การลดการเกิดลักษณะเนื้อสัมผัสแบบเป็นเม็ดในเนยเทียมด้วยการทำอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่น

โดย
นางสาวศิรินภา รุ่งแสง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร
มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2565
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศิลปากร

การลดการเกิดลักษณะเนื้อสัมผัสแบบเป็นเม็ดในเนยเทียมด้วยการทำอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่น

โดย
นางสาวศิรินภา รุ่งแสง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร
มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2565

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศิลปากร

REDUCTION OF GRAINY TEXTURE IN MARGARINES BY INTERESTERIFICATION

By

MISS Sirinapa RUNGSANG

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for Master of Science FOOD TECHNOLOGY

Department of FOOD TECHNOLOGY

Silpakorn University

Academic Year 2022

Copyright of Silpakorn University

หัวข้อ	การลดการเกิดลักษณะเนื้อสัมผัสแบบเป็นเม็ดในเนยเทียมด้วยการทำอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่น
โดย	นางสาวศิรินภา รุ่งแสง
สาขาวิชา	เทคโนโลยีอาหาร แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	รองศาสตราจารย์ ดร. โสภาค สอนไว

คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

.... คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อรุณศรี ลีจีรจำเนียร)

พิจารณาเห็นชอบโดย

.... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กนกวรรณ กิ่งผดุง)

.... อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

(รองศาสตราจารย์ ดร. โสภาค สอนไว)

.... ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก

(อาจารย์ ดร. ปวิชญา โภชฌงค์)

630920022 : เทคโนโลยีอาหาร แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
คำสำคัญ : เนื้อสัมผัสแบบเป็นเม็ด, เนยเทียม, กระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่น, การตกผลึก, ลักษณะโครงสร้างผลึก

นางสาว ศิรินภา รุ่งแสง: การลดการเกิดลักษณะเนื้อสัมผัสแบบเป็นเม็ดในเนยเทียมด้วยการทำอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่น อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : รองศาสตราจารย์ ดร. โสภาค สอนไว

หนึ่งในปัญหาที่เกิดแก่เนยเทียมแบบเนยผสมคือการเกิดผลึกไขมันแบบเม็ดทรงกลมในระหว่างการเก็บรักษา ส่งผลให้เกิดลักษณะเนื้อสัมผัสแบบเป็นเม็ดเพื่อเป็นการแก้ปัญหาดังกล่าว งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการใช้กระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นทั้งแบบใช้เอนไซม์และสารเคมีเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ในการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของไขมันผสมระหว่างไขมันเนย น้ำมันพืชชนิด A และน้ำมันพืชชนิด B เพื่อใช้เป็นน้ำมันตั้งต้นในการผลิตเนยเทียมแบบเนยผสม การศึกษาพบว่าการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ (EIE) นั้นสามารถทำได้ที่ 3 อุณหภูมิคือ 45, 50 และ 55°C (ทั้งนี้อุณหภูมิที่ผู้ผลิตเอนไซม์แนะนำคือ 50 ± 5°C) โดยมีระยะเวลาที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาคือ 1 ชั่วโมง ปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมคือ 5% โดยน้ำหนักของน้ำมันตั้งต้น ในขณะที่การทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี (CIE) นั้นสามารถทำได้ที่ 3 อุณหภูมิคือ 80, 85 และ 90°C โดยใช้โซเดียมเมทอกไซด์ (sodium methoxide) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในปริมาณ 0.3% โดยน้ำหนักของน้ำมันตั้งต้น ระยะเวลาที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาทั้ง 3 อุณหภูมิคือ 1 ชั่วโมงเช่นกัน ทำให้ได้ไขมันหลังทำปฏิกิริยาที่มีปริมาณและชนิดขององค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ที่เปลี่ยนแปลงไป และมีเส้นกราฟของค่าไขมันแข็งในรูปผลึก (solid fat content: SFC) อยู่ในช่วงเส้นกราฟ SFC ของไขมันที่สกัดจากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า ให้ขนาดของผลึกที่เล็ก มีโครงสร้างผลึกแบบ β' และไม่มีการโตของผลึกในระหว่างการเก็บที่ 4°C เป็นระยะเวลา 3 เดือน จากนั้นจึงนำไขมันที่ได้จากการทำปฏิกิริยา EIE และ CIE ในสภาวะที่เหมาะสม โดยเลือกสภาวะในการทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 50°C เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมงสำหรับการทำปฏิกิริยา EIE และเลือกสภาวะในการทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 80°C เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมงสำหรับการทำปฏิกิริยา CIE มาผลิตไขมันเนยเทียมสำหรับใช้ผลิตเนยเทียมแบบเนยผสมแล้วศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติด้านต่างๆ ตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่ 4°C พบว่าเนยเทียมที่ผลิตจากไขมันหลังทำปฏิกิริยา EIE และ CIE ให้ค่า SFC ค่าความแข็ง และความสามารถในการปาดเกลี่ยต่ำกว่าเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า และเมื่อติดตามดูลักษณะรูปร่างรวมถึงขนาดของผลึกพบว่าผลึกยังคงมีขนาดเล็ก ไม่มีการโตในระหว่างการเก็บเป็นระยะเวลา 6 เดือน อีกทั้งยังไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึกจากรูปแบบ

β' ไปเป็นรูปแบบ β ในเนยเทียมทุกตัวอย่าง เนื่องจากไขมันหลังทำปฏิกิริยา EIE และ CIE มีความหลากหลายของชนิดโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ ทำให้ไขมันมีแนวโน้มที่จะตกผลึกลงในโครงสร้างรูปแบบ β' จึงยังไม่เกิดลักษณะเนื้อสัมผัสแบบเป็นเม็ดในผลิตภัณฑ์สุดท้าย

มหาวิทยาลัยศิลปากร

630920022 : Major FOOD TECHNOLOGY
Keyword : grainy texture, margarine, interesterification, crystallization, polymorphism

MISS Sirinapa RUNGSANG : Reduction of grainy texture in margarines by interesterification Thesis advisor : Associate Professor Sopark Sonwai

