | ND  | 2.5 ± 0.1  | 0.5 ± 0.07 |
| CLaLa   | 34                     | 18.0 ± 0.6 | ND  | 4.1 ± 0.2  | 1.9 ± 0.2  |
| LaLaLa  | 36                     | 23.6 ± 0.6 | ND  | 5.2 ± 0.3  | 0.3 ± 0.1  |
| LaLaM   | 38                     | 20.7 ± 0.7 | ND  | 4.8 ± 0.1  | 0.3 ± 0.02 |
| LaLaO   | 40                     | 0.8 ± 0.1  | ND  | 0.5 ± 0.03 | 1.1 ± 0.09 |
| LaMM    | 40                     | 7.6 ± 0.3  | ND  | 2.0 ± 0.2  | 2.2 ± 0.1  |
| LaLaP   | 40                     | ND         | ND  | ND         | 0.4 ± 0.02 |
| LaMO    | 42                     | 1.2 ± 0.1  | ND  | 0.2 ± 0.02 | 2.5 ± 0.2  |
| LaMP    | 42                     | 4.1 ± 0.1  | ND  | 0.1 ± 0.01 | 2.2 ± 0.06 |
| LaOO    | 44                     | ND         | ND  | 0.2 ± 0.03 | 1.9 ± 0.1  |

ตารางที่ 5 องค์ประกอบของโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันผสมและน้ำมันผสมที่ผ่านการทำปฏิกิริยาของปาล์มสเตียรีนกับมะพร้าวสเตียรีน (ต่อ)

| TAG               | PSt:CSt 1 (75/25, w/w) |            |            |            |            |
|-------------------|------------------------|------------|------------|------------|------------|
|                   | species                | ECN        | CSt 1      | PSt        | BI         |
| LaPP              | 44                     | 1.3 ± 0.1  | ND         | 0.2 ± 0.01 | 10.2 ± 0.1 |
| MMP               | 44                     | 1.9 ± 0.2  | tr         | tr         | tr         |
| MPP               | 46                     | ND         | 1.9 ± 0.2  | 0.7 ± 0.1  | 8.4 ± 0.2  |
| PLO               | 46                     | 0.2 ± 0.06 | 6.2 ± 0.3  | 5.8 ± 0.3  | 0.4 ± 0.04 |
| PPL               | 46                     | 1.0 ± 0.2  | 9.7 ± 0.1  | 7.1 ± 0.3  | 7.2 ± 0.3  |
| OOO               | 48                     | ND         | 2.1 ± 0.2  | 1.0 ± 0.2  | 9.2 ± 0.2  |
| POO               | 48                     | 0.9 ± 0.1  | 10.0 ± 0.6 | 11.3 ± 0.5 | 9.1 ± 0.2  |
| POP               | 48                     | 1.0 ± 0.09 | 35.3 ± 1.0 | 27.2 ± 1.1 | 20.0 ± 1.1 |
| PPP               | 48                     | 1.4 ± 0.1  | 16.4 ± 0.3 | 14.9 ± 0.9 | 5.3 ± 0.2  |
| SOO               | 50                     | 0.3 ± 0.06 | 2.3 ± 0.2  | 0.7 ± 0.1  | 0.7 ± 0.07 |
| POS               | 50                     | 0.2 ± 0.02 | 11.2 ± 0.2 | 7.0 ± 0.9  | 5.3 ± 0.06 |
| PPS               | 50                     | 0.2 ± 0.02 | 3.1 ± 0.09 | 2.8 ± 0.1  | 3.1 ± 0.09 |
| SOS               | 52                     | ND         | 1.1 ± 0.06 | 0.3 ± 0.03 | 1.1 ± 0.1  |
| PSS               | 52                     | ND         | 0.6 ± 0.02 | 0.3 ± 0.02 | 0.9 ± 0.1  |
| GS <sub>3</sub>   | -                      | 22.0       | 94.4       | 38.3       | 39.3       |
| GS <sub>2</sub> U | -                      | 57.3       | 4.2        | 42.3       | 37.2       |
| GSU <sub>2</sub>  | -                      | 18.5       | 1.3        | 18.0       | 12.1       |
| GU <sub>3</sub>   | -                      | 2.1        | 0.0        | 1.0        | 9.2        |

ที่มา: Khatoon และคณะ (2012)

นอกจากนี้จากการทดลองของ Tang และคณะ (2012) ก็ได้ศึกษาผลของการปรับปรุงคุณสมบัติไขมันพลาสติกปราศจากทรานส์ด้วยกระบวนการเช่นเดียวกัน จะเห็นว่าผลของการทำอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันมีผลต่อองค์ประกอบของไตรกลีเซอไรด์ในไขมันผสมต่างไปจากเดิม โดยหลังการทำปฏิกิริยาจะทำให้มีองค์ประกอบของไตรกลีเซอไรด์มากขึ้นกว่าเดิม สังเกตได้จากจำนวนพีคในภาพที่ 7 ทั้งนี้เนื่องจากการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันจะทำให้เกิดการต่อหรือแลกเปลี่ยนตำแหน่งของกรดไขมันบนโมเลกุลของกลีเซอรอล ทำให้เกิดไตรกลีเซอไรด์ชนิดใหม่ที่มีความหลากหลายมากขึ้น

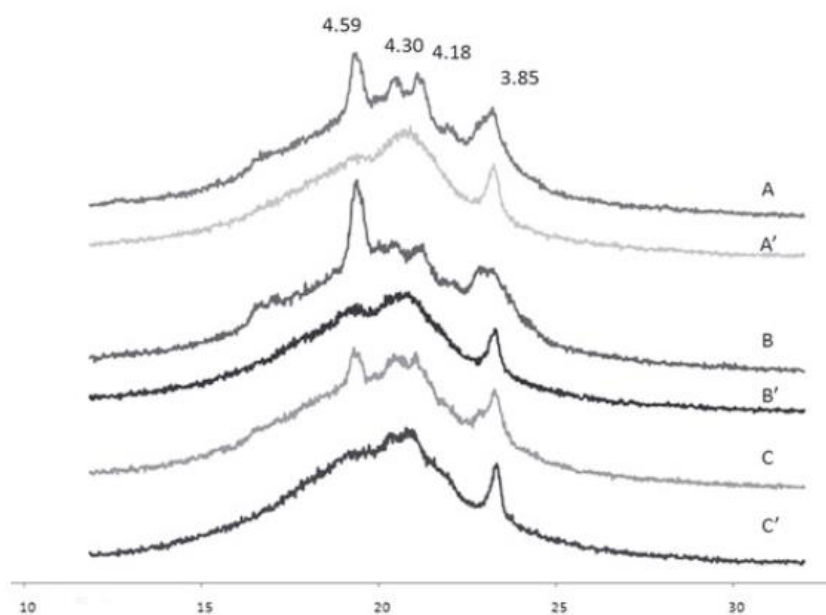


ภาพที่ 7 HPLC โพรไฟล์ขององค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของปาล์มสเตียรีนและน้ำมันเมล็ดการบูร (Cinnamomum camphora) เปรียบเทียบกับน้ำมันผสมและน้ำมันผสมผ่านการทำปฏิกิริยาอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชัน

ที่มา: Tang และคณะ (2012)

โครงข่ายของการเกิดผลึก จำนวน และลักษณะรูปร่างผลึกถือว่ามีผลต่อคุณสมบัติของไขมันพลาสติกที่ต่างกัน เช่น ความสามารถในการปลดปล่อย การหลอมเหลว mouthfeel เป็นต้น (Ribeiro และคณะ, 2009) สำหรับรูปร่างผลึกมีความสัมพันธ์กับพฤติกรรมทางกายภาพและพฤติกรรมของไขมันและน้ำมันในการเกิดโครงสร้างผลึกและรูปแบบการจัดเรียงโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ ซึ่งรูปแบบผลึก (polymorphism) และโครงสร้างผลึก (crystal structure) นั้นมีมากกว่า 1 ชนิด สำหรับไตรกลีเซอไรด์จะมีรูปแบบผลึกหลักๆ อยู่ 3 รูปแบบ คือ  $\alpha$ ,  $\beta'$  และ  $\beta$  ซึ่ง  $\beta'$  เป็นผลึกที่ต้องการในเนยเทียม เพราะ

จะทำให้เกิดลักษณะ plasticity ที่เหมาะสม รูปแบบผลึกแบบ  $\beta'$  ทำให้เกิดโครงข่ายสามมิติที่ดี มีประสิทธิภาพในการเก็บน้ำมันเหลวไว้ในโครงข่ายผลึกโดยรูปแบบของผลึกแต่ละชนิดจะสามารถหาได้จากค่า d-spacing ซึ่งแตกต่างกัน จากการทดลองของ Tang และคณะ (2012) แสดงให้เห็นว่าน้ำมันผสมที่การทำปฏิกิริยาจะมีผลึกส่วนใหญ่อยู่ในรูป  $\beta'$  และผลึกรูป  $\beta$  มีปริมาณลดลง 2.5% จาก 23.8% น้ำมันผสมที่ไม่ผ่านการทำปฏิกิริยาดังแสดงในภาพที่ 8 ซึ่งที่ค่า shot spacing 4.59 Å หมายถึงผลึกรูป  $\beta$  และที่ 4.30, 4.18 และ 3.85 Å หมายถึงผลึกรูป  $\beta'$



ภาพที่ 8 ค่า short-spacing จาก X-ray diffraction ของน้ำมันผสมและน้ำมันผสมที่ผ่านการทำปฏิกิริยาของปาล์มสเตอริน:น้ำมันเมล็ด Cinnamomum camphora ที่อัตราส่วนต่างๆ

ที่มา: Tang และคณะ (2012)

## 2.4 น้ำมันถั่วเหลือง

ในช่วงเวลาหลายปีที่ผ่านมา ปริมาณการปลูกพืชให้น้ำมันได้เพิ่มขึ้นทุกปี โดยเฉพาะถั่วเหลือง ซึ่งเป็นพืชน้ำมันที่มีปริมาณการปลูกมากที่สุดถึง 185 ล้านตัน จากปริมาณผลผลิตของน้ำมันทั้งหมด 318 ล้านตัน ในปี ค.ศ. 2003 ซึ่งในปีดังกล่าว ได้มีการผลิตน้ำมันพืชจากถั่วเหลืองในปริมาณ 29.85 ล้านตัน จากปริมาณน้ำมันพืชที่ผลิตได้ทั่วโลก 91.8 ล้านตัน (Hammond และคณะ, 1996) โดยสหรัฐอเมริกาเป็นประเทศที่มีการปลูกถั่วเหลืองมากที่สุดในโลก สาเหตุสำคัญที่ทำให้ถั่วเหลืองเป็นพืช



น้ำมันที่มีปริมาณการปลูกสูงที่สุด ที่นอกเหนือไปจากการให้น้ำมันถั่วเหลืองสำหรับบริโภคแล้ว คือถั่วเหลืองให้โปรตีนในปริมาณสูงมากกว่าพืชน้ำมันชนิดอื่นๆ โดยโปรตีนจะเป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมันถั่วเหลือง รองลงมาเป็นน้ำมัน ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2

ตารางที่ 6 องค์ประกอบของถั่วเหลือง (% โดยน้ำหนักแห้ง)

| Typical Composition | %          |
|---------------------|------------|
| Protein             | 40.69±0.51 |
| Lysine              | 2.56±0.11  |
| Methionine          | 0.57±0.03  |
| Cysteine            | 0.72±0.06  |
| Tryptophane         | 0.52±0.05  |
| Threonine           | 1.54±0.07  |
| Oil                 | 21.38±0.64 |
| Ash                 | 4.56±0.34  |
| Carbohydrate        | 29.4±3.29  |

ที่มา: Brumm และ Hurburgh (1990)

น้ำมันถั่วเหลืองได้รับความนิยมในการนำไปใช้ในการทอดอาหาร ใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตน้ำสลัด ส่วนน้ำมันถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการไฮโดรจิซันก็มีการนำไปใช้เป็นไขมันสำหรับการผลิตเนยเทียม หรือใช้เป็นซีอิ๊วแทนเนย เป็นต้น โดยทั่วไปแล้วน้ำมันถั่วเหลืองมีความคงตัวต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันต่ำ ทั้งนี้เพราะมีกรดไขมันชนิดกรดลิโนเลนิก (C18:3) ในปริมาณค่อนข้างสูง ทำให้ในปัจจุบันได้มีความพยายามในการพัฒนาถั่วเหลืองสายพันธุ์ใหม่ที่มีองค์ประกอบกรดไขมันที่เปลี่ยนแปลงไปเพื่อให้เหมาะกับการใช้งานที่หลากหลาย เช่นถั่วเหลืองสายพันธุ์ที่มีกรดโอเลอิกและกรดสเตียริกสูงซึ่งจะทำให้มีความคงตัวต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงขึ้น เป็นต้น (Knowlton, 2001)

#### 2.4.1 องค์ประกอบกรดไขมัน

ตารางที่ 7 แสดงปริมาณโดยเฉลี่ยขององค์ประกอบกรดไขมัน (ในรูปของเมทิลเอสเตอร์) ของน้ำมันถั่วเหลืองจากถั่วเหลืองสายพันธุ์ปกติที่มีการปลูกอยู่ทั่วไป (Klein, 1999) จากตารางจะเห็นว่าน้ำมันถั่วเหลืองประกอบไปด้วยกรดลิโนเลนิก (C18:2) เป็นส่วนใหญ่ถึง 54.51% รองลงมาคือกรด

โอเลอิก (C18:1, 22.98%) กรดปาล์มิติก (C16, 10.57%) กรดลิโนเลอิก (7.23%) กรดสเตียริก (C18, 4.09%) และกรดไขมันอื่นๆ อีกเล็กน้อย

ตารางที่ 7 ปริมาณเฉลี่ยขององค์ประกอบกรดไขมัน (ในรูปของเมทิลเอสเทอร์) ของน้ำมันถั่วเหลือง จากถั่วเหลืองสายพันธุ์ปกติที่มีการปลูกอยู่ทั่วไป

| Methyl Ester              | Typical Value % <sup>a</sup> (27) | Range Achieved % |
|---------------------------|-----------------------------------|------------------|
| Myristate                 | 0.04 ± 0.5                        | trace-0.03       |
| Palmitate                 | 10.57 ± 0.43                      | 3.2-26.4         |
| Palmitoleate              | 0.02 ± 0.04                       | trace-0.7        |
| Stearate                  | 4.09 ± 0.34                       | 2.6-32.6         |
| Oleate                    | 22.98 ± 2.01                      | 8.6-79.0         |
| Linoleate                 | 54.51 ± 1.54                      | 35.2-64.8        |
| Linolenate                | 7.23 ± 0.78                       | 1.7-19.0         |
| Arachidate                | 0.33 ± 0.14                       | trace-0.7        |
| Gonodate                  | 0.18                              | trace-0.6        |
| Behenate                  | 0.25 ± 0.20                       | trace-1.0        |
| Lignocerate               | 0.1                               | -                |
| Furanoid II <sup>b</sup>  | 0.014 ± 0.0086                    | 0.0033-0.0290    |
| Furanoid III <sup>b</sup> | 0.015 ± 0.0076                    | 0.0084-0.0272    |
| Saponification Value      | 190.4                             | 188.5-201.6      |
| Iodine Value              | 132.7                             | 114.0-138.5      |

<sup>a</sup>Based on 21 commercial samples.

<sup>b</sup>10,13-epoxy-11,12-dimethyloctadeca-10,12-dienoate

<sup>c</sup>12,15-epoxy-13,14-dimethyloctadeca-12,14dienoate.

ที่มา: Klein (1999)

โดยทั่วไปแล้วองค์ประกอบกรดไขมันของน้ำมันถั่วเหลืองมีการเปลี่ยนแปลงตามอายุการปลูกของถั่วเหลือง ซึ่งปริมาณกรดปาล์มิติกและกรดลิโนเลนิกจะมีปริมาณลดลง ในขณะที่กรดลิโนเลอิกจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อเมล็ดถั่วเหลืองมีอายุมากขึ้นหรือมีระยะเวลาในการปลูกที่นานขึ้น ส่วนปริมาณกรดโอเลอิกจะเพิ่มขึ้นจนถึงจุดสูงสุดแล้วลดลงเล็กน้อยตามระยะเวลาการปลูก เมื่อพิจารณาแนวโน้มของการเข้าไปจับหรือสร้างพันธะเอสเทอร์ของกรดไขมันต่างๆ เหล่านี้ที่ตำแหน่งต่างๆ ของโมเลกุลกลีเซ

อรอลในการสังเคราะห์โมเลกุลไตรกลีเซอไรด์พบว่า กรดปาล์มมิติกและกรด สเตียริกส่วนใหญ่จะเข้าไปจับที่ตำแหน่ง sn-1 และ sn-3 ขณะที่กรดโอเลอิกเข้าไปจับที่ทั้งสามตำแหน่งในปริมาณใกล้เคียงกัน กรดลิโนเลอิกส่วนใหญ่จะเข้าไปจับที่ตำแหน่ง sn-2

#### 2.4.2 องค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์

ตารางที่ 8 แสดงองค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันถั่วเหลืองหลายตัวอย่างที่มีองค์ประกอบกรดไขมันที่แตกต่างกันไป จากตารางจะเห็นได้ว่าองค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันถั่วเหลืองมีการเปลี่ยนแปลงเมื่อองค์ประกอบกรดไขมันเปลี่ยนแปลงไป น้ำมันทุกตัวอย่างมีกรดลิโนเลอิกในปริมาณสูงตัวอย่างน้ำมันที่มีกรดปาล์มมิติกต่ำจะมี LLL LLO และ LOO เป็นองค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์หลัก (ตัวอย่าง 1) ตัวอย่างน้ำมันที่มีกรดปาล์มมิติกสูงจะมี LLP PLP และ LOP เป็นองค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์หลัก (ตัวอย่าง 2, 3 และ 4) ส่วนตัวอย่างน้ำมันที่มีกรดสเตียริกสูงจะมี LLS LOS และ LLP เป็นองค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์หลัก (ตัวอย่าง 5) เมื่อ L คือกรดลิโนเลอิก O คือกรดโอเลอิก P คือกรดปาล์มมิติก และ S คือกรดสเตียริก

ตารางที่ 8 องค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันถั่วเหลืองหลายตัวอย่างที่มีองค์ประกอบกรดไขมันที่แตกต่างกันไป

| Acyl group              | Sample Number |      |      |      |      |
|-------------------------|---------------|------|------|------|------|
|                         | 1             | 2    | 3    | 4    | 5    |
| Palmitate (P)           | 3.9           | 21.4 | 23.6 | 28.2 | 8.5  |
| Stearate (S)            | 3.3           | 3.3  | 19.0 | 3.9  | 26.5 |
| Oleate (O)              | 28.5          | 23.6 | 9.3  | 13.9 | 18.0 |
| Linoleate (L)           | 61.8          | 49.0 | 38.0 | 43.8 | 38.9 |
| Linolenate (Ln)         | 2.5           | 2.7  | 10.0 | 10.2 | 8.2  |
| Triacylglycerol Species |               |      |      |      |      |
| LnLL                    | 2.0           | 1.2  | 1.4  | 3.2  | 2.6  |
| LnLnO                   | -             | 0.1  | 0.1  | 0.2  | 0.1  |
| LnLnP                   | -             | -    | 0.4  | 0.6  | 0.1  |
| LLL                     | 30.0          | 11.5 | 3.7  | 9.6  | 6.5  |
| LnLO                    | 1.7           | 1.5  | 0.8  | 2.0  | 1.9  |
| LnLP                    | 0.4           | 1.7  | 6.9  | 9.4  | 2.2  |

|      |      |      |      |      |      |
|------|------|------|------|------|------|
| LLO  | 26.9 | 14.4 | 3.6  | 8.7  | 7.1  |
| LnOO | 0.4  | 0.5  | 0.1  | 0.3  | 0.3  |
| LLP  | 6.4  | 20.7 | 17.5 | 21.4 | 11.6 |
| LnOP | 0.1  | 1.0  | 1.4  | 2.1  | 0.4  |
| LnPP | 0.1  | -    | 1.5  | 2.0  | 0.1  |
| LOO  | 13.9 | 7.3  | 1.3  | 3.1  | 2.5  |
| LLS  | 3.6  | 2.6  | 7.7  | 2.0  | 13.0 |
| LOP  | 3.7  | 16.3 | 7.4  | 12.2 | 6.4  |
| PLP  | 0.8  | 8.6  | 13.8 | 14.8 | 2.0  |
| OOO  | 4.6  | 2.1  | 1.0  | 0.8  | 1.1  |
| LOS  | 2.6  | 2.3  | 3.9  | 1.3  | 11.8 |
| POO  | 0.9  | 3.2  | 0.6  | 1.0  | 0.5  |
| SLP  | 0.8  | 2.2  | -    | -    | -    |
| LnSS | -    | -    | 16.0 | 3.0  | 8.8  |
| POP  | 0.2  | 1.7  | 1.2  | 1.5  | 0.3  |
| PPP  | -    | -    | 0.1  | -    | -    |
| SOO  | 0.7  | 0.5  | 0.3  | 0.2  | 2.1  |
| SLS  | 0.3  | 0.2  | 6.5  | 0.3  | 12.3 |
| SOP  | 0.1  | 0.4  | 1.3  | 0.2  | 1.4  |
| PPP  | -    | -    | 0.6  | -    | 0.6  |
| SOS  | -    | -    | 0.6  | -    | 3.4  |
| PSS  | -    | -    | 0.2  | -    | 0.1  |
| SSS  | -    | -    | -    | -    | 0.1  |

ที่มา: Neff และ Byrdwell (1995)

#### 2.4.3 คุณสมบัติทางกายภาพ

คุณสมบัติทางกายภาพที่สำคัญของน้ำมันถั่วเหลืองได้แสดงไว้ในตารางที่ 9 จากตารางจะเห็นได้ว่าน้ำมันถั่วเหลืองมีจุดหลอมเหลวต่ำ (0.6 องศาเซลเซียส) มีอุณหภูมิที่เริ่มขุ่น (cloud pint) ต่ำ (-9 องศาเซลเซียส) ทั้งนี้เนื่องจากว่ามีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบหลักนั่นเอง จึงส่งผลให้มีค่าไอโอดีนสูงด้วย (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 คุณสมบัติทางกายภาพของน้ำมันถั่วเหลือง

Physical Properties

|                             |                                                             |
|-----------------------------|-------------------------------------------------------------|
| Density 20°C                | 0.9165 to 0.9261 g/mL Decreases 0.000643 to 0.000668 g/mL°C |
| Specific Heat Capacity 20°C | 0.448 cal/g°C Increases 0.000616 cal/g°C                    |
| Melting Point               | 0.6°C                                                       |
| Cloud Point                 | 9°C                                                         |
| Pour Point                  | 12 to 16°C                                                  |
| Heat of Combustion          | 9450-9388 cal/g<br>9135 ± 91 cal/g                          |
| Heat Transfer Coefficient   | 269.7 watts/°K M2 at 180°C                                  |
| Surface Tension 30°C        | 27.6 dyne/cm Decreases 0.077 dyne/cm°C                      |
| Viscosity 20°C              | 58.5-62.2 cP                                                |
| Refractive Index $n_D$ 20°C | 1.4733-1.4760                                               |
| Vapor Pressure              | 1μ at 254°C                                                 |
| Heat of Vaporization        | 44,200 cal/mol                                              |
| Electrical Resistivity 24°C |                                                             |
| Dry                         | 23.7 Tohm·cm                                                |
| Water Saturated             | 7.25 Tohm·cm                                                |
| Smoke Point                 | ~245°C                                                      |
| Flash Point                 | ~324°C                                                      |
| Fire Point                  | ~360°C                                                      |

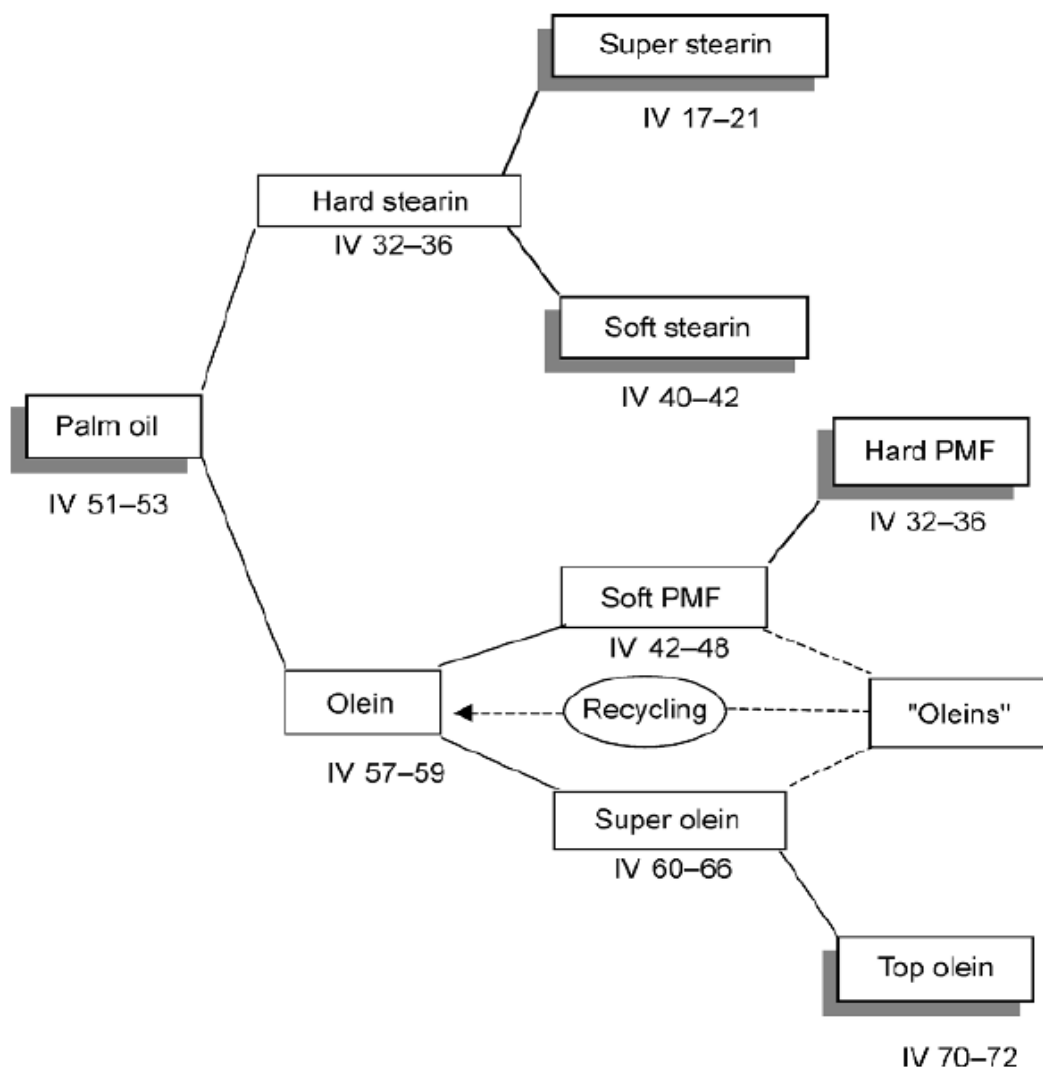
ที่มา: Hammond และคณะ (1996)

## 2.5 ปาล์มสเตียรีน

ปาล์มสเตียรีน คือไฮสเตียรีนที่แยกออกมาจากน้ำมันปาล์มหรือเป็นไขมันส่วนแข็งที่แยกได้มาจากการตกผลึกแยกส่วนน้ำมันปาล์ม (fractionation) ได้ส่วนไขมันเหลวและไขมันแข็งที่อุณหภูมิห้อง โดยส่วนไขมันเหลวเรียกว่า น้ำมันปาล์มโอเลอิน หรือที่เรานิยมนำมาใช้เป็นน้ำมันประกอบอาหารใน

ครัวเรือน ส่วนไขมันแข็งจะเรียกว่า ปาล์มสเตอริน (ภาพที่ 9) สเตอรินเป็น ไตรกลีเซอไรด์หรือไตรเอซิลกลีเซอรอล ซึ่งมีกรดไขมันทั้ง 3 โมเลกุลเป็นกรดไขมันสายยาวชนิดอิ่มตัวที่เอสเทอร์ไฟต์อยู่กับกลีเซอรอล ดังนั้นการตกผลึกแยกส่วนปาล์มน้ำมัน จึงทำให้ได้ไขมันที่มีคุณสมบัติทางเคมีกายภาพแตกต่างกัน เช่นจุดหลอมเหลวต่างกัน โดยปาล์มสเตอรินจะมีจุดหลอมเหลวสูง ในขณะที่ปาล์มโอเลอินมีจุดหลอมเหลวต่ำกว่ามาก จึงส่งผลต่อสถานะของสาร หรือการเป็นของแข็ง ของเหลวต่างกันในอุณหภูมิเดียวกัน โดยเราสามารถแยกส่วนไขมันและน้ำมันได้โดยหลอมหรือละลายน้ำมันให้เป็นเนื้อเดียวกันที่อุณหภูมิประมาณ 80 องศาเซลเซียส หรือที่อุณหภูมิสูงเพียงพอที่จะละลายไตรกลีเซอไรด์ในน้ำมันทุกชนิดได้หมดจนเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วลดอุณหภูมิลงทำให้เย็นที่ 25-30 องศาเซลเซียส เพื่อให้ไขมันและไขมันเกิดการตกผลึก ส่วนผสมของไตรกลีเซอไรด์หลายชนิดในน้ำมันมีจุดหลอมเหลวต่างกัน น้ำมันหรือไขมันที่มีจุดหลอมเหลวใกล้เคียงกันจะมี ส่วนของกรดไขมันอิ่มตัว ไม่อิ่มตัวในสัดส่วนใกล้เคียงกัน ดังนั้นจึงทำให้เราสามารถแยกส่วนของน้ำมันปาล์มได้ โดยการแยกส่วนน้ำมันปาล์มแบบวิธีนี้ที่อาศัยอุณหภูมิตั้งแต่หลักเรียกว่า Dry fractionation





ภาพที่ 9 ชนิดไขมันและน้ำมันปาล์มจากการแยกส่วนน้ำมันปาล์มด้วยกระบวนการ dry fractionation  
ที่มา: GUNSTONE (2002)

### 2.5.1 องค์ประกอบกรดไขมันและไตรกลีเซอไรด์

ปาล์มสเตียรีนประกอบด้วยกรดไขมันส่วนใหญ่คือ ปาล์มิติก (C16) และโอเลอิก (C18:1) ดังตารางที่ 10 และ 11 GUNSTONE (2002) กล่าวว่าปาล์มสเตียรีนส่วนใหญ่ประกอบด้วย ปาล์มิติกถึง 79% ซึ่งเป็น ไตรกลีเซอไรด์ชนิด Tripalmitoylglycerol (PPP) ประมาณ 60% จึงนิยมนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารโดยใช้เป็นส่วนแข็งในองค์ประกอบของผลิตภัณฑ์ เช่น เนยเทียม เนยขาว เป็นต้น กรดปาล์มิติกเป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัวที่มีสายไฮโดรคาร์บอนเป็นยาว ดังนั้นจึงส่งผลให้

ปาล์มสเตียรินมีจุดหลอมเหลวที่สูง เป็นผลึกของแข็งที่อุณหภูมิห้อง โดยสัดส่วนชนิดของกรดไขมันในไตรกลีเซอไรด์จะขึ้นอยู่กับชนิดของสเตียริน (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 องค์ประกอบของกรดไขมันและไตรกลีเซอไรด์ของปาล์มสเตียริน

|                                         | Stearin*  | Soft stearin* | Palm mid fraction** |
|-----------------------------------------|-----------|---------------|---------------------|
| Fatty acid composition (wt%)            |           |               |                     |
| 12:00                                   | 0.1-0.6   | 0.1           | 0-0.3               |
| 14:00                                   | 1.1-1.9   | 1.1           | 0.8-1.4             |
| 16:00                                   | 47.2-73.8 | 49.3          | 41.4-55.5           |
| 16:01                                   | 0.05-0.2  | 0.1           | -                   |
| 18:00                                   | 4.4-5.6   | 4.9           | 4.7-6.7             |
| 18:01                                   | 15.6-37.0 | 34.8          | 32.0-41.2           |
| 18:02                                   | 3.2-9.8   | g             | 3.6-11.5            |
| 18:03                                   | 0.1-0.6   | 0.2           | 0-0.2               |
| 20:00                                   | 0.1-0.6   | 0.4           | 0-0.6               |
| Iodine value                            | 21.6-49.4 | 46.7          | 34.5-54.8           |
| SMP (°C)                                | 44.5-56.2 | 47.7          | 24.3-44.9           |
| Triacylglycerols by carbon number (wt%) |           |               |                     |
| C46                                     | 0.5-3.3   | 1.2           | 0-1.6               |
| C48                                     | 12.2-55.8 | 15.3          | 1.4-11.3            |
| C50                                     | 33.6-49.8 | 42.7          | 45.5-73.9           |
| C52                                     | 5.1-37.3  | 33.4          | 19.4-42.0           |
| C54                                     | TR-8.4    | 7.4           | 1.7-8.5             |
| C56                                     | ND        | ND            | 0.0.9               |

\*Tan et al., (1981); \*\*Tan and Oh (1981)

ND=not detecable

TR = trace

SMP = slip melting point

ที่มา: GUNSTONE (2002)



จากภาพที่ 9 จะเห็นว่าสเตียรีนสามารถแบ่งประเภทของสเตียรีนได้หลากหลายทั้งนี้ขึ้นกับจุดหลอมเหลวของไขมันซึ่งแปรผกผันกับค่าไอโอดีน หรือ Iodine Value (IV) กล่าวคือ ค่า IV สูงแสดงคุณสมบัติของไขมันที่มีจุดหลอมเหลวต่ำ ส่วนค่า IV ยิ่งต่ำ แสดงถึงไขมันที่มีจุดหลอมเหลวสูง เนื่องจากค่า IV หาได้จากจำนวนกรัมของไอโอดีนที่ทำปฏิกิริยาแฮโลจีเนชัน (halogenation) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นกับพันธะคู่ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่เป็นส่วนประกอบในโมเลกุลของไขมันหรือน้ำมันจำนวน 100 กรัม ดังนั้นค่า IV จึงเป็นตัวบ่งชี้ว่าไขมันหรือน้ำมัน มีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเป็นส่วนประกอบอยู่ในโมเลกุลมากน้อยเพียงใด ถ้ามีค่า IV สูง แสดงว่ามีปริมาณกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเป็นส่วนประกอบมาก ดังนั้นชนิดของสเตียรีนที่แบ่งออกได้ตามค่า IV ที่ได้จากการตกผลึกแยกส่วนดังภาพที่ 9 จึงมีคุณสมบัติทางเคมีกายภาพแตกต่างกัน

### 2.5.2 คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ

จากที่กล่าวข้างต้นแล้ว ปาล์มสเตียรีนประกอบด้วยกรดไขมันอิ่มตัวจากน้ำมันปาล์มเป็นส่วนใหญ่ มีช่วงค่าไอโอดีนกว้าง ช่วงการหลอมเหลวกว้าง (ค่า SFC มีความชันน้อย) ขึ้นกับชนิดของไขมันและน้ำมันปาล์มที่ได้จากการตกผลึกแยกส่วน ดังนั้นเราจึงไม่ระบุค่าของปาล์มสเตียเป็นค่าเดียวตายตัว แต่สามารถสรุปค่าคุณสมบัติของลักษณะทางกายภาพ และองค์ประกอบทางเคมีต่างๆเป็นช่วงของค่าต่ำสุด-สูง ของปาล์มสเตียรีนที่ได้จากการวิเคราะห์ในงานวิจัยต่างๆที่ผ่านมา (ตารางที่ 11) ความหลากหลายของปาล์มสเตียรีนนี้จึงมีการนำไปใช้เป็นองค์ประกอบหลัก หรือวัตถุดิบสำคัญในการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารที่ต้องการขึ้นรูปหรือต้องการส่วนผสมของแข็งในสูตร

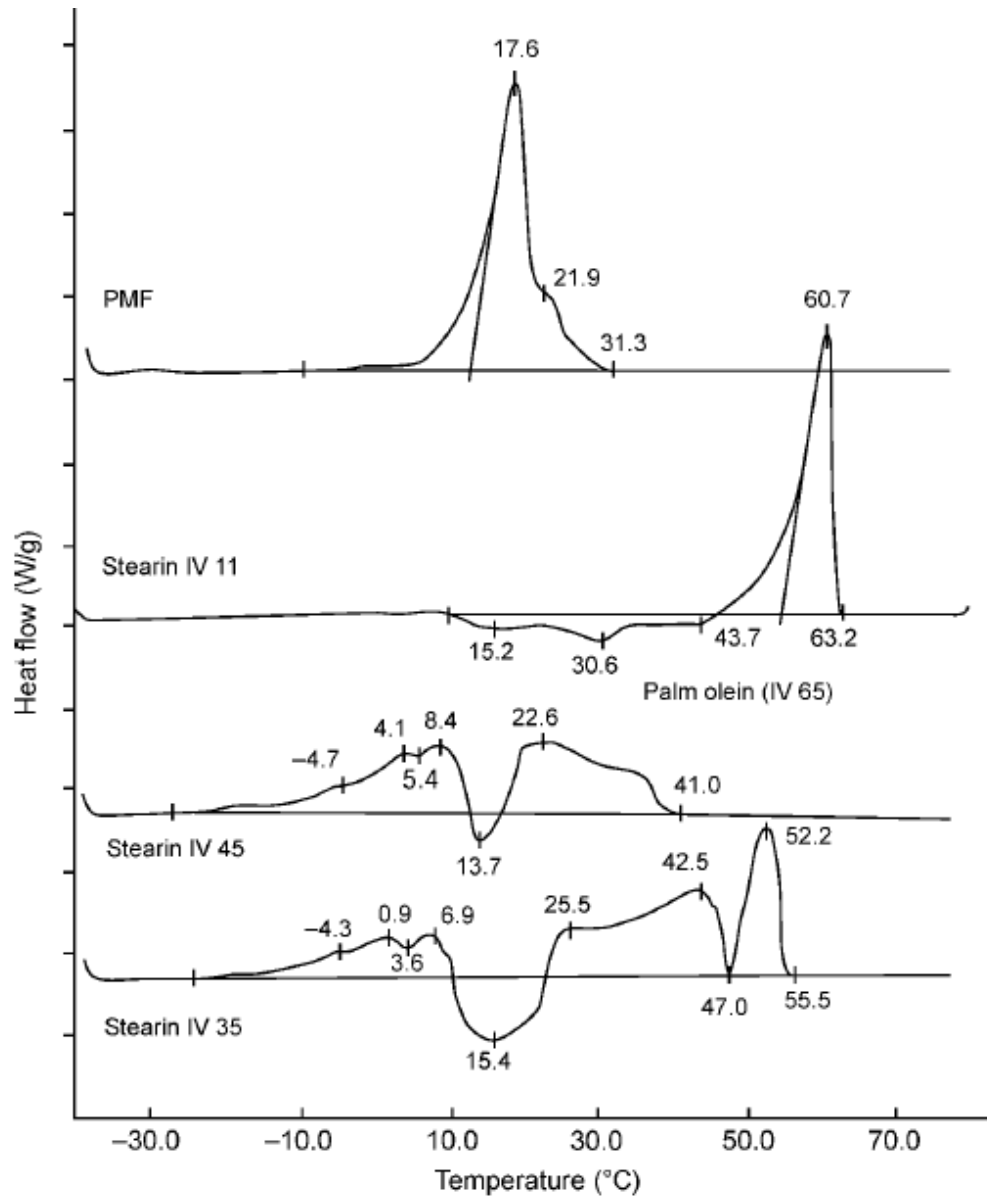
จากการศึกษาคุณสมบัติการหลอมเหลวและการตกผลึกของปาล์มสเตียรีนโดยอาศัยอุณหภูมิและพลังงานที่เกี่ยวข้องด้วยเครื่อง differential scanning calorimeter (DSC) ทำให้ได้กราฟเทอร์โมแกรมของการหลอมเหลวและการตกผลึกในรูปของกราฟพีค endotherm และ exotherm จากภาพที่ 10 แสดงพฤติกรรมของการหลอมเหลวของปาล์มสเตียรีนต่างชนิดกันคือ PMF (Palm Mid Fraction), สเตียรีน IV 11, สเตียรีน IV 45 และสเตียรีน IV 35 ตามลำดับ จะเห็นว่า ปาล์มสเตียรีนที่มีค่า IV ใกล้เคียงกันคือ IV 35 และ IV 44 ก็มีโปรไฟล์เทอร์โมแกรมของการหลอมเหลวต่างกันอย่างเห็นได้ชัด ทั้งนี้เนื่องจากสัดส่วนของชนิดไตรกลีเซอไรด์ที่ต่างกัน โดย สเตียรีน IV 45 มีสัดส่วนของไตรกลีเซอไรด์ชนิดไม่อิ่มตัวมากกว่า ทำให้จุดหลอมเหลวหรืออุณหภูมิที่ใช้ในการหลอมละลายไขมันหมดสมบูรณ์ต่ำกว่าสเตียรีน IV 35 เช่นเดียวกับ สเตียรีน IV 11 หรือ hard stearin แสดงพีค endotherm เด่นชัดเพียงพีคเดียวที่อุณหภูมิ 60.7 °C ชี้ให้เห็นว่าไตรกลีเซอไรด์พวกที่มีจุดหลอมเหลวต่ำถูกแยกออกไปในระหว่าง

กระบวนการแตกผลึกแยกส่วนไขมัน (fractionation) จนเหลือเพียงไตรกลีเซอไรด์ที่มีจุดหลอมเหลวค่อนข้างสูงเหมือนกัน หรือชนิดเดียวกัน เท่านั้น ดังนั้นพฤติกรรมของการหลอมเหลวและการแตกผลึกของปาล์มสเตียรีนนั้นหลากหลายมาก ขึ้นกับค่า IV ของไขมันที่ได้จากกระบวนการ Fractionation

ตารางที่ 11 ลักษณะทางเคมีกายภาพของปาล์มสเตียรีน

| ลักษณะทางกายภาพ/องค์ประกอบทางเคมี               | ค่าต่ำสุด - สูงสุด |
|-------------------------------------------------|--------------------|
| ความหนาแน่นที่ 60°C (g/mL)                      | 0.8813 - 0.8844    |
| Refractive index, $n_D$ 40 °C                   | 1.4482 - 1.4501    |
| Saponification value , mg KOH / g oil           | 193 - 205          |
| Unsaponifiable matter, %                        | 0.30 - 0.90        |
| Iodine value (wijs)                             | 27.8 - 45.1        |
| Slip melting point (°C)                         | 46.6 - 53.8        |
| Fatty acid composition , (wt% as methyl esters) |                    |
| C12 : 0                                         | 0.1 - 0.3          |
| C14 : 0                                         | 1.1 - 1.7          |
| C16 : 0                                         | 49.8 - 68.1        |
| C16 : 1                                         | <0.05 - 0.1        |
| C18 : 0                                         | 3.9 - 5.6          |
| C18 : 1                                         | 20.4 - 34.4        |
| C18 : 2                                         | 5.0 - 8.9          |
| C18 : 3                                         | 0.1 - 0.5          |
| C20 : 0                                         | 0.3 - 0.6          |

ที่มา: MS815 (2007)



ภาพที่ 10 เทอโมแกรมการหลอมเหลวของปาล์มสเตียรีนชนิดต่างๆ ที่มีค่า IV ต่างกัน

ที่มา: GUNSTONE (2002)

## 2.6 มะพร้าวสเต็มยริน

เป็นส่วนแข็งหรือน้ำมันมะพร้าวที่มีจุดหลอมเหลวที่สูงขึ้นกว่าน้ำมันมะพร้าวทั่วไปที่แยกได้จากการตกผลึกของน้ำมันมะพร้าวที่อุณหภูมิและเวลาที่กำหนด ขึ้นอยู่กับปริมาณผลผลิต (% yield) หรือระดับของความแข็งของมะพร้าวสเต็มยริน น้ำมันมะพร้าวเป็นน้ำมันที่อุดมไปด้วยกรดไขมันสายกลาง (medium chain fatty acid; MCFA) และง่ายต่อการย่อย (Marina และคณะ, 2009b) การสกัดน้ำมันมะพร้าวมีวิธีการที่หลากหลายทั้งแบบแห้งและแบบเปียก กระบวนการแบบแห้งเป็นกระบวนการที่ใช้กันอย่างกว้างขวาง เนื้อมะพร้าวถูกบีบอัด โดยลิ่มสกรู หรือไฮดรอลิกเพื่อให้ได้น้ำมันมะพร้าว โดยต่อมานำไปทำบริสุทธิ์ กำจัดสี และกำจัดกลิ่น (refining, bleaching and deodorization; RBD) ซึ่งระหว่างกระบวนการเหล่านี้มีการใช้ความร้อนสูงประมาณ 204-245 องศาเซลเซียส ระหว่างกระบวนการกำจัดกลิ่น (O' Brien, 2004)

ในปัจจุบันมีการผลิตน้ำมันมะพร้าวโดยไม่ผ่านกระบวนการ RBD และมีการคิดค้นกระบวนการสกัดน้ำมันมะพร้าวแบบเปียกซึ่งเป็นการสกัดเอาชั้นครีมออกจากน้ำกะทิและทำให้ชั้นครีมสูญเสียการเป็นอิมัลชัน โดยกระบวนการนี้เป็นที่ยอมรับกันมากกว่า เนื่องจากไม่มีการใช้สารเคมีและความร้อนสูง ซึ่งน้ำมันมะพร้าวที่ได้มาจากกระบวนการสกัดแบบเปียกนี้ เรียกว่า น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ (virgin coconut oil) ซึ่งน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ถูกจำหน่ายเพื่อเป็น functional oil ส่วนน้ำมันมะพร้าวแบบ RBD ถูกจำหน่ายเพื่อจุดประสงค์ในการนำมาประกอบอาหารเท่านั้น ซึ่งคุณสมบัติที่เป็นประโยชน์ของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์เห็นที่แพร่หลายเป็นอย่างมาก จึงทำให้น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์มีการตลาดที่ขยายกว้างขึ้นโดยเฉพาะในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ซึ่งได้แก่ ประเทศฟิลิปปินส์ ไทย อินโดนีเซีย และมาเลเซีย

### 2.6.1 คุณสมบัติทางด้านเคมีกายภาพของน้ำมันมะพร้าว

น้ำมันมะพร้าวถูกยอมรับจากบริโภคนในการเป็น functional food oil และมีความต้องการเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง จึงมีการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของน้ำมันมะพร้าวที่มีขายในประเทศมาเลเซียและอินโดนีเซีย โดย (Marina และคณะ, 2009b) ซึ่งพบว่ากรดไขมันอิสระในน้ำมันมะพร้าวอยู่ในช่วงค่ากำหนดของมาตรฐาน Codex (2003) กรดลอริกเป็นกรดไขมันที่มีมากที่สุดในน้ำมันมะพร้าว (46-48%) ซึ่งอยู่ในช่วงมาตรฐานของน้ำมันมะพร้าวตามมาตรฐานของประเทศมาเลเซีย และสมาคมมะพร้าวแห่งเอเชียและแปซิฟิก ซึ่งแสดงในตารางที่ 12 จากผลการศึกษาน้ำมันมะพร้าว พบว่ามีกรดไขมันสาย

ปานกลางประมาณ 60-63% ซึ่งไตรกลีเซอไรด์ส่วนใหญ่เป็น LaLaLa 25%, CCLa 14-16%, CLaLa 19-21%, LaLaM 13-15% และ LaMM 7-9% โดยที่ La, C และ M คือกรดลอริก คาปริก และ

ไมริสติก ตามลำดับ เช่นเดียวกับ Khalid และคณะ (2010) กล่าวว่าน้ำมันมะพร้าวมีกรดลอริกสูงถึง 44.6% มีไมริสติก 16.8% ปามิติก 8.2% และคาปริก 8% มีจุดหลอมเหลวอยู่ที่ 24-25°C ด่าน Dia และคณะ (2005) ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของวิธีการผลิตต่อคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำมันมะพร้าว พบว่าวิธีการผลิตที่แตกต่างกันทำให้คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำมันมะพร้าวแตกต่างกันด้วย แต่มากพอที่จะทำให้คุณสมบัติโดยรวมของน้ำมันมะพร้าวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ รวมไปถึงการศึกษาปริมาณของ  $\alpha$ -tocopherol และ polyphenol ในน้ำมันมะพร้าว ซึ่งสารประกอบทั้งสองนี้ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระในสิ่งมีชีวิต (Nevin และ Rajamohan, 2006)



ตารางที่ 12 แสดงกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ (VCO) น้ำมันมะพร้าวแบบ RBD จากงานวิจัยต่างๆ

| Fatty acid | Codex standard<br>for RBD coconut oil | <sup>a</sup> APCC standard<br>for VCO | Malaysian standard<br>for VCO | Marina et al. (2009a) | Dia et al. (2005) |
|------------|---------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------|-----------------------|-------------------|
| C6         | nd-0.70                               | 0.40-0.60                             | 0.80-0.95                     | 0.52-0.69             | nd-0.60           |
| C8         | 4.60-10.0                             | 5.00-10.00                            | 8.00-9.00                     | 7.19-8.81             | 5.98-10.44        |
| C10        | 5.0-8.0                               | 4.50-8.00                             | 5.00-7.00                     | 5.65-6.59             | 5.37-6.60         |
| C12        | 45.10-53.20                           | 43.00-53.00                           | 47.00-50.00                   | 46.89-48.03           | 47.63-52.55       |
| C14        | 16.80-21.00                           | 16.00-21.00                           | 17.00-18.50                   | 16.23-18.90           | 16.79-20.08       |
| C16        | 7.50-10.20                            | 7.50-10.00                            | 7.50-9.50                     | 7.41-9.55             | 6.38-10.17        |
| C18:0      | 2.00-4.00                             | 2.00-4.00                             | 2.50-3.50                     | 2.81-3.57             | 7.45-10.73        |
| C18:1      | 5.00-10.00                            | 5.00-10.00                            | 4.50-6.00                     | 5.72-6.72             |                   |
| C18:2      | 1.00-2.50                             | 1.00-2.50                             | 0.70-1.50                     | 0.90-1.60             | nd-0.12           |
| C18:3      | nd-0.20                               | <0.5                                  | nd                            | nd                    | nd                |

<sup>a</sup> Asian and Pacific Coconut Community



ที่มา: Marina, Che Man และ Amin (2009)

## 2.6.2 ประโยชน์ของน้ำมันมะพร้าวต่อสุขภาพ

ในปัจจุบันมีความสนใจเกี่ยวกับอาหารต้านโรคซึ่งงานวิจัยต่างๆได้ทำให้เห็นว่า สารฟีนอลิกเป็นสารที่มีผลต่อสุขภาพมนุษย์อย่างมีนัยสำคัญ (Naczka และ Shahidi, 2004) จึงมีการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระพบว่าน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์มีสารฟีนอลิกมากที่สุดเมื่อเทียบกับน้ำมันมะพร้าวอื่นๆซึ่ง (Marina และคณะ, 2009a) ได้จำแนกกรดฟีนอลิกในน้ำมันมะพร้าวได้เป็น protocatechuic, vanillicaffeic, syringicferulic และ p-coumaric โดยสารพวกนี้มีผลต่อกิจกรรมการต้านการเกิดสารอนุมูลอิสระในน้ำมันมะพร้าว

เนื่องจากน้ำมันมะพร้าวประกอบด้วยไตรกลีเซอไรด์สายปานกลางอยู่มาก จึงสามารถถูกย่อยกลายเป็นพลังงานได้อย่างรวดเร็ว ทำให้มีไตรกลีเซอไรด์สะสมในเลือดและอวัยวะในร่างกายน้อย ซึ่งมีผลกระทบต่อระดับของคลอเรสเตอรอลชนิด high density lipoprotein (HDL) และ Low density lipoprotein (LDL) ในกระแสเลือด ซึ่งถ้าปริมาณของคลอเรสเตอรอลชนิด LDL มาก ก็มีโอกาสเสี่ยงต่อโรคหลอดเลือดหัวใจ โดยน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์มีผลทำให้ระดับของคลอเรสเตอรอลชนิด HDL เพิ่มขึ้น ส่วน LDL ลดลงมาก ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับปริมาณสารโพลีฟีนอล โดยจะไปป้องกัน  $\text{Cu}^{2+}$  ไม่ให้ไปเหนี่ยวนำให้เกิด LDL oxidation ขึ้น (Nevin และ Rajamohan, 2004) นอกจากนี้ที่กล่าวไปแล้ว น้ำมันมะพร้าวยังไปเร่งอัตราการเผาผลาญอาหารให้เป็นพลังงาน หรือเมตาบอลิซึม (metabolism) เพราะมันมีผลทำให้เกิดความร้อนสูง (thermogenesis) โดยไปกระตุ้นต่อมไทรอยด์ให้ทำงานเร็วขึ้น คล้ายกับบุคคลประเภทไฮเปอร์ไทรอยด์ (hyperthyroid) ที่ต่อมไทรอยด์ทำงานในอัตราที่สูงกว่าคนธรรมดา บุคคลพวกนี้จึงใช้พลังงานมาก ทำให้เป็นคนกระฉับกระเฉง (active) และไม่อ้วน

กรดลอริกซึ่งมีมากในน้ำมันมะพร้าวนั้น เมื่อบริโภคเข้าสู่ร่างกายแล้วจะเปลี่ยนเป็นโมโนกลีเซอไรด์ (monoglyceride) ที่มีชื่อว่า โมโนลอรีน (monolaurin) ซึ่งเป็นสารตัวเดียวกับที่อยู่ในน้ำมันมะพร้าวที่ช่วยสร้างภูมิคุ้มกันให้กับทารกในระยะ 6 เดือนแรก ที่ร่างกายยังไม่สร้างระบบภูมิคุ้มกันโรค อีกทั้งโมโนลอรีนเป็นสารปฏิชีวนะที่ทำลายเชื้อโรคทุกชนิดที่ติดกว่ายาปฏิชีวนะที่ใช้อยู่ในปัจจุบันที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา ยีสต์ โปรโตซัว และไวรัสไวรัสบางชนิด ที่ยาปฏิชีวนะทั่วไป ทำลายไม่ได้เนื่องจากมีเกราะที่เป็นไขมันห่อหุ้ม (lipid-coated membrane) แต่เกราะนี้ก็จะถูกละลายโดยน้ำมันมะพร้าวเพื่อเปิดโอกาสให้โมโนลอรีนเข้าไปฆ่าเชื้อโรค และกรดคาปริกจะเปลี่ยนเป็นโมโนคาปริน (monocaprin) ซึ่งช่วยเสริมประสิทธิภาพของโมโนลอรีนด้วย

สาร  $\alpha$ -tocopherol ที่มีอยู่ในน้ำมันมะพร้าว นั้นมีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งอนุมูลอิสระทำให้เกิดผลเสียแก่เซลล์และเนื้อเยื่อ เนื่องจากอนุมูลอิสระเป็นโมเลกุลที่เปลี่ยนสภาพโดยสูญเสียอิเล็กตรอน (electron) จึงไปจับกับโมเลกุลที่อยู่ใกล้เคียงต่อไปเรื่อยๆ เกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่เป็นผลทำให้เซลล์ผิดปกติไปเช่น เยื่อเซลล์ฉีกขาด เปลี่ยนสารพันธุกรรมในนิวเคลียส เกิดการกลายพันธุ์ ทำให้เกิดโรคที่เกี่ยวกับความเสื่อม (degenerative diseases) เช่น โรคหัวใจ มะเร็งไขข้ออักเสบ เบาหวาน

## 2.7 การตกผลึกของไขมันและน้ำมัน

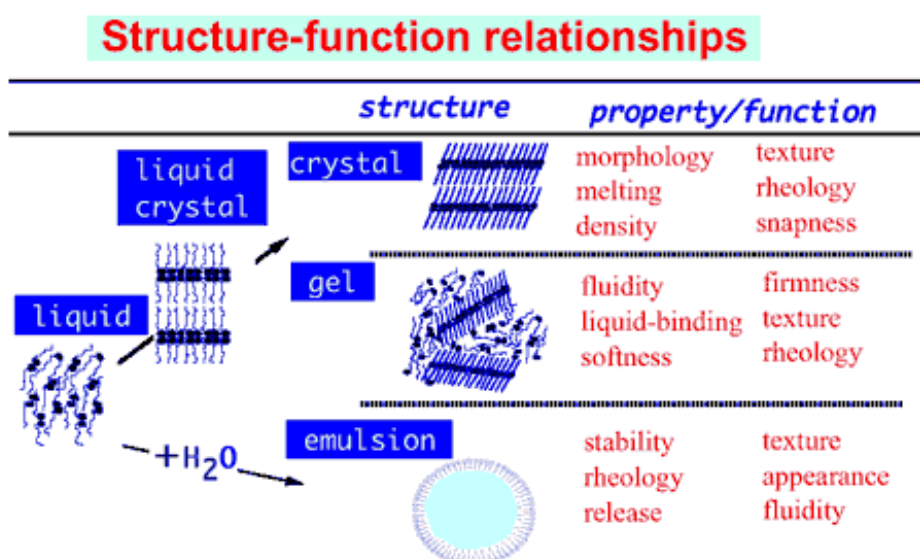
### 2.7.1 ความสำคัญของการตกผลึกในอาหาร

การตกผลึกมีความสำคัญทางอุตสาหกรรม เนื่องจากมีผลิตภัณฑ์หลายชนิดที่จำหน่ายในรูปของผลึก ซึ่งกระบวนการตกผลึกเป็นกระบวนการเกิดของแข็งภายใต้เฟสที่เป็นโฮโมจีเนียส โดยอาจเกิดของแข็งในสภาวะไอ เช่น การเกิดหิมะ หรือเป็นอนุภาคของแข็งในสารที่เป็นของเหลว ณ อุณหภูมิที่สูงกว่าจุดหลอมเหลวของสาร (melt) เช่น การตกผลึกของไขมันเหลว หรือการแข็งตัวของตัวถูกละลายเป็นของแข็งในสารละลาย (solution) การตกผลึกจัดเป็นกระบวนการแยกของแข็ง-ของเหลว (separation) เช่นการตกผลึกเพื่อแยกเอาส่วนประกอบที่มีจุดหลอมเหลวสูงออกจากน้ำมันเพื่อให้ไม่แข็งเมื่ออยู่ในอุณหภูมิต่ำ (fractionation หรือ winterization) เนื่องจากไขมันและน้ำมันแต่ละชนิดมีส่วนผสมของไตรกลีเซอไรด์ที่แตกต่างกันผสมอยู่หลายชนิดขึ้นกับชนิดของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในไขมันและน้ำมัน ทำให้น้ำมันและไขมันมีจุดหลอมเหลวและจุดเยือกแข็งที่เป็นช่วงอุณหภูมิของไตรกลีเซอไรด์ที่เป็นองค์ประกอบ โดยการตกผลึกของไตรกลีเซอไรด์ในลักษณะสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกันจะส่งผลให้การพัฒนาสภาพของนิวเคลียสแตกต่างกันทำให้ได้ผลึกที่มีคุณสมบัติทางกายภาพที่แตกต่างกันด้วย เช่น ขนาดผลึกที่เกิดขึ้นและอุณหภูมิของการหลอมเหลว ซึ่งคุณสมบัติทั้งสองนี้มีผลอย่างมากต่อลักษณะเนื้อสัมผัสและลักษณะปรากฏในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบหลัก เช่น เนย เนยเทียม โดยเมื่อมีผลึกไขมันที่ไม่ต้องการอยู่ในเนยเทียม มันจะทำให้เนยเทียม มีลักษณะเป็นเม็ดเล็กๆ เมื่อถึงมือผู้บริโภค จึงต้องมีการควบคุมแต่ละปัจจัย (จำนวนรูปร่างขนาด และการมีโครงสร้างผลึกหลายรูปแบบ) ซึ่งเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อผลิตสินค้าให้มีคุณภาพสูงสุด เพื่อให้เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค เป็นที่ยอมรับทางประสาทสัมผัสและด้านอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ (Hartel, 2001)



## 2.7.2 อิทธิพลของโครงสร้างทางจุลภาพ (Microstructure) ของผลึกต่อคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์อาหาร

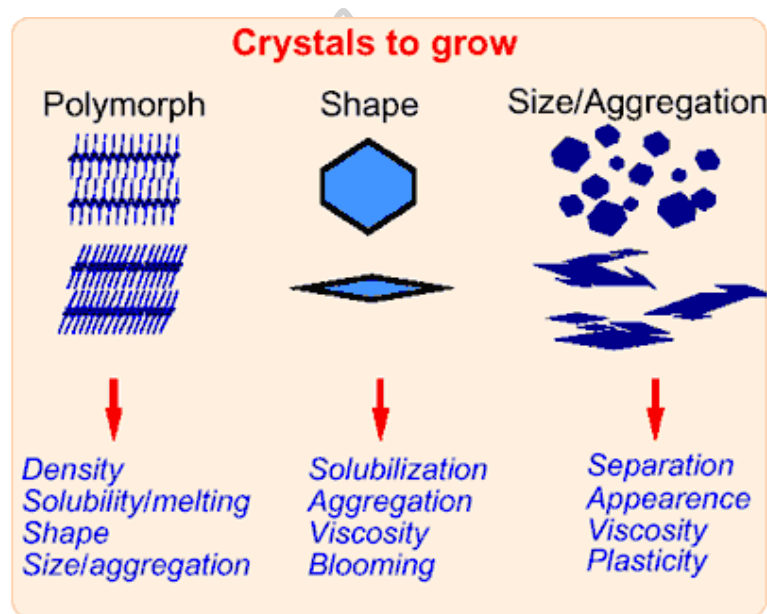
ลักษณะรูปร่างของผลึกที่เกิดในผลิตภัณฑ์อาหารที่แตกต่างกันทำให้ลักษณะปรากฏของอาหารแตกต่างกันด้วยเนื่องจากผลึกแต่ละรูปแบบมีคุณสมบัติทางกายภาพที่แตกต่างกัน เช่น การหักเหของแสง อุณหภูมิการหลอมเหลว เป็นต้น ภาพที่ 11 แสดงลักษณะโครงสร้างการจัดเรียงตัวของโมเลกุลอาหารต่อลักษณะทางประสาทสัมผัสของอาหาร จะเห็นว่าเมื่ออาหารมีการเปลี่ยนแปลงจากสถานะที่เป็นของเหลวไปอยู่ในโครงสร้างอื่นๆ ได้แก่โครงสร้างของผลึก โครงสร้างที่เป็นเจล และโครงสร้างที่เป็นอิมัลชัน ซึ่งโครงสร้างแต่ละแบบจะมีคุณสมบัติที่แตกต่างกันทำให้ส่งผลต่อลักษณะทางประสาทสัมผัสแตกต่างกันด้วย โดยการเกิดเป็นโครงสร้างผลึกในอาหาร ลักษณะของผลึกจะมีผลต่อเนื้อสัมผัส อุณหภูมิการหลอมเหลวของผลึกมีผลต่อคุณสมบัติในการไหล ความหนาแน่นของผลึกมีผลต่อความเปราะของอาหาร สำหรับโครงสร้างที่เป็นเจลในอาหารนั้น ความสามารถในการไหล ความเหนียวมีผลต่อความแข็งแรงและความคงรูป การยึดเกาะกันระหว่างของเหลวในการเกิดเจลมีผลต่อเนื้อสัมผัสของเจลและความอ่อนนุ่มของเจลมีผลต่อคุณสมบัติในการไหล การเกิดโครงสร้างที่เป็นระบบอิมัลชันในอาหารความคงตัวมีผลต่อเนื้อสัมผัสและความหนืดมีผลต่อลักษณะปรากฏ เป็นต้น



ภาพที่ 11 ลักษณะโครงสร้างการจัดเรียงตัวของโมเลกุลอาหารต่อลักษณะทางประสาทสัมผัสของอาหาร

ที่มา: Ueno และคณะ (2005)

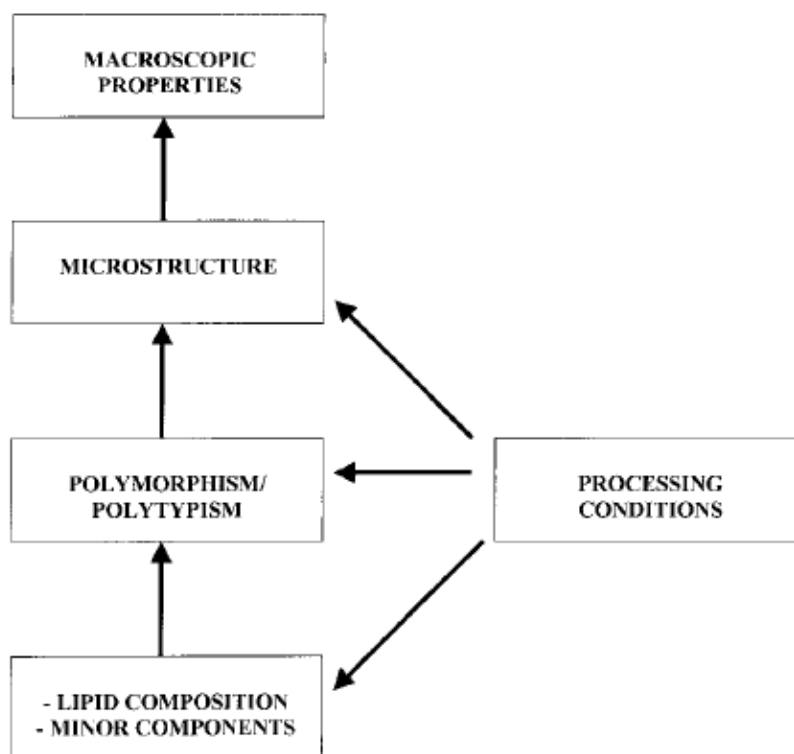
ภาพที่ 12 แสดงถึงความแตกต่างของผลึกที่เกิดต่อลักษณะที่แตกต่างด้านคุณสมบัติของผลึก จากภาพแสดงให้เห็นว่าการเกิดผลึกหลายโครงสร้าง (polymorph) ซึ่งผลึกแต่ละโครงสร้างจะมีรูปร่าง และขนาดที่แตกต่างกันไป ผลึกที่เกิดในหลายโครงสร้างแต่ละโครงสร้างมีความหนาแน่น ความสามารถในการละลายหรือจุดหลอมเหลว รูปร่างและขนาดที่แตกต่างกัน ส่วนความแตกต่างของ ลักษณะรูปร่างของผลึกส่งผลต่อความสามารถในการละลาย ขนาดและการรวมตัวของผลึกส่งผลต่อ ลักษณะปรากฏการแยกผลึกออกมาจากสารละลาย ความหนืดและคุณสมบัติความเป็นพลาสติก



ภาพที่ 12 ลักษณะการเติบโตของผลึกที่มีผลต่อคุณสมบัติต่างๆของผลึกภัณฑ์

ที่มา: Ueno และคณะ (2005)

สำหรับผลิตภัณฑ์อาหารที่ต้องการการตกผลึกนั้น จะต้องมีการควบคุมกระบวนการตกผลึก ให้ได้ลักษณะผลึกตามที่ต้องการ เช่น จำนวน ขนาดเฉลี่ยของผลึก ช่วงของขนาดผลึก รูปร่าง และ รูปแบบของผลึกในระหว่างกระบวนการผลึกอาหาร ซึ่งจากภาพที่ 13 แสดงให้เห็นสภาวะกระบวนการ ตกผลึกมีผลต่อคุณสมบัติของผลึก สำหรับผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่จะมีผลึกขนาดเล็กเป็นจำนวนมากทำ ให้อาหารเนื้อสัมผัสเรียบเนียน แต่ถ้ามีผลึกขนาดใหญ่จำนวนน้อยจะมีเนื้อสัมผัสที่ขรุขระเป็นเม็ดหรือ เนื้อทราย ซึ่งจะสามารถสัมผัสลักษณะนี้ได้โดยเพดานปาก



ภาพที่ 13 อิทธิพลที่มีผลต่อคุณสมบัติของโครงสร้างตาข่ายผลึก

ที่มา: Narine และ Marangoni (1999)

### 2.7.3 กระบวนการตกผลึก

การตกผลึกมี 3 ขั้นตอนคือ การสร้างแรงขับ (driving force) ในการตกผลึก ซึ่งเป็น supercooling หรือ supersaturation ตามด้วยการสร้างนิวเคลียสผลึก (nucleation) และการโตของผลึกหลังจากนั้น (crystal growth)

#### 1) การเกิด supercooling หรือ supersaturation

ในการสร้างผลึกนั้นสิ่งแรกที่ต้องทำให้เกิดขึ้นก็คือเพสของเหลวต้องเข้าสู่สภาวะเกินจุดสมดุล และเกิดการอิมิตัวยิ่งยวด (สำหรับ solution) หรือเกิดการเย็นตัวยิ่งยวด (สำหรับ melt) ซึ่งสภาวะนี้สามารถทำให้เกิดขึ้นโดยให้ความเย็นจนต่ำกว่าจุดเยือกแข็งของสิ่งที่หลอมเหลวหรือทำให้ความเข้มข้นของสารละลายมากกว่าความเข้มข้นที่ตัวถูกละลายสามารถละลายได้ ภายใต้สภาวะที่ไม่สมดุลนี้ โมเลกุลที่อยู่ในสถานะของเหลวจะเข้ามารวมตัวกันและสร้างเป็นโครงสร้างตาข่ายของผลึก ใน

สภาวะการอิมิตวียิ่งยวดหรือเย็นตัวยิ่งยวดในอาหารถูกควบคุมโดยปัจจัยของส่วนผสมและสภาวะการผลิต (Hartel,2001)

## 2) Nucleation

การสร้างนิวเคลียสหรือเรียกว่านิวคลีเอชัน จะเกิดขึ้นเมื่อสารละลายหรือของเหลวอยู่ในสภาวะที่อิมิตวียิ่งยวดแล้ว จะเกิดแรงขับเคลื่อนทางเทอร์โมไดนามิกส์ทำให้เกิดการตกผลึกซึ่งโมเลกุลมีแนวโน้มที่จะเปลี่ยนสถานะเป็นผลึกที่ระดับพลังงานต่ำกว่าของระบบ ในการเกิดนิวคลีเอชันนี้ โมเลกุลในของเหลวจะเกิดการจัดเรียงตัวและเกิดเป็นคลัสเตอร์ที่เสถียรซึ่งจัดเรียงตัวอยู่ในโครงสร้างร่างแหของผลึก การเกิดนิวคลีเอชันขึ้นอยู่กับส่วนผสมในอาหาร (ชนิดและความเข้มข้นของตัวที่สนับสนุนการเกิดนิวเคลียสหรือตัวยับยั้ง) และสภาวะกระบวนการผลิต (อัตราการถ่ายเทความร้อนและมวล) เวลาที่ต้องการสำหรับการเกิดนิวเคลียสแรก เรียกว่า **induction time** กลไกการสร้างนิวเคลียส (nucleation) มี 2 แบบ คือ

### i) Primary nucleation

เป็นการสร้างนิวเคลียสขึ้นในระบบที่ยังไม่มีการตกผลึกเกิดขึ้นหรืออาจกล่าวได้ว่าเป็นการสร้างนิวเคลียสเพื่อการตกผลึกครั้งแรกของระบบ ซึ่งกลไกนี้สามารถแบ่งออกเป็น (Hartel, 2001):