One of the main concerns regarding to the quality of butter blend margarines is the development of large and spherical fat crystals resulting in grainy texture. In order to solve the problem of grainy texture in butter blend margarine, this work investigated the possibility of using interesterification with enzyme and chemical catalyst to alter the triglyceride composition of butter fat-vegetable oil type A-vegetable oil type B blends. The enzymatic interesterification (EIE) was successfully performed at 45, 50 and 55°C with 1 h being the optimal reaction time. The optimal enzyme content was 5% by weight of the substrate. While chemical interesterification (CIE) was studied at 80, 85 and 90°C using sodium methoxide as a catalyst (0.3% by weight of the substrate) with 1 h being the optimal reaction time. Both interesterified fats exhibited different triglyceride compositions from the non-interesterified fat and showed solid fat content (SFC) curves that situated well within the range of the SFC curves of commercial butter blend margarine fats. The fats also crystallized into fine needle-like crystals in β' structure, both of which did not change during 3 months of storage at 4°C. After that, butter blend margarines will be manufactured from both the EIE and CIE fats and the samples will be stored at 4°C. During which time, the properties of the margarines will be investigated found that the experimental margarines produced from EIE and CIE had the lower SFC hardness and spreadability than commercial butter blend margarines. The fat crystals remained small and there was no polymorphic transition from β' to β crystals in all margarine samples. EIE and CIE fats contain a variety of triglyceride compositions, thus it tends to crystallize into β' structure and it does not cause a grainy texture in final product during storage.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ ได้รับงบประมาณสนับสนุนจาก กองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม และสำนักงานสภานโยบายการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรมแห่งชาติ โดยหน่วยบริหารและจัดการทุนด้านการเพิ่มความสามารถในการแข่งขันของประเทศ (บพข.) ร่วมกับบริษัทสุขสมบูรณ์ผลิตภัณฑ์น้ำมันพืช จำกัด ทางทีมวิจัยจึงใคร่ขอขอบคุณมา ณ ที่นี้ด้วย

นางสาว ศิรินภา รุ่งแสง

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย....................ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ....................ฉ

กิตติกรรมประกาศ....................ช

สารบัญ....................ซ

สารบัญตาราง....................ฎ

สารบัญรูปภาพ....................ฏ

บทที่ 1 บทนำ....................1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา....................1

1.2 วัตถุประสงค์....................2

1.3 ขอบเขตของการวิจัย....................3

บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง....................4

2.1 น้ำมันปาล์ม....................4

2.2 ไขมันเนย....................8

2.3 เนยเทียม....................10

2.4 การเกิดผลึกแบบเม็ดทรงกลมในผลิตภัณฑ์เนยเทียม....................11

2.5 กระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่น....................13

2.5.1 กระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา....................19

2.5.2 กระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้สารเคมีเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา....................20

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย....................23

3.1 วัสดุอุปกรณ์....................23

3.2 การเตรียมตัวอย่าง....................23

มหาวิทยาลัยศิลปากร

3.3 การศึกษาการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นโดยใช้เอนไซม์ 23
3.4 การศึกษาการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นโดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี........................ 25
3.5 การผลิตเนยเทียมและการศึกษาสมบัติของเนยเทียม 26
3.6 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ 26
บทที่ 4 อภิปรายผลการทดลอง.. 27
4.1 การศึกษาการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นโดยใช้เอนไซม์ 27
4.1.1 การทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นโดยใช้เอนไซม์ 27
4.1.2 การศึกษาพฤติกรรมการตกผลึกและการหลอมเหลวของไขมันที่ได้จากการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นโดยใช้เอนไซม์.. 31
4.1.2.1 การศึกษาค่า SFC ที่อุณหภูมิต่างๆ 31
4.1.2.2 การศึกษาเทอร์โมแกรมการตกผลึกและหลอมเหลว และพลังงานที่เกี่ยวข้อง 33
4.1.2.3 การศึกษาลักษณะสัณฐานผลึก 36
4.1.2.4 การศึกษาโครงสร้างผลึก 39
4.2 การศึกษาการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นโดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี........................ 42
4.2.1 การทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นโดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี............................. 42
4.2.2 การศึกษาพฤติกรรมการตกผลึกและการหลอมเหลวของไขมันที่ได้จากการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นโดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี.. 45
4.2.2.1 การศึกษาค่า SFC ที่อุณหภูมิต่างๆ 45
4.2.2.2 การศึกษาเทอร์โมแกรมการตกผลึกและหลอมเหลว และพลังงานที่เกี่ยวข้อง 47
4.2.2.3 การศึกษาลักษณะสัณฐานผลึก 51
4.2.2.4 การศึกษาโครงสร้างผลึก 54
4.3 การผลิตเนยเทียมและการศึกษาสมบัติของเนยเทียม 57
4.3.1 การศึกษาค่า SFC ตามระยะเวลาการเก็บรักษา.. 57
3.4.2 การศึกษาค่าความแข็งและความสามารถในการปาดเกลี่ยของเนยเทียม 58

4.3.3 การศึกษาลักษณะสัณฐานผลึก 60
4.3.4 การศึกษาโครงสร้างผลึก 62
บทที่ 5 สรุป 64
รายการอ้างอิง 65
ภาคผนวก ก วิธีกำจัดกรดไขมันอิสระ 74
ภาคผนวก ข วิธีการวิเคราะห์องค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ด้วยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) 76
ภาคผนวก ค วิธีการศึกษาค่าปริมาณไขมันแข็งในรูปผลึก (Solid fat content หรือ SFC) ด้วยเทคนิค pulsed-nuclear magnetic resonance หรือ p-NMR 78
ภาคผนวก ง วิธีการศึกษาอุณหภูมิในการหลอมเหลวและตกผลึกและพลังงานที่เกี่ยวข้อง (enthalpy) ด้วยเทคนิค differential scanning calorimetry (DSC) 79
ภาคผนวก จ วิธีศึกษาลักษณะสัณฐานผลึกด้วยเทคนิค polarized-light microscopy หรือ PLM 80
ภาคผนวก ฉ วิธีศึกษาโครงสร้างผลึกด้วยเทคนิค x-ray diffraction หรือ XRD 81
ภาคผนวก ช วิธีการผลิตเนยเทียมแบบเนยผสม 82
ภาคผนวก ซ วิธีการศึกษาคุณสมบัติด้านความแข็ง (hardness) และความสามารถในการปาดเกลี่ย (spreadability) ของเนยเทียม 83
ประวัติผู้เขียน 84