- **Homogeneous nucleation** เป็นการสร้างนิวเคลียสในของเหลวอิมิตวียิ่งยวดที่ปราศจากสารที่เป็นผลึกหรืออนุภาคแปลกปลอม รวมทั้งผนังของภาชนะบรรจุ การตกผลึกสามารถเกิดขึ้นได้โดยนิวคลีโอเกิดจากตัวของของเหลวเอง การเกิดนิวคลีเอชันดังกล่าวเป็นผลมาจากที่ตำแหน่งหนึ่งๆ มีความไม่สม่ำเสมอ (fluctuation) ของความเข้มข้นที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในระดับโมเลกุลในเฟสที่เป็นโฮโมจีเนียสซึ่งทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของโมเลกุลเข้ามารวมตัวกันแบบสุ่ม เกิดแรงกระทำซึ่งกันและกัน แล้วมีการเชื่อมต่อกันไปเรื่อยๆ การรวมกันในลักษณะเช่นนี้ เรียกว่า คลัสเตอร์ (clusters) การเติมอนุภาคทีละหนึ่งหน่วยเข้าไปในคลัสเตอร์ทำให้เกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ นิวเคลียสอาจอยู่ในสภาวะสมดุลที่ไม่เสถียร ถ้านิวเคลียสไม่มีการเคลื่อนแต่รับหน่วยย่อยเข้ามาอีกก็จะเกิดการเติบโตเป็นผลึก ดังนั้นขั้นตอนการเติบโตเป็นผลึกหนึ่งๆ แสดงได้ดังนี้ (Mullin, 1993)

คลัสเตอร์ → เอมบริโอ → นิวเคลียส → ผลึก

- **Heterogeneous nucleation** เป็นการตกผลึกของสารละลายในสภาวะที่มีสิ่งเจือปนหรือสิ่งแปลกปลอมในระบบ โดยการสร้างนิวเคลียสสำหรับการตกผลึกแบบนี้สามารถเกิดขึ้นได้ที่สภาวะ

อิมิตัวที่ไม่สูงมากนักเนื่องจากว่าสิ่งเจือปนหรือสิ่งแปลกปลอมในระบบจะช่วยลดพลังงานที่ต้องการใช้ในการสร้างนิวเคลียสหรือ **free energy for nucleation**

## ii) Secondary nucleation

เป็นการสร้างนิวเคลียสขึ้นในระบบที่มีผลึกของตัวทำละลายเกิดขึ้นหรือปรากฏอยู่แล้ว ซึ่งการสร้างนิวเคลียสแบบนี้ไม่เป็นที่ต้องการสำหรับการตกผลึกทางอุตสาหกรรมอาหาร เช่น การผลิตน้ำตาลทราย หรือนมข้นหวาน เป็นต้น เนื่องจากจะทำให้เกิดการกระจายตัวของขนาดผลึก (**crystal size distribution**) สูง หรือมีความสม่ำเสมอของผลึกต่ำนั่นเอง

## 3) Crystal growth

การเติบโตของผลึกเป็นกระบวนการแพร่ ที่การเติบโตเกิดขึ้นบนผิวของของแข็งที่กำลังโตเป็นผลึกโมเลกุลจะแพร่ผ่านเฟสที่เป็นของเหลวไปที่หน้าต่าง ๆ ของผลึกที่กำลังโต อัตราการเกิดของผลึกหนึ่ง ๆ ในสารละลายขึ้นกับการเคลื่อนย้ายของโมเลกุลของตัวถูกละลายไปยังผิวของผลึก และขึ้นกับกลไกการเกาะติดที่ผิว การตกผลึกในสภาวะหนึ่งที่ไม่มีการกวนคนระหว่างการตกผลึกนั้น การเคลื่อนย้ายของโมเลกุลของตัวถูกละลายไปที่ผิวจะเป็นปัจจัยที่เป็นตัวกำหนดอัตราการโตของผลึก ส่วนการคนสารละลายระหว่างการตกผลึกจะลดอิทธิพลของเคลื่อนย้ายของโมเลกุลของตัวถูกละลายดังกล่าวไปยังผิวของผลึก

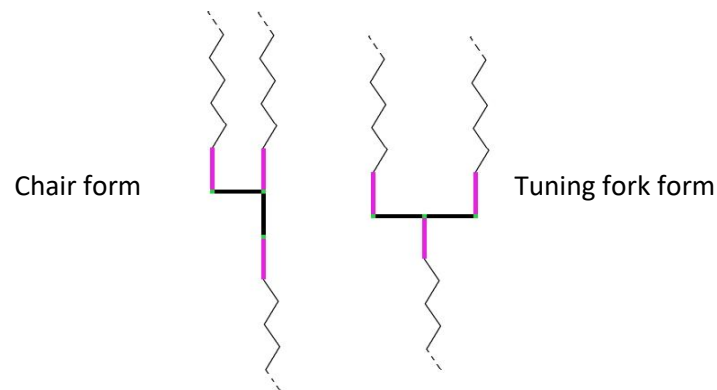
### 2.7.4 ประเภทของผลึกและคุณสมบัติของผลึก

#### 1) Polymorphism

คำว่า **Polymorphism** คือการเกิดผลึกหลายรูปแบบ การเกิด **Polymorphism** นี้เกิดจากการลดอุณหภูมิลงอย่างรวดเร็ว ทำให้ไขมันเกาะตัวกันอย่างรวดเร็วเป็นผลทำให้ผลึกที่เกิดขึ้นมีพลังงานในตัวสูง แต่มีความคงตัวต่ำ จึงสามารถที่จะมีโอกาสเกิดการจัดเรียงตัวใหม่กลายเป็นรูปผลึกรูปแบบอื่นๆ ที่มีพลังงานต่ำและมีความคงตัวสูงกว่าเพื่อความเสถียรของตัวผลึก

#### 2) รูปแบบของผลึกและการเรียงตัวของไตรกลีเซอไรด์

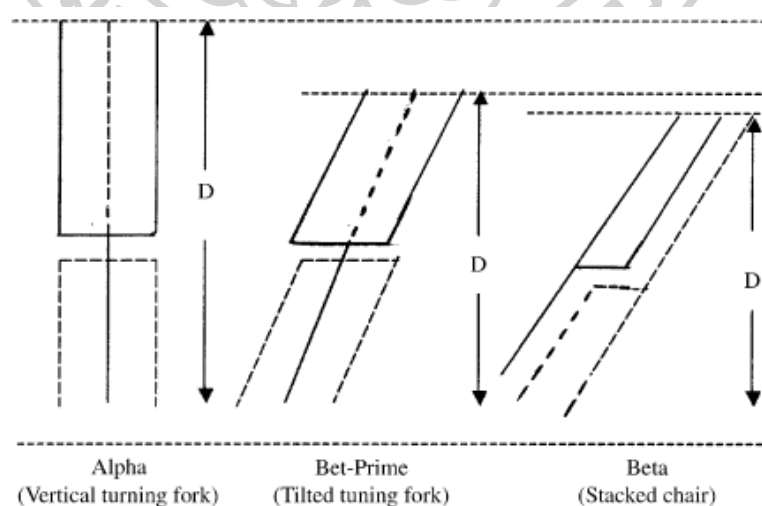
ลักษณะรูปร่างของโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์เมื่อตกผลึกจะจับกันเป็นคู่ (**dimer**) ซึ่งแบ่งออกเป็นสองรูปแบบ คือ แบบส้อม (**tuning fork form**) และแบบเก้าอี้ (**chair form**) แสดงดังภาพ



ภาพที่ 14 โครงสร้างรูปแบบของไตรกลีเซอไรด์

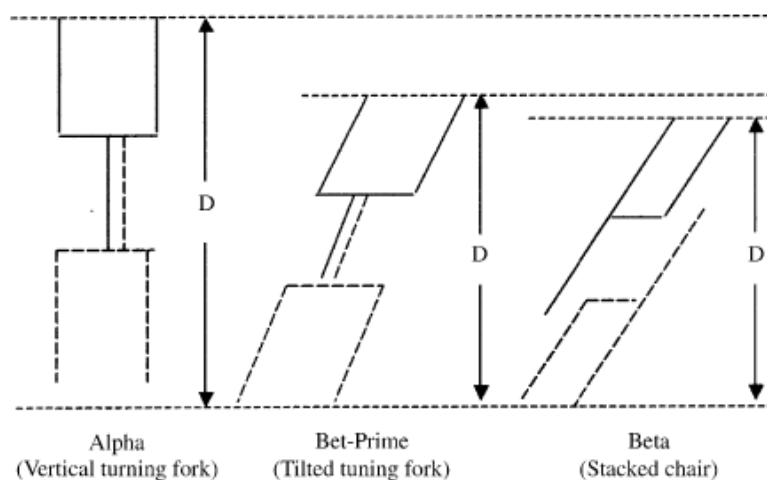
ที่มา: Commons (2017)

การเรียงตัวกันระหว่างโครงสร้างโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ในแนวตั้งจะแบ่งออกเป็น 2 รูปแบบ คือ การจับกันแบบสองชั้น (double chain length) และการจับกันแบบสามชั้น (triple chain length) การจับกันแบบสองชั้นคือ การเรียงตัวของ fatty acid โมเลกุลที่อยู่ติดกันเกิดการ overlap ซ้อนกันและความยาวที่ได้เป็นความยาวของ fatty acid 2 สายต่อกันแสดงดังภาพที่ 15 กรณีของการจับกันแบบสามชั้นคือการเรียงตัวของ fatty acid โมเลกุลติดกันไม่เกิดการซ้อนทับกัน แสดงดังภาพที่ 16 ซึ่งความยาวที่ได้จะเท่ากับ ความยาวของ fatty acid 3 ตัวต่อกัน การเว้นระยะระหว่างโมเลกุลใกล้เคียงขึ้นกับธรรมชาติของโมเลกุลไขมัน (ความยาวและความอึดตัว) และมุมทิศทางที่โมเลกุลเกาะหรือจับเข้าด้วยกันในการจัดเรียงตัวเป็นผลึก



ภาพที่ 15 รูปแบบของการเรียงตัวของผลึกแบบ 2 ชั้น

ที่มา: Bresson และคณะ (2006)



ภาพที่ 16 รูปแบบของการเรียงตัวของผลึกแบบ 3 ชั้น

ที่มา: Bresson และคณะ (2006)

ไตรกลีเซอไรด์สามารถที่จะเกิดผลึกได้หลายรูปแบบ โดยแบ่งออกเป็น 3 รูปแบบหลัก ๆ คือ  $\alpha$  (hexagonal subcell),  $\beta'$  (orthorhombic subcell) และ  $\beta$  (triclinic subcell) โดยที่ผลึก  $\alpha$  เป็นผลึกที่คงตัวน้อยที่สุด (มีความหนาแน่นน้อยและจุดหลอมเหลวต่ำ) ขณะที่ผลึก  $\beta$  เป็นผลึกที่มีความคงตัวมากที่สุด (มีความหนาแน่นมากและจุดหลอมเหลวสูง) (Hartel, 2001) สำหรับการเกิดผลึกหลายรูปแบบนี้จะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิที่ใช้ในการทำให้เกิดผลึกเป็นหลักนอกจากนี้อัตราการทำเย็นและอัตราการปั่นกววยยังมีผลต่อรูปแบบของผลึกอีกด้วย

ความแตกต่างของคุณสมบัติทางกายภาพระหว่างผลึกหลายรูปแบบของไขมันเกิดขึ้นเนื่องจากความแตกต่างของการเรียงตัวของโมเลกุลไขมัน (มุมในการจับกันและการจัดเรียงตัวในการรวมตัว) รูปแบบที่มีความคงตัวต่ำจะมีความหนาแน่นต่ำกว่า จุดหลอมเหลวต่ำกว่า และความร้อนที่ใช้ในการหลอมเหลวตัวต่ำกว่ารูปแบบที่มีความคงตัวมากกว่าแต่โมเลกุลของรูปแบบที่มีความคงตัวต่ำที่สุดไม่ได้มีพลังงานต่ำสุด โดยผลึกที่มีความคงตัวน้อยเกิดจากการทำให้ตกผลึกอย่างรวดเร็ว ทำให้โมเลกุลไม่ได้มีการจัดเรียงโครงสร้างไปอยู่ในสภาวะโครงสร้างที่มีพลังงานต่ำ เช่น ความแตกต่างระหว่างผลึกหลายรูปแบบของ monoacid-triglycerides โดยทั่วไปทั้งอุณหภูมิและความร้อนในการหลอมเหลวจะเพิ่มขึ้นตามความยาวของสาย fatty acid และระดับความอิมัตว์ของของสาย fatty acid โดย monoacid-triglycerides ที่มีความยาวของสาย fatty acid สั้น ระดับความอิมัตว์ของของสาย fatty acid ต่ำ (มีพันธะคู่จำนวนมากกว่า) จะมีอุณหภูมิหลอมเหลวและความร้อนที่ใช้ในการหลอมเหลวต่ำกว่า ผลึกหลายรูปแบบของไขมันอาจจะตรวจสอบรู้ความแตกต่างได้โดยความแตกต่าง

ของจุดหลอมเหลวโดยการใช้ differential scanning calorimetry หรือ DSC แต่อีกเทคนิคหนึ่งที่ได้รับ ความนิยมในการนำมาวิเคราะห์หารูปแบบของผลึกคือ x-ray power diffraction (XRD) ซึ่งอาศัย หลักการกระเจิงของรังสีเอกซ์เมื่อกระทบกับโมเลกุลในโครงสร้างผลึก โดยที่โครงสร้างผลึกที่แตกต่าง กันจะมีการจัดเรียงตัวของโมเลกุลที่ต่างกันจึงทำให้เกิดทิศทางในการกระเจิงของรังสีมีทิศทางเฉพาะ ในแต่ละรูปแบบของผลึก ซึ่งผลการวิเคราะห์จะได้ออกมาในรูปกราฟระหว่าง  $2\theta$  กับ intensity แล้วนำมาหาค่า long-spacing และ short-spacing ซึ่งเป็นค่าเฉพาะในแต่ละโครงสร้างของ ผลึกที่แสดงระยะห่างในการจัดเรียงตัวกันของโมเลกุล ได้โดยการคำนวณด้วย Brag's equation [2] (Mullin, 1993) โดยค่า long-spacing และ short-spacing ของโครงสร้างพื้นฐานของผลึกไขมันได้ แสดงไว้ในตารางที่ 13

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad [2]$$

เมื่อ  $n$  คือจำนวนเต็ม  $d$  คือค่า d-spacing หรือระยะห่างในการจัดเรียงตัวของอะตอมหรือโมเลกุล  $\lambda$  คือค่าความยาวคลื่นรังสีเอกซ์ และ  $\theta$  คือมุมกระเจิงของรังสี (angle of diffraction)

ตารางที่ 13 ค่า long- และ short-spacing ของผลึกไขมันแต่ละรูปแบบ

| Polymorphic form | Long-spacing (A) | Short-spacing(A) |
|------------------|------------------|------------------|
| $\alpha$         | 49               | 4.15             |
| $\beta'$         | 45               | 3.87 4.13 4.32   |
| $\beta$          | 63               | 4.6              |

ที่มา: Loisel และคณะ (1998); Narine และ Marangoni (1999)

ผลึกที่ตกผลึกได้หลายโครงสร้างนั้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะทำให้ผลึกในโครงสร้างที่มีความคงตัวต่ำเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไปเป็นโครงสร้างผลึกใหม่ที่มีความคงตัวมากกว่า ซึ่งแต่ละ โครงสร้างของผลึกจะมีจุดหลอมเหลวเฉพาะขึ้นกับธรรมชาติของการจับตัวระหว่างโมเลกุลของไขมัน แต่ละกลุ่มชนิดและอุณหภูมิที่เกิดการตกผลึก โดยทั่วไปการทำให้ไขมันเย็นลงอย่างรวดเร็วหรือการ ตกผลึกที่อุณหภูมิต่ำๆ จะทำให้เกิดผลึกโครงสร้างที่มีความคงตัวต่ำ เมื่อเวลาผ่านไปผลึกจะมีการ ปรับเปลี่ยนการจับตัวของโมเลกุลไปเป็นผลึกในโครงสร้างที่มีความคงตัวมากขึ้นจนอยู่ในรูปของผลึกที่ มีความคงตัวมากที่สุดโดยโครงสร้างผลึกที่มีความคงตัวน้อยที่สุดคือ  $\alpha$  นั้นจะมีการเปลี่ยนแปลงไป เป็นผลึกที่มีความคงตัวสูงกว่าคือ  $\beta'$  ที่สุดท้ายแล้วจะมีการเปลี่ยนแปลงไปจนเป็นผลึกที่มีความคงตัว มากที่สุดคือ  $\beta$  ตามเวลาตามลำดับ



### บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

#### 3.1 วัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการดำเนินงานวิจัย

##### 3.1.1 วัสดุหลักที่ใช้ในการดำเนินงานวิจัย

3.1.1.1 น้ำมันถั่วเหลืองผ่านกรรมวิธี (refined, bleached and deodorized soy bean oil: SBO) จากบริษัท น้ำมันพืชไทย จำกัด (Nakhon Pathom, Thailand)

3.1.1.2 ปาล์มสเตียรีน (palm stearin: PS) จาก lam soon (Thailand) PCL

3.1.1.3 มะพร้าวสเตียรีนจากน้ำมันมะพร้าวผ่านกรรมวิธี (refined, bleached and deodorized coconut oil: CO) จาก Katevanich Industry Co., Ltd. (Nakhon Pathom, Thailand)

3.1.1.4 เอนไซม์ Lipozyme RM IM (1,3-selective lipase) ผลิตจากเชื้อรา *Mucor miehei* จากบริษัท Sigma Aldrich (Denmark)

3.1.1.5. Molecular sieves (3A, beads, 4-8 mesh) จาก Aldrich Chemical (Milwaukee, WI, USA)

3.1.1.6. เนยเทียมทางการค้า จาก ห้างสรรพสินค้าทั่วไป (Bangkok, Thailand)

3.1.1.7. กรดไขมันมาตรฐาน จาก AccuStandard, Inc. (USA)

3.1.1.8. ไตรกลีเซอไรด์มาตรฐาน ( LaLaLa, MMLa, PLL, PPP, POP, POO, OOO, OOS, PPL, POS) จาก Sigma Chemical Co. Ltd. (St. Louis, MO, USA)

##### 3.1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการดำเนินงานวิจัย

3.1.2.1 ปีกเกอร์ (breaker) ขนาด 25, 50, 100, 250, 500 และ 1000 มิลลิลิตร

3.1.2.2 ช้อนตักสาร (spatula)

3.1.2.3 หลอดหยดสาร (dropper) แบบพลาสติก

3.1.2.4 โถทำปฏิกิริยา (reaction reactor)

3.1.2.5 โถดูดความชื้น (desiccator)

- 3.1.2.6 ตะแกรงใส่หลอดทดลอง (test tube rack)
- 3.1.2.7 แมกนีติกบาร์ (magnetic bar)
- 3.1.2.8 ขวดสีชา (vial)
- 3.1.2.9 หลอด NMR
- 3.1.2.10 อะลูมิเนียมฟรอยด์ (aluminium foil)
- 3.1.2.11 แพนอะลูมิเนียม (aluminium pan) แบบ volatile pan
- 3.1.2.12 กระจกสไลด์ (glass slide)
- 3.1.2.13 กระจกปิดสไลด์ (cover slip)
- 3.1.2.14 กระจดาชเช็ดกระจกสไลด์
- 3.1.2.15 ขวดก้นกลม (round bottom)
- 3.1.2.16 บิวเรต (Burette)
- 3.1.2.17 กรวยแยกสาร (separating funnel)
- 3.1.2.18 ปิเปต (pipette) 1, 2, 5, 10 และ 25 mL
- 3.1.2.19 ที่คีบ (forcep)
- 3.1.2.20 เทอโมมิเตอร์ (thermometer)
- 3.1.2.21 แมกนีติกสเตอร์ (magnetic stirrer)
- 3.1.2.22 Glass Syringe (NIPPRO)
- 3.1.2.23 Syringe filter ขนาด 0.45 ไมครอน
- 3.1.2.24 กระจดาชกรอง Whatman เบอร์ 1
- 3.1.2.25 ขวดแก้วเล็กสีชา ขนาด 4 และ 20 มิลลิลิตร (Vial)

### 3.1.3 เครื่องมือที่ใช้ในการดำเนินงานวิจัย

- 3.1.3.1 เครื่อง Gas Chromatography- Flame Ionization Detector (GC-FID)

3.1.3.2 เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ของบริษัท Shimadzu รุ่น SPD-M20A

3.1.3.3 เครื่อง Differential scanning calorimetry หรือ DSC ของบริษัท PerkinElmer รุ่น Pyris Diamond DSC

3.1.3.4 เครื่อง pulsed-nuclear magnetic resonance หรือ p-NMR ของบริษัท BRUKER รุ่น the minispec mq20

3.1.3.5 เครื่อง X-ray diffraction หรือ XRD ยี่ห้อ Rigaku รุ่น miniflex II

3.1.3.6 เครื่อง polarized light microscopy หรือ PLM พร้อมกล้องถ่ายภาพแบบ digital และชุด adapter รุ่น Olympus CAMEDIA digital camera (model NO. C-7070)

3.1.3.7 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น BP221S

3.1.3.8 เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Denver รุ่น S-4002

3.1.3.8 เทอร์โมคัปเปิล (thermocouple) ยี่ห้อ testo รุ่น 735

3.1.3.9 ไมโครปิเปต (micropipette)

3.1.3.10 แท่นให้ความร้อน (hot plate) ยี่ห้อ IKA รุ่น C-MAG HS 7

3.1.3.11 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ยี่ห้อ Memmert, Germany

3.1.3.12 ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ Memmert รุ่น IPP-300

3.1.3.13 เครื่องทำความเย็น (cooling circulation bath) (Thermo Scientific HAAKE DC10)

3.1.3.14 เครื่องระเหยตัวทำละลายแบบหมุน (rotary evaporator) (Buchi V-805 และ R-805, Switzerland)

### 3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการดำเนินงานวิจัย

3.1.4.1 อะซีโตน AR เกรด (Labscan Asia Co. Ltd., Bangkok, Thailand)

3.1.4.2 อะซีโตน HPLC เกรด (Labscan Asia Co. Ltd., Bangkok, Thailand)

- 3.1.4.3 อะซีโตนไตรัล HPLC เกรด (Labscan Asia Co. Ltd., Bangkok, Thailand)
- 3.1.4.4 เฮกเซน (Macron TM Fine Chemical, Center Valley, PA, Ltd)
- 3.1.4.5 โพลีเอทิลีนไฮดรอกไซด์ (Merck, Darmstadt Germany)
- 3.1.4.6 เอทานอล (Ethanol 95% (v/v))
- 3.1.4.7 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Ajax Finechem Pty Ltd)
- 3.1.4.8 ฟีนอล์ฟทาลีน อินดิเคเตอร์ (Ajax Finechem Pty Ltd)
- 3.1.4.9 ลิเทียมคลอไรด์ แอนไฮดรัส (Ajax Finechem Pty Ltd)
- 3.1.4.10 โซเดียมคลอไรด์ (Merck, Darmstadt Germany)
- 3.1.4.11 n-Heptane (Ajax Finechem Pty Ltd)
- 3.1.4.12 Boron trifluoride (Sigma Aldrich, Denmark)
- 3.1.4.13 ไซโครเฮกเซน (cyclohexane)
- 3.1.4.14 กรดอะซิติก (acetic acid)
- 3.1.4.15 สารละลาย Wijs (Merck, Darmstadt Germany)
- 3.1.4.16 โพลีเอทิลีนไอโอดด์ (KI)
- 3.1.4.17 น้ำแข็ง
- 3.1.4.18 sodium thiosulfate (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)
- 3.1.4.19 น้ำกลั่น (V Unique, Better Syndicate Co., Ltd)
- 3.1.4.20 กรดไฮโดรคลอริก c(HCL)

### 3.2 วิธีการทดลอง

#### 3.2.1 การตกผลึกแยกส่วนน้ำมันมะพร้าว

จากการทดลองขั้นต้นพบว่าการเติมน้ำมันมะพร้าวเหลวไปในส่วนผสมทำให้ได้ไขมันที่มีลักษณะเหลวหรืออ่อนเกินไปทั้งก่อนและหลังทำปฏิกิริยา ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้นำน้ำมันมะพร้าวมา

ทำการตกผลึกแยกส่วนให้ได้ส่วนแข็ง (มะพร้าวสเตียรีน) แล้วจึงนำไปผสมกับน้ำมันถั่วเหลืองและปาล์มสเตียรีน โดยเริ่มจากนำน้ำมันมะพร้าวมาหลอมละลายที่อุณหภูมิ 80°C คนให้เข้ากัน ชั่งน้ำหนักตัวอย่างพร้อมกับปล่อยให้เย็นลงถึง 40°C แล้วผสมเข้ากับอะซิโตนที่อัตราส่วน 1:2 (w/v) แล้วเทสารละลายลงในโถเพื่อทำการตกผลึกที่อุณหภูมิ 10°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และมีใบพัดกวนตลอดเวลา ตามกรรมวิธีของ Siahaan และคณะ (2001) จากนั้นนำมากรองเพื่อแยกไขมันส่วนแข็งที่มีจุดหลอมเหลวสูงออก หรือ มะพร้าวสเตียรีน (CNS) ที่มีปริมาณ yield เป็น  $24.56 \pm 1.56\%$  โดยน้ำหนักของ CNO และเหลือส่วนของสารละลายนำไปเข้าเครื่องระเหยตัวทำละลายแบบหมุนจะได้ส่วนของน้ำมันที่มีจุดหลอมเหลวต่ำเป็น by product

หมายเหตุ: ก่อนการเลือกใช้ CNS ได้มีการทดลองศึกษาอัตราส่วนในเบื้องต้นโดยใช้น้ำมันมะพร้าว (CNO) มาทำการผสมเป็นไขมันผสม ไขมันผสมหลังทำปฏิกิริยา โดยกำหนดช่วงของอัตราส่วนที่ทำการทดลองเบื้องต้นคือ SBO:PS:CNO (10:60:30, 20:50:30, 30:40:30, 40:30:30, 50:20:30, 60:10:30) แล้วนำไปวิเคราะห์ค่าเปอเซ็นต์การเป็นของแข็งในรูปผลึกไขมัน (SFC) เพื่อหาอัตราส่วนสูตรตั้งต้นของการผลิตไขมันพลาสติกสำหรับไขมันเนยเทียม

### 3.2.2 การผสมน้ำมันและการเตรียมเอนไซม์

ทำการหลอมละลายน้ำมันตั้งทั้ง 3 ชนิด ที่อุณหภูมิ 80 °C แล้วนำมาผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน โดยตลอดการผสมมีการกวนด้วย magnetic stirrer นานเป็นระยะเวลา 10 นาทีต่อสูตร ตามอัตราส่วนของ SBO:PS:CNS โดยน้ำหนักต่อไปนี้คือ 0:70:30, 10:60:30, 20:50:30, 30:40:30, 40:30:30 % และมีการเตรียมสภาวะของเอนไซม์ที่เหมาะสมโดยการเก็บเอนไซม์ไว้ข้ามคืนในเตาอบแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 40 °C แล้วนำไปเก็บไว้ในโถ dessicator ที่บรรจุสารละลายเกลืออิ่มตัว LiCl ที่อุณหภูมิคงที่ 25 °C เป็นเวลา 5 วัน หรือจนกระทั่งน้ำหนักคงที่ หรือจนกระทั่งมีค่า  $a_w$  ประมาณ 0.12 (แสดงในภาคผนวก ข)

### 3.2.3 การศึกษาองค์ประกอบ คุณสมบัติทางเคมี กายภาพ และพฤติกรรมการตกผลึกของน้ำมันตั้งต้น น้ำมันผสม และน้ำมันผสมหลังทำปฏิกิริยา

การศึกษาในหัวข้อนี้จะทำให้เราทราบถึงองค์ประกอบกรดไขมันและไตรกลีเซอไรด์ คุณสมบัติทางเคมี กายภาพ และพฤติกรรมการตกผลึกของน้ำมันตั้งต้นและน้ำมันผสม เพื่อใช้เป็นข้อมูล

เปรียบเทียบองค์ประกอบ คุณสมบัติทางเคมี กายภาพ และพฤติกรรมการตกผลึกของน้ำมันที่ได้จากปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันแบบใช้เอนไซม์ โดยมีรายละเอียดที่ต้องศึกษาดังต่อไปนี้

3.2.3.1 ศึกษาองค์ประกอบกรดไขมันด้วย Gas Chromatography – Flame Ionization Detector (GC-FID) ตามกรรมวิธีของ AOAC official method 969.33 (AOAC, 1997) ระบบใช้ Column VertiBond TM wax (stationary phase คือ 100% polyethyleneglycol ความยาว 50 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.25 มิลลิเมตร ความหนาของฟิล์ม 0.20 ไมโครเมตร) โดยปริมาณของกรดไขมันแต่ละชนิดที่วิเคราะห์ได้แสดงผลเป็นร้อยละของพื้นที่ใต้กราฟ เมื่อคิดเทียบให้ร้อยละของพื้นที่ใต้กราฟทั้งหมดเป็นร้อยละ 100 โดยการฉีดตัวอย่างจะต้องมีการเตรียมตัวอย่างเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (fatty acid methyl ester) ก่อน (แสดงในภาคผนวก ค) และจะต้องกำจัดแยกกรดไขมันอิสระออกไป (แสดงในภาคผนวก ง) จากนั้นนำตัวอย่างไปวิเคราะห์โดยใช้สภาวะในการวิเคราะห์ คือ อุณหภูมิ injector เท่ากับ 210 °C อุณหภูมิ FID เท่ากับ 280 °C อุณหภูมิ Oven เริ่มต้นที่ 120 °C คงไว้ 3 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิขึ้นด้วยอัตรา 10 °C/min จนถึง 220 °C คงไว้ 30 นาที และเพิ่มอุณหภูมิอีกครั้งด้วยอัตรา 5 °C/min จนถึง 240 °C คงไว้ 30 นาที ใช้ฮีเลียม เป็น carrier gas แล้ววิเคราะห์ค่า retention time ของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันมาตรฐานซึ่งใช้เป็น external standard ในการวิเคราะห์ชนิดของกรดไขมันที่พบหลักๆ ในน้ำมันถั่วเหลือง ปาล์มสเตียรีน และมะพร้าวสเตียรีน เมื่อได้กราฟของการวิเคราะห์ปรากฏขึ้น หองค์ประกอบและปริมาณเป็นร้อยละของพื้นที่ใต้กราฟของกรดไขมันที่เตรียมเป็นเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันของตัวอย่างไขมันผสมก่อนและหลังทำปฏิกิริยา โดยเปรียบเทียบค่า retention time กับเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันมาตรฐาน

3.2.3.2 ศึกษาองค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ด้วย High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ตามกรรมวิธีของ AOCS Official Method Ce5b-89 (AOCS, 1997) (แสดงในภาคผนวก จ) โดยใช้ column เป็นแบบ reverse phase C-18 (inertsill ODS-3; particle size 5 ไมโครเมตร; ขนาด 4.6 x 250 มิลลิเมตร จำนวน 2 column) mobile phase คือ acetone : acetonitrile (70:-30) อัตราการไหล 0.72 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิคอลัมน์ที่ใช้เท่ากับ 30°C Injection volume 20 ไมโครลิตร และมี detector SPD-M20A หรือ diode array detector มีความยาวคลื่นเท่ากับ 210 นาโนเมตร การระบุชนิดของไตรกลีเซอไรด์อาศัยค่า retention time ของไตรกลีเซอไรด์มาตรฐาน และอาศัยการเปรียบเทียบจาก

งานวิจัยด้านการวิเคราะห์ไขมันและน้ำมันโดย HPLC โดยอ้างอิงจากงานวิจัยของ (khatoon และคณะ., 2012) และรายงานปริมาณไตรกลีเซอไรด์จากร้อยละของพื้นที่ใต้กราฟของพีคไตรกลีเซอไรด์ที่เกิดขึ้นบนโครมาโตแกรมทั้งหมด

3.2.3.3 ศึกษาค่าไอโอดีนตามกรรมวิธีของ AOCS Official Method (AOCS, 1997) นำทุกๆ สูตรตัวอย่างน้ำมันมาวิเคราะห์หาค่าไอโอดีนโดยอาศัยวิธีการไตรเตรทกับสารละลายวิจท์ (แสดงในภาคผนวก ญ)

3.2.3.4 ศึกษาพฤติกรรมของการตกผลึก โดยมีรายละเอียดที่ต้องศึกษาดังต่อไปนี้

3.2.3.4.1 อุณหภูมิในการหลอมเหลว การตกผลึก และพลังงานที่เกี่ยวข้อง (enthalpy) ด้วยเครื่อง differential scanning calorimeter (DSC) (Model D8000, Perkin-Elmer Co., Shelton, CT, USA) ดัดแปลงจากกรรมวิธีของ AOCS Official Method Cj 1-94 (AOCS, 1997) โดยชั่งตัวอย่างประมาณ 3-5 มิลลิกรัม ใส่ลงใน aluminium pan ทำการปิดฝา pan แล้วนำตัวอย่างใส่เข้าเครื่อง DSC โดยเครื่องมีระบบการให้ความร้อนกับตัวอย่างที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นลดอุณหภูมิลงมาที่ -40 °C ด้วยอัตราเร็ว 5 °C/min และคงไว้ที่อุณหภูมิ -40 °C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิไปที่ 80 °C ด้วยอัตราเร็ว 5 °C/min เครื่อง DSC จะทำการบันทึกผลออกมาเป็นกราฟ thermogram ที่วิเคราะห์โดยโปรแกรมซอฟต์แวร์ของเครื่อง DSC (Pyris software, Perkin-Elmer, Shelton, CT, USA).

3.2.3.4.2 ค่าเปอร์เซ็นต์การเป็นของแข็งในรูปผลึก (solid fat content: SFC) ที่อุณหภูมิต่างๆ ด้วย pulsed-nuclear magnetic resonance หรือ p-NMR ตามกรรมวิธีของ (Fiebig และ Lüttke, 2003) แล้วนำค่า SFC ที่วัดได้มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิในการตกผลึก (แกนนอน) และค่า SFC (แกนตั้ง) เพื่อศึกษาระดับการตกผลึกที่อุณหภูมิต่างๆ เพื่อให้ทราบว่าที่อุณหภูมิต่างๆ ตั้งแต่ 10-50 °C นั้น ตัวอย่างน้ำมันมีของแข็งในรูปผลึกคิดเป็นกิโลเปอร์เซ็นต์ของผลึกทั้งหมดโดยน้ำหนัก และเพื่อให้ทราบพฤติกรรมหรือลักษณะการหลอมเหลวของตัวอย่างว่าที่อุณหภูมิเพิ่มขึ้นจาก 10 °C ไปยัง 50 °C นั้น ตัวอย่างเกิดการหลอมละลายอย่างรวดเร็วหรืออย่างช้าๆ ในปาก

3.2.3.4.3 โครงสร้างผลึกด้วย X-ray diffraction หรือ XRD ตามกรรมวิธีของ Kim และคณะ (2008) ด้วยเครื่อง x-ray diffractometer (XRD) (Rigaku TTRAX III, Rigaku Corporation, Tokyo, Japan) เพื่อให้ทราบว่าตัวอย่างน้ำมันมีแนวโน้มที่จะตกผลึกลง

ในโครงสร้าง  $\beta'$  หรือ  $\beta$  ซึ่งไขมันที่ดีที่เหมาะสมกับการนำมาใช้ในการผลิตเนยเทียมควรมี  
 แนวโน้มที่จะเกิดการตกผลึกลงในโครงสร้าง  $\beta'$  โดยเก็บข้อมูลจากเครื่อง XRD ในช่วง  $2\theta$   
 เท่ากับ 3-35 องศา (step width เท่ากับ 0.01 องศา อัตราเร็วเท่ากับ 4 องศา/นาที) เพื่อให้  
 ทราบโครงสร้างผลึกของตัวอย่าง (แสดงในภาคผนวก ข)

3.2.3.4.4 ลักษณะรูปร่างผลึก ถูกนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง polarized  
 light microscopy (PLM) (Olympus BX51, Olympus Optical Co., Ltd., Tokyo, Japan) ตาม  
 กรรมวิธีของ (Liu และคณะ, 2010) โดยอาศัยกล้องจุลทรรศน์และเชื่อมต่ออุปกรณ์กับกล้อง  
 ดิจิตอล (Olympus C-7070, Olympus Optical Co., Ltd., Tokyo, Japan) โดยนำตัวอย่าง  
 ไขมันมาหลอมเหลวที่อุณหภูมิ  $80^{\circ}\text{C}$  จนละลายหมด พร้อมทั้งทำการคนให้เข้ากัน แล้วเปิด  
 ตัวอย่างมา  $20\ \mu\text{l}$  หยดลงบนกระจกสไลด์และปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ จากนั้นนำไปเก็บใน  
 ตู้ควบคุมอุณหภูมิ  $18^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปวางบนแท่นวางสไลด์ของเครื่อง  
 PLM ใช้กำลังขยาย 100 เท่า เพื่อศึกษาลักษณะรูปร่าง ขนาด และจำนวนผลึกของแต่ละ  
 ตัวอย่าง เพื่อให้ทราบว่าตัวอย่างของน้ำมันนั้นเมื่อตกผลึกแล้วรูปร่างและลักษณะของผลึก  
 รวมถึงขนาดของผลึกจะมีแนวโน้มที่จะเป็นแบบใด ไขมันที่ดีที่เหมาะสมกับการนำมาใช้ในการ  
 ผลิตเนยเทียมควรมีขนาดผลึกที่เล็กไม่เกิน 30 ไมครอน และไม่ควมมีรูปร่างเป็นเม็ดทรงกลม  
 ขนาดใหญ่ เพราะจะทำให้เนยเทียมที่ผลิตได้มีลักษณะเนื้อสัมผัสเป็นเนื้อทรายและมีความ  
 แข็งกระด้าง

### 3.2.4 การทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันแบบใช้เอนไซม์

3.2.4.1 นำน้ำมันผสมระหว่าง SBO:PS:CNS ทั้ง 5 อัตราส่วนไปทำปฏิกิริยาอินเตอร์  
 เอสเตอริฟิเคชันแบบใช้เอนไซม์ ด้วยเอนไซม์ไลเปสชนิด Lipzyme RM IM ซึ่งเป็นเอนไซม์  
 ชนิด sn-1,3 specific lipase ที่ผลิตจากเชื้อรา *Mucor miehei* โดยเอนไซม์จะถูกตรึงบน  
 marcoparticulate ion exchange resin ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิที่ผู้ผลิตเอนไซม์แนะนำและใช้  
 ในการทดลองโดยนักวิจัยด้านนี้หลายกลุ่มวิจัย คือ  $65^{\circ}\text{C}$  เช่น (Adhikari และ Hu, 2012b;  
 Adhikari และคณะ, 2010) โดยใช้เอนไซม์ในปริมาณ 10% โดยน้ำหนักของเอนไซม์ต่อสารตั้ง  
 ต้น (Zhao และคณะ, 2013; Pande และ Akoh, 2013a; khaton และคณะ, 2012; Adhikari  
 และคณะ, 2010a) และใส่ molecular sieves (10% โดยน้ำหนักของสับสเตอร์หรือน้ำมัน  
 ผสม) ทำการทดลองที่ละอัตราส่วน โดยช่วงมวลของน้ำมันผสมที่อัตราส่วนต่างๆ ในปริมาณ 7



กรัม นำไปใส่ลงในขวดไวแอล แล้วใส่ลงในปิกเกอร์แบบ 2 ชั้น ขนาด 250 ml (double jacketed beaker) และใส่ magnetic bar ลงไปในขวดไวแอลเพื่อคนผสมตลอดเวลา มีน้ำร้อนอุณหภูมิ 65 °C ไหลวนจากอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิมาอยู่รอบๆ ของขวดไวแอลตลอดเวลา เพื่อให้ความร้อนตัวอย่างที่ 65 °C เมื่อเวลาผ่านไปนาน 5 นาทีแรก จึงเติมเอนไซม์ลงไปและเริ่มจับเวลา 8 ชั่วโมง อุปกรณ์ทั้งหมดนี้จะวางอยู่บน magnetic-stirrer plate ที่ปรับความเร็วรอบของการหมุนของ magnetic bar ไว้เป็น 300 rpm

3.2.4.2 หลังจากครบ 8 ชั่วโมงของการทำปฏิกิริยา นำน้ำมันที่ผ่านการตัดแปลงโครงสร้างหลังการเกิดปฏิกิริยาไปแยกเอนไซม์ออกอย่างรวดเร็วด้วยการกรองด้วยสุญญากาศผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 41 แล้วนำตัวอย่างน้ำมันไปทำให้เป็นกลาง (neutralization) เพื่อกำจัดกรดไขมันอิสระตามกรรมวิธีของ Alim และคณะ (2008)

### 3.2.5 การเลือกน้ำมันที่ได้จากอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชันแบบใช้เอนไซม์ สำหรับนำไปใช้เป็นไขมันเนยเทียม

จากผลการศึกษาในหัวข้อ 3.2.3-3.2.4 ทำการเลือกน้ำมันที่ได้จากอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชันแบบใช้เอนไซม์ของน้ำมันผสมในอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดมา 1 อัตราส่วน สำหรับนำไปใช้ในการผลิตเป็นเนยเทียมแบบปราศจากกรดไขมันทรานส์ต่อไป โดยเปรียบเทียบกับไขมันที่สกัดมาจากเนยเทียมที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดโดยทำการสกัดไขมันออกมาจากเนยเทียมทางการค้าตามกรรมวิธีของ Kim และคณะ (2008) (แสดงในภาคผนวก ก) และมี criteria ในการเลือกคือ

- i) เป็นน้ำมันที่มีค่าเปอร์เซ็นต์การเป็นของแข็งในรูปผลึก (SFC) ในแต่ละช่วงอุณหภูมิเหมือนหรือใกล้เคียงกับของไขมันที่สกัดมาจากเนยเทียมทางการค้า
- ii) เป็นน้ำมันที่มีแนวโน้มในการตกผลึกลงในโครงสร้าง  $\beta'$  >  $\beta$
- iii) เป็นน้ำมันที่ตกผลึกเป็นผลึกขนาดเล็กและไม่มีลักษณะรูปร่างผลึกเป็นทรงกลม

### 3.2.6 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ทำการทดลอง 2 ซ้ำ และวิเคราะห์ผลโดยใช้แผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) โดยวิเคราะห์ ANOVA/LSD และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี วิธี Duncan's multiple range test ( $P < 0.05$ ) ด้วย SPSS เวอร์ชัน 16.0

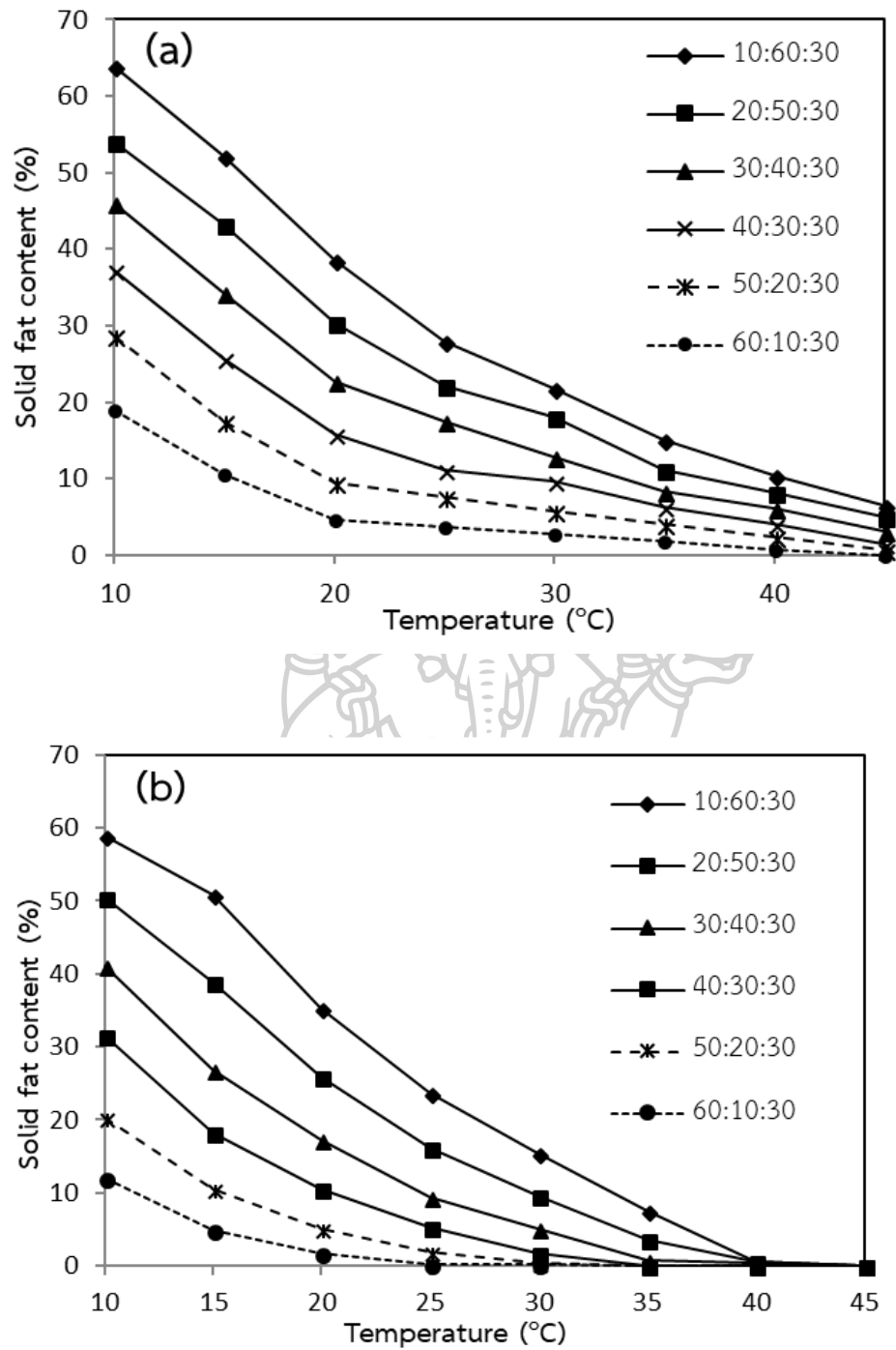


## บทที่ 4

### ผลและอภิปรายผลการดำเนินงานวิจัย

#### 4.1 ผลของอัตราส่วนน้ำมันต่อปริมาณของแข็งในรูปผลึกไขมันของไขมันผสม

จากการศึกษาเพื่อหาอัตราส่วนในเบื้องต้นโดยใช้ไขมันมะพร้าว (CNO) มาทำการผสมกับ น้ำมันถั่วเหลือง (SBO) และปาล์มสเตียรีน (PS) โดยกำหนดช่วงของอัตราส่วนโดยน้ำหนักที่ทำการทดลองเบื้องต้นคือ SBO:PS:CNO เป็น 10:60:30, 20:50:30, 30:40:30, 40:30:30, 50:20:30 และ 60:10:30 แล้วนำไปทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันแบบใช้เอนไซม์ จากนั้นนำน้ำมันผสมก่อนและหลังทำปฏิกิริยาไปวิเคราะห์ค่าเปอร์เซ็นต์การเป็นของแข็งในรูปผลึกไขมัน (solid fat content: SFC) จะพบว่าไขมันผสมนั้นมีค่า SFC ค่อนข้างต่ำในทุกๆ ช่วงอุณหภูมิ โดยเฉพาะในสูตรที่ประกอบด้วยน้ำมันถั่วเหลืองมากขึ้น และเมื่อนำไขมันผสมทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันด้วยเอนไซม์ไลเปส พบว่าค่า SFC ของตัวอย่างในทุกๆ สูตรยิ่งต่ำลงไปอีก ทั้งนี้เนื่องมาจากการที่น้ำมันผสมตั้งต้นประกอบด้วยน้ำมันถั่วเหลืองซึ่งเป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิแช่เย็น อีกทั้งน้ำมันมะพร้าวก็มีสถานะของเหลวในอุณหภูมิห้องเช่นกัน มีเพียงปาล์มสเตียรีนเท่านั้นที่มีสถานะเป็นของแข็งที่อุณหภูมิห้อง ดังนั้นไขมันผสมที่ได้ซึ่งมีส่วนขององค์ประกอบเหลวมากกว่าแข็งจึงทำให้ไขมันผสมที่ได้ค่อนข้างเหลว ไหลได้ และไม่คงตัวที่อุณหภูมิห้องปกติ รวมถึงการมีมันเยิ้มที่ผิวหน้าของไขมัน ไม่มีคุณสมบัติในการปาดเกลี่ยได้ และเมื่อเทียบกับไขมันผสมหลังทำปฏิกิริยา พบว่าค่า SFC ต่ำลงในทุกช่วงอุณหภูมิ แสดงว่าปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันมีผลทำให้เกิดการลดปริมาณการของของแข็งในรูปผลึก ดังแสดงในภาพที่ 17a และ 17b



ภาพที่ 17 ปริมาณ solid fat content (%SFC) ของน้ำมันผสม (a) และน้ำมันผสมหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชัน (b) ที่อัตราส่วนต่างๆ ของ SBO:PS:CNO

จากภาพที่ 17a และ 17b จะเห็นว่าอัตราส่วนในสูตรเบื้องต้นดังกล่าวไม่มีความเหมาะสมที่จะนำไปผลิตเป็นไขมันเนยเทียมได้เลย เนื่องจากให้ค่า SFC ต่ำมาก เป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้อง มีลักษณะเป็นมันและเกิดการแยกชั้นของส่วนไขมันกับน้ำมันเหลวอย่างเห็นได้ชัดในตัวอย่างสูตรที่มีน้ำมันถั่วเหลืองมากกว่าปาล์มสเตียรีน ส่วนค่า SFC ในตัวอย่างไขมันผสม (ภาพที่ 17a) มีช่วงการหลอมเหลวค่อนข้างกว้าง อีกทั้งยังกลับหลอมละลายได้หมดที่อุณหภูมิสูงมากกว่า 45 องศาเซลเซียส ซึ่งไม่เหมาะสมต่อการนำไปผลิตเป็นไขมันเนยเทียมเพราะอาจทำให้เกิดความรู้สึกเป็นไข (waxy) เมื่อรับประทาน ดังนั้นจึงมีการปรับสูตรสัดส่วนการผลิตของไขมันผสมโดยการเพิ่มส่วนของผลึกของแข็งในสูตรเพิ่มขึ้นจากการนำน้ำมันมะพร้าวไปตกผลึกแยกส่วนของแข็งออกมา ได้เป็นมะพร้าวสเตียรีน (CNS) เพื่อคงสูตรการใช้ประโยชน์จากน้ำมันทั้งสามชนิดและต้องการลดปริมาณการใช้ปาล์มสเตียรีนในสูตรให้น้อยลงตามวัตถุประสงค์ของงานวิจัยครั้งนี้

ในด้านของชนิดน้ำมัน และอัตราส่วน Rao และคณะ (2001) กล่าวว่า ชนิดของ acyl donor มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อคุณสมบัติความคงตัวของไขมันดัดแปลง เช่น ไตรกลีเซอไรด์หลักในน้ำมันมะพร้าวมีปริมาณกรดลอริก กรดไมริสติก และกรดปาล์มมิติกมาก จึงมีการเติม stearic acid methyl ester เพื่อเป็น acyl donor ให้กับการทำปฏิกิริยาอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชัน เป็นการเพิ่มปริมาณกรดสเตียริกกับโครงสร้างไตรกลีเซอไรด์ ทำให้ได้ไขมันมีความคงตัวมากขึ้น เป็นไขมันที่แข็งมากขึ้นเนื่องจากกรดสเตียริกที่เติมลงไปเป็นกรดไขมันที่มีจุดหลอมเหลวสูง จึงทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีจุดหลอมเหลวสูงขึ้นด้วย ดังนั้นการทำปฏิกิริยาอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชัน สารตั้งต้นที่ใช้ควรจะมีสัดส่วนที่เหมาะสมเพราะหากมีสัดส่วนไม่เหมาะสม ก็อาจส่งผลให้ไขมันดัดแปลงที่ได้มีประสิทธิภาพที่ไม่ดีเนื่องจากมีปริมาณกรดไขมันอิสระเหลืออยู่ นอกจากนั้น Teah และคณะ (1994) ได้ศึกษาหาสูตรการผลิตที่เหมาะสมต่อการผลิตไขมันเนยเทียม โดยการทำปฏิกิริยาอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชันเช่นเดียวกัน จากงานวิจัยดังกล่าวระบุว่า สูตรที่ใช้ปาล์มสเตียรีน 60% กับน้ำมันเมล็ดปาล์มโอเลอิน 40% ให้คุณสมบัติที่ดีที่สุด (ตารางที่ 14)

ตารางที่ 14 ค่า SFC ของไขมันเนยเทียมปราศจากไขมันทรานส์จากน้ำมันปาล์มสูตรต่างๆ

| Blend                   | PS:PKO <sub>o</sub> | IE (PS:PKO <sub>o</sub> ) | IE (PO <sub>o</sub> :PKO) | IE (PS:PKO <sub>o</sub> :SFO) | PS:SBO |
|-------------------------|---------------------|---------------------------|---------------------------|-------------------------------|--------|
| Composition             | 70:30               | 60:40                     | 70:30                     | 60:20:20                      | 80:20  |
| Slip melting point (°C) | 45.5                | 34.3                      | 33.3                      | 38.5                          | 43.3   |
| SFC (%) wideline        |                     |                           |                           |                               |        |
| NMR                     |                     |                           |                           |                               |        |
| 10°C                    | 56.3                | 31.8                      | NA                        | 33.7                          | 69.1   |
| 15°C                    | 42.2                | 23.3                      | 34.6                      | 24.6                          | 57.8   |
| 20°C                    | 29.8                | 15.6                      | 22.7                      | 18.9                          | 46.3   |
| 25°C                    | 20.9                | 10.8                      | NA                        | NA                            | 33.6   |
| 30°C                    | 16.3                | 6.3                       | 7.8                       | 7.1                           | 23.9   |
| 35°C                    | 11.1                | 2.4                       | —                         | —                             | 17.7   |
| 40°C                    | 10.7                | —                         | —                         | —                             | 8.3    |

ที่มา: Teah และคณะ (1994)

Yap และคณะ (1989) กล่าวว่าปาล์มสเตียรีนมีผลต่อการตกผลึกของผลิตภัณฑ์ไขมันดัดแปลง โดยการมีปาล์มสเตียรีนในสูตรจะสนับสนุนให้เกิดการสร้างผลึกชนิด  $\beta'$  ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ดีต่อไขมันเนยเทียม ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีเนื้อเรียบเนียน อีกทั้งมีรายงานเกี่ยวกับการเติมปาล์มสเตียรีน 10-12% ในสูตรที่ประกอบด้วยไขมันเหลว (liquid oil) จะช่วยให้ผลิตภัณฑ์เกิดความคงตัว และเกิดผลึกในรูป  $\beta'$  อีกด้วย (deMan และคณะ, 1992) ดังนั้นจึงเป็นเหตุผลที่จำเป็นจะต้องมีปาล์มสเตียรีนในสูตร

ด้านน้ำมันมะพร้าว โดยปกติมีค่า IV เฉลี่ยอยู่ที่ 8 ซึ่งค่อนข้างต่ำ บ่งบอกถึงความเป็นไขมันอิ่มตัวอยู่มาก แต่อย่างไรก็ตามน้ำมันมะพร้าวยังคงเป็นไขมันเหลวที่อุณหภูมิแวดล้อม (กำหนดให้เท่ากับ 30 °C) เนื่องจากน้ำมันมะพร้าวมีจุดหลอมเหลวอยู่ที่ 24-26 °C เพราะไขมันอิ่มตัวส่วนใหญ่เป็นกรดไขมันสายกลาง Gunstone (2011) กล่าวว่าโดยทั่วไปน้ำมันมะพร้าวและน้ำมันมะพร้าวที่ผ่านการไฮโดรจิเนชันไม่สามารถนำมาผลิตไขมันพลาสติกด้วยกระบวนการอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชันได้เมื่อใช้เพียงเดียวๆ แต่สามารถนำมาผลิตเป็นไขมันดัดแปลงโครงสร้างได้ดี เมื่อนำมาผสมกับน้ำมันปาล์มหรือปาล์มสเตียรีน

## 4.2 ผลของกระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันแบบใช้เอนไซม์ต่อองค์ประกอบ และคุณลักษณะทางเคมีกายภาพของไขมันพลาสติก

### 4.2.1 องค์ประกอบกรดไขมัน

จากการศึกษาองค์ประกอบกรดไขมันของน้ำมันผสมระหว่างน้ำมันถั่วเหลือง ปาล์มสเตียรีน และมะพร้าวสเตียรีน ที่อัตราส่วนต่างๆ คือ 0:70:30, 10:60:30, 20:50:30, 30:40:30, 40:30:30 ก่อนการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันพบว่ากรดไขมันหลักในน้ำมันผสม คือ กรดปาล์มมิก (24.66- 44.20%) และ โอเลอิก (22.37-23.50%) (ตารางที่ 15) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณอัตราส่วนของ ปาล์ม สเตียรีนในแต่ละสัดส่วน เนื่องจากกรดไขมันดังกล่าวเป็นกรดไขมันหลักที่พบในปาล์มสเตียรีน โดยจากการทดลองพบกรดปาล์มมิกใน PS มากถึง 59.40% นอกจากนี้มีกรดไขมันสายยาวปานกลาง เช่น ลอริก 12.18-13.75% ซึ่งเป็นองค์ประกอบของกรดไขมันหลักที่พบในมะพร้าวสเตียรีน กรดไขมันสายยาวปานกลางนั้นถือว่าช่วยปรับปรุงคุณภาพผลิตภัณฑ์ในด้านโภชนาการอีกด้วย เนื่องจากกรดไขมันสายยาวปานกลางหรือ *medium chain fatty acid* สามารถถูกย่อยสลายอย่างรวดเร็วและสมบูรณ์ ช่วยลดการสะสมของโมเลกุลไขมันที่อาจเกิดการรวมตัวกัน (*incorporation*) แล้วเกาะตามผนังของเนื้อเยื่อในอวัยวะต่างๆ ในร่างกาย (Ecelbarger และคณะ, 1991; Tsuji และคณะ, 2001)

การศึกษาองค์ประกอบกรดไขมันของน้ำมันผสมหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันเป็นเวลา 8 ชั่วโมง โดยใช้เอนไซม์ *Lipozyme RM IM 10%* ของสารตั้งต้นของปฏิกิริยา พบว่าไม่เปลี่ยนแปลงไปจากของน้ำมันผสมก่อนการทำปฏิกิริยา (ไม่ได้แสดงผล) ทั้งนี้เนื่องจากการผสมน้ำมัน และการทำอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันของไขมันคือการเปลี่ยนโครงสร้างไตรกลีเซอไรด์ เพื่อให้ได้โครงสร้างใหม่ขึ้น โดยโครงสร้างใหม่นั้นก็เกิดจากกรดไขมันที่มีอยู่ตั้งต้นในตอนแรกนั่นเอง (Mayamol และคณะ, 2004)

ตารางที่ 15 องค์ประกอบของกรดไขมัน ในน้ำมันผสมแต่ละสัดส่วนของน้ำมันถั่วเหลือง ปาล์มสเตียรีน และมะพร้าวสเตียรีน

| Fatty acids | SBO:PS:CNS                 | 0:100:0                   | 0:0:100                   | 0:70:30                    | 10:60:30                  | 20:50:30                  | 30:40:30                  | 40:30:30                  |
|-------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| C8:0        | ND                         | ND                        | 4.91 ± 0.08 <sup>a</sup>  | 1.48 ± 0.28 <sup>b</sup>   | 1.44 ± 0.00 <sup>b</sup>  | 1.38 ± 0.15 <sup>b</sup>  | 1.49 ± 0.07 <sup>b</sup>  | 1.50 ± 0.06 <sup>b</sup>  |
| C10:0       | ND                         | ND                        | 4.30 ± 0.09 <sup>a</sup>  | 1.32 ± 0.06 <sup>b</sup>   | 1.30 ± 0.10 <sup>b</sup>  | 1.45 ± 0.11 <sup>b</sup>  | 1.35 ± 0.04 <sup>b</sup>  | 1.47 ± 0.04 <sup>b</sup>  |
| C12:0       | ND                         | 0.24 ± 0.01 <sup>d</sup>  | 41.08 ± 0.21 <sup>a</sup> | 13.56 ± 0.17 <sup>b</sup>  | 13.75 ± 0.35 <sup>b</sup> | 13.32 ± 0.39 <sup>b</sup> | 12.18 ± 1.09 <sup>c</sup> | 13.25 ± 0.15 <sup>b</sup> |
| C14:0       | ND                         | 1.17 ± 0.00 <sup>e</sup>  | 19.68 ± 0.11 <sup>a</sup> | 7.08 ± 0.10 <sup>b</sup>   | 6.96 ± 0.11 <sup>bc</sup> | 6.60 ± 0.09 <sup>d</sup>  | 6.59 ± 0.28 <sup>d</sup>  | 6.67 ± 0.17 <sup>cd</sup> |
| C16:0       | 10.92 ± 0.01 <sup>f</sup>  | 59.40 ± 1.32 <sup>a</sup> | 9.89 ± 0.04 <sup>f</sup>  | 44.20 ± 0.01 <sup>b</sup>  | 39.75 ± 0.23 <sup>c</sup> | 33.47 ± 1.61 <sup>d</sup> | 27.68 ± 1.59 <sup>e</sup> | 24.66 ± 0.45 <sup>f</sup> |
| C18:0       | 3.25 ± 0.02 <sup>c</sup>   | 4.33 ± 0.01 <sup>e</sup>  | 2.61 ± 0.02 <sup>d</sup>  | 3.95 ± 0.12 <sup>b</sup>   | 3.73 ± 0.15 <sup>b</sup>  | 3.38 ± 0.07 <sup>c</sup>  | 3.16 ± 0.30 <sup>c</sup>  | 3.38 ± 0.04 <sup>c</sup>  |
| C18:1       | 23.17 ± 0.35 <sup>bc</sup> | 27.85 ± 0.47 <sup>a</sup> | 11.19 ± 1.12 <sup>d</sup> | 23.50 ± 0.13 <sup>bc</sup> | 21.94 ± 0.65 <sup>c</sup> | 20.99 <sup>bc</sup>       | 25.27 ± 2.69 <sup>b</sup> | 22.37 ± 0.19 <sup>c</sup> |
| C18:2       | 51.94 ± 0.77 <sup>a</sup>  | 4.53 ± 0.02 <sup>f</sup>  | 1.85 ± 0.02 <sup>h</sup>  | 3.70 ± 0.21 <sup>f</sup>   | 8.08 ± 0.04 <sup>f</sup>  | 12.29 ± 0.22 <sup>d</sup> | 17.16 ± 0.48 <sup>c</sup> | 22.37 ± 0.04 <sup>b</sup> |
| C18:3       | 5.32 ± 0.14 <sup>a</sup>   | 0.28 ± 0.04 <sup>f</sup>  | ND                        | ND                         | 0.44 ± 0.05 <sup>e</sup>  | 0.85 ± 0.00 <sup>d</sup>  | 1.20 ± 0.12 <sup>c</sup>  | 1.69 ± 0.03 <sup>b</sup>  |

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นร้อยละของพื้นที่ใต้กราฟของโครมาโทแกรมจากวิธีการหาค่าด้วยเทคนิค GC (ค่าเฉลี่ยของ duplicates ± standard deviation (SD))

\* ND, ตรวจไม่พบ; SBO, น้ำมันถั่วเหลือง; PS, ปาล์มสเตียรีน; CNS, มะพร้าวสเตียรีน

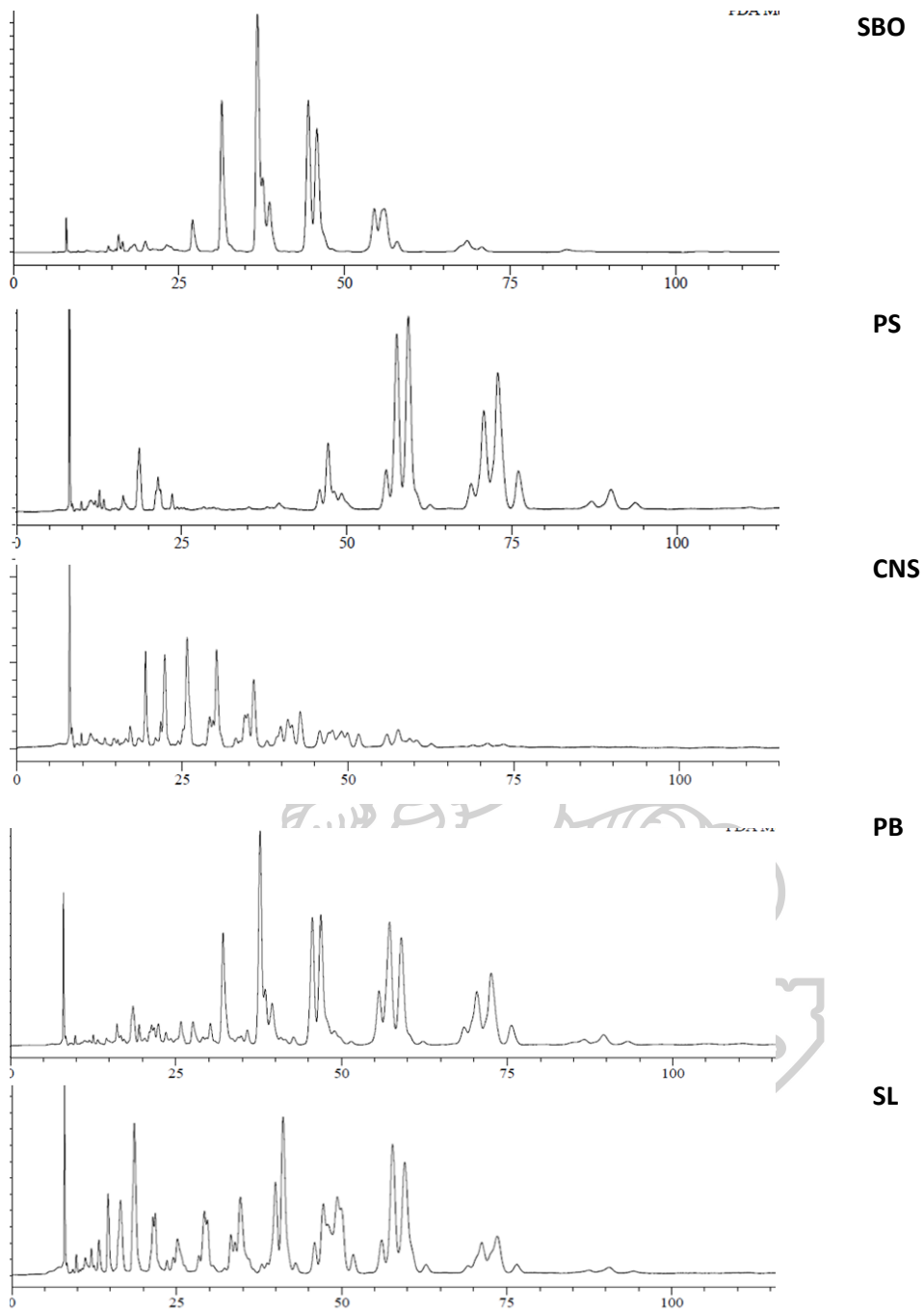
\* ตัวอักษร a-h ในแนวนอนแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)



#### 4.2.2 องค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์

น้ำมันแต่ละชนิดมีคุณสมบัติที่ต่างกัน เช่น จุดหลอมเหลว-ตกผลึก ความอ่อนแข็งของไขมัน ความสามารถในการหลอมละลายที่อุณหภูมิแตกต่างกัน เป็นต้น ทั้งนี้เหตุผลหลักเนื่องมาจากการมีชนิดของโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ที่ต่างกัน จากการวิเคราะห์องค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันถั่วเหลือง ปาล์มสเตียริน และมะพร้าวสเตียริน พบว่าไขมันทั้งสามชนิดต่างมีองค์ประกอบของไตรกลีเซอไรด์ที่แตกต่างกัน สังเกตได้จากตำแหน่งของพีคที่ปรากฏที่ตำแหน่ง retention time ที่ต่างกัน ดังแสดงในภาพที่ 18 โดยพีคที่ปรากฏบนตำแหน่ง retention time ต่างๆ จะขึ้นกับน้ำหนักโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ชนิดที่ต่างกัน ไตรกลีเซอไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่าจะปรากฏพีคให้เห็นก่อนที่ตำแหน่ง retention time สั้นกว่า ไตรกลีเซอไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า ทั้งนี้เนื่องจากความสามารถในการละลายในเฟสต่อเนื่องและถูกชะออกจากคอลัมน์ได้ดีกว่า ดังกราฟ HPLC Profile ซึ่งจะเห็นว่าน้ำมันถั่วเหลืองและมะพร้าวสเตียรินประกอบด้วยโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่าปาล์มสเตียริน จึงปรากฏพีคที่ตำแหน่ง retention time สั้นกว่า เนื่องจากว่าน้ำมันถั่วเหลืองมีองค์ประกอบของกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวอยู่มาก ส่วนมะพร้าวสเตียรินมีองค์ประกอบกรดไขมันที่มีสายสั้นกว่าปาล์มสเตียริน จึงมีผลต่อองค์ประกอบของไตรกลีเซอไรด์ อีกทั้งน้ำมันถั่วเหลืองและมะพร้าวสเตียรินต่างเป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้อง ในขณะที่ปาล์มสเตียรินเป็นของแข็งที่อุณหภูมิห้อง เมื่อนำไขมันทั้ง 3 ชนิดมาผสมกันเป็น physical blend (PB) จะทำให้เห็นว่าการผสมของไตรกลีเซอไรด์จากน้ำมันทั้ง 3 ชนิด ทำให้ได้ไขมันชนิดใหม่ที่มีความหลากหลายของโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์มากขึ้น ดังแสดงในภาพที่ 18 และเมื่อนำน้ำมันผสม ที่อัตราส่วน SBO:PS:CNS เป็น 20:50:30 มาผ่านการทำปฏิกิริยาอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชันด้วยเอนไซม์ไลเปส จะเห็นว่าโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ชนิดใหม่เกิดขึ้นในน้ำมันผสมหลังการทำปฏิกิริยา นอกเหนือไปจากที่พบในน้ำมันตั้งต้นทั้ง 3 ชนิด และมีไตรกลีเซอไรด์บางชนิดลดลงหรือหายไป

ทั้งนี้เนื่องจากการทำปฏิกิริยาอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชันจะเป็นการใช้เอนไซม์ไลเปสไปตัดที่พันธะเอสเทอร์ระหว่างกลีเซอรอลกับกรดไขมันที่ตำแหน่ง 1 และ 3 ทำให้เกิดการเคลื่อนย้ายหมู่เอซิลหรือกรดไขมันจากกลีเซอรอลเดิมไปกลีเซอรอลใหม่ จึงทำให้เกิดไตรกลีเซอไรด์ชนิดใหม่ขึ้น จึงเรียกได้ว่าเป็นการตัดแปลงไขมัน ทำให้ได้ไขมันชนิดใหม่ที่ถูกตัดแปลง หรือ structure lipid (SL) ที่เป็นที่ต้องการมากยิ่งขึ้น