มหาวิทยาลัยศิลปากร

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 กรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันเมล็ดปาล์มและน้ำมันปาล์ม 5

ตารางที่ 2 คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำมันเมล็ดปาล์มและน้ำมันปาล์ม 5

ตารางที่ 3 กรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันปาล์มโอเลอินและน้ำมันปาล์ม 7

ตารางที่ 4 กรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในไขมันเนย.. 8

ตารางที่ 5 ปริมาณไขมันแข็งในรูปผลึก (SFC) ของเนยเทียมสำหรับใช้บริโภคทั่วไปแต่ละชนิด........ 11

ตารางที่ 6 การศึกษาเกี่ยวกับกลไกการเกิดผลึกแบบเม็ดทรงกลมในผลิตภัณฑ์เนยเทียม 12

ตารางที่ 7 การดัดแปลงองค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ด้วยวิธีต่างๆ 13

ตารางที่ 8 ความแตกต่างของกระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นที่ใช้สารเคมีและเอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา... 21

ตารางที่ 9 องค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ (TAG) ของน้ำมันตั้งต้น ไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ทั้งก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ (EIE) ที่อุณหภูมิ 45, 50 และ 55°C ระยะเวลา 1 ชั่วโมง 30

ตารางที่ 10 ค่า DSC parameters ที่เกี่ยวข้องกับการตกผลึกและการหลอมเหลวของไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ (EIE) ที่อุณหภูมิต่างๆ เปรียบเทียบกับไขมันที่สกัดได้จากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า....................... 35

ตารางที่ 11 องค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันตั้งต้น ไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ทั้งก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นโดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี (CIE) ที่อุณหภูมิ 80, 85 และ 90°C ระยะเวลา 1 ชั่วโมง 44

ตารางที่ 12 ค่า DSC parameters ที่เกี่ยวข้องกับการตกผลึกและการหลอมเหลวของไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นโดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี (CIE) ที่อุณหภูมิต่างๆ เปรียบเทียบกับไขมันที่สกัดได้จากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า 50

สารบัญรูปภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 น้ำมันชนิดต่างๆที่สกัดได้จากปาล์มน้ำมัน 4

ภาพที่ 2 กระบวนการผลิตไขมันเนย 9

ภาพที่ 3 ปฏิกิริยา Acidolysis 16

ภาพที่ 4 ปฏิกิริยา Alcoholysis 17

ภาพที่ 5 ปฏิกิริยา Glycerolysis 17

ภาพที่ 6 ปฏิกิริยา Transesterification 18

ภาพที่ 7 กลไกการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเตอริฟิเคชั่น 18

ภาพที่ 8 กระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา 20

ภาพที่ 9 กระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้สารเคมีเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา 20

ภาพที่ 10 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของไตรกลีเซอไรด์ชนิดหลักในไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ตามระยะเวลาของการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ที่ (a) 45℃, (b) 50℃ และ (c) 55℃ 28

ภาพที่ 11 ปริมาณไขมันแข็งในรูปผลึกของไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ (EIE) ที่อุณหภูมิต่างๆ เปรียบเทียบกับไขมันที่สกัดได้จากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า 32

ภาพที่ 12 DSC เทอร์โมแกรมการตกผลึก (a) และการหลอมเหลว (b) ของไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ (EIE) ที่อุณหภูมิต่างๆ เปรียบเทียบกับไขมันที่สกัดได้จากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า 34

ภาพที่ 13 ลักษณะสัณฐานผลึกของไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ทั้งก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ (EIE) ที่อุณหภูมิต่างๆ เปรียบเทียบกับไขมันที่สกัดได้จากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า หลังตกผลึกที่ 4℃ และเก็บรักษานาน 24 ชั่วโมง 36

ภาพที่ 14 ลักษณะสัณฐานผลึกของไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ทั้งก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ (EIE) ที่อุณหภูมิต่างๆ เปรียบเทียบกับไขมันที่สกัดได้จากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า หลังตกผลึกที่ 4°C และเก็บรักษานาน 1 เดือน 38

ภาพที่ 15 ลักษณะสัณฐานผลึกของไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ทั้งก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ (EIE) ที่อุณหภูมิต่างๆ เปรียบเทียบกับไขมันที่สกัดได้จากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า หลังตกผลึกที่ 4°C และเก็บรักษานาน 3 เดือน 39

ภาพที่ 16 ลักษณะโครงสร้างผลึกของไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ทั้งก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ (EIE) ที่อุณหภูมิต่างๆ เปรียบเทียบกับไขมันที่สกัดได้จากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า หลังตกผลึกที่ 4°C และเก็บรักษาไว้ที่ระยะเวลา (a) 0 เดือน, (b) 1 เดือน, (c) 2 เดือน และ (d) 3 เดือน 41

ภาพที่ 17 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของไตรกลีเซอไรด์ชนิดหลักในไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ตามระยะเวลาของการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมีที่ (a) 80°C, (b) 85°C และ (c) 90°C 43

ภาพที่ 18 ปริมาณไขมันแข็งในรูปผลึกของไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี (CIE) ที่อุณหภูมิต่างๆ เปรียบเทียบกับไขมันที่สกัดได้จากเนยผสมทางการค้า 46

ภาพที่ 19 ปริมาณไขมันแข็งในรูปผลึกของไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ (EIE) และแบบใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี (CIE) ที่อุณหภูมิต่างๆ 47

ภาพที่ 20 DSC เทอร์โมแกรมการตกผลึก (a) และการหลอมเหลว (b) ของไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี (CIE) ที่อุณหภูมิต่างๆ เปรียบเทียบกับไขมันที่สกัดได้จากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า 49

ภาพที่ 21 ลักษณะสัณฐานผลึกของไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ทั้งก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี (CIE) ที่อุณหภูมิต่างๆ เปรียบเทียบกับไขมันที่สกัดได้จากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า หลังตกผลึกที่อุณหภูมิ 4°C และเก็บรักษานาน 24 ชั่วโมง 52