ภาพที่ 18 HPLC profile ของน้ำมันถั่วเหลือง(SBO), ปาล์มสเตียรีน (PS), มะพร้าวสเตียรีน (CNS) , น้ำมันผสมก่อนทำปฏิกิริยา (PB) และน้ำมันผสมหลังทำปฏิกิริยา (SL) (SBO:PS:CNS) ที่อัตราส่วน 20:50:30

ตารางที่ 16 องค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของ ของน้ำมันถั่วเหลือง(SBO), ปาล์มสเตียริน (PS), มะพร้าวสเตียริน (CNS), น้ำมันผสมก่อนทำปฏิกิริยา (PB3) และน้ำมันผสมหลังทำปฏิกิริยา (SBO:PS:CNS) ที่อัตราส่วน 20:50:30 (SL3)

| TAG species | ECN | SBO                     | PS                      | CNS                     | PB3                     | SL3                     |
|-------------|-----|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| CpCLa       | 30  | ND                      | ND                      | 1.6±0.00 <sup>a</sup>   | ND                      | ND                      |
| CCLa        | 32  | ND                      | ND                      | 7.51±0.71 <sup>b</sup>  | 1.42±0.03 <sup>a</sup>  | 5.62±1.81 <sup>b</sup>  |
| CLaLa       | 34  | ND                      | ND                      | 12.23±0.70 <sup>c</sup> | 0.67±0.11 <sup>a</sup>  | 2.75±0.44 <sup>c</sup>  |
| LaLaLa      | 36  | ND                      | ND                      | 17.36±0.99 <sup>c</sup> | 0.76±0.01 <sup>a</sup>  | 2.87±0.06 <sup>b</sup>  |
| LLnLn       | 38  | 2.54±0.10 <sup>c</sup>  | ND                      | ND                      | 1.62±0.01 <sup>b</sup>  | 1.32±0.07 <sup>b</sup>  |
| LaLaM       | 38  | ND                      | ND                      | 19.24±0.22 <sup>c</sup> | 0.58±0.13 <sup>a</sup>  | 5.61±0.25 <sup>b</sup>  |
| LLLn        | 40  | 13.88±0.06 <sup>c</sup> | ND                      | ND                      | 8.88±0.16 <sup>b</sup>  | 2.93±0.06 <sup>a</sup>  |
| LaLaO       | 40  | ND                      | ND                      | 1.04±0.03 <sup>b</sup>  | ND                      | ND                      |
| LaMM        | 40  | ND                      | ND                      | 17.36±0.67 <sup>a</sup> | 0.60±0.05 <sup>a</sup>  | 7.15±0.07 <sup>b</sup>  |
| LaLaP       | 40  | ND                      | ND                      | 0.63±0.11 <sup>b</sup>  | ND                      | ND                      |
| LLL         | 42  | 21.41±0.20 <sup>c</sup> | ND                      | ND                      | 15.96±0.27 <sup>b</sup> | 1.09±0.24 <sup>a</sup>  |
| PoLL        | 42  | 6.44±0.48 <sup>c</sup>  | ND                      | ND                      | 4.19±0.09 <sup>b</sup>  | 0.88±0.09 <sup>a</sup>  |
| OLLn        | 42  | 5.87±0.56 <sup>b</sup>  | ND                      | ND                      | 3.77±0.15 <sup>a</sup>  | 7.75±0.05 <sup>c</sup>  |
| LaMO        | 42  | ND                      | ND                      | 2.66±0.27 <sup>b</sup>  | 0.27±0.02 <sup>a</sup>  | 9.62±0.09 <sup>c</sup>  |
| LaMP        | 42  | ND                      | ND                      | 6.13±0.59 <sup>b</sup>  | 0.26±0.04 <sup>a</sup>  | 0.36±0.01 <sup>a</sup>  |
| OLL         | 44  | 15.94±0.20 <sup>d</sup> | 1.45±0.42 <sup>a</sup>  | ND                      | 11.53±0.14 <sup>c</sup> | 3.16±0.18 <sup>b</sup>  |
| PLL         | 44  | 15.6±0.57 <sup>d</sup>  | 5.06±0.82 <sup>a</sup>  | ND                      | 12.56±0.22 <sup>c</sup> | 6.92±0.14 <sup>b</sup>  |
| LaOO        | 44  | ND                      | ND                      | 2.38±0.33 <sup>b</sup>  | 0.65±0.04 <sup>a</sup>  | 3.83±0.45 <sup>c</sup>  |
| LaPO        | 44  | ND                      | ND                      | 2.29±0.54 <sup>b</sup>  | 0.37±0.02 <sup>a</sup>  | 8.36±0.01 <sup>c</sup>  |
| LaPP+MMO    | 44  | ND                      | ND                      | 2.62±0.43 <sup>c</sup>  | 0.20±0.05 <sup>a</sup>  | 0.73±0.07 <sup>b</sup>  |
| MMP         | 44  | ND                      | ND                      | 1.75±0.37 <sup>b</sup>  | ND                      | ND                      |
| OLO         | 46  | 5.54±0.02 <sup>d</sup>  | 3.76±0.28 <sup>b</sup>  | ND                      | 4.85±0.05 <sup>c</sup>  | 2.67±0.14 <sup>a</sup>  |
| PLO/OLP     | 46  | 8.44±0.14 <sup>b</sup>  | 17.85±0.74 <sup>d</sup> | 2.43±0.22 <sup>a</sup>  | 10.05±0.19 <sup>c</sup> | 10.16±0.31 <sup>c</sup> |
| PPL         | 46  | 1.28±0.03 <sup>a</sup>  | 21.64±1.24 <sup>d</sup> | ND                      | 6.46±0.16 <sup>b</sup>  | 9.74±0.32 <sup>c</sup>  |
| POM         | 46  | ND                      | 0.59±0.22 <sup>cd</sup> | 0.72±0.10 <sup>d</sup>  | 0.14±0.01 <sup>ab</sup> | 0.39±0.04 <sup>bc</sup> |
| OOO         | 48  | 2.44±0.13 <sup>c</sup>  | 3.11±0.29 <sup>d</sup>  | 0.37±0.05 <sup>a</sup>  | 1.40±0.29 <sup>b</sup>  | 0.58±0.16 <sup>a</sup>  |
| POO         | 48  | 0.62±0.01 <sup>a</sup>  | 13.98±0.77 <sup>d</sup> | 0.96±0.09 <sup>ab</sup> | 4.59±0.16 <sup>c</sup>  | 1.66±0.04 <sup>b</sup>  |
| POP         | 48  | ND                      | 21.24±0.83 <sup>d</sup> | 0.74±0.07 <sup>a</sup>  | 5.47±0.15 <sup>c</sup>  | 2.16±0.01 <sup>b</sup>  |
| PPP         | 48  | ND                      | 4.53±0.37 <sup>c</sup>  | ND                      | 1.19±0.04 <sup>b</sup>  | 0.43±0.07 <sup>a</sup>  |
| SOO         | 50  | ND                      | 1.78±0.82 <sup>b</sup>  | ND                      | 0.56±0.34 <sup>a</sup>  | 0.44±0.12 <sup>a</sup>  |
| POS         | 50  | ND                      | 4.07±0.92 <sup>b</sup>  | ND                      | 0.67±0.28 <sup>a</sup>  | 0.66±0.04 <sup>a</sup>  |
| PPS         | 50  | ND                      | 0.94±0.03 <sup>b</sup>  | ND                      | 0.32±0.13 <sup>a</sup>  | 0.18±0.03 <sup>a</sup>  |

หมายเหตุ Cp = กรดคาพริก; C = กรดคาพริก; La = กรดลอริก; M = กรดไมริสติก; P = กรดปาล์มติก; Po = กรดปาล์มโตเลอิก; S = กรดสเตียริก; O = กรดโอเลอิก; L = กรดลิโนเลอิก, Ln = กรดลิโนเลนิก \*ND= ตรวจไม่พบค่า

\*\* ECN = Equivalent carbon number = CN - 2DB, เมื่อ CN คือจำนวนคาร์บอนของโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ และ DB คือจำนวนพันธะคู่ที่อยู่ในโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ทั้งหมด

จากตารางที่ 16 แสดงให้เห็นถึงองค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันถั่วเหลือง (SBO), ปาล์มสเตียรีน (PS) มะพร้าวสเตียรีน (CNS) น้ำมันผสมก่อนทำปฏิกิริยา (SBO:PS:CNS) ที่อัตราส่วน 20:50:30 (PB3) และน้ำมันผสมหลังทำปฏิกิริยา (SL3) พบว่าชนิดของไตรกลีเซอไรด์หลักที่พบในน้ำมันถั่วเหลืองคือ LLL (21.4%), OLL (15.9%), PLL (15.6%), LLLn (13.9%), PLO (8.4%) และ OLO (5.5%) ปาล์มสเตียรีนส่วนใหญ่ประกอบด้วย PPL (21.6%), POP (21.2%), PLO (17.9%), POO (14%) และ PPP (4.5%) ในขณะที่มะพร้าวสเตียรีนประกอบด้วย โมเลกุลไตรกลีเซอไรด์สายกลาง (medium-chain triacylglycerol) เช่น LaLaM (19.2%), LaLaLa (17.4%), LaMM (17.4%) และ CLaLa (12.2%) เป็นต้น ไขมันผสมของ SBO, PS และ CNS ประกอบด้วยโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ที่มีขนาดเล็กและใหญ่ หรือมีความแตกต่างกันของมวลโมเลกุลซึ่งสามารถแสดงได้จากค่า ECN (equivalent carbon number) โดยลำดับของค่า ECN จะขึ้นอยู่กับ retention time ดังกล่าวในข้างต้นแล้ว การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของไตรกลีเซอไรด์ด้วยเทคนิค High performance liquid chromatography (HPLC) เป็นกระบวนการพื้นฐานที่ใช้ในการแยกสารโตนอาศัยความสัมพันธ์ระหว่างตัวถูกละลาย (solutes) และของแข็ง (solid) stationary phase และของเหลว จากงานวิจัยนี้มีการใช้ระบบคอลัมน์แบบ reverse phase (RP) ซึ่งคอลัมน์ชนิดนี้สาร support เป็นสาร chemically bonded support กล่าวคือ ถูกยึดด้วย hydrocarbon chain อย่าง octadecyl (C18) ทำให้มีคุณสมบัติ non-polar สารที่เป็น stationary phase จึงเป็นสารที่มีคุณสมบัติ non-polar ในขณะที่ mobile phase มีคุณสมบัติ polar ในที่นี้คือ acetonitrile เมื่อ solute ที่มีคุณสมบัติ non-polar เคลื่อนที่มากับ mobile phase จะเกิดการกระจายตัวได้ใน stationary phase มากกว่าสารที่มีคุณสมบัติ polar จึงเคลื่อนที่ออกจาก column ช้ากว่า จึงจำเป็นต้องใช้ปริมาณสาร acetonitrile มากกว่า acetone นั้นเอง

จากการวิเคราะห์การทดลองสังเกตว่าสัดส่วนของไตรกลีเซอไรด์หลักที่พบในไขมันผสมก่อนทำปฏิกิริยาเอสเตอริฟิเคชันที่อัตราส่วน 20:50:30 (PB3) คือ LLL (16%), PLL (12.6%) และ OLL (11.5%) ในทางกลับกันไตรกลีเซอไรด์หลักที่พบในไขมันผสมหลังทำปฏิกิริยาเอสเตอริฟิเคชัน (SL3) คือ LaMO (9.6%), LaPO (8.4%) และ OLLn (7.8%) จะเห็นว่าหลังจากผ่านการทำปฏิกิริยามีไตรกลีเซอไรด์ในไขมันดัดแปลงโครงสร้างที่มีปริมาณลดลง คือ LLL, PoLL, OLL, PLL, POP และ PPP ในขณะที่ไตรกลีเซอไรด์บางชนิดมีปริมาณเพิ่มขึ้น คือ CCLa, LaLaLa, LaLaM, LaMM, LaMO, OLLn, LaOO

และ LaPO ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นไตรกลีเซอไรด์แบบสายกลาง การเปลี่ยนแปลงปริมาณและชนิดของไตรกลีเซอไรด์ของไขมันและน้ำมันนี้ชี้ให้เห็นว่าเกิดการจัดเรียงตัวใหม่ของหมู่กรดไขมันกับแกนกลีเซอรอลเกิดเป็นไตรกลีเซอไรด์ที่ต้องการ Pande และ Akoh (2013b) รายงานว่ากระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันจะทำให้เกิดการจัดเรียงของโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ใหม่ทำให้ได้โมเลกุลไตรกลีเซอไรด์หลากหลายมากขึ้น จากการเกิดการเปลี่ยนแปลงที่มีความหลากหลายของไตรกลีเซอไรด์มากขึ้นนี้ส่งผลให้เพิ่มการตกผลึกของไขมันดัดแปลงในรูปแบบ  $\beta'$  ซึ่งเป็นรูปแบบผลึกที่ความเหมาะสมสำหรับนำไปผลิตเป็นไขมันเนยเทียม

#### 4.2.3 ค่าไอโอดีน (Iodine Value)

การวิเคราะห์หาค่าไอโอดีนของไขมันและน้ำมันถือว่ามีค่าสำคัญอย่างยิ่งในการอธิบายถึงแนวโน้มของผลการทดลอง อธิบายเหตุและผลของการเปลี่ยนแปลงไปของคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและพฤติกรรมการตกผลึกของไขมันและน้ำมัน เนื่องจากไขมันและน้ำมันจัดเป็นสารชีวโมเลกุลที่มีความหลากหลายและซับซ้อน คุณสมบัติต่างๆ ของไขมันและน้ำมันแต่ละชนิดมีความสัมพันธ์และเชื่อมโยงกันทั้งหมด ดังนั้นการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพจึงถือเป็นหัวใจหลักในการศึกษาองค์ประกอบของไขมัน ค่าไอโอดีน (Iodine number หรือ Iodine value; IN หรือ IV) คือจำนวนกรัมของไอโอดีนที่เข้าไปทำปฏิกิริยากับพันธะคู่ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่เป็นส่วนประกอบในโมเลกุลของไขมันหรือน้ำมัน 100 กรัม ค่า IV เป็นดัชนีบ่งชี้ว่าไขมันหรือน้ำมันนั้นมีองค์ประกอบที่เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวอยู่ในโมเลกุลมากน้อยเพียงใด ถ้าค่า IV สูงแสดงว่ามีปริมาณกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบมาก และจะเกิดการหืนชนิดที่เกิดจากการมีออกซิเจนในปฏิกิริยาได้ง่ายด้วย เช่น น้ำมันพืช หรือน้ำมันที่มีจุดหลอมเหลวต่ำ แต่อย่างไรก็ตามน้ำมันพืชที่มีค่า IV สูงซึ่งแสดงว่ามีปริมาณไขมันชนิดไม่อิ่มตัวอยู่เป็นปริมาณมากนั้น อาจเป็นตัวชี้บ่งคุณค่าทางโภชนาการของไขมัน หรือน้ำมันชนิดนั้นๆ ได้ด้วย เนื่องจากน้ำมันที่มีค่า IV สูงจะมีคุณค่าทางโภชนาการสูงจากการที่มีปริมาณของกรดไขมันจำเป็น ซึ่งเป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวมากด้วย การหาค่าไอโอดีนทำได้หลายวิธี เช่น งานวิจัยนี้ใช้วิธีวิจ (Wijs Method) เป็นการใช้รีเอเจนต์ที่เป็นสารละลายไอโอดีนโมโนคลอไรด์ในสารละลายผสมของกรดอะซิติกและคาร์บอนเตตระคลอไรด์ จากผลการทดลองวิเคราะห์หาปริมาณค่า IV ในตัวอย่างไขมันต่างๆ ดังตารางที่ 16 พบว่า น้ำมันถั่วเหลืองมีค่าไอโอดีนเท่ากับ  $81.71 \pm 3.20$  ปาล์มสเตียร์นมีค่าไอโอดีนเท่ากับ  $29.39 \pm 1.37$  และน้ำมันมะพร้าวที่ผ่านการแยกส่วนตกผลึกส่วนแข็งหรือมะพร้าวสเตียร์นมีค่าไอโอดีนเท่ากับ  $2.91 \pm 0.46$  จะเห็นว่าน้ำมันถั่วเหลืองมีค่าไอโอดีนที่ค่อนข้างสูงเนื่องจากมีไขมันชนิดไม่อิ่มตัวอยู่มาก ในขณะที่เดียวกัน ปาล์มสเตียร์นและมะพร้าวสเตียร์นมีค่าไอโอดีนที่ค่อนข้าง

ต่ำเพราะมีองค์ประกอบเป็นไขมันชนิดอิ่มตัวที่มากกว่าน้ำมันถั่วเหลือง โดยไขมันและน้ำมันใดๆ ที่มีค่าไอโอดีนต่ำกว่า 65 กรัมไอโอดีนต่อ 100 กรัม ถือว่าจัดอยู่ในไขมันที่ระดับความอิ่มตัวสูง (Tan และ Man, 2002) เมื่อพิจารณาผลของการวิเคราะห์ปริมาณค่าไอโอดีนของน้ำมันตั้งต้นเปรียบเทียบกับน้ำมันผสมจะเห็นได้ว่าปริมาณค่าไอโอดีนมีค่าค่อนข้างใกล้เคียงกันในทุกๆ ตัวอย่างน้ำมันผสม โดยอยู่ในช่วง 12.76-21.54 ซึ่งมีค่าไอโอดีนใกล้เคียงปาล์มสเตียรีน และมีค่าน้อยลงกว่าค่า IV ในน้ำมันถั่วเหลืองมาก ซึ่งให้เห็นว่าน้ำมันผสมที่ประกอบด้วยไขมันสามชนิดที่มีคุณสมบัติทางเคมีกายภาพค่อนข้างต่างกัน เมื่อนำมาผสมกันจึงทำให้ได้ไขมันชนิดใหม่ที่มีคุณสมบัติทางเคมีกายภาพต่างไปจากเดิมได้ โดยมีความเป็นไขมันอิ่มตัวมากขึ้นเมื่อเทียบกับน้ำมันถั่วเหลือง และมีไขมันชนิดไม่อิ่มตัวมากขึ้นเมื่อเทียบกับมะพร้าวสเตียรีน ดังนั้นจึงส่งผลต่อคุณสมบัติในด้านอื่นๆ ตามมาด้วยเช่น พฤติกรรมการตกผลึก ส่งผลต่อรูปแบบโครงสร้างผลึก ส่งผลต่อคุณลักษณะปรากฏทางกายภาพที่สังเกตได้ง่ายๆ เช่น ความอ่อนแข็งของไขมันผสมหรือการหลอมละลายเป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้อง เป็นต้น เมื่อเปรียบเทียบน้ำมันผสมก่อนทำปฏิกิริยาและหลังทำปฏิกิริยาจะเห็นว่า ค่า IV มีค่าสูงขึ้นในเกือบทุกๆ ตัวอย่าง อยู่ในช่วง 16.06-24.75 แสดงให้เห็นว่าไขมันผสมหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอร์ิฟิเคชัน มีความไม่อิ่มตัวเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ซึ่งค่า IV ที่มากกว่าไขมันผสมที่ไม่ผ่านการทำปฏิกิริยานี้ชี้ให้เห็นว่าไขมันมีความอ่อนตัวมากกว่าหรือเหลวกว่าที่อุณหภูมิเดียวกัน ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองด้านการวิเคราะห์ปริมาณการเป็นของแข็งของผลึกไขมัน (SFC) ดังที่จะกล่าวต่อไปในหัวข้อ 4.2.5

จุดหลอมเหลวของกรดไขมันชนิดอิ่มตัวจะเพิ่มขึ้นตามความยาวของสายโซ่ไฮโดรคาร์บอนหรือเพิ่มขึ้นตามจำนวนอะตอมคาร์บอน ส่วนกรดไขมันไม่อิ่มตัวจะมีจุดเดือดและจุดหลอมเหลวต่ำกว่าของกรดไขมันอิ่มตัวที่มีจำนวนอะตอมคาร์บอนเท่ากัน เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีจำนวนคาร์บอนเท่ากันแต่มีพันธะคู่ต่างกัน จะพบว่ากรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่มากกว่าจะมีจุดหลอมเหลวต่ำกว่า ดังเช่น Gerhard (2002) กล่าวว่าค่าไอโอดีนจะขึ้นกับมวลโมเลกุล และจำนวนพันธะคู่ของกรดไขมันแต่ถ้าเป็นการผสมกันของกรดไขมันหลายชนิด ปริมาณกรดไขมันแต่ละชนิดจะส่งผลต่อค่าไอโอดีนเช่นกัน โดยถ้ามวลโมเลกุลของกรดไขมันไม่อิ่มตัวนั้นมากจะทำให้ได้ค่าไอโอดีนต่ำในทางกลับกันถ้ามีจำนวนพันธะคู่มากและปริมาณสูงค่าไอโอดีนของน้ำมันหรือไขมันจะสูงตามไปด้วย ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 17 จะเห็นว่าน้ำมันถั่วเหลืองประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงมาก โดยมีกรดโอเลอิก (C18:1) 23.17 % และกรดลิโนเลอิก (C18:2) มากถึง 51.94 % ส่วนปาล์มสเตียรีน ประกอบด้วยกรดปาล์มิติก (C16:0) มากถึง 59.4 % ซึ่งเป็นกรดไขมันอิ่มตัว แต่

ก็มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวคือกรดโอเลอิกอยู่ถึง 27.85 % และกรดลิโนเลอิกอีก 4.53 % ดังนั้นจึงมีผลให้ค่าไอโอดีนของปาล์มสเตียรีนสูงกว่ามะพร้าวสเตียรีน เนื่องจากมะพร้าวสเตียรีนประกอบด้วยกรดไขมันอิ่มตัวเป็นส่วนใหญ่ ในด้านของไขมันผสมจะพบปริมาณของกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวขึ้นกับอัตราส่วนของไขมันตั้งต้นที่อาจลดล้นกันไปตามลำดับ

ตารางที่ 17 ค่า Iodine value (wijs) น้ำมันตั้งต้นและน้ำมันผสมของน้ำมันถั่วเหลือง (SBO), ปาล์มสเตียรีน (PS) และมะพร้าวสเตียรีน (CNS) ก่อนและหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชัน (IE)

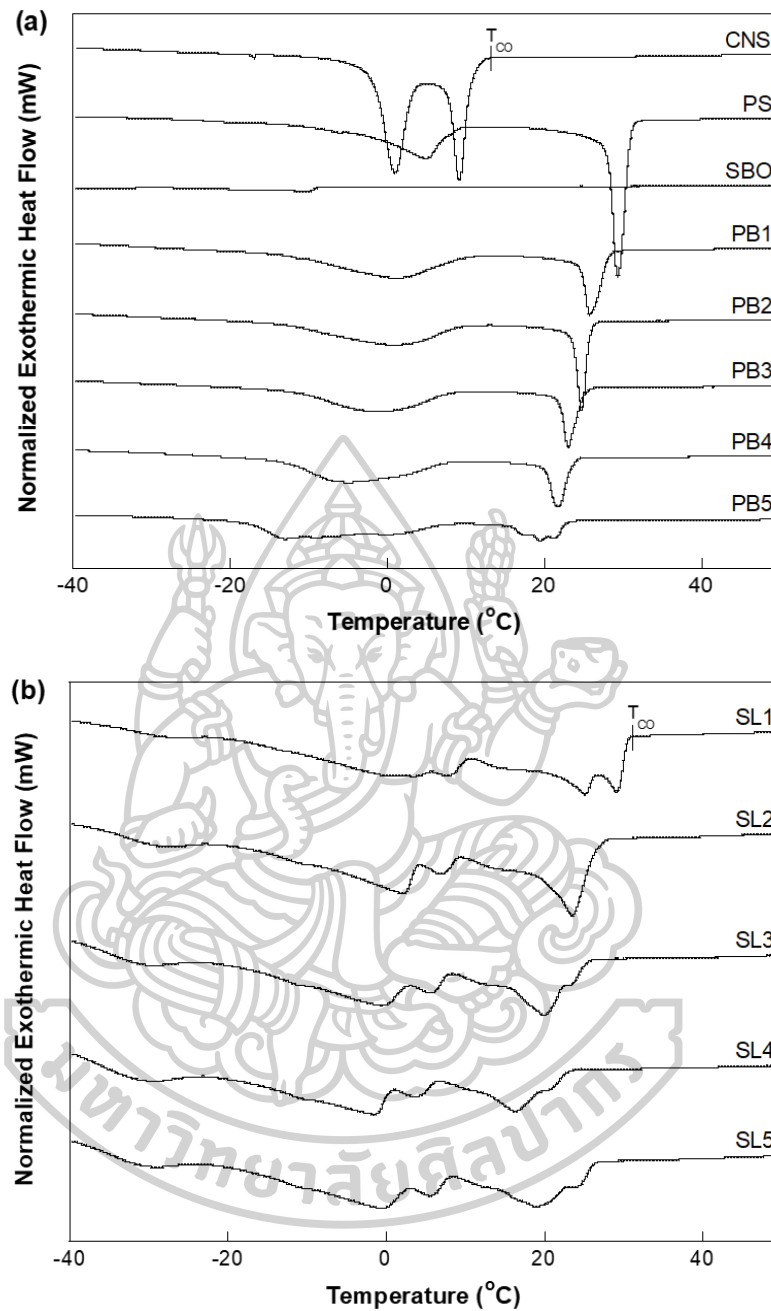
| Fat blends       | Iodine value (wijs)     |                         |
|------------------|-------------------------|-------------------------|
|                  | Before IE               | After IE                |
| SBO:PS:CNS (w/w) |                         |                         |
| 00:70:30         | 12.76±1.08 <sup>a</sup> | 16.06±1.29 <sup>b</sup> |
| 10:60:30         | 15.59±0.25 <sup>a</sup> | 16.22±3.22 <sup>a</sup> |
| 20:50:30         | 20.31±0.00 <sup>a</sup> | 18.97±2.17 <sup>a</sup> |
| 30:40:30         | 19.01±0.41 <sup>a</sup> | 20.25±2.48 <sup>a</sup> |
| 40:30:30         | 21.54±0.45 <sup>a</sup> | 24.75±1.56 <sup>b</sup> |
| SBO              | 81.71±3.20              | -                       |
| PS               | 29.39±1.37              | -                       |
| CNS              | 2.91±0.46               | -                       |

หมายเหตุ \* ตัวอักษร a, b หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลที่อยู่ในแถวเดียวกันที่มีตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

#### 4.2.4 อุณหภูมิในการหลอมเหลว การตกผลึก และพลังงานที่เกี่ยวข้อง

คุณสมบัติการตกผลึกของน้ำมันตั้งต้น น้ำมันผสม และน้ำมันผสมหลังทำปฏิกิริยาได้แสดงในภาพที่ 19a และ 19b ตามลำดับ มีอุณหภูมิที่เริ่มตกผลึก (Crystallization onset temperature:  $T_{co}$ ) ของมะพร้าวสเตียรีน ปาล์มสเตียรีน และน้ำมันถั่วเหลือง คือ 12.5, 32.0 และ -10.0 °C ตามลำดับ และการตกผลึกในแต่ละตัวอย่างจะลดหลั่นกันตามอัตราส่วนที่ประกอบด้วยปาล์มสเตียรีนมากกว่าจึงเริ่มเกิดช่วงการตกผลึกก่อน จากกราฟของมะพร้าวสเตียรีนแสดงพีคของการตกผลึก 2 พีคที่ 1.16 และ 9.23 °C ซึ่งชี้ให้เห็นว่ามะพร้าวสเตียรีนมีชนิดของกลุ่มไตรกลีเซอไรด์ที่มีอุณหภูมิตกผลึกที่อุณหภูมิต่างกัน ซึ่งบ่งบอกถึงการมีชนิดของไตรกลีเซอไรด์ที่หลอมเหลวที่อุณหภูมิต่ำและอุณหภูมิสูงตามลำดับ ส่วนปาล์มสเตียรีนแสดงลักษณะกราฟของการตกผลึกเป็นแบบพีคแหลมเด่นชัด และมี  $T_{peak}$  (อุณหภูมิที่ไขมันส่วนใหญ่เกิดการหลอมละลายหรือตกผลึก) ของการตกผลึกสูงสุดที่ 29.57 °C ในขณะที่ SBO มีพีคของการตกผลึกเล็กมากอยู่ที่ -11.95 °C เมื่อเปรียบเทียบไขมันผสมก่อนและหลังทำปฏิกิริยาจะเห็นว่า ช่วงการตกผลึกของไขมันผสมก่อนทำปฏิกิริยาจะมีลักษณะเป็นพีคแหลมเนื่องจากความเป็นผลึกจากการมีไตรกลีเซอไรด์ชนิดที่ไม่หลากหลายเป็นหลัก กล่าวคือมีชนิดของไตรกลีเซอไรด์เป็นกลุ่มที่เกิดการตกผลึกที่อุณหภูมิช่วงแคบหรือช่วงเดียวกัน ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของไตรกลีเซอไรด์ ในขณะที่การตกผลึกของไขมันผสมหลังทำปฏิกิริยาจะมีลักษณะช่วงการตกผลึกกว้างกว่าและเป็นพีคแบบที่มีความแหลมคมน้อยลง ทั้งนี้เนื่องจากความหลากหลายของโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ที่ต่างกันมากขึ้น จุดที่เกิดพีคของการตกผลึกจึงมากขึ้นด้วย ซึ่งส่งผลต่อพฤติกรรมตกผลึกและการหลอมเหลวที่เปลี่ยนแปลงไป (Lee และคณะ, 2008)



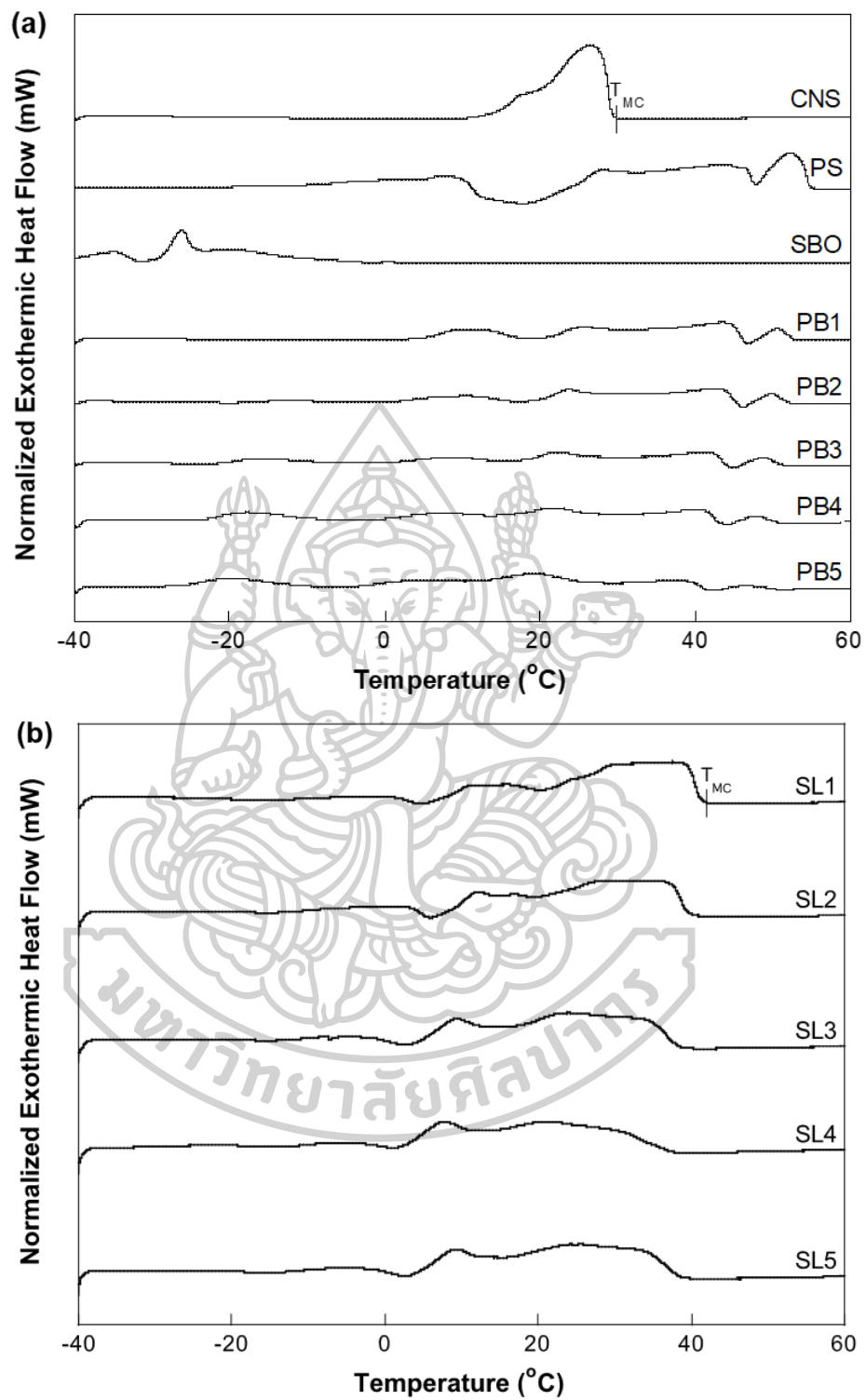


ภาพที่ 19 เทอร์โมแกรมของการตกผลึกของน้ำมันตั้งต้น น้ำมันผสม (a) และน้ำมันผสมหลังทำปฏิกิริยา (b)

คุณสมบัติการหลอมเหลวของน้ำมันตั้งต้น น้ำมันผสมก่อนทำปฏิกิริยาและหลังทำปฏิกิริยาได้แสดงในภาพที่ 20a และ 20b ตามลำดับ คุณสมบัติของการหลอมเหลวของไขมันพลาสติก เช่นเนยเทียม มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการปลดปล่อยกลิ่นรสและการยอมรับของผู้บริโภค ไขมันและน้ำมันจะไม่มีจุดหลอมเหลวเพียงจุดใดจุดหนึ่งแต่จะระบุเป็นช่วงของการหลอมเหลวแทน เช่นช่วงอุณหภูมิ

ตั้งแต่เริ่มหลอมเหลวไปจนถึงหลอมเหลวหมดเนื่องจากความแตกต่างของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบอยู่ (Pande และคณะ, 2013) ทั้งนี้อุณหภูมิการหลอมเหลวสมบูรณ์ (The melting completion temperature,  $T_{MC}$ ) ยังขึ้นกับจำนวนและชนิดของโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ที่ประกอบด้วยกรดไขมันที่ต่างชนิดกันจึงมีผลต่อคุณสมบัติการหลอมเหลวและตกผลึกต่างกัน จากภาพที่ 20a จะเห็นว่า  $T_{MC}$  ของ CNS, PS, SBO, PB1, PB2, PB3, PB4 และ PB5 คือ 30.55, 55.98, -2.18, 54.21, 53.25, 52.25, 51.69 และ 48.57 °C ตามลำดับ ในขณะที่  $T_{MC}$  ของไขมันผสมที่ผ่านการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันนั้นคือ SL1, SL2, SL3, SL4 และ SL5 เท่ากับ 43.39, 40.62, 40.79, 37.12 และ 32.94 °C ตามลำดับ (ภาพที่ 20b)