ภาพที่ 22 ลักษณะสัณฐานผลึกของไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ทั้งก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี (CIE) ที่อุณหภูมิต่างๆ เปรียบเทียบกับไขมันที่สกัดได้จากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า หลังตกผลึกที่อุณหภูมิ 4°C และเก็บรักษานาน 1 เดือน ... 53

ภาพที่ 23 ลักษณะสัณฐานผลึกของไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ทั้งก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี (CIE) ที่อุณหภูมิต่างๆ เปรียบเทียบกับไขมันที่สกัดได้จากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า หลังตกผลึกที่อุณหภูมิ 4°C และเก็บรักษานาน 3 เดือน ... 54

ภาพที่ 24 ลักษณะโครงสร้างผลึกของไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ทั้งก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี (CIE) ที่อุณหภูมิต่างๆ เปรียบเทียบกับไขมันที่สกัดได้จากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า หลังตกผลึกที่ 4°C และเก็บรักษาไว้ที่ระยะเวลา (a) 0 เดือน, (b) 1 เดือน, (c) 2 เดือน และ (d) 3 เดือน ... 56

ภาพที่ 25 ปริมาณไขมันแข็งในรูปผลึกของเนยเทียมที่ผลิตจากไขมันผสม (BF:VOA:VOB) หลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ (EIE) และแบบใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี (CIE) เปรียบเทียบกับเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นระยะเวลา 6 เดือน ... 58

ภาพที่ 26 ค่าความแข็ง (a) และความสามารถในการปาดเกลี่ย (b) ของเนยเทียมที่ผลิตจากไขมันผสม (BF:VOA:VOB) หลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ (EIE) และแบบใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี (CIE) เปรียบเทียบกับเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นระยะเวลา 6 เดือน (ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่เหมือนกันแสดงถึงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ระหว่างเนยเทียมชนิดเดียวกันที่ระยะเวลาการเก็บรักษาต่างๆ และตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่เหมือนกันแสดงถึงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ระหว่างเนยเทียมแต่ละชนิดที่ระยะเวลาการเก็บเดียวกัน) ... 59

ภาพที่ 27 ลักษณะสัณฐานของเนยเทียมที่ผลิตจากไขมันผสม (BF:VOA:VOB) หลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ (EIE) และแบบใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี (CIE) เปรียบเทียบกับเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ... 60

ภาพที่ 28 ลักษณะสัณฐานของเนยเทียมที่ผลิตจากไขมันผสม (BF:VOA:VOB) หลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ (EIE) และแบบใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี (CIE) เปรียบเทียบกับเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นระยะเวลา 2 เดือน ... 61

ภาพที่ 29 ลักษณะสัณฐานของเนยเทียมที่ผลิตจากไขมันผสม (BF:VOA:VOB) หลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ (EIE) และแบบใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี (CIE) เปรียบเทียบกับเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นระยะเวลา 4 เดือน ... 61

ภาพที่ 30 ลักษณะสัณฐานของเนยเทียมที่ผลิตจากไขมันผสม (BF:VOA:VOB) หลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ (EIE) และแบบใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี (CIE) เปรียบเทียบกับเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นระยะเวลา 6 เดือน.............62

ภาพที่ 31 ลักษณะโครงสร้างผลึกของเนยเทียมที่ผลิตจากไขมันผสม (BF:VOA:VOB) หลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ (EIE) และแบบใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี (CIE) เปรียบเทียบกับเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4°C นาน (a) 0 เดือน (b) 2 เดือน (c) 4 เดือน และ (d) 6เดือน.............63

มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

หนึ่งในปัญหาที่เกิดแก่เนยเทียมหรือมาการีน (margarine) ที่ผลิตจากน้ำมันปาล์มคือการเกิดผลึกไขมันแบบเม็ดทรงกลม (granular crystals) ในระหว่างเก็บรักษา ส่งผลให้เกิดลักษณะเนื้อสัมผัสแบบเป็นเม็ด (grainy texture) หรือแบบเป็นเนื้อทราย (sandy texture) (Miskandar et al., 2005) ซึ่งส่งผลเสียต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ทำให้ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ผลึกไขมันแบบเม็ดนั้นเป็นกลุ่มผลึก (crystal clusters) ที่มีขนาด 0.1-3 มิลลิเมตร และบางครั้งมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าในผลิตภัณฑ์เนยเทียมที่เก็บรักษาไว้ที่ 5-10°C เป็นระยะเวลา 3-6 เดือนหรือสั้นกว่านั้น นอกจากนี้ในบางสูตรการผลิตได้มีการผสมน้ำมันจากพืชชนิดอื่น เช่น น้ำมันถั่วเหลือง ทานตะวัน คาโนล่า และไขมันนม หรือไขมันเนย (butter fat) ลงไปกับน้ำมันปาล์มเพื่อช่วยในการปรับคุณสมบัติด้านต่างๆ เช่น ปริมาณไขมันที่เป็นของแข็ง หรือ solid fat content (SFC) พฤติกรรมการหลอมเหลวและการตกผลึก และกลิ่นรส ให้มีความเหมาะสมมากขึ้น มีความเหมือนหรือใกล้เคียงกับเนยมากขึ้น (Danthine et al., 2015) แต่การผสมน้ำมันดังกล่าวในสูตรการผลิตกลับยิ่งทำให้การเกิดผลึกแบบเป็นเม็ดของเนยเทียมในระหว่างการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น (Meng et al., 2013)

มีหลายสาเหตุที่ทำให้เกิดผลึกไขมันแบบเม็ดในเนยเทียม หนึ่งในนั้นคือการเปลี่ยนโครงสร้างของผลึกน้ำมันปาล์มจากโครงสร้าง β' ไปเป็น β โดยทั่วไปแล้วเมื่อไขมันเกิดการตกผลึกจะเกิดการสร้างนิวเคลียสซึ่งจะมีการโตไปเป็นผลึกขนาดเล็กกว่า 1 ไมครอน เรียกว่า crystal platelets ในระหว่างการให้ความเย็นในช่วงของการเก็บรักษา ผลึกไขมันขนาดเล็กเหล่านั้นจะเกิดการเกาะรวมตัวกัน (agglomerate) เป็นผลึกรูปเข็ม (ขนาด 5 ไมครอน) ซึ่งอาจจะเกาะรวมกันเป็นผลึกรูปทรงกลมขนาดใหญ่ขึ้น (40-100 ไมครอน) ในเวลาต่อมา โดยทั่วไปแล้วผลึกของน้ำมันปาล์มนั้นจะอยู่ในโครงสร้าง β' ที่มีลักษณะผลึกเป็นรูปเข็มขนาดเล็ก ที่จะช่วยดักหรือจับน้ำมันเหลวไว้ในโครงข่ายผลึก (crystal network) ของเนยเทียม ทำให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะเนื้อสัมผัสที่เรียบเนียนและมีความเสถียร อย่างไรก็ตามโครงสร้างผลึกแบบ β' ของผลึกน้ำมันปาล์มอาจเปลี่ยนไปเป็นโครงสร้างแบบ β ได้ในระหว่างการเก็บรักษา ส่งผลให้รูปร่างผลึก เปลี่ยนจากรูปเข็มขนาดเล็กไปเป็นเม็ดทรงกลมขนาดใหญ่ ทำให้เกิดเนื้อสัมผัสแบบเป็นเม็ด ปรากฏการณ์นี้เกิดได้กับเนยเทียมที่ผลิตจากน้ำมันปาล์มผสมกับน้ำมันอื่นๆ ที่ทำให้มีปริมาณของไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) ชนิด POP, PPO และ OOP (เมื่อ P คือกรดปาล์มิติก และ O คือกรดโอเลอิก) ในปริมาณสูง ที่ถูกเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำ เช่น 10-15°C เป็น

ระยะเวลานาน โดยการเข้ากันได้น้อยหรือเข้ากันไม่ได้ (incompatibility) ของไตรกลีเซอไรด์เหล่านี้มักจะทำให้เกิดปรากฏการณ์ molecular compound ส่งผลให้น้ำมันปาล์มซึ่งปกติแล้วตกผลึกลงในโครงสร้าง β' (ผลึกแบบเข็ม) เกิดการเปลี่ยนโครงสร้างไปเป็น β (ผลึกแบบเม็ดทรงกลม) และทำให้เกิดเนื้อสัมผัสแบบเป็นเม็ดในที่สุด (Minato et al., 1997) นอกจากนี้ การผสมน้ำมันปาล์มกับส่วนต่างๆ (fractions) ของไขมันเนย สำหรับการผลิตเนยเทียมประเภทเนยผสมนั้นทำให้ได้ไตรกลีเซอไรด์ผสมที่มีชนิดและขนาดของโมเลกุลที่มีความหลากหลายและแตกต่างกันมาก เพราะน้ำมันปาล์มประกอบไปด้วยกรดไขมันสายยาวเป็นส่วนใหญ่ ในขณะที่ไขมันเนยประกอบด้วยกรดไขมันอิ่มตัวสายสั้นเป็นหลัก ทำให้เกิดปรากฏการณ์ eutectic effect (Danthine et al., 2015) นั่นคือเกิดการเข้ากันไม่ได้หรือการเข้ากันได้ยากของไตรกลีเซอไรด์จากไขมันทั้ง 2 ชนิด ส่งผลให้เกิดการตกผลึกได้ยากขึ้น ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความอ่อนตัว และทำให้การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของไขมันผสมจาก β' ไปเป็น β ได้ง่ายขึ้น (Rousseau et al., 2005) ทำให้เกิดผลึกเป็นเม็ดแบบทรงกลม และผลิตภัณฑ์มีลักษณะเนื้อสัมผัสแบบเป็นเม็ดในที่สุด

วิธีการในการแก้ปัญหาการเกิดผลึกแบบเม็ดทรงกลมดังกล่าวอาจทำได้โดยการเปลี่ยนชนิดของน้ำมันที่ใช้ในการผลิตเนยเทียมจากน้ำมันปาล์มและไขมันเนยไปเป็นน้ำมันชนิดอื่น แต่ในความเป็นจริงแล้ววิธีนี้ทำได้ยาก เพราะน้ำมันในตระกูลปาล์มเป็นวัตถุดิบที่หาได้ง่ายในประเทศและมีราคาถูก รวมถึงทำให้ผลิตภัณฑ์มีพฤติกรรมการตกผลึกและการหลอมเหลวที่ดี และมีความแข็งที่เหมาะสม ส่วนไขมันเนยทำให้กลิ่นรสและลักษณะเนื้อสัมผัสของเนยเทียมมีความใกล้เคียงกับเนยมากขึ้น ดังนั้นวิธีแก้ปัญหาที่เหมาะสมคือการเปลี่ยนชนิดของโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ หรือการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของไตรกลีเซอไรด์ในน้ำมันผสมระหว่างน้ำมันในตระกูลปาล์มและไขมันเนยโดยใช้กระบวนการต่างๆ เช่น การทำอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่น (interesterification) ซึ่งมีทั้งแบบใช้สารเคมี (chemical interesterification) และเอนไซม์ (enzymatic interesterification) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อศึกษาถึงผลของปัจจัยต่างๆในการทำอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นน้ำมันผสมระหว่างไขมันเนย น้ำมันพืชชนิด A และน้ำมันพืชชนิด B ทั้งแบบใช้สารเคมีและเอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาต่อชนิดและอัตราส่วนของโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ในน้ำมันผสม รวมถึงพฤติกรรมการตกผลึกและการหลอมเหลวของน้ำมันผสม

1.2.2 เพื่อเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการทำอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นน้ำมันผสมระหว่างไขมันเนย น้ำมันพืชชนิด A และน้ำมันพืชชนิด B ทั้งแบบใช้สารเคมีและเอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เพื่อให้

ได้น้ำมันผสมที่มีชนิดและอัตราส่วนของโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการผลิตเนยเทียมที่มีการลดลงของการตกผลึกแบบเป็นเม็ด

1.2.3 เพื่อผลิตตัวอย่างเนยเทียมแบบเนยผสมจากน้ำมันผสมระหว่างไขมันเนย น้ำมันพืชชนิด A และน้ำมันพืชชนิด B ที่ผ่านการทำอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่น ทั้งแบบใช้สารเคมีและเอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาด้วยสภาวะที่เหมาะสม พร้อมทั้งทดสอบคุณสมบัติในระหว่างเก็บรักษา