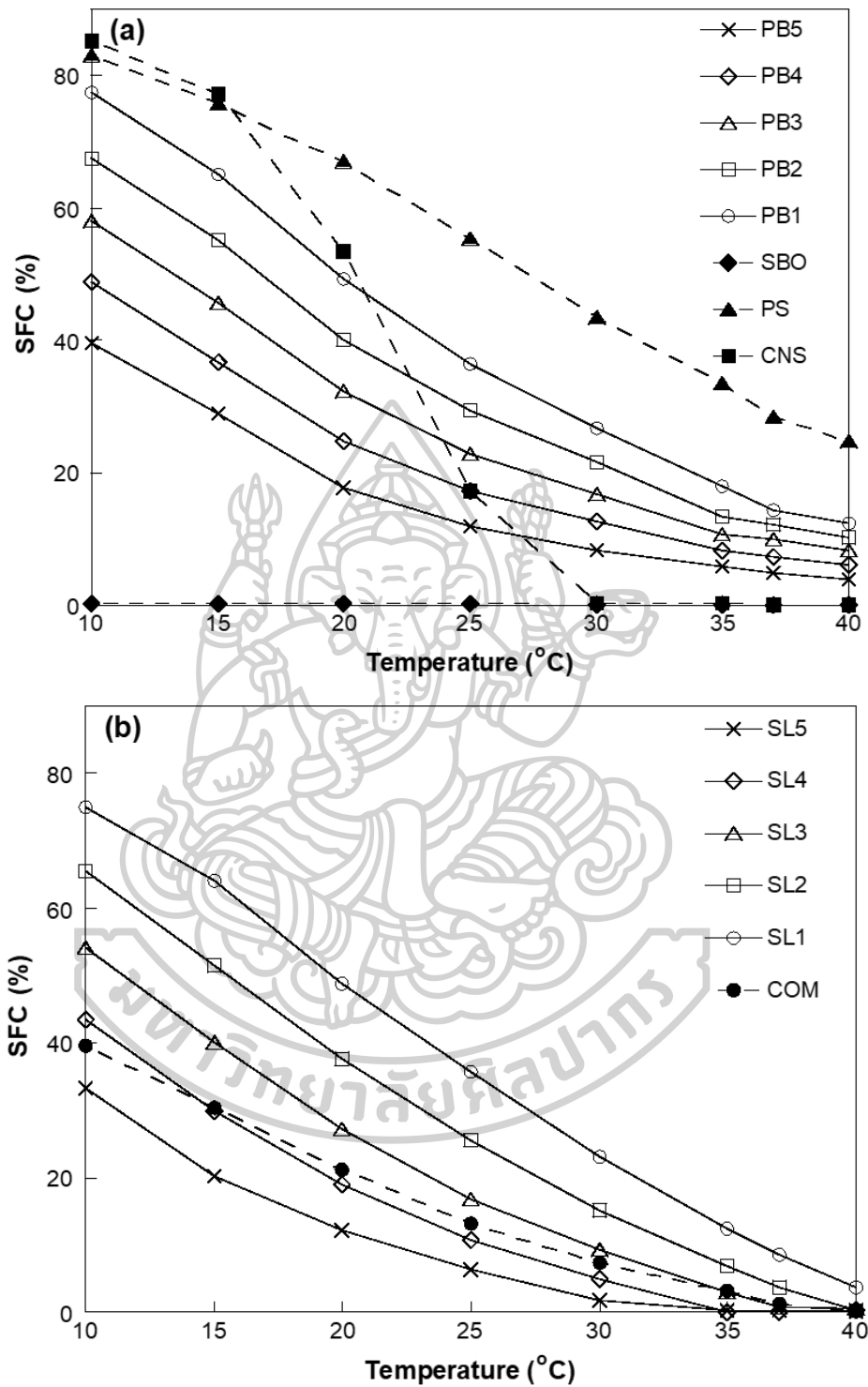
จะเห็นว่าหลังการทำปฏิกิริยาแล้วอุณหภูมิหลอมเหลวสุดท้ายจะลดต่ำลงมากกว่าน้ำมันผสมในทุกอัตราส่วน กล่าวคือการทำปฏิกิริยาจะส่งผลให้จุดหลอมเหลวของไขมันพลาสติกต่ำลง เพราะการทำปฏิกิริยาจะทำให้เกิดโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ตัวใหม่ที่มากขึ้น มีความหลากหลายของไตรกลีเซอไรด์ เนื่องจากไตรกลีเซอไรด์ชนิด UUU (triunsaturated), SUU (monosaturated-diunsaturated) มากกว่า และมีไตรกลีเซอไรด์ชนิด SSS (trisaturated) และ SSU (disaturated-monounsaturated) อยู่น้อยกว่าน้ำมันผสมที่ไม่ผ่านการทำปฏิกิริยาซึ่งจะมีไตรกลีเซอไรด์ที่มีจุดหลอมเหลวสูงประกอบอยู่ จึงทำให้การหลอมละลายหมดที่อุณหภูมิต่ำกว่า นอกจากนี้ยังพบว่ามีการเกิดไตรกลีเซอไรด์ตัวใหม่อีกด้วย น้ำมันถั่วเหลืองประกอบด้วยกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูงมาก แบ่งเป็นทั้งไตรกลีเซอไรด์ชนิด SUU และ UUU จึงมีผลทำให้มี  $T_{MC}$  น้อยที่สุด (-2.18 °C) ในทางตรงกันข้ามปาล์มสเตียรีนมีค่า  $T_{MC}$  มากที่สุด ดังนั้นการปรับปรุงคุณสมบัติของไขมันด้านการหลอมเหลวด้วยวิธีอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันแบบใช้เอนไซม์จึงสามารถช่วยลดจุดหลอมเหลวของไขมันผสม จาก 48.57-54.21 °C ลงมาได้ถึง 32.94-43.39 °C ทำให้ได้ไขมันพลาสติกที่มีคุณสมบัติเหมาะสมและดีขึ้น



ภาพที่ 20 เทอร์โมแกรมของการหลอมเหลวของน้ำมันตั้งต้น, น้ำมันผสม (a) และน้ำมันผสมหลังทำปฏิกิริยา (b)

#### 4.2.5 ค่าเปอร์เซ็นต์การเป็นของแข็งในรูปผลึก

ค่าเปอร์เซ็นต์การเป็นของแข็งในรูปผลึก (SFC) ถือเป็นพารามิเตอร์สำคัญยิ่งสำหรับการผลิตไขมันพลาสติก เนื่องจาก SFC จะมีผลกับความคงตัวที่อุณหภูมิห้อง ความสามารถในการละลายที่อุณหภูมิร่างกาย ความสามารถในการปาดเกลี่ย ลักษณะเนื้อสัมผัส และลักษณะ mouthfeel ในปาก (Ribeiro และคณะ, 2009) ค่า SFC ของน้ำมันผสมและน้ำมันผสมที่ผ่านการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันได้แสดงดังภาพที่ 21a และ 21b ตามลำดับ โดยที่อุณหภูมิ 25 °C ค่า SFC ของ CNS, PS, SBO, PB1, PB2, PB3, PB4 และ PB5 คือ 16.99, 56.33, 0.30, 35.39, 28.8, 26.65, 17.05 และ 11.75 % ตามลำดับ และ สำหรับ SL1, SL2, SL3, SL4 และ SL5 เท่ากับ 32.96, 23.52, 15.74, 9.92 และ 5.24 % ตามลำดับ จากงานวิจัยของ Rao และคณะ (2001) รายงานว่าที่อุณหภูมิ 25 °C SFC ควร มีค่าอยู่ที่ 15-35 % จึงจะเหมาะสมต่อความสามารถในการปาดเกลี่ย และเนื้อสัมผัสที่ดี อีกทั้งที่ อุณหภูมิ 20 °C ควร มีค่า SFC มากกว่า 10% เพื่อป้องกันการเกิดการแยกชั้นของน้ำมัน ซึ่งในทุก ตัวอย่างของการทดลองมีค่า SFC มากกว่า 10% ยกเว้น SL5 ที่มีค่า SFC 10% พอดี อีกทั้งเพื่อเป็นการ ป้องกันการเกิดลักษณะเป็นไขในปากของไขมันพลาสติก ควร มีค่า SFC ต่ำกว่า 3.5% ที่อุณหภูมิ 33.3 °C (Karabulut และคณะ, 2004) และจากการทดลองของ Khatoon (2000) รายงานว่าเนยเทียมที่ได้ จากการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันแบบใช้เอนไซม์ที่เตรียมจากปาล์มสเตียรีนและน้ำมันพืชชนิดอื่นจะมี ค่า SFC ประมาณ 3.3 % ที่อุณหภูมิ 35 °C ซึ่งจากการทดลองจะเห็นว่า SL ที่ได้ในงานวิจัยนี้จะมีช่วง การหลอมเหลวที่แคบลง ในขณะที่ PB แสดงช่วงของการหลอมเหลวกว้าง ซึ่งสอดคล้องกับการ ทดลองของ Khatoon และคณะ (2012) ซึ่งทำการผลิตไขมันเนยเทียมจากปาล์มสเตียรีนและ มะพร้าวสเตียรีน (75:25) โดยกระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันแบบใช้เอนไซม์ที่สามารถ หลอมเหลวได้เกือบหมดที่อุณหภูมิร่างกายหรือ 37 °C จากภาพที่ 21(b) SL3 SL4 และ SL5 ที่มีค่า SFC น้อยกว่า 3.5% ที่อุณหภูมิมากกว่า 33.3 °C แสดงว่าจะไม่ทำให้เกิดความรู้สึกเป็นไขเมื่อรับประทาน ในขณะที่น้ำมันผสมที่ไม่ผ่านการทำปฏิกิริยาจะมีช่วงการหลอมเหลวก่อนข้างกว้าง และจะหลอม ละลายหมดได้ที่อุณหภูมิสูงมากกว่า 45 °C



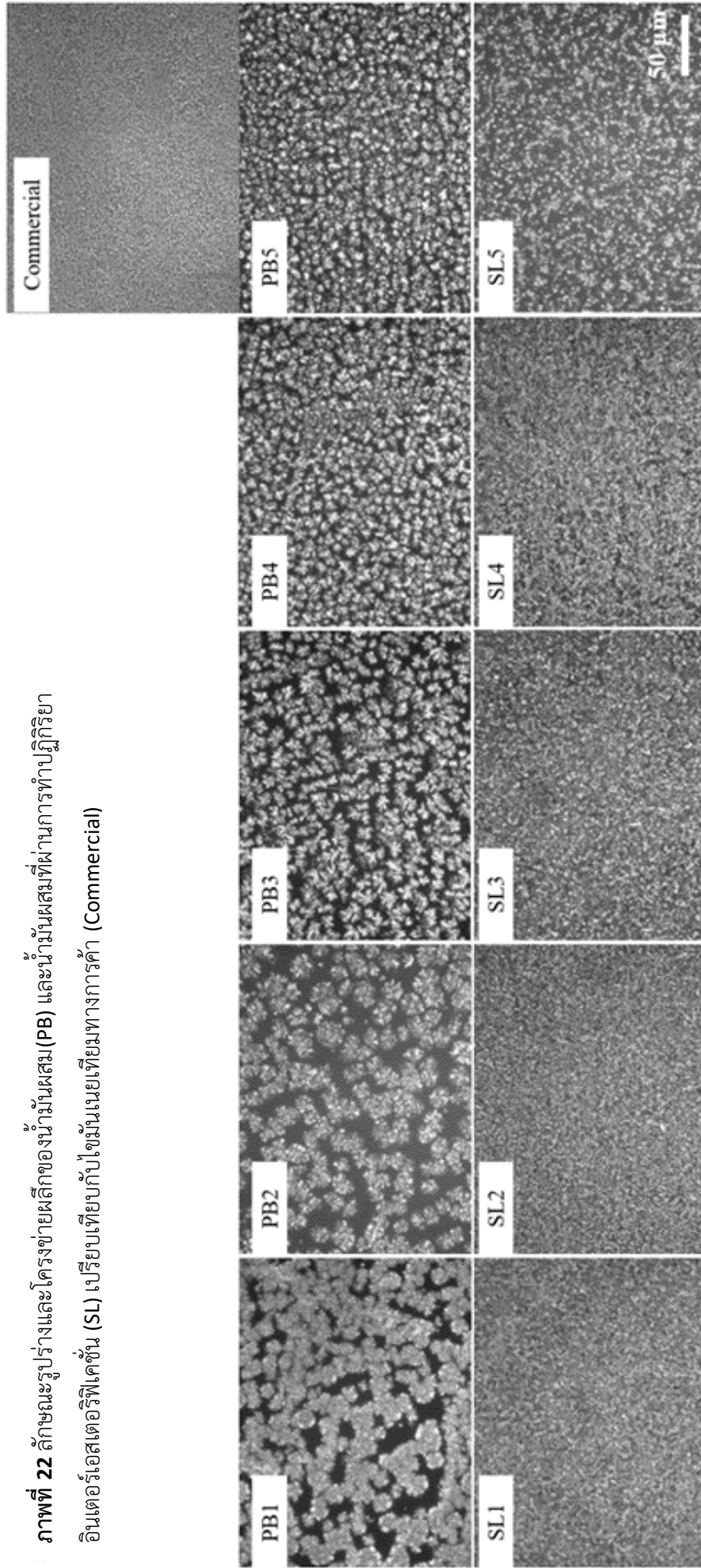
ภาพที่ 21 ปริมาณ solid fat content (%SFC) ของน้ำมันตั้งต้นและน้ำมันผสม (a) และน้ำมันผสมหลังทำปฏิกิริยาอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชัน (b)

จากภาพที่ 21(b) เมื่อเปรียบเทียบลักษณะการเปลี่ยนแปลงกราฟ SFC ที่ช่วงอุณหภูมิต่างๆ ของไขมันดัดแปลงโครงสร้างจากกระบวนการทำปฏิกิริยาอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชันกับไขมันเนยเทียมทางการค้า (COM) จะเห็นว่าลักษณะของกราฟ SFC ตัวอย่าง COM มีลักษณะคล้ายกับ SL4 ในช่วงอุณหภูมิต่ำ 10-30 °C แต่เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ค่า SFC ของ SL4 จะมีค่าลดต่ำลงไปมากจนเป็นศูนย์ที่อุณหภูมิ 35 °C กล่าวคือไขมันที่ได้จะหลอมละลายเป็นของเหลวหมด ทำให้ได้ไขมันที่มีความอ่อนตัวเกินไป ซึ่งไม่สามารถเป็นไขมันพลาสติกที่อุณหภูมิห้องในสภาพแวดล้อมของไทย ในขณะเดียวกันเมื่อเปรียบเทียบกราฟ SFC ตัวอย่าง COM กับ SL3 จะเห็นว่าค่า SFC ในช่วงอุณหภูมิห้องมีค่าใกล้เคียงกันมากที่สุดเมื่อเทียบกับตัวอย่างอื่น ดังนั้นไขมัน SL3 จึงมีคุณสมบัติที่เหมาะสมกับการผลิตเป็นไขมันเนยเทียมมากที่สุด

#### 4.2.6 ลักษณะรูปร่างผลึก (Morphology)

ภาพที่ 22 แสดงลักษณะรูปร่างและโครงข่ายผลึกของน้ำมันผสม และน้ำมันผสมที่ผ่านการทำปฏิกิริยาอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชัน ที่อัตราส่วนต่างๆ ผลึกคือองค์ประกอบหลักของโครงสร้างของไขมันพลาสติกที่สามารถศึกษาได้โดยใช้PLM โดยโครงข่ายของการเกิดผลึก จำนวน และลักษณะรูปร่างผลึกถือว่ามีผลต่อคุณสมบัติของไขมันพลาสติกที่ต่างกัน เช่น ความสามารถในการปาดเกลี่ย การหลอมเหลว mouthfeel เป็นต้น (Ribeiro และคณะ, 2009) โดยส่วนผลึกคือบริเวณสว่างสีขาว และส่วนของเหลวคือบริเวณสีทึบดำ โดยขนาดของผลึกที่เล็กกว่าจะทำให้เกิดความเรียบเนียนของเนื้อสัมผัสหรือ mouthfeel มากกว่าผลึกขนาดใหญ่ ซึ่งจะทำให้ความรู้สึกเม็ดทรายในลิ้น (Pande และคณะ, 2013) จากการทดลองจะเห็นว่า กระบวนการอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชันสามารถช่วยปรับปรุงคุณลักษณะของขนาดผลึกโดยผลึกที่ได้จะมีขนาดเล็กลงอย่างเห็นได้ชัดในทุกตัวอย่างที่ผ่านการทำปฏิกิริยา และมีการกระจายของผลึกอย่างสม่ำเสมอเท่าๆ กัน ในขณะที่น้ำมันผสมที่ไม่ผ่านการทำปฏิกิริยาจะมีผลึกขนาดค่อนข้างใหญ่ตามลำดับของอัตราส่วนปริมาณปาล์มสเตอรินที่เพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับไขมันเนยเทียมทางการค้าจะเห็นว่า ไขมันที่ผ่านการทำปฏิกิริยาอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชัน (SL) ในทุกๆ ตัวอย่าง ยกเว้นตัวอย่าง SL5 มีลักษณะรูปร่างผลึกคล้ายกับไขมันเนยเทียมทางการค้าโดยมีลักษณะผลึกทรงกลมขนาดเล็กคล้ายรูปเข็มกระจายตัวแบบชิดกันอย่างสม่ำเสมอ ซึ่งจะส่งผลต่อความเรียบเนียนของผลิตภัณฑ์เนยเทียมที่ดี

ภาพที่ 22 ลักษณะรูปร่างและโครงสร้างผลึกของน้ำมันผสม (PB) และน้ำมันผสมที่ผ่านการทำปฏิกิริยาอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชัน (SL) เปรียบเทียบกับไขมันเนยเทียมทางการค้า (Commercial)

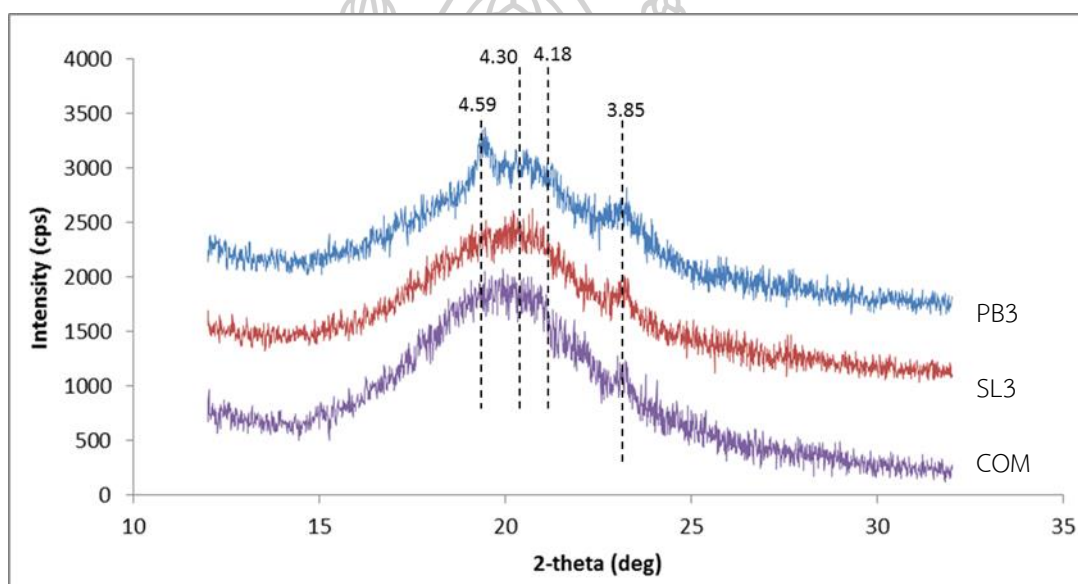


#### 4.2.7 โครงสร้างผลึก (Crystal polymorphism)

สารบางชนิดสามารถตกผลึกได้หลายโครงสร้างผลึก (crystallographic structure) ขึ้นอยู่กับสภาวะของปัจจัยต่างๆ ที่ควบคุมการตกผลึก ความสามารถในการตกผลึกได้หลายโครงสร้างนี้เรียกว่า polymorphism โดยแต่ละโครงสร้างจะมีคุณสมบัติทางกายภาพ เช่น จุดหลอมเหลว ความหนาแน่น และความแข็งที่แตกต่างกัน (Sato, 2001) รูปแบบของผลึกคือปัจจัยสำคัญหรือเป็นปัจจัยหลักที่ใช้เป็นเกณฑ์ในการเลือกคุณสมบัติทางหน้าที่ของไขมันเนยเทียมที่ซึ่งส่งผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพและกระบวนการผลิตของผลิตภัณฑ์สุดท้าย (Ribeiro และคณะ, 2009) จากการศึกษาารูปแบบของผลึกแต่ละชนิดจะอาศัย X-ray diffraction เป็นเครื่องมือ polymorphism form หรือรูปแบบโครงข่ายของการเป็นผลึกไขมันมีหลายรูปแบบ คือรูปแบบ  $\alpha$  (hexagonal),  $\beta'$  (orthorhombic), และ  $\beta$  (triclinic) โดยแต่ละโครงสร้างมีลักษณะการจัดเรียงตัวของโมเลกุลที่แตกต่างกันไปดังกล่าวในบทที่ 2 โดยแต่ละรูปแบบจะให้ค่า shorting-spacing ซึ่งเป็นค่าแสดงระยะห่างในการจัดเรียงตัวของโมเลกุลในภาคหน้าตัดขวางที่แตกต่างกันทำให้สามารถบอกชนิดรูปแบบของผลึกได้ ผลึก  $\alpha$  จะมีความเสถียรน้อยที่สุด มีโครงสร้างพื้นฐานของผลึก หรือ unit cell เป็นแบบ hexagonal นั่นคือมีการจัดเรียงตัวของสายกรดไขมัน (fatty acid chain) เป็นเส้นตรงและขนานกันไปในทิศทางที่ตั้งฉากกับระนาบเมทิล (methyl end plane) ที่อยู่ตำแหน่งหัวและท้ายของโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ โครงสร้างแบบนี้มีความเสถียรน้อยเนื่องจากสายของกรดไขมันมีการจับตัวกันแบบหลวมๆ มีจุดหลอมเหลวต่ำที่สุดและมีค่า short-spacing ที่ 4.15 Å ส่วนโครงสร้างผลึกแบบ  $\beta'$  มีโครงสร้างพื้นฐานของผลึกเป็นแบบ orthorhombic perpendicular โดยสายของกรดไขมันจะมีการทำมุมเอียงกับ ระนาบเมทิล ซึ่งจะทำให้การจัดเรียงตัวของโมเลกุลทำได้อย่างแน่นหนาขึ้น โครงสร้างแบบ  $\beta'$  จึงมีความเสถียรมากกว่าโครงสร้างแบบ  $\alpha$  รวมทั้งมีจุดหลอมเหลวและความหนาแน่นสูงกว่า ให้ค่า short-spacings ที่ 3.80 Å และ 4.20 Å หรือที่ 4.27 Å, 3.97 Å, และ 3.71 Å สุดท้ายโครงสร้างผลึกแบบ  $\beta$  เป็นโครงสร้างที่มีความเสถียรมากที่สุด และมีจุดหลอมเหลวสูงที่สุด มีค่า short-spacings ที่ 4.60 Å (Solís-Fuentes และคณะ, 2005) โครงสร้างพื้นฐานของผลึกเป็นแบบ triclinic parallel โดยสายกรดไขมันของโครงสร้างนี้มีการทำมุมเอียงกับระนาบเมทิลมากกว่าเมื่อเทียบกับโครงสร้าง  $\beta'$  โดยผลึกในรูปแบบ  $\beta$  จะมีแนวโน้มที่จะเกิดผลึกขนาดใหญ่ มีลักษณะเป็นแผ่น (plate-like) ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ไม่ดีต่อไขมันเนยเทียม Zhao และคณะ (2014) รายงานว่าผลึกรูปแบบ  $\beta'$  จะเพิ่มมากขึ้น ในขณะที่ผลึกรูปแบบ  $\beta$  จะลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณของปาล์มสเตอรินในกระบวนการดัดแปลงไขมันด้วยวิธีอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชัน โดยทั่วไป



แล้วน้ำมันจะตกผลึกลงในโครงสร้างแบบ  $\alpha$  ได้ง่ายที่สุด เนื่องจากใช้พลังงานในการตกผลึกน้อยที่สุด ขณะที่  $\beta'$  จะตกผลึกได้ยากกว่า  $\alpha$  เนื่องจากใช้พลังงานมากกว่าในการตกผลึก ส่วนโครงสร้างแบบ  $\beta$  ใช้พลังงานในการตกผลึกสูงที่สุดจึงตกผลึกยากที่สุด การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของผลึกไขมันจะเกิดขึ้นตามเวลา โดยเปลี่ยนจากโครงสร้างที่มีความเสถียรน้อยไปมาก โครงสร้างผลึกแบบ  $\beta'$  คือโครงสร้างที่เหมาะสมที่สุดต่อคุณสมบัติการปลดปล่อยของไขมันเนยเทียม เป็นผลึกเล็กๆ ให้ความรู้สึก mouth-feel ที่ดีในปากเมื่อบริโภค ในทางตรงกันข้ามหากเกิดผลึกรูปแบบ  $\beta$  ซึ่งเมื่อศึกษารูปร่างผลึกดังกล่าวไปแล้วจะเห็นผลึกขนาดใหญ่ ให้ความรู้สึกไม่เรียบเนียนและการเป็นเนื้อทรายๆ เมื่อบริโภคได้ (Adhikari และ Hu, 2012a)



ภาพที่ 23 ค่า short-spacing จาก X-ray diffraction ของน้ำมันผสม (PB3) และน้ำมันผสมที่ผ่านการทำปฏิกิริยา (SL3) ของน้ำมันถั่วเหลือง:ปาล์มสเตียริน:มะพร้าวสเตียรินที่อัตราส่วน 20:50:30 เทียบกับมาการีนทางการค้า (COM)

จากการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพในด้านต่างๆ เพื่อคัดเลือกสูตรตัวอย่างไขมันดัดแปลงโครงสร้างที่มีความเหมาะสมต่อการนำไปผลิตไขมันเนยเทียมมากที่สุด โดยคุณสมบัติในหลายๆ ด้านชี้ให้เห็นชัดว่าตัวอย่างไขมัน SL3 มีความเหมาะสมต่อการเป็นไขมันพลาสติก ซึ่งจะส่งผลต่อความสามารถในการปลดปล่อยและความคงตัวของไขมันเนยเทียม อีกทั้ง SL3 มีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับไขมันเนยเทียมทางการค้ามากที่สุดจากการทดลองข้างต้นที่ได้กล่าวมาแล้ว ดังนั้นเพื่อเป็นการ

สนับสนุนผลการทดลองเพื่อคัดเลือกสูตรไขมันเนยเทียมปราศจากไขมันทรานส์ที่เหมาะสมที่สุด จากกราฟภาพที่ 23 แสดงให้เห็นว่าน้ำมันผสมที่ผ่านการทำปฏิกิริยา SL3 (20:50:30; SBO:PS:CNS) จะมีผลึกส่วนใหญ่อยู่ในรูป  $\beta'$  ทั้งหมด ในขณะที่น้ำมันผสมที่ไม่ผ่านการทำปฏิกิริยา จะได้ผลึกรูปแบบ  $\beta$  คิดเป็น 28.3% และผลึกรูปแบบ  $\beta'$  59.2% และ 12.5% ที่ 4.18 และ 3.85 Å ตามลำดับ ซึ่งที่ค่า shot spacing 4.59 Å หมายถึงผลึกรูปแบบ  $\beta$  และที่ 4.30, 4.18 และ 3.85 Å หมายถึงผลึกรูปแบบ  $\beta'$  (ร้อยละของ  $\beta$  และ  $\beta'$  คำนวณจากร้อยละของ intensity of short spacing ที่ Å นั้นๆ หาก intensity of short spacing ทั้งหมด) จากการศึกษาจะเห็นว่าไขมันเนยเทียม SL3 ที่ผลิตได้มีโครงสร้างผลึกในรูปแบบ  $\beta'$  ทั้งหมด เช่นเดียวกับไขมันเนยเทียมทางการค้า ซึ่งถือว่าเป็นคุณลักษณะที่ดีของผลิตภัณฑ์เนยเทียม



## บทที่ 5

## สรุปผลการดำเนินงานวิจัย

จากการศึกษาในครั้งนี้ทำให้เราสามารถผลิตไขมันพลาสติกที่ปราศจากไขมันทรานส์ โดยใช้กระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันแบบใช้เอนไซม์ **Lipozyme RM IM** จากน้ำมันถั่วเหลือง ปาล์มสเตียริน และมะพร้าวสเตียริน โดยศึกษาที่อัตราส่วนต่างๆ คือ 0:70:30, 10:60:30, 20:50:30, 30:40:30, 40:30:30 ตามลำดับ ซึ่งกระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันดังกล่าวจัดเป็น **green process** และมีประสิทธิภาพ ช่วยปรับปรุงคุณสมบัติทั้งด้านการหลอมเหลวและการตกผลึก ช่วยลดจุดหลอมเหลวของน้ำมันผสมลง เนื่องจากลดจุดหลอมเหลวที่สูงของไตรกลีเซอไรด์ในปาล์มสเตียริน และเพิ่มองค์ประกอบของไตรโอเลอิน ซึ่งจะทำให้ **slip melting point** ของ **plastic fats** ต่ำลง, **SFC** ลดต่ำลงในทุกช่วงอุณหภูมิ, เกิดไตรกลีเซอไรด์ชนิดใหม่ที่หลากหลายมากขึ้น, ช่วงของการหลอมเหลวแคบลง และมีการตกผลึกของไขมันในรูปแบบ  $\beta'$  มากขึ้นซึ่งเป็นคุณสมบัติที่เหมาะสมของเนยเทียม โดยที่อัตราส่วน 20:50:30 มีคุณสมบัติต่าง ๆ ตามกำหนดที่ดีต่อการนำไปผลิตเป็นไขมันพลาสติกสำหรับการผลิตเนยเทียมและสามารถใช้เป็น ไขมันพลาสติกที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ในรูปแบบต่างๆและในระดับอุตสาหกรรมต่อไป



## รายการอ้างอิง

- Adhikari, P., Hu, P. 2012a. Enzymatic and chemical interesterification of rice bran oil, sheaolein, and palm stearin and comparative study of their physicochemical properties. *J Food Sci.* 77(12): C1285-1292.
- Adhikari, P., Hu, P. 2012b. Enzymatic and Chemical Interesterification of Rice Bran Oil, Sheaolein, and Palm Stearin and Comparative Study of Their Physicochemical Properties. *Journal of Food Science.* 77(12): C1285-C1292.
- Adhikari, P., Shin, J.-A., Lee, J.-H., Hu, J.-N., Zhu, X.-M., Akoh, C. C., Lee, K.-T. 2010. Production of trans-free margarine stock by enzymatic interesterification of rice bran oil, palm stearin and coconut oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 90(4): 703-711.
- Alim, M. A., Lee, J. H., Akoh, C. C., Choi, M. S., Jeon, M. S., Shin, J. A., Lee, K. T. 2008. Enzymatic transesterification of fractionated rice bran oil with conjugated linoleic acid: Optimization by response surface methodology. *LWT - Food Science and Technology.* 41(5): 764-770.
- AOAC. 1997. Official Method Fatty Acids in Oils and Fats, Preparation of methyl esters, boron trifluoride method, Method 969.33.
- AOCS. 1997. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. American Oil Chemists' Society. USA: Champaign.
- Barros, M., Fleuri, L. F., Macedo, G. A. 2010. SEED LIPASES: SOURCES, APPLICATIONS AND PROPERTIES – A REVIEW. *Brazilian Journal of Chemical Engineering.* 27(1): 15-29.
- Borwankar, R. P., Frye, L. A., Blaurock, A. E., Sasevich, F. J. 1992. Rheology of Foods Rheological characterization of melting of margarines and tablespreads. *Journal of Food Engineering.* 16(1): 55-74.
- Bresson, S., El Marssi, M., Khelifa, B. 2006. Conformational influences of the polymorphic forms on the CO and C-H stretching modes of five saturated monoacid triglycerides studied by Raman spectroscopy at various temperatures. *Vibrational Spectroscopy.* 40(2): 263-269.

- Brown, P. H., Carvallo, F. D., Dinwoodie, R. C., Dueber, M. T., Hayashi, D. K., Krishnamurthy, R. G., Merchant, Z. M., Myrick, J. J., Silver, R. S., Thomas, C.; Kraft General Foods, Inc., assignee. 1994. Enzymatic method for preparing transesterified oils. USA.
- Brumm, T., Hurburgh, C., Jr. 1990. Estimating the processed value of soybeans. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 67(5): 302-307.
- Chrysan, M. M. 2005. *Margarines and Spreads*. Bailey's Industrial Oil and Fat Products: John Wiley & Sons, Inc.
- Commons, W. 2017. File: Chair tuning fork triglycerides.jpg. Wikimedia Commons, the free media repository.  
[https://commons.wikimedia.org/w/index.php?title=File:Chair\\_tuning\\_fork\\_triglycerides.jpg&oldid=262316828](https://commons.wikimedia.org/w/index.php?title=File:Chair_tuning_fork_triglycerides.jpg&oldid=262316828).
- Deman, J. M. 1983. Consistency of fats: A review. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 60(1): 82-87.
- Deman, J. M., Beers, A. M. 1987. FAT CRYSTAL NETWORKS: STRUCTURE AND RHEOLOGICAL PROPERTIES. *Journal of Texture Studies*. 18(4): 303-318.
- deMan, L., D'Souza, V., deMan, J. M., Blackman, B. 1992. Polymorphic stability of some shortenings as influenced by the fatty acid and glyceride composition of the solid phase. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 69(3): 246-250.
- Dia, V. P., Garcia, V. V., Mabesa, R. C., Tecson-Mendoza, E. M. 2005. Comparative physicochemical characteristics of virgin coconut oil produced by different methods. 462-475 p.
- Dowswell, R. 2012. Hydrogenated Fats. DrDobbin Nutrition: Encouraging The Adoption Of A Healthy Diet And Lifestyle. <http://www.drdobbin.co.uk/hydrogenated-fats>.
- Ecelbarger, G. L., Lasekan, J. B., Ney, D. M. 1991. In vivo triglyceride secretion and hepatic and plasma lipids in rats fed medium-chain triglycerides, tripelargonin, or corn oil. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2(5): 260-266.
- Fiebig, H.-J., Lüttke, J. 2003. Solid fat content in fats and oils - determination by pulsed nuclear magnetic resonance spectroscopy [C-IV 3g (2003)]. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 105(7): 377-380.

- Fomuso, L. B., Akoh, C. C. 2001. Enzymatic Modification of High-Laurate Canola To Produce Margarine Fat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49(9): 4482-4487.
- Gerhard, K. 2002. Structure indices in FA chemistry. How relevant is the iodine value? *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 79(9): 847-854.
- Gunstone, F. 2011. *Vegetable Oils in Food Technology: Composition, Properties and Uses*: Wiley.
- GUNSTONE, F. D. 2002. *VEGETABLE OILS IN FOOD TECHNOLOGY: Composition, Properties and Uses*. USA and Canada, CRCPress: Blackwell Publishing.
- Gunstone, F. D., Norris, F. A. 1983. *Chemistry, Biochemistry and technology*. In: Robert Maxwell, M. C., editor. *Lipids in food*. p. 154.
- Haighton, A. J. 1959. The measurement of the hardness of margarine and fats with cone penetrometers. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 36(8): 345-348.
- Hammond, E. G., Johnson, L. A., Su, C., Wang, T., White, P. J. 1996. Soybean Oil. In: Y.H., I. H., editor. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. Wiley. New York. p. 577-653.
- Hartel, R. W. 2001. *Crystallization in Foods*. Maryland: Aspen Publishers Inc.
- Hu, W., Wells, J., Shin, T.-S., Godber, J. S. 1996a. Comparison of isopropanol and hexane for extraction of vitamin E and oryzanols from stabilized rice bran. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 73(12): 1653-1656.
- Hu, W., Wells, J. H., Shin, T.-S., Godber, J. S. 1996b. Comparison of isopropanol and hexane for extraction of vitamin E and oryzanols from stabilized rice bran. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 73(12): 1653-1656.
- Idris, N., deMan, L., Tang, T. S., Chong, C. L. 1996. Chemical composition and physical properties of soft (tub) margarines sold in Malaysia. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 73(8): 995-1001.
- Jeyarani, T., Reddy, S. Y. 2010. Effect of enzymatic interesterification on physicochemical properties of mahua oil and kokum fat blend. *Food Chemistry*. 123(2): 249-253.