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1.3.1 การศึกษานี้ใช้น้ำมันผสมระหว่างไขมันเนย (BF) น้ำมันพืชชนิด A (VOA) และน้ำมันพืชชนิด B (VOB) ในอัตราส่วนที่เหมาะสม โดยให้เส้นกราฟ SFC อยู่ในช่วงของไขมันที่สกัดจากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า

1.3.2 ศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพรวมถึงพฤติกรรมการตกผลึกและการหลอมเหลวของน้ำมันผสมระหว่าง BF:VOA:VOB ที่ผ่านการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นทั้งแบบใช้สารเคมีและเอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเปรียบเทียบกับน้ำมันผสมตั้งต้นและไขมันที่สกัดจากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า

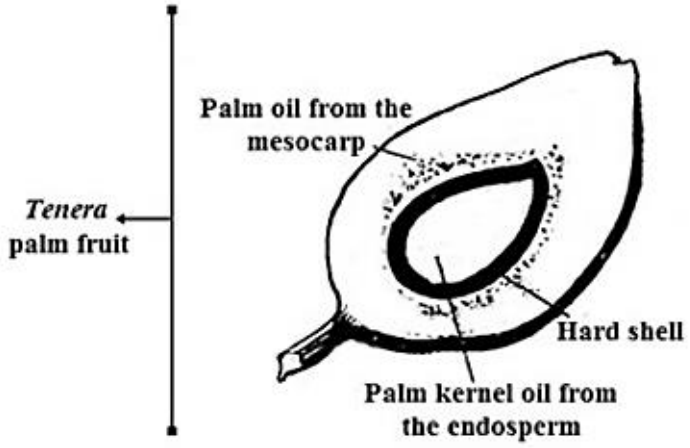
1.3.3 คัดเลือกน้ำมันผสมที่ได้จากการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นทั้งแบบใช้เอนไซม์และแบบใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมีมาผลิตเป็นเนยเทียมแบบเนยผสม แล้วศึกษาคุณสมบัติด้านต่างๆเทียบกับเนยเทียมทางการค้า แล้วติดตามดูลักษณะรูปร่างรวมถึงขนาดผลึกและการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึก เพื่อยืนยันว่าสภาวะในการผลิตไขมันเนยเทียมที่เลือกไว้นั้นเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึกจาก β' ไปเป็น β น้อยที่สุด และไม่เกิดผลึกแบบเม็ดทรงกลมในระหว่างการเก็บรักษา

มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทที่ 2
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 น้ำมันปาล์ม

ปาล์มน้ำมัน (*Elaeis guineensis*) เป็นหนึ่งในพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ผลผลิตของปาล์มน้ำมันนั้นจะถูกนำไปแปรรูปได้เป็นน้ำมันสองชนิดหลักๆ คือ น้ำมันเมล็ดปาล์ม (Palm kernel oil) ที่สกัดได้จากส่วน endosperm ของเมล็ดปาล์ม และน้ำมันปาล์ม (Palm oil) ซึ่งสกัดได้จากส่วน mesocarp ของผลปาล์ม (Norizzah et al., 2018) น้ำมันทั้งสองชนิดนี้ล้วนมีคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพที่แตกต่างกันอย่างสิ้นเชิง เนื่องจากชนิดและปริมาณของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบหลักมีความแตกต่างกัน ซึ่งมีผลต่อพฤติกรรมการตกผลึกและการหลอมเหลวของไขมัน โดยน้ำมันเมล็ดปาล์มจะมีกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบหลักคือกรดลอริก (C12:0) และกรดไมริสติก (C14:0) ซึ่งเป็นกรดไขมันอิ่มตัวที่มีความยาวสายไฮโดรคาร์บอนปานกลาง (medium chain fatty acid) ทำให้มีลักษณะการหลอมเหลวเฉพาะตัว สามารถหลอมเหลวได้อย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิร่างกายจึงไม่ทำให้เกิดความรู้สึกเป็นไขภายในปาก อีกทั้งยังให้ cooling sensation ที่ดี (Lee et al., 2013) ด้วยเหตุนี้น้ำมันเมล็ดปาล์มจึงนิยมนำใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น อุตสาหกรรมการผลิตเนยเทียม เนยขาว ช็อกโกแลต สเปรด เป็นต้น ขณะที่น้ำมันปาล์มมีกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบหลักคือกรดปาล์มิติก (C16:0) และกรดโอเลอิก (C18:1) ดังที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 1



ภาพที่ 1 น้ำมันชนิดต่างๆที่สกัดได้จากปาล์มน้ำมัน

ที่มา: ดัดแปลงจาก Norizzah et al. (2018)

ตารางที่ 1 กรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันเมล็ดปาล์มและน้ำมันปาล์ม

Fatty Acids	Palm Kernel Oil	Palm Oil
C12:0	48.2	-
C14:0	16.2	1.1
C16:0	8.4	44.0
C18:0	2.5	4.5
C18:1	15.3	39.2
C18:2	2.3	10.1
C18:3	-	0.4
C20:0	0.2	0.4

ที่มา: List (2016)

ตารางที่ 2 คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำมันเมล็ดปาล์มและน้ำมันปาล์ม

Properties	Palm Kernel Oil	Palm Oil
Slip melting point (SMP)	42.50	35.33
Iodine value (IV)	18	53
Polymorphic forms	β'	$\beta' + \beta$
Solid fat content (%SFC)		
Temperature, °C		
5	76.62	67.53
10	70.82	56.56
15	59.89	40.86
20	41.54	28.12
25	17.75	16.85
30	0.00	8.96
35	0.00	4.64
40	0.00	1.00
45	0.00	0.19

ที่มา: Norizzah et al. (2018)

น้ำมันปาล์มเป็นวัตถุดิบที่หาได้ง่าย มีราคาถูก ได้ผลผลิตสูง มีปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวในสัดส่วนที่เหมาะสม คงทนต่อความร้อนและปฏิกิริยาออกซิเดชั่น สามารถตกผลึกในโครงสร้างรูปแบบ β' ซึ่งให้ผลึกที่มีขนาดเล็กละเอียด จึงมีความเสถียรเมื่อเก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลานาน นอกจากนี้ยังหลอมเหลวได้ง่ายที่อุณหภูมิร่างกายเนื่องจากมีอุณหภูมิการหลอมเหลวอยู่ในช่วง 33-40°C (Nguyen et al., 2020) ด้วยเหตุนี้จึงนิยมใช้น้ำมันปาล์มมาเป็นส่วนประกอบในการผลิตเนยเทียม เนื่องจากทำให้ผลิตภัณฑ์มีความคงตัว เนื้อเรียบเนียน สามารถปาดเกลี่ยได้ดี

อย่างไรก็ตามน้ำมันปาล์มมีช่วงการหลอมเหลวที่ค่อนข้างกว้างเนื่องจากมีทั้งองค์ประกอบของไตรกลีเซอไรด์ที่มีจุดหลอมเหลวสูงและไตรกลีเซอไรด์ที่มีจุดหลอมเหลวต่ำอยู่ด้วยกัน ไตรกลีเซอไรด์เหล่านี้สามารถแยกออกจากกันได้ด้วยกระบวนการตกผลึกแบบแยกส่วน (fractionation) ซึ่งกระบวนการนี้เป็นการแยกส่วนประกอบที่มีจุดหลอมเหลวต่างกัน นิยมใช้แยกส่วนที่มีจุดหลอมเหลวสูง (stearin) ออกจากส่วนที่มีจุดหลอมเหลวต่ำ (olein) โดยอาศัยการตกผลึกบางส่วน (partial crystallization) ในวัฏภาคของเหลว (Chong et al., 1992) สามารถแบ่งได้เป็น 3 วิธีใหญ่ๆ ได้แก่ (Chong et al., 1992; Forssell et al., 1992; Macrae, 1983)

Dry fractionation เป็นการแยกส่วนที่ลดอุณหภูมิของน้ำมันลงให้ถึงอุณหภูมิที่ต้องการ จากนั้นจึงแยกส่วนที่มีจุดหลอมเหลวสูงออกจากส่วนที่มีจุดหลอมเหลวต่ำ โดยใช้วิธีการกรอง ข้อดีของวิธีนี้คือลดการปนเปื้อนจากสารเคมี ขั้นตอนไม่ยุ่งยาก สามารถทำได้ง่าย ประหยัดค่าใช้จ่าย ใช้ความร้อนต่ำ และช่วยป้องกันการเกิดออกซิเดชันได้

Solvent หรือ Wet fractionation เป็นการแยกส่วนโดยใช้ตัวทำละลายเติมลงไปในน้ำมันก่อนทำการตกผลึก จากนั้นจึงลดอุณหภูมิของน้ำมันลงให้ถึงอุณหภูมิที่ต้องการเพื่อตกผลึก แล้วกรองแยกส่วนแข็ง (stearin) ออกจากส่วนเหลว (olein) ภายใต้สภาวะสุญญากาศ และระเหยตัวทำละลายออก ซึ่งตัวทำละลายส่วนใหญ่ที่ใช้เป็นเฮกเซน (hexane) หรือ อะซิโตน (acetone) จึงไปช่วยลดความหนืดของน้ำมันลง วิธีนี้มีประสิทธิภาพสูง ใช้ระยะเวลาการตกผลึกสั้น และสามารถกรองแยกส่วนได้ง่าย และให้ค่า yield สูง อย่างไรก็ตามวิธีนี้อาจเกิดการออกซิเดชันขึ้นได้เนื่องจากการปนเปื้อนของตัวทำละลายระหว่างการแยกตัวทำละลายออกอย่างไม่สมบูรณ์

Aqueous detergent fractionation หรือ Lanza เป็นการแยกส่วนที่เติม sodium alkylsulfate หลังจากตกผลึก ซึ่งจะทำให้ผลึกแยกออกจากน้ำมันได้ดียิ่งขึ้น จากนั้นจึงปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกส่วนแข็ง (stearin) ออกจากส่วนเหลว (olein) และทำให้ผลึกแห้งภายใต้สภาวะสุญญากาศ

หลังผ่านกระบวนการแยกส่วนทำให้ได้น้ำมันปาล์มส่วนเหลวหรือปาล์มโอเลอิน (Palm olein) และน้ำมันปาล์มส่วนแข็งหรือปาล์มสเตียริน (Palm stearin) ซึ่งน้ำมันทั้งสองชนิดนี้จะมีปริมาณและชนิดของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบแตกต่างกันตามที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3 ซึ่งมีผลต่อคุณสมบัติด้านต่างๆ ดังนั้นการใช้ประโยชน์จากน้ำมันแต่ละชนิดจึงมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับความเหมาะสมและความต้องการของผลิตภัณฑ์นั้นๆ

ตารางที่ 3 กรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันปาล์มโอเลอินและน้ำมันปาล์ม

Fatty Acids	Palm olein	Palm stearin
C12:0	0.7	0.4
C14:0	1.5	2.1
C16:0	41.6	68.3
C18:0	3.8	4.0
C18:1	42.0	20.6
C18:2	10.4	4.6

ที่มา: Nguyen et al. (2020)

น้ำมันปาล์มส่วนแข็งหรือปาล์มสเตียรินถูกใช้ในผลิตภัณฑ์เนยเทียมเพื่อช่วยเพิ่มความแข็งแรงของโครงข่ายผลึก ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความคงตัว สามารถทนต่อสภาพอากาศได้ดียิ่งขึ้นเนื่องจากมีองค์ประกอบของกรดไขมันอิ่มตัวในปริมาณสูง อย่างไรก็ตามปาล์มสเตียรินยังมีข้อจำกัดในการนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์เนยเทียมเนื่องจากขาดคุณสมบัติความเป็นพลาสติก มีอุณหภูมิช่วงการหลอมเหลวที่สูง (44-56°C) ไม่สามารถหลอมเหลวได้หมดที่อุณหภูมิร่างกาย ทำให้เกิดความรู้สึกเป็นไขภายในปาก ด้วยเหตุนี้จึงต้องมีการปรับปรุงพฤติกรรมการหลอมเหลวของไขมันให้เหมาะสมมากขึ้นโดยผสมน้ำมันเหลวชนิดอื่นลงไปในอัตราส่วนต่างๆ หรือทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นเพื่อเปลี่ยนแปลงชนิดและปริมาณของไตรกลีเซอไรด์ที่เป็นองค์ประกอบ วิธีเหล่านี้ล้วนมีผลต่อคุณสมบัติด้านการหลอมเหลวของไขมันทั้งสิ้น จึงสามารถปรับปรุงพฤติกรรมการหลอมเหลวของไขมันให้เหมาะสมขึ้นได้ (Fauzi et al., 2013)