- Karabulut, I., Turan, S., Ergin, G. 2004. Effects of chemical interesterification on solid fat content and slip melting point of fat/oil blends. *European Food Research and Technology*. 218(3): 224-229.
- Khalid, K., Nurdin, R., Basri, I. H., Che, M. Y., Ramli, I.; 2010. Processes for producing virgin coconut oil, coconut cooking oil and raw material for coconut biodiesel. Malaysia.
- Khatoon, S. 2000. SEMI-SOLID FAT BY INTERESTERIFICATION OF RED PALM OIL WITH OTHER VEGETABLE OILS. *Journal of Food Lipids*. 7(2): 83-93.
- Khatoon, S., Khan, M. I., Jeyarani, T. 2012. Enzymatic interesterification of palm and coconut stearin blends. *International Journal of Food Science & Technology*. 47(11): 2259-2265.
- Klein, H. 1999. *Erna'hrung/Nutrition*. (23): 452-460.
- Knowlton, S.; 2001. Fat products from high stearic soybean oil and a method for the production thereof. USA.
- Kurashige, J., Matsuzaki, N., Takahashi, H. 1993. Enzymatic modification of canola/palm oil mixtures: Effects on the fluidity of the mixture. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 70(9): 849-852.
- Lee, J. H., Akoh, C. C., Himmelsbach, D. S., Lee, K.-T. 2008. Preparation of Interesterified Plastic Fats from Fats and Oils Free of Trans Fatty Acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56(11): 4039-4046.
- Liu, Y., Meng, Z., Zhang, F., Shan, L., Wang, X. 2010. Influence of lipid composition, crystallization behavior and microstructure on hardness of palm oil-based margarines. *European Food Research and Technology*. 230(5): 759-767.
- Loisel, C., Keller, G., Lecq, G., Bourgaux, C., Ollivon, M. 1998. Phase transitions and polymorphism of cocoa butter. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 75(4): 425-439.
- Marina, A. M., Che man, Y. B., Nazimah, S. A. H., Amin, I. 2009a. Antioxidant capacity and phenolic acids of virgin coconut oil. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 60(2): 114-123.

- Marina, A. M., Che Man, Y. B., Nazimah, S. A. H., Amin, I. 2009b. Chemical Properties of Virgin Coconut Oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 86(4): 301-307.
- Mayamol, P. N., Balachandran, C., Samuel, T., Sundaresan, A., Arumughan, C. 2009. Zero trans shortening using rice bran oil, palm oil and palm stearin through interesterification at pilot scale. *International Journal of Food Science & Technology*. 44(1): 18-28.
- Mayamol, P. N., Samuel, T., Balachandran, C., Sundaresan, A., Arumughan, C. 2004. Zero-trans shortening using palm stearin and rice bran oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 81(4): 407-413.
- Miskandar, M. S., Che Man, Y. B., Yusoff, M. S. A., Abdul Rahman, R. 2002. Effect of emulsion temperature on physical properties of palm oil-based margarine. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 79(12): 1163-1168.
- MS815. 2007. MALAYSIAN STANDARD PALM STEARIN - SPECIFICATION
- Mullin, J. W. 1993. *Crystallization*. Butterworth-Heinemann Ltd. 3 ed. Oxford.
- Naczki, M., Shahidi, F. 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*. 1054(1-2): 95-111.
- Narine, S. S., Marangoni, A. G. 1999. Relating structure of fat crystal networks to mechanical properties: a review. *Food Research International*. 32(4): 227-248.
- Neff, W. E., Byrdwell, W. C. 1995. Soybean oil triacylglycerol analysis by reversed-phase high-performance liquid chromatography coupled with atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 72(10): 1185-1191.
- Nevin, K. G., Rajamohan, T. 2004. Beneficial effects of virgin coconut oil on lipid parameters and in vitro LDL oxidation. *Clinical Biochemistry*. 37(9): 830-835.
- Nevin, K. G., Rajamohan, T. 2006. Virgin coconut oil supplemented diet increases the antioxidant status in rats. *Food Chemistry*. 99(2): 260-266.



- O' Brien, R. D. 2004. *Fats and oils: Formulating and processing for applications*. New York.: CRC Press.
- Pande, G., Akoh, C. C. 2013a. Enzymatic modification of lipids for trans-free margarine. *Lipid Technology*. 25(2): 31-33.
- Pande, G., Akoh, C. C. 2013b. Enzymatic synthesis of trans-free structured margarine fat analogs with high stearate soybean oil and palm stearin and their characterization. *LWT - Food Science and Technology*. 50(1): 232-239.
- Pande, G., Akoh, C. C., Shewfelt, R. L. 2013. Utilization of enzymatically interesterified cottonseed oil and palm stearin-based structured lipid in the production of trans-free margarine. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2(1): 76-84.
- Rao, R., Sankar, K. U., Sambaiah, K., Lokesh, B. R. 2001. Differential scanning calorimetric studies on structured lipids from coconut oil triglycerides containing stearic acid. *European Food Research and Technology*. 212(3): 334-343.
- Rasid, M., Jaais, M., Yuso, M.S.A. and Elias, B.A. 1996. PORIM's experiments on low-trans margarine. *Palm Oil Tech. B.*: 9-13.
- Ribeiro, A. P. B., Basso, R. C., Grimaldi, R., Gioielli, L. A., Gonçalves, L. A. G. 2009. Instrumental Methods for the Evaluation of Interesterified Fats. *Food Analytical Methods*. 2(4): 282-302.
- Sato, K. 2001. Crystallization behaviour of fats and lipids — a review. *Chemical Engineering Science*. 56(7): 2255-2265.
- Shen, Z., Birkett, A., Augustin, M. A., Dungey, S., Versteeg, C. 2001. Melting behavior of blends of milk fat with hydrogenated coconut and cottonseed oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 78(4): 387-394.
- Siahaan, D., Del Rosario, O. M., Del Rosario, R. R. 2001. Fractional crystallization of coconut oil in acetone. 375-381 p.
- Solís-Fuentes, J. A., del Rosario Hernández-Medel, M., del Carmen Durán-de-Bazúa, M. 2005. Determination of the predominant polymorphic form of mango (*Mangifera indica*) almond fat by differential scanning calorimetry and X-ray diffraction. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 107(6): 395-401.

- Tan, C. P., Man, Y. C. 2002. Comparative differential scanning calorimetric analysis of vegetable oils: I. Effects of heating rate variation. *Phytochem Anal.* 13(3): 129-141.
- Tang, L., Hu, J. N., Zhu, X. M., Luo, L. P., Lei, L., Deng, Z. Y., Lee, K. T. 2012. Enzymatic interesterification of palm stearin with *Cinnamomum camphora* seed oil to produce zero-trans medium-chain triacylglycerols-enriched plastic fat. *J Food Sci.* 77(4): C454-460.
- Teah, Y. K., Nor Aini, S., Hamirin, K. 1994. Interesterification – a useful means of processing palm oil products for use in table margarine. *PORIM Information Series.* 23.
- Tsuji, H., Kasai, M., Takeuchi, H., Nakamura, M., Okazaki, M., Kondo, K. 2001. Dietary medium-chain triacylglycerols suppress accumulation of body fat in a double-blind, controlled trial in healthy men and women. *J Nutr.* 131(11): 2853-2859.
- Ueno, S., Hondoh, H., Sato, K. 2005. *Biological soft materials.* Japan: The University of Tokyo. <http://home.hiroshima-u.ac.jp/~fdphys/english/index.html>.
- Yap, P. H., de Man, J. M., de Man, L. 1989. Polymorphism of palm oil and palm oil products. *Journal of the American Oil Chemists' Society.* 66(5): 693-697.
- Yazdi, Z. K., Alemzadeh, I. 2011. Improvement of palm oil and sunflower oil blends by enzymatic interestrification. *International Journal of Food Science & Technology.* 46(5): 1093-1099.
- Zhao, S.-Q., Hu, J.-N., Zhu, X.-M., Bai, C.-Q., Peng, H.-L., Xiong, H., Hu, J.-W., Zhao, Q. 2014. Characteristics and Feasibility of Trans-Free Plastic Fats through Lipozyme TL IM-Catalyzed Interesterification of Palm Stearin and *Akebia trifoliata* Variety Australis Seed Oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 62(14): 3293-3300.



ภาคผนวก



ภาคผนวก ก  
ตารางข้อมูลแสดงค่าจากผลการทดลอง

ตารางที่ 18 องค์ประกอบโปรตีนลิพิดของ น้ำมันผสม (SBO:PS:CNS) ก่อนทำปฏิกิริยา (PB) และน้ำมันผสมหลังทำปฏิกิริยา (SL)

| TAG species | ECN | Physical blend (PB) SBO:PS:CNS |                         |                          |                         |                         |                         |                         |                         |                         |                         | Structure lipid (SL) SBO:PS:CNS |          |          |          |          |  |  |  |  |  |
|-------------|-----|--------------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------------------|----------|----------|----------|----------|--|--|--|--|--|
|             |     | 0:70:30                        | 10:60:30                | 20:50:30                 | 30:40:30                | 40:30:30                | 0:70:30                 | 10:60:30                | 20:50:30                | 30:40:30                | 40:30:30                | 0:70:30                         | 10:60:30 | 20:50:30 | 30:40:30 | 40:30:30 |  |  |  |  |  |
| CpCla       | 30  | 0.24±0.00 <sup>a</sup>         | 0.11±0.03 <sup>a</sup>  | ND                       | ND                      | 0.04±0.02 <sup>a</sup>  | 2.50±0.91 <sup>c</sup>  | 3.05±0.90 <sup>c</sup>  | ND                      | ND                      | ND                      | ND                              | ND       | ND       | ND       | ND       |  |  |  |  |  |
| CCLa        | 32  | 3.33±0.13 <sup>bc</sup>        | 1.90±0.01 <sup>ab</sup> | 1.42±0.03 <sup>ab</sup>  | 1.14±0.09 <sup>a</sup>  | 1.10±0.15 <sup>a</sup>  | 5.29±1.74 <sup>cd</sup> | 5.63±1.64 <sup>de</sup> | 5.62±1.81 <sup>de</sup> | 5.08±1.28 <sup>cd</sup> | 4.31±0.43 <sup>cd</sup> |                                 |          |          |          |          |  |  |  |  |  |
| CLaLa       | 34  | 2.15±0.03 <sup>bc</sup>        | 1.03±0.36 <sup>ab</sup> | 0.67±0.11 <sup>a</sup>   | 0.61±0.26 <sup>a</sup>  | 0.37±0.07 <sup>a</sup>  | 4.70±1.48 <sup>d</sup>  | 3.23±0.82 <sup>c</sup>  | 2.75±0.44 <sup>c</sup>  | 2.47±0.22 <sup>c</sup>  | 2.56±0.18 <sup>c</sup>  |                                 |          |          |          |          |  |  |  |  |  |
| LaLaLa      | 36  | 2.23±0.10 <sup>de</sup>        | 1.25±0.01 <sup>bc</sup> | 0.76±0.01 <sup>ab</sup>  | 0.93±0.04 <sup>ab</sup> | 0.68±0.08 <sup>ab</sup> | 2.06±0.19 <sup>cd</sup> | 2.70±0.05 <sup>de</sup> | 2.87±0.06 <sup>de</sup> | 3.09±0.28 <sup>ef</sup> | 3.78±0.02 <sup>f</sup>  |                                 |          |          |          |          |  |  |  |  |  |
| LLnLn       | 38  | ND                             | 1.05±0.08 <sup>b</sup>  | 1.62±0.01 <sup>d</sup>   | 1.90±0.13 <sup>c</sup>  | 2.18±0.06 <sup>f</sup>  | ND                      | ND                      | 1.32±0.07 <sup>c</sup>  | 1.89±0.02 <sup>e</sup>  | 0.28±0.01 <sup>a</sup>  |                                 |          |          |          |          |  |  |  |  |  |
| LaLaM       | 38  | 2.38±0.11 <sup>c</sup>         | 1.18±0.14 <sup>b</sup>  | 0.58±0.13 <sup>ab</sup>  | 0.35±0.01 <sup>a</sup>  | 0.28±0.00 <sup>a</sup>  | 4.66±0.49 <sup>d</sup>  | 5.37±0.03 <sup>e</sup>  | 5.61±0.25 <sup>e</sup>  | 5.18±0.24 <sup>de</sup> | 7.31±0.88 <sup>f</sup>  |                                 |          |          |          |          |  |  |  |  |  |
| LLLn        | 40  | ND                             | 6.15±0.09 <sup>d</sup>  | 8.88±0.16 <sup>e</sup>   | 10.14±0.17 <sup>f</sup> | 11.65±0.39 <sup>g</sup> | ND                      | 0.15±0.01 <sup>a</sup>  | 2.93±0.06 <sup>b</sup>  | 4.36±0.05 <sup>c</sup>  | 6.26±0.00 <sup>d</sup>  |                                 |          |          |          |          |  |  |  |  |  |
| LaLaO       | 40  | 0.10±0.04 <sup>a</sup>         | ND                      | ND                       | ND                      | ND                      | 0.28±0.22 <sup>b</sup>  | 1.69±0.11 <sup>d</sup>  | ND                      | ND                      | ND                      |                                 |          |          |          |          |  |  |  |  |  |
| LaMM        | 40  | 2.15±0.10 <sup>c</sup>         | 0.87±0.38 <sup>c</sup>  | 0.60±0.05 <sup>b</sup>   | 0.36±0.06 <sup>ab</sup> | 0.26±0.07 <sup>ab</sup> | 7.54±0.08 <sup>e</sup>  | 7.08±0.31 <sup>de</sup> | 7.15±0.07 <sup>de</sup> | 6.85±0.29 <sup>d</sup>  | 7.15±0.20 <sup>de</sup> |                                 |          |          |          |          |  |  |  |  |  |
| LaLaP       | 40  | 0.33±0.13 <sup>a</sup>         | ND                      | ND                       | ND                      | ND                      | 0.34±0.13 <sup>a</sup>  | ND                      | ND                      | ND                      | ND                      |                                 |          |          |          |          |  |  |  |  |  |
| LLL         | 42  | ND                             | 11.55±0.31 <sup>d</sup> | 15.96±0.27 <sup>e</sup>  | 18.35±1.13 <sup>f</sup> | 20.65±0.00 <sup>g</sup> | ND                      | 0.52±0.14 <sup>ab</sup> | 1.09±0.24 <sup>b</sup>  | 2.07±0.32 <sup>c</sup>  | ND                      |                                 |          |          |          |          |  |  |  |  |  |
| PolL        | 42  | ND                             | 2.51±0.06 <sup>e</sup>  | 4.19±0.09 <sup>f</sup>   | 4.53±0.34 <sup>f</sup>  | 5.00±0.36 <sup>g</sup>  | ND                      | 0.45±0.02 <sup>a</sup>  | 0.88±0.09 <sup>b</sup>  | 1.28±0.06 <sup>c</sup>  | 1.81±0.16 <sup>d</sup>  |                                 |          |          |          |          |  |  |  |  |  |
| OLLn        | 42  | ND                             | 3.08±0.23 <sup>a</sup>  | 3.77±0.15 <sup>b</sup>   | 4.32±0.09 <sup>c</sup>  | 4.89±0.26 <sup>d</sup>  | ND                      | 6.13±0.37 <sup>e</sup>  | 7.75±0.05 <sup>f</sup>  | 9.01±0.01 <sup>g</sup>  | 10.63±0.18 <sup>h</sup> |                                 |          |          |          |          |  |  |  |  |  |
| LaMO        | 42  | 1.14±0.02 <sup>c</sup>         | 0.37±0.07 <sup>b</sup>  | 0.27±0.02 <sup>ab</sup>  | 0.19±0.01 <sup>ab</sup> | ND                      | 3.40±0.10 <sup>e</sup>  | 9.84±0.18 <sup>h</sup>  | 9.62±0.09 <sup>h</sup>  | 8.63±0.09 <sup>g</sup>  | 8.05±0.26 <sup>f</sup>  |                                 |          |          |          |          |  |  |  |  |  |
| LaMP        | 42  | 0.71±0.06 <sup>a</sup>         | 0.42±0.08 <sup>ab</sup> | 0.26±0.04 <sup>ab</sup>  | 0.21±0.02 <sup>ab</sup> | 0.17±0.00 <sup>ab</sup> | 0.86±0.30 <sup>c</sup>  | 0.59±0.01 <sup>bc</sup> | 0.36±0.01 <sup>ab</sup> | 0.19±0.06 <sup>ab</sup> | 0.11±0.00 <sup>a</sup>  |                                 |          |          |          |          |  |  |  |  |  |
| OLL         | 44  | 1.74±0.11 <sup>b</sup>         | 8.57±0.30 <sup>e</sup>  | 11.53±0.14 <sup>f</sup>  | 13.03±0.71 <sup>g</sup> | 14.48±0.11 <sup>h</sup> | 1.50±0.88 <sup>a</sup>  | 1.87±0.21 <sup>a</sup>  | 3.16±0.18 <sup>b</sup>  | 4.33±0.23 <sup>c</sup>  | 5.91±0.12 <sup>d</sup>  |                                 |          |          |          |          |  |  |  |  |  |
| PLL         | 44  | 5.04±0.38 <sup>c</sup>         | 10.61±0.01 <sup>d</sup> | 12.56±0.22 <sup>ef</sup> | 13.62±0.03 <sup>g</sup> | 13.66±0.76 <sup>g</sup> | 1.77±0.04 <sup>a</sup>  | 4.87±0.58 <sup>b</sup>  | 6.92±0.14 <sup>c</sup>  | 12.09±0.57 <sup>e</sup> | 13.41±0.05 <sup>g</sup> |                                 |          |          |          |          |  |  |  |  |  |

\* ตัวอักษร a-j ในแนวนอนแสดงความแตกต่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

ตารางที่ 18 องค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของ ของ น้ำมันผสม (SBO:PS:CNS) ก่อนทำปฏิกิริยา (PB) และน้ำมันผสมหลังทำปฏิกิริยา (SL) (ต่อ)

| TAG species | Physical blend (PB) SBO:PS:hCO |                         |                          |                          |                          |                          |                          |                          |                          |                           | Structure lipid (SL) SBO:PS:hCO |                          |                          |                          |                          |                          |                          |  |  |  |
|-------------|--------------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--|--|--|
|             | ECN                            | 0:70:30                 | 10:60:30                 | 20:50:30                 | 30:40:30                 | 40:30:30                 | 0:70:30                  | 10:60:30                 | 20:50:30                 | 30:40:30                  | 40:30:30                        | ECN                      | 0:70:30                  | 10:60:30                 | 20:50:30                 | 30:40:30                 | 40:30:30                 |  |  |  |
| LaOO        | 44                             | 1.45±0.44 <sup>c</sup>  | 1.07±0.02 <sup>bc</sup>  | 0.65±0.04 <sup>ab</sup>  | ND                       | ND                       | 6.33±0.62 <sup>s</sup>   | 5.61±0.25 <sup>f</sup>   | 3.83±0.45 <sup>e</sup>   | 6.92±0.30 <sup>s</sup>    | ND                              | ND                       | ND                       | ND                       | ND                       | ND                       | ND                       |  |  |  |
| LaPO        | 44                             | 2.38±0.07 <sup>c</sup>  | 0.36±0.02 <sup>ab</sup>  | 0.37±0.02 <sup>ab</sup>  | 0.74±0.13 <sup>b</sup>   | 0.63±0.05 <sup>b</sup>   | 6.37±0.01 <sup>e</sup>   | 3.93±0.17 <sup>d</sup>   | 8.36±0.01 <sup>f</sup>   | 0.44±0.01 <sup>b</sup>    | 6.05±0.04 <sup>e</sup>          | 6.05±0.04 <sup>e</sup>   | 6.05±0.04 <sup>e</sup>   | 6.05±0.04 <sup>e</sup>   | 6.05±0.04 <sup>e</sup>   | 6.05±0.04 <sup>e</sup>   | 6.05±0.04 <sup>e</sup>   |  |  |  |
| LaPP+MMO    | 44                             | 0.28±0.08 <sup>a</sup>  | 0.17±0.04 <sup>a</sup>   | 0.20±0.05 <sup>a</sup>   | 0.12±0.00 <sup>a</sup>   | 0.10±0.00 <sup>a</sup>   | 2.49±0.08 <sup>d</sup>   | 1.20±0.07 <sup>c</sup>   | 0.73±0.07 <sup>b</sup>   | 2.65±0.15 <sup>d</sup>    | 0.25±0.08 <sup>a</sup>          | 0.25±0.08 <sup>a</sup>   | 0.25±0.08 <sup>a</sup>   | 0.25±0.08 <sup>a</sup>   | 0.25±0.08 <sup>a</sup>   | 0.25±0.08 <sup>a</sup>   | 0.25±0.08 <sup>a</sup>   |  |  |  |
| MMP         | 44                             | ND                      | ND                       | ND                       | ND                       | ND                       | ND                       | ND                       | ND                       | ND                        | ND                              | ND                       | ND                       | ND                       | ND                       | ND                       | ND                       |  |  |  |
| OLO         | 46                             | 3.44±0.08 <sup>de</sup> | 4.46±0.56 <sup>f</sup>   | 4.85±0.05 <sup>e</sup>   | 5.26±0.26 <sup>gh</sup>  | 5.39±0.23 <sup>gh</sup>  | 1.93±0.04 <sup>a</sup>   | 2.38±0.19 <sup>ab</sup>  | 2.67±0.14 <sup>bc</sup>  | 9.43±0.36 <sup>i</sup>    | 2.99±0.10 <sup>cd</sup>         | 2.99±0.10 <sup>cd</sup>  | 2.99±0.10 <sup>cd</sup>  | 2.99±0.10 <sup>cd</sup>  | 2.99±0.10 <sup>cd</sup>  | 2.99±0.10 <sup>cd</sup>  | 2.99±0.10 <sup>cd</sup>  |  |  |  |
| PLO/OLP     | 46                             | 14.87±0.28 <sup>s</sup> | 11.67±0.24 <sup>f</sup>  | 10.05±0.19 <sup>e</sup>  | 9.68±0.70 <sup>de</sup>  | 9.08±0.05 <sup>cd</sup>  | 9.78±0.21 <sup>h</sup>   | 10.10±0.56 <sup>f</sup>  | 10.16±0.31 <sup>e</sup>  | 7.40±0.03 <sup>b</sup>    | 9.16±0.03 <sup>cde</sup>        | 9.16±0.03 <sup>cde</sup> | 9.16±0.03 <sup>cde</sup> | 9.16±0.03 <sup>cde</sup> | 9.16±0.03 <sup>cde</sup> | 9.16±0.03 <sup>cde</sup> | 9.16±0.03 <sup>cde</sup> |  |  |  |
| PPL         | 46                             | 18.05±0.08 <sup>l</sup> | 9.77±0.23 <sup>f</sup>   | 6.46±0.16 <sup>e</sup>   | 5.12±0.84 <sup>d</sup>   | 3.39±0.07 <sup>c</sup>   | 14.68±0.62 <sup>h</sup>  | 11.28±0.17 <sup>s</sup>  | 9.74±0.32 <sup>f</sup>   | 0.21±0.03 <sup>a</sup>    | 6.01±0.19 <sup>d</sup>          | 6.01±0.19 <sup>d</sup>   | 6.01±0.19 <sup>d</sup>   | 6.01±0.19 <sup>d</sup>   | 6.01±0.19 <sup>d</sup>   | 6.01±0.19 <sup>d</sup>   | 6.01±0.19 <sup>d</sup>   |  |  |  |
| POM         | 46                             | 0.46±0.12 <sup>cd</sup> | 0.21±0.04 <sup>abc</sup> | 0.14±0.01 <sup>ab</sup>  | 0.13±0.02 <sup>ab</sup>  | ND                       | 1.45±0.05 <sup>f</sup>   | 0.59±0.03 <sup>de</sup>  | 0.39±0.04 <sup>bcd</sup> | 1.43±0.35 <sup>f</sup>    | 0.14±0.02 <sup>ab</sup>         | 0.14±0.02 <sup>ab</sup>  | 0.14±0.02 <sup>ab</sup>  | 0.14±0.02 <sup>ab</sup>  | 0.14±0.02 <sup>ab</sup>  | 0.14±0.02 <sup>ab</sup>  | 0.14±0.02 <sup>ab</sup>  |  |  |  |
| OOO         | 48                             | 2.50±0.09 <sup>e</sup>  | 1.77±0.00 <sup>d</sup>   | 1.40±0.29 <sup>d</sup>   | 1.27±0.13 <sup>bc</sup>  | 1.78±0.13 <sup>d</sup>   | 1.25±0.20 <sup>bc</sup>  | 0.57±0.09 <sup>f</sup>   | 0.58±0.16 <sup>a</sup>   | 1.05±0.10 <sup>b</sup>    | 1.45±0.25 <sup>cd</sup>         | 1.45±0.25 <sup>cd</sup>  | 1.45±0.25 <sup>cd</sup>  | 1.45±0.25 <sup>cd</sup>  | 1.45±0.25 <sup>cd</sup>  | 1.45±0.25 <sup>cd</sup>  | 1.45±0.25 <sup>cd</sup>  |  |  |  |
| POO         | 48                             | 10.74±0.28 <sup>s</sup> | 6.43±0.21 <sup>f</sup>   | 4.59±0.16 <sup>e</sup>   | 1.58±0.39 <sup>bc</sup>  | 1.28±0.01 <sup>abc</sup> | 6.52±0.33 <sup>f</sup>   | 3.80±0.17 <sup>d</sup>   | 1.66±0.04 <sup>c</sup>   | 1.53±0.09 <sup>bc</sup>   | 0.67±0.10 <sup>a</sup>          | 0.67±0.10 <sup>a</sup>   | 0.67±0.10 <sup>a</sup>   | 0.67±0.10 <sup>a</sup>   | 0.67±0.10 <sup>a</sup>   | 0.67±0.10 <sup>a</sup>   | 0.67±0.10 <sup>a</sup>   |  |  |  |
| POP         | 48                             | 16.11±0.02 <sup>s</sup> | 8.70±0.01 <sup>f</sup>   | 5.47±0.15 <sup>e</sup>   | 4.27±0.89 <sup>d</sup>   | 1.640.04 <sup>bc</sup>   | 9.38±0.75 <sup>f</sup>   | 4.96±0.33 <sup>de</sup>  | 2.16±0.01 <sup>c</sup>   | 1.14±0.10 <sup>b</sup>    | 0.78±0.05 <sup>ab</sup>         | 0.78±0.05 <sup>ab</sup>  | 0.78±0.05 <sup>ab</sup>  | 0.78±0.05 <sup>ab</sup>  | 0.78±0.05 <sup>ab</sup>  | 0.78±0.05 <sup>ab</sup>  | 0.78±0.05 <sup>ab</sup>  |  |  |  |
| PPP         | 48                             | 3.77±0.15 <sup>f</sup>  | 1.98±0.02 <sup>e</sup>   | 1.19±0.04 <sup>d</sup>   | 0.83±0.21 <sup>c</sup>   | 0.43±0.04 <sup>b</sup>   | 2.07±0.16 <sup>e</sup>   | 0.77±0.06 <sup>c</sup>   | 0.43±0.07 <sup>b</sup>   | 0.24±0.02 <sup>ab</sup>   | 0.21±0.05 <sup>ab</sup>         | 0.21±0.05 <sup>ab</sup>  | 0.21±0.05 <sup>ab</sup>  | 0.21±0.05 <sup>ab</sup>  | 0.21±0.05 <sup>ab</sup>  | 0.21±0.05 <sup>ab</sup>  | 0.21±0.05 <sup>ab</sup>  |  |  |  |
| SOO         | 50                             | 1.17±0.20 <sup>c</sup>  | 1.01±0.02 <sup>bc</sup>  | 0.56±0.34 <sup>abc</sup> | 0.37±0.01 <sup>ab</sup>  | 0.28±0.10 <sup>a</sup>   | 0.57±0.33 <sup>abc</sup> | 0.40±0.01 <sup>abc</sup> | 0.44±0.12 <sup>ab</sup>  | 0.44±0.07 <sup>ab</sup>   | 0.31±0.03 <sup>a</sup>          | 0.31±0.03 <sup>a</sup>   | 0.31±0.03 <sup>a</sup>   | 0.31±0.03 <sup>a</sup>   | 0.31±0.03 <sup>a</sup>   | 0.31±0.03 <sup>a</sup>   | 0.31±0.03 <sup>a</sup>   |  |  |  |
| POS         | 50                             | 2.42±0.38 <sup>f</sup>  | 1.39±0.04 <sup>de</sup>  | 0.67±0.28 <sup>abc</sup> | 0.76±0.14 <sup>bcd</sup> | 0.22±0.01 <sup>ab</sup>  | 1.68±0.08 <sup>e</sup>   | 0.99±0.29 <sup>cd</sup>  | 0.66±0.04 <sup>abc</sup> | 0.60±0.132 <sup>abc</sup> | 0.36±0.01 <sup>abc</sup>        | 0.36±0.01 <sup>abc</sup> | 0.36±0.01 <sup>abc</sup> | 0.36±0.01 <sup>abc</sup> | 0.36±0.01 <sup>abc</sup> | 0.36±0.01 <sup>abc</sup> | 0.36±0.01 <sup>abc</sup> |  |  |  |
| PPS         | 50                             | 0.79±0.19 <sup>f</sup>  | 0.38±0.01 <sup>d</sup>   | 0.32±0.13 <sup>cd</sup>  | 0.20±0.06 <sup>bc</sup>  | 0.36±0.09 <sup>cd</sup>  | 0.62±0.01 <sup>e</sup>   | 0.24±0.00 <sup>cd</sup>  | 0.18±0.03 <sup>bc</sup>  | ND                        | 0.05±0.04 <sup>ab</sup>         | 0.05±0.04 <sup>ab</sup>  | 0.05±0.04 <sup>ab</sup>  | 0.05±0.04 <sup>ab</sup>  | 0.05±0.04 <sup>ab</sup>  | 0.05±0.04 <sup>ab</sup>  | 0.05±0.04 <sup>ab</sup>  |  |  |  |

\* ตัวอักษร a-j ในแนวนอนแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

ตารางที่ 19 Solid fat content (SFC) ของน้ำมันผสม น้ำมันถั่วเหลือง, ปาล์มสเตียรีน และมะพร้าว สเตียรีน (SBO/PS/CNS) ก่อนทำปฏิกิริยาอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชัน

| Temperature (°C) | 0:70:30      | 10:60:30     | 20:50:30     | 30:40:30     | 40:30:30     |
|------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 10               | 77.31 ± 1.2  | 67.48 ± 0.21 | 58.01 ± 0.91 | 48.67 ± 0.68 | 39.54 ± 0.95 |
| 15               | 65.15 ± 0.21 | 55.06 ± 0.05 | 45.69 ± 0.08 | 36.70 ± 0.23 | 28.94 ± 0.11 |
| 20               | 49.16 ± 0.24 | 39.93 ± 0.01 | 32.26 ± 0.45 | 24.70 ± 0.29 | 17.60 ± 0.14 |
| 25               | 36.29 ± 0.01 | 29.37 ± 0.26 | 22.92 ± 0.21 | 17.30 ± 0.11 | 11.92 ± 0.06 |
| 30               | 26.73 ± 0.19 | 21.60 ± 0.24 | 16.82 ± 0.06 | 12.57 ± 0.00 | 8.14 ± 0.28  |
| 35               | 17.93 ± 0.30 | 13.39 ± 0.06 | 10.61 ± 0.13 | 8.21 ± 0.19  | 5.86 ± 0.00  |
| 37               | 14.35 ± 0.49 | 12.25 ± 0.63 | 10.04 ± 0.60 | 7.22 ± 0.01  | 4.89 ± 0.00  |
| 40               | 12.29 ± 0.04 | 10.29 ± 0.13 | 8.22 ± 0.14  | 6.05 ± 0.28  | 3.98 ± 0.13  |
| 45               | 8.19 ± 0.74  | 6.69 ± 0.06  | 4.90 ± 0.09  | 3.09 ± 0.11  | 1.63 ± 0.13  |

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยของ duplicates ± standard deviation (SD)

ตารางที่ 20 Solid fat content (SFC) ของน้ำมันผสม น้ำมันถั่วเหลือง, ปาล์มสเตียรีน และมะพร้าว สเตียรีน (SBO/PS/CNS) หลังทำปฏิกิริยาอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชัน

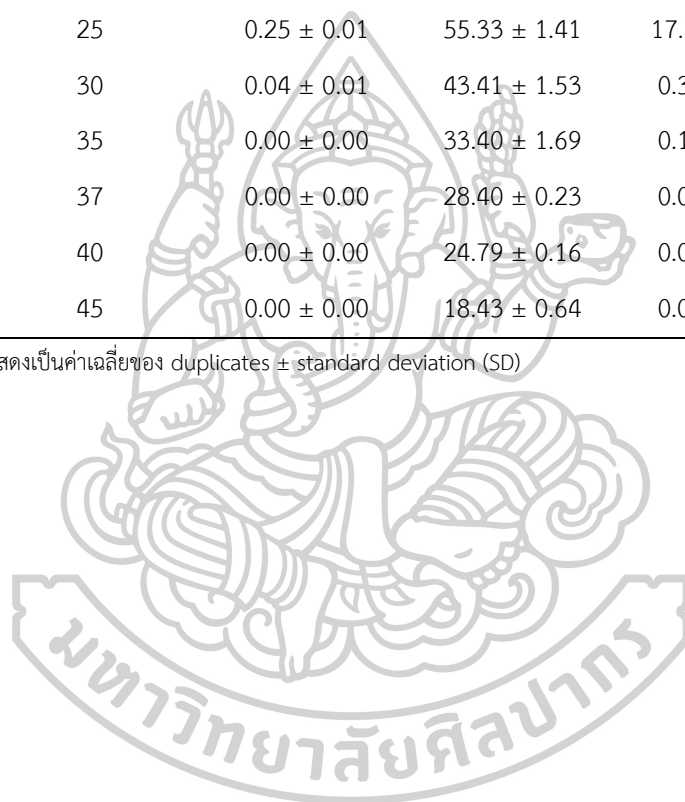
| Temperature (°C) | 0:70:30      | 10:60:30     | 20:50:30     | 30:40:30     | 40:30:30     |
|------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 10               | 75.08 ± 0.12 | 65.47 ± 0.86 | 54.14 ± 1.85 | 43.40 ± 1.41 | 33.19 ± 1.31 |
| 15               | 64.03 ± 0.64 | 51.55 ± 0.32 | 40.15 ± 0.44 | 29.77 ± 0.58 | 20.14 ± 0.04 |
| 20               | 48.72 ± 2.12 | 37.71 ± 0.58 | 27.12 ± 1.00 | 19.03 ± 0.77 | 12.12 ± 0.86 |
| 25               | 35.57 ± 1.76 | 25.50 ± 1.05 | 16.71 ± 0.29 | 10.68 ± 0.58 | 6.25 ± 0.90  |
| 30               | 23.05 ± 1.38 | 15.16 ± 0.65 | 9.20 ± 0.23  | 4.84 ± 0.32  | 1.80 ± 0.17  |
| 35               | 12.28 ± 0.98 | 6.74 ± 0.25  | 3.01 ± 0.08  | 0.12 ± 0.14  | 0.35 ± 0.12  |
| 37               | 8.51 ± 1.13  | 3.77 ± 0.13  | 0.73 ± 0.09  | 0.10 ± 0.04  | 0.17 ± 0.07  |
| 40               | 3.67 ± 0.12  | 0.27 ± 0.21  | 0.44 ± 0.26  | 0.23 ± 0.13  | 0.04 ± 0.01  |
| 45               | 0.14 ± 0.13  | 0.24 ± 0.13  | 0.24 ± 0.13  | 0.01 ± 0.00  | 0.03 ± 0.00  |

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยของ duplicates ± standard deviation (SD)

ตารางที่ 21 Solid fat content (SFC) ของน้ำมันถั่วเหลือง (SBO), ปาล์มสเตียรีน (PS), มะพร้าวสเตียรีน (CNS)

| Temperature (°C) | SBO         | PS           | CNS          |
|------------------|-------------|--------------|--------------|
| 10               | 0.29 ± 0.01 | 83.05 ± 0.64 | 85.07 ± 1.61 |
| 15               | 0.21 ± 0.00 | 75.59 ± 0.93 | 77.22 ± 0.57 |
| 20               | 0.21 ± 0.03 | 66.97 ± 0.84 | 53.47 ± 0.28 |
| 25               | 0.25 ± 0.01 | 55.33 ± 1.41 | 17.34 ± 0.24 |
| 30               | 0.04 ± 0.01 | 43.41 ± 1.53 | 0.36 ± 0.00  |
| 35               | 0.00 ± 0.00 | 33.40 ± 1.69 | 0.19 ± 0.01  |
| 37               | 0.00 ± 0.00 | 28.40 ± 0.23 | 0.00 ± 0.00  |
| 40               | 0.00 ± 0.00 | 24.79 ± 0.16 | 0.00 ± 0.00  |
| 45               | 0.00 ± 0.00 | 18.43 ± 0.64 | 0.00 ± 0.00  |

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยของ duplicates ± standard deviation (SD)





ตารางที่ 22 Solid fat content (SFC) ของไขมันทางการค้า (commercial margarine fats)

| Temperature (°C) | Commercial 1 | Commercial 2 | Commercial 3 | Commercial 4 | Commercial 5 | Commercial 6 | Commercial 7 | Commercial 8 |
|------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 10               | 39.49 ± 0.12 | 54.56 ± 0.04 | 53.30 ± 0.19 | 54.32 ± 0.40 | 59.46 ± 1.73 | 15.63 ± 0.06 | 48.13 ± 0.81 | 46.13 ± 1.48 |
| 15               | 30.27 ± 0.17 | 39.89 ± 0.13 | 42.75 ± 0.57 | 38.17 ± 0.04 | 43.66 ± 0.14 | 11.92 ± 0.18 | 34.95 ± 0.21 | 34.51 ± 0.13 |
| 20               | 21.16 ± 0.00 | 26.80 ± 0.22 | 30.57 ± 0.20 | 24.93 ± 0.15 | 24.04 ± 0.01 | 8.37 ± 0.57  | 21.39 ± 0.01 | 24.57 ± 0.03 |
| 25               | 13.09 ± 0.07 | 19.35 ± 0.36 | 20.35 ± 0.24 | 16.64 ± 0.10 | 6.97 ± 0.11  | 6.29 ± 0.26  | 14.27 ± 0.08 | 18.38 ± 0.08 |
| 30               | 7.41 ± 0.09  | 14.61 ± 0.27 | 14.00 ± 0.14 | 11.11 ± 0.16 | 2.68 ± 0.18  | 3.86 ± 0.47  | 9.53 ± 0.24  | 14.49 ± 0.25 |
| 35               | 3.05 ± 0.11  | 10.52 ± 0.19 | 8.28 ± 0.02  | 6.56 ± 0.25  | 0.00 ± 0.00  | 1.55 ± 0.25  | 5.47 ± 0.09  | 10.79 ± 0.01 |
| 37               | 1.31 ± 0.23  | 8.64 ± 0.35  | 6.61 ± 0.21  | 4.28 ± 0.20  | 0.29 ± 0.11  | 0.88 ± 0.01  | 3.49 ± 0.13  | 9.10 ± 0.13  |
| 40               | 0.15 ± 0.06  | 6.51 ± 0.10  | 5.07 ± 0.25  | 2.59 ± 0.04  | 0.11 ± 0.04  | 0.21 ± 0.06  | 1.54 ± 0.03  | 7.14 ± 0.04  |
| 45               | 0.24 ± 0.20  | 2.41 ± 0.45  | 1.74 ± 0.17  | 0.24 ± 0.03  | 0.00 ± 0.00  | 0.00 ± 0.00  | 0.02 ± 0.02  | 2.91 ± 0.23  |

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยของ **duplicates ± standard deviation (SD)**

ตารางที่ 23 อุณหภูมิและเอนทาลปีในการตกผลึกของ น้ำมันถั่วเหลือง ปาล์มสเตียรีน มะพร้าว

สเตียรีน และไขมันผสม ก่อนทำปฏิกิริยาอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชัน

| SBO:PS:CNS<br>(wt/wt) | T <sub>onset</sub> | T <sub>peak a</sub> | T <sub>peak b</sub> | T <sub>end</sub> | enthalpy (J/g) |
|-----------------------|--------------------|---------------------|---------------------|------------------|----------------|
| 100:0:0               | -9.20 ± 0.28       | -11.95 ± 0.21       |                     | -30.80 ± 0.28    | -7.57 ± 0.62   |
| 0:100:0               | 32.13 ± 1.58       | 5.29 ± 0.08         | 29.57 ± 0.23        | -32.85 ± 1.75    | -91.65 ± 0.73  |
| 0:0:100               | 12.15 ± 2.26       | 1.16 ± 0.01         | 9.23 ± 0.01         | -17.41 ± 0.98    | -98.32 ± 1.45  |
| 0:70:30               | 28.77 ± 0.77       | 2.33 ± 0.02         | 26.06 ± 0.33        | -19.48 ± 1.67    | -77.01 ± 1.05  |
| 10:60:30              | 27.82 ± 0.06       | 2.04 ± 0.07         | 25.01 ± 0.30        | -18.28 ± 0.52    | -66.96 ± 1.43  |
| 20:50:30              | 26.61 ± 0.56       | -0.74 ± 0.06        | 23.47 ± 0.55        | -18.79 ± 0.69    | -65.81 ± 0.94  |
| 30:40:30              | 24.54 ± 0.02       | -5.24 ± 0.08        | 22.18 ± 0.63        | -24.31 ± 1.71    | -65.21 ± 3.12  |
| 40:30:30              | 21.86 ± 1.13       | -11.54 ± 0.77       | 19.58 ± 0.06        | -22.55 ± 0.33    | -50.89 ± 0.61  |

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยของ duplicates ± standard deviation (SD)

ตารางที่ 24 อุณหภูมิและเอนทาลปีในการตกผลึกของไขมันผสมหลังทำปฏิกิริยาอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชัน

| SBO:PS:CNS<br>(wt/wt) | T <sub>onset</sub> | T <sub>peak a</sub> | T <sub>peak b</sub> | T <sub>peak c</sub> | T <sub>end</sub> | enthalpy (J/g) |
|-----------------------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|------------------|----------------|
| 0:70:30               | 29.24 ± 0.83       | 3.29 ± 0.06         | 7.79 ± 0.24         | 26.54 ± 0.05        | -26.61 ± 0.12    | -74.87 ± 2.22  |
| 10:60:30              | 26.45 ± 0.11       | 2.67 ± 0.11         | 5.98 ± 0.64         | 23.44 ± 0.14        | -29.16 ± 0.90    | -58.22 ± 1.19  |
| 20:50:30              | 25.21 ± 1.60       | 0.25 ± 0.06         | 5.42 ± 0.03         | 22.84 ± 0.58        | -36.13 ± 3.56    | -55.79 ± 0.97  |
| 30:40:30              | 22.73 ± 1.83       | -1.31 ± 0.37        | 4.52 ± 0.42         | 18.29 ± 0.83        | -39.06 ± 0.91    | -43.83 ± 1.41  |
| 40:30:30              | 19.43 ± 0.35       | -31.20 ± 1.69       | -3.17 ± 0.30        | 16.25 ± 2.47        | -39.20 ± 1.14    | -55.93 ± 0.14  |

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยของ duplicates ± standard deviation (SD)

ตารางที่ 25 อุณหภูมิและเอนทัลปีในการหลอมเหลวของ น้ำมันถั่วเหลือง ปาล์มสเตียรีน มะพร้าวสเตียรีน และไขมันผสม ก่อนทำปฏิกิริยาอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชัน

| SBO:PS:CNS<br>(wt/wt) | T <sub>onset</sub> | T <sub>peak a</sub> | T <sub>peak b</sub> | T <sub>peak c</sub> | T <sub>peak d</sub> | T <sub>peak e</sub> | T <sub>end</sub> | enthalpy<br>(J/g) |
|-----------------------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|------------------|-------------------|
| 100:0:0               | -40.00 ± 0.00      | -34.14 ± 1.04       | -25.94 ± 0.23       | -18.68 ± 0.46       |                     |                     | -2.18 ± 0.11     | 46.07 ± 1.06      |
| 0:100:0               | -18.69 ± 0.97      |                     | 8.64 ± 1.91         | 29.57 ± 0.23        | 43.72 ± 2.43        | 52.93 ± 0.49        | 55.98 ± 0.78     | 67.17 ± 3.91      |
| 0:0:100               | 10.65 ± 0.79       |                     |                     | 26.80 ± 0.38        |                     |                     | 30.55 ± 0.83     | 101.64 ± 0.64     |
| 0:70:30               | -11.42 ± 0.57      |                     | 10.93 ± 0.10        | 25.66 ± 0.93        | 43.89 ± 1.26        | 51.14 ± 0.20        | 54.21 ± 0.29     | 94.26 ± 0.36      |
| 10:60:30              | -20.18 ± 1.81      | -12.39 ± 0.55       | 9.33 ± 0.47         | 22.03 ± 0.04        | 43.00 ± 0.38        | 50.64 ± 0.90        | 53.25 ± 0.21     | 86.96 ± 2.89      |
| 20:50:30              | -26.80 ± 1.81      | -15.65 ± 0.50       | 8.85 ± 1.20         | 22.97 ± 0.04        | 42.11 ± 1.24        | 46.57 ± 0.52        | 52.25 ± 0.21     | 80.70 ± 1.50      |
| 30:40:30              | -23.88 ± 1.02      | -19.62 ± 0.88       | 6.24 ± 1.07         | 21.57 ± 0.16        | 41.27 ± 0.38        | 45.74 ± 1.05        | 51.69 ± 0.19     | 78.24 ± 1.24      |
| 40:30:30              | -25.37 ± 0.33      | -21.18 ± 0.25       | 3.06 ± 1.33         | 20.07 ± 0.88        | 39.19 ± 1.68        | 46.50 ± 0.71        | 48.57 ± 1.74     | 61.81 ± 1.51      |

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยของ **duplicates ± standard deviation (SD)**

ตารางที่ 26 อุณหภูมิและเอนทัลปีในการหลอมเหลวของไขมันผสมหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชัน

| SBO:PS:CNS<br>(wt/wt) | T <sub>onset</sub> | T <sub>peak a</sub> | T <sub>peak b</sub> | T <sub>peak c</sub> | T <sub>end</sub> | enthalpy (J/g) |
|-----------------------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|------------------|----------------|
| 0:70:30               | -15.23 ± 0.21      | 2.59 ± 0.13         | 17.10 ± 0.14        | 37.47 ± 0.13        | 43.39 ± 0.13     | 79.11 ± 0.03   |
| 10:60:30              | -15.18 ± 0.25      | 2.20 ± 0.28         | 12.74 ± 0.37        | 32.13 ± 2.18        | 40.62 ± 1.58     | 68.99 ± 0.69   |
| 20:50:30              | -18.51 ± 0.86      | -0.60 ± 0.85        | 9.23 ± 0.32         | 24.68 ± 2.14        | 40.79 ± 1.34     | 71.24 ± 4.00   |
| 30:40:30              | -24.07 ± 1.13      | -3.85 ± 0.21        | 7.45 ± 0.78         | 20.84 ± 0.05        | 37.12 ± 0.33     | 57.50 ± 0.12   |
| 40:30:30              | -33.39 ± 4.79      | -6.00 ± 1.41        | 5.48 ± 0.44         | 17.5 ± 0.71         | 32.94 ± 0.83     | 54.25 ± 0.07   |

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยของ duplicates ± standard deviation (SD)





ภาคผนวก ข  
การเตรียมสารละลายเกลืออิมิตัว

### การเตรียมสารละลายเกลืออิ่มตัว

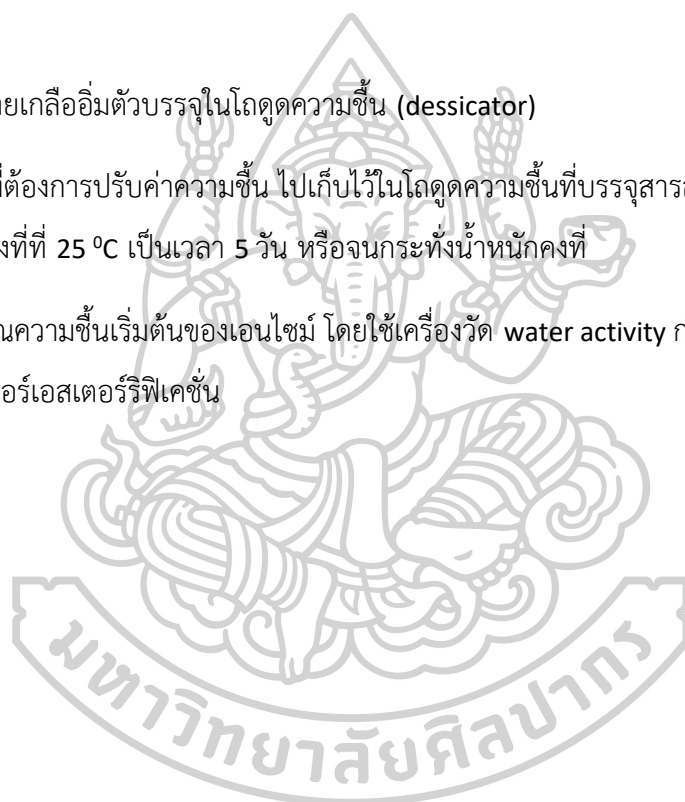
1. นำเกลือชนิดที่ต้องการมาปรับค่าปริมาณความชื้นของเอนไซม์ โดยชั่งน้ำหนักเกลือและน้ำตามตารางแสดงปริมาณความชื้นของเกลือแต่ละชนิดและสัดส่วนในการเตรียมสารละลายเกลืออิ่มตัว

| เกลือ | Equilibrium relative humidity (ERH,%) | $A_w$ | salt (gm) | water (gm) |
|-------|---------------------------------------|-------|-----------|------------|
| LiCl  | 11.15                                 | 0.11  | 150       | 85         |

2. นำสารละลายเกลืออิ่มตัวบรรจุในโถดูดความชื้น (dessicator)

3. นำเอนไซม์ที่ต้องการปรับค่าความชื้น ไปเก็บไว้ในโถดูดความชื้นที่บรรจุสารละลายเกลืออิ่มตัว เก็บไว้ที่อุณหภูมิคงที่ที่ 25 °C เป็นเวลา 5 วัน หรือจนกระทั่งน้ำหนักคงที่

4. วัดค่าปริมาณความชื้นเริ่มต้นของเอนไซม์ โดยใช้เครื่องวัด water activity ก่อนนำเอนไซม์มาใช้ทำปฏิกิริยาอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชัน





### การเตรียมเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน

#### (Preparation of methyl esters; Boron trifluoride method)

1. ชั่งตัวอย่างลง flask ประมาณ 0.2000 g เติม NaOH/MtOH 6 ml และ boiling chip 5-6 อัน
2. วาง flask บน hot plate 100 °C แล้วต่อเข้ากับ condenser และ reflux จนกระทั่งหยดน้ำมันหายไป 10 นาที
3. เติม BF<sub>3</sub> 7 ml ผ่าน condenser ต้มต่อ 2 นาที
4. เติม heptane 5 ml ผ่าน condenser ต้มต่อ 1 นาทีหรือนานกว่า
5. ทิ้งให้เย็นเพื่อให้เกิดการควบแน่น
6. เติมสารละลายเกลืออิ่มตัว NaCl ประมาณ 15 ml
7. ปิด flask และเขย่าอย่างรุนแรงเป็นเวลา 15 วินาที ขณะที่สารละลายยังอุ่นอยู่
8. เติมสารละลายเกลืออิ่มตัวจนชั้นของ heptane ขึ้นมาที่คอ flask
9. เทสารละลายลงในหลอดทดลอง แล้วเปิดสารละลายส่วนบนไปใส่ในบีกเกอร์ใหม่
10. เติม anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> เล็กน้อยเพื่อกำจัด H<sub>2</sub>O
11. กรองสารผ่าน syringe filter 0.45 µm ลงในขวดเก็บตัวอย่างสีชา สำหรับรอนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC

ที่มา : AOAC official method 969.33 (AOAC, 1997)





### การแยกกรดไขมันอิสระ

1. นำไขมันตัดแปลงที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5 °C ปริมาณ 0.85 กรัม ละลายด้วย hexane 5 มิลลิลิตร ในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร

2. การทำปฏิกิริยาเพื่อแยกกรดไขมันอิสระ เติมเอทานอล 3 มิลลิลิตร

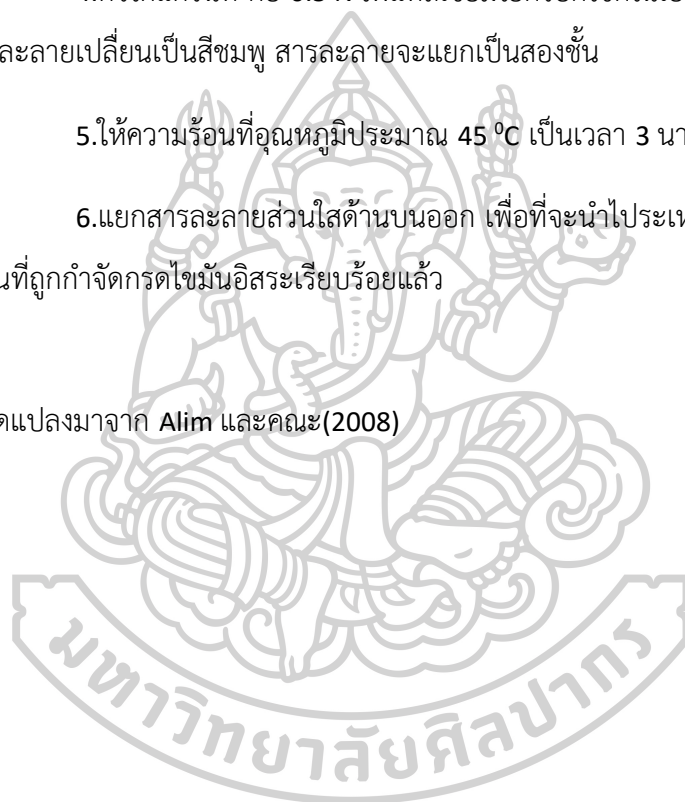
3. หยด phenolphthalein เพื่อเป็นอินดิเคเตอร์บอกจุดยุติของการไตเตรต

4. ตัวไตเตรนต์ คือ 0.5 N โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ในเอทานอล ไตเตรตจนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพู สารละลายจะแยกเป็นสองชั้น

5. ให้ความร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 45 °C เป็นเวลา 3 นาที

6. แยกสารละลายส่วนใสด้านบนออก เพื่อที่จะนำไประเหยเอา hexane ออกแล้วจะได้ไขมันที่ถูกกำจัดกรดไขมันอิสระเรียบร้อยแล้ว

หมายเหตุ : ดัดแปลงมาจาก Alim และคณะ(2008)





## การวิเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์ในไขมันด้วยเทคนิค HPLC

### 1. การเตรียมตัวอย่าง

นำไขมันตัวอย่างบริสุทธิ์ ไขมันตัวอย่างผสม หรือ ไขมันที่ดัดแปลงโครงสร้าง ประมาณ 10 มิลลิกรัม ด้วยเครื่องชั่งละเอียด (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิกรัม เติมอะซิโตนปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงในตัวอย่าง ปิดปากบีกเกอร์ด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ รอกะทั่งไขมันละลายในอะซิโตนหมด ใช้หลอดฉีดยา (syringe) ดูดตัวอย่างแล้วกรองด้วยตัวกรอง (syringe filter) ขนาด 0.45 ไมครอน เก็บสารละลายที่ผ่านการกรองในขวดสีชาที่อุณหภูมิ  $-18^{\circ}\text{C}$  เพื่อบรรเทาการวิเคราะห์ปริมาณไตรกลีเซอไรด์ด้วยเครื่อง (HPLC)

### 2. ขั้นตอนการวิเคราะห์

การวิเคราะห์ปริมาณไตรกลีเซอไรด์จะใช้เครื่อง High-performance liquid chromatography (HPLC) โดยตั้งสภาวะในการวิเคราะห์ได้ดังนี้

คอลัมน์ : 2 Reverse column C-18, 4.6x250 mm, 5 um particle size

อุณหภูมิคอลัมน์ :  $30^{\circ}\text{C}$

เฟสเคลื่อนที่ : อะซิโตน:อะซิโตนไนเตรต สัดส่วน 70 : 30 (v/v)

อัตราการไหล : 0.72 มิลลิลิตรต่อนาที

Detector : diode array detector SPD-M20A

Injection volumn : 20 UL

3. การศึกษาชนิดของโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ จาก retention time ของไตรกลีเซอไรด์ต่างๆ จากการเปรียบเทียบสารมาตรฐานไตรกลีเซอไรด์ที่ฉีดเพื่อวิเคราะห์ และจากการเปรียบเทียบ TAG Profile กับงานวิจัยของ Khatoon et al. (2012) รวมถึงงานวิจัยอื่นๆ ที่สอดคล้องกัน จากนั้นจึงทำการวิเคราะห์เชิงปริมาณของไตรกลีเซอไรด์จากพื้นที่ใต้พีคหลังจาก integrate แล้วนำค่าที่ได้เชิงปริมาณมาทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติเพื่อบอกความแตกต่างของชนิดและปริมาณไตรกลีเซอไรด์ในตัวอย่างไขมันบริสุทธิ์ ไขมันผสม และไขมันดัดแปลงโครงสร้างหลังทำปฏิกิริยาด้วยเอนไซม์แล้ว



### การวัดค่าปริมาณความเป็นของแข็งในรูปผลึก (SFC) โดยใช้ p-NMR

ควบคุมอุณหภูมิของตัวอย่างก่อนการวัดค่า SFC ด้วยเครื่อง p-NMR ตามกรรมวิธีของ AOCS cd 16b-93 revised in 2000; Direct Method ดังนี้

1. ให้ความร้อนกับตัวอย่างไขมันที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 15 นาที เพื่อให้ตัวอย่างเกิดการละลายอย่างสมบูรณ์
2. บรรจุตัวอย่างลงในหลอดทดลอง p-NMR (เส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 10 mm) ให้มีระดับความสูงของตัวอย่างประมาณ 4 cm
3. ให้ความร้อนกับหลอดทดลองที่มีตัวอย่างไขมันที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 10 นาที เพื่อทำการละลายผลึกไขมันที่เป็นของแข็งทั้งหมด
4. ลดอุณหภูมิตัวอย่างลงอย่างรวดเร็วไปที่ประมาณ 0°C เป็นเวลา 60 นาที ( $\pm 2$  นาที)
5. เพิ่มอุณหภูมิไปที่อุณหภูมิที่ต้องการวัดค่า SFC แล้วทำการคงไว้ที่อุณหภูมินั้นๆ (10, 15, 20, 25, 30, 35, 37, 40, 45°C) เป็นเวลา 30-35 นาที เพื่อให้ตัวอย่างไขมันเข้าสู่สภาวะสมดุล
6. วัดค่า SFC ด้วยเครื่อง p-NMR ที่ทำการ calibration เตรียมพร้อมไว้แล้ว
7. สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า SFC (%) กับอุณหภูมิ (°C)

ที่มา : AOCS (2000)





ภาคผนวก ช  
การศึกษาคุณสมบัติทางความร้อนของไขมันด้วยเทคนิค  
Differential Scanning Calorimeter

## การศึกษาคุณสมบัติทางความร้อนของไขมันด้วยเทคนิค Differential Scanning Calorimeter

ทำการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิของการตกผลึกและการหลอมเหลวของไขมันโดยใช้เครื่อง Differential Scanning Calorimeter (DSC) รุ่น DSC 8000 PerkinElmer ตามกรรมวิธีของ AOCS Official Method Cj 1-94 (AOCS, 1997) ดังนี้

1. ชั่งตัวอย่างใส่ liquid aluminum pan สำหรับ DSC ประมาณ 3-5 mg
2. ปิดฝา pan ให้สนิท จากนั้นนำ sample pan และ reference pan (blank) ไปใส่เครื่อง DSC
3. ตั้งค่า temperature program สำหรับการวิเคราะห์ ดังนี้
  - 3.1 ให้ความร้อนแก่ตัวอย่างจากอุณหภูมิ 20 °C ไปจนถึง 80 °C ด้วยอัตรา 30 °C/นาที่
  - 3.2 คงไว้ที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นระยะเวลา 10 นาที
  - 3.3 ลดอุณหภูมิลงจาก 80 °C จนถึง -40 °C ด้วยอัตรา 5 °C/นาที่
  - 3.4 คงไว้ที่อุณหภูมิ -40 °C นาน 30 นาที
  - 3.5 ให้ความร้อนจากอุณหภูมิ -40 °C ไปจนถึง 80 °C ด้วยอัตรา 5 °C/นาที่
4. นำโครมาโตแกรมที่ได้จาก Pyris software (Pyris software, Perkin-Elmer, Shelton, CT, USA) ของเครื่อง DSC มาหาค่าเอนทาลปี อุณหภูมิในการตกผลึก และอุณหภูมิในการหลอมเหลว โดย
 

Tonset บอกค่าอุณหภูมิที่เริ่มเกิดการหลอมเหลวหรือตกผลึก

Tpeak บอกค่าอุณหภูมิที่มีการหลอมเหลวหรือตกผลึกมากที่สุด (จุดที่เกิด peak สูงที่สุด)

Tend บอกค่าอุณหภูมิที่เกิดการหลอมเหลวหรือตกผลึกจนหมดแล้ว

Enthalpy (เอนทาลปี) บอกปริมาณพลังงานที่ต้องใช้ในการหลอมเหลวหรือตกผลึก หน่วยเป็น จูล/กรัม โดยต่างกันขึ้นกับปริมาณพื้นที่ใต้กราฟ

ค่า T ดังกล่าวสามารถสังเกตได้อย่างชัดเจนจากกราฟโครมาโตแกรมจากช่วงอุณหภูมิต่อเวลาที่เปลี่ยนแปลงไป และมีความแตกต่างกันในแต่ละตัวอย่าง





ภาคผนวก ซ

การศึกษา Polymorphism ด้วยเทคนิค XRD

### การศึกษา Polymorphism ด้วยเทคนิค XRD

1. นำตัวอย่างไปหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเทตัวอย่างลงในพิมพ์พลาสติกกรุปซีเหลียมพื้นผ้า (20mm x 25mm x 3mm) แล้วทิ้งไว้ให้ตกผลึกที่ 18 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
2. นำตัวอย่างไปเข้าเครื่อง XRD โดยอาศัยหลักการสแกน ที่อาศัยหลักการทางฟิสิกส์โดยการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์เพื่อใช้อธิบายโครงสร้างของผลึกเมื่อดกกระทบเข้ากับรังสีเอกซ์ด้วยมุมตกกระทบที่แตกต่างกัน โดยระยะห่างและความยาวคลื่นเปลี่ยนแปลงไป

ที่มา: ดัดแปลงจาก Kim และคณะ (2008)



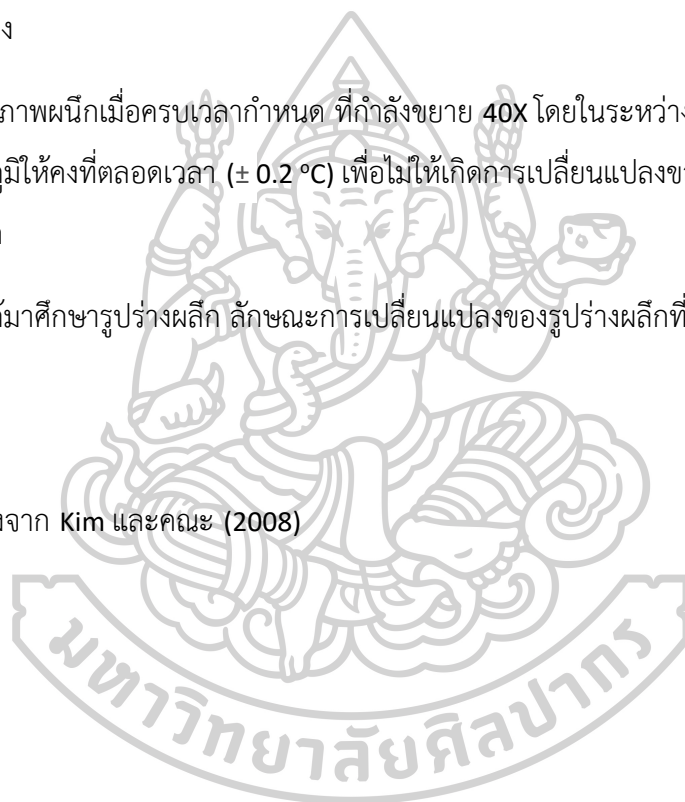


ภาคผนวก ฅ  
การศึกษาลักษณะรูปร่างผลิตภัณฑ์ไขมัน ด้วยเทคนิค PLM

### การศึกษาลักษณะรูปร่างผลึกไขมัน ด้วยเทคนิค PLM

1. ให้ความร้อนกับตัวอย่างไขมันที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 10 นาที หรือจนกระทั่งผลึกไขมันถูกทำลายจนหมด เพื่อทำลายโครงสร้างผลึกส่วนที่เป็นของแข็ง
2. ใช้ไมโครปิเปตดูดตัวอย่างประมาณ 20  $\mu\text{L}$  ใส่ลงใน glass slide แล้วปิดด้วย cover slip
3. นำตัวอย่างเก็บในตู้บ่มที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ ที่อุณหภูมิ 18 °C ( $\pm 0.2$  °C) ในสถานะนิ่ง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
4. ทำการถ่ายภาพนิกเมื่อครบเวลากำหนด ที่กำลังขยาย 40X โดยในระหว่างการทดลองต้องมีการควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ตลอดเวลา ( $\pm 0.2$  °C) เพื่อไม่ให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของรูปร่าง จำนวนและขนาดของผลึก
5. นำภาพที่ได้มาศึกษารูปร่างผลึก ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของรูปร่างผลึกที่ต่างกันในแต่ละสูตรตัวอย่าง

ที่มา: ดัดแปลงจาก Kim และคณะ (2008)





การวิเคราะห์ค่า Iodine value ตามรายงานของ AOCS official method Cd1d-92

1. ชั่งตัวอย่างน้ำมัน 0.2 g ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 500 ml
2. ละลายใน 15 ml cyclohexane/acetic acid (1:1 v/v)
3. เติมสารละลาย Wijs 25 ml
4. ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปเก็บในที่มืดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง
5. หยุดปฏิกิริยาด้วยการเติมสารละลาย KI 20 ml และน้ำกลั่น 150 ml ผสมให้เข้ากัน
6. เติมน้ำแข็ง (1%) 1 ml
7. ไตเตรทกับสาร 0.1 N sodium thiosulfate ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) จนกระทั่งไม่มีสี

การคำนวณ

$$IV = [(V_1 - V_2) \times N \times 12.69] / M$$

$V_1$  = ปริมาณของ 0.1 N  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  ที่ใช้ในการไตเตรท blank (ml)

$V_2$  = ปริมาณของ 0.1 N  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  ที่ใช้ในการไตเตรทตัวอย่าง (ml)

$N$  = Normality ของสารละลาย  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

$M$  = น้ำหนักของตัวอย่าง (g)

ที่มา : AOAC (2009)



ภาคผนวก ฎ  
การสกัดไขมันเนยเทียม (มาการ์ริน) ทางการค้า

### การสกัดไขมันเนยเทียม (มาการ์린) ทางการค้า

1. นำตัวอย่างเนยเทียมทางการค้ามาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C จนไขมันหลอมเหลวทั้งหมด
2. ค่อยๆรินเอาชั้นไขมันด้านบนตัวอย่างเนยเทียมลงในกรวยแยกเพื่อแยกเอาเฟสน้ำมันออกจากน้ำ
3. ล้างตัวอย่างด้วยน้ำอุ่นสามครั้งที่ปริมาตรเท่ากัน
4. กรองไขมันเนยเทียมผ่านชั้นของ anhydrous sodium sulphate ด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 ภายใต้อากาศความดันสุญญากาศ

ที่มา: Pande และคณะ (2013)







## คำย่อ

## (Abbreviation)

|      |                               |
|------|-------------------------------|
| EI   | Enzymatic interesterification |
| TFA  | Trans fatty acids             |
| SBO  | Soybean oil                   |
| PS   | Palm stearin                  |
| CNS  | Coconut stearin               |
| CNO  | Coconut oil                   |
| SFC  | Solid fat content             |
| MAG  | Monoacylglycerol              |
| DAG  | Diacylglycerol                |
| TAG  | Triacylglycerol               |
| GPL  | Glycerophospholipid           |
| FA   | Fatty acid                    |
| FFA  | Free fatty acid               |
| MCFA | Medium chain fatty acid       |
| PBs  | Physical blends               |
| SLs  | Structured lipids             |
| IV   | Iodine value                  |
| LDL  | Low density lipoprotein       |
| HDL  | High density lipoprotein      |



## ประวัติผู้เขียน

|                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|-------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ชื่อ-สกุล         | Ruttiya Lakum                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| วัน เดือน ปี เกิด | 30 March 1993                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| สถานที่เกิด       | Bangkok                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| วุฒิการศึกษา      | 2016 Studying in Master of Science at Silpakorn University<br>Faculty of Engineering and Industrial Technology<br>Major: Food Technology (M.Sc.)<br><br>2015 Bachelor of Science from Silpakorn University<br>(second class honor)<br>Faculty of Engineering and Industrial Technology<br>Major: Food Technology (B. Sc.)<br>Minor: Food Processing<br>Project of responsibility: Feasibility studies on development of<br>drinking yoghurt production: case study in small dairy industry.<br><br>2011 High school from Matthayom Wat Nongkhaem<br>School<br>Major: Science and Mathmetics |
| ที่อยู่ปัจจุบัน   | 150/419 Moo.13, Omnoi, Krathumbaen, Samut Sakhon 74130,<br>Thailand                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| ผลงานตีพิมพ์      | 2017 Oral presentation in the topic of "Enzymatic<br>interesterification of soybean oil, palm stearin and coconut<br>stearin blends" in JSBBA 2017 annual meeting at Kyoto Woman<br>University Kyoto (Japan) on March 18-20th, 2017.<br><br>2016 Poster presentation in the topic of "Characterization<br>of crystallization behavior of trans-free plastic fats<br>produced by enzymatic interesterification of soybean oil, palm                                                                                                                                                          |

stearin and coconut stearin" in the 6th National and International Graduate Study Conference 2016 (IGSC 2016) on July 11-12th, 2016.