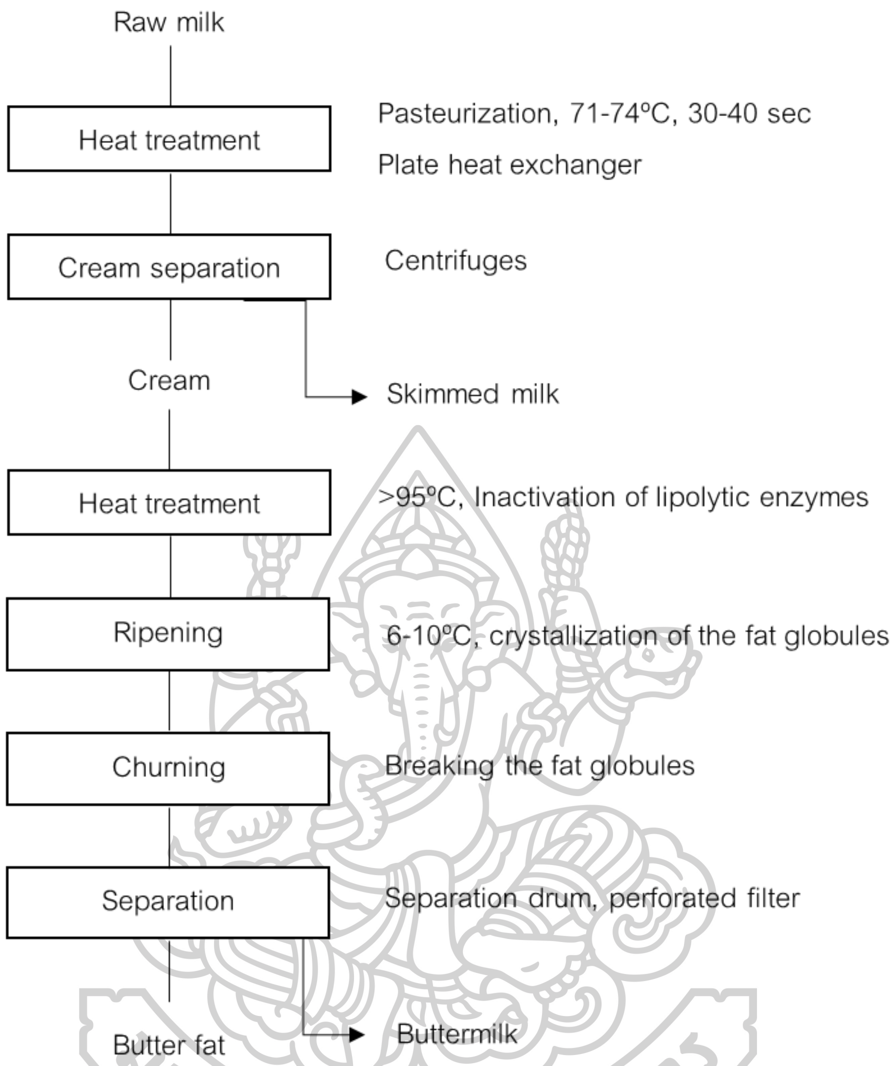
2.2 ไขมันเนย

ไขมันเนยเป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติที่มีคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสที่ดี ช่วยปรับปรุงกลิ่นรสให้มีความเหมือนหรือใกล้เคียงกับเนยมากยิ่งขึ้น นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์สเปรด เนยเทียม และเนยขาว โดยทั่วไปน้ำนมประมาณ 25 ลิตรสามารถผลิตไขมันเนยได้ถึง 1 กิโลกรัมผ่านกระบวนการปั่นแยกด้วยความเร็วสูง (churning) ทำให้ได้ไขมันเนยซึ่งเป็นไขมันส่วนที่ลอยอยู่บนผิวหน้าหลังผ่านกระบวนการดังที่ได้แสดงไว้ในภาพที่ 2 ไขมันเนยมีช่วงการหลอมเหลวที่ค่อนข้างกว้างโดยสามารถหลอมเหลวจนหมดที่อุณหภูมิ 37°C และตกผลึกจนเสร็จสิ้นที่อุณหภูมิประมาณ -40°C (deMan, 1964) เนื่องจากในไขมันเนยมีทั้งองค์ประกอบของกรดไขมันที่มีความยาวสายไฮโดรคาร์บอนยาว (C:16-C:18) และกรดไขมันที่มีความยาวสายไฮโดรคาร์บอนสั้น (C:4-C:10) อยู่ในปริมาณสูง (Grall & Hartel, 1992) ทำให้เกิดความหลากหลายทั้งชนิดและปริมาณของกรดไขมันที่มีอยู่ในไขมันเนย (Jensen et al., 1991) ซึ่งแสดงไว้ในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 กรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในไขมันเนย

Fatty acids and others	Butter fat
C4:0	3.93
C6:0	2.88
C8:0	2.12
C10:0	4.39
C12:0	6.24
C14:0	14.06
C16:0	29.57
C16:1	2.03
C18:0	11.04
C18:1	21.32
C18:2	1.04
C18:3	1.09

ที่มา: Shin et al. (2010)



ภาพที่ 2 กระบวนการผลิตไขมันเนย
ที่มา: ดัดแปลงจาก Bockisch (1998)

การมีองค์ประกอบของกรดไขมันที่หลากหลายนี้ทำให้ไขมันเนยสามารถตกผลึกในโครงสร้างรูปแบบ β' ทำให้ผลึกที่ได้มีขนาดเล็กซึ่งเป็นลักษณะที่ต้องการให้เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์เนยเทียมและเนยขาว (Ghotra et al., 2002) เนื่องจากผลึกเหล่านี้ทำให้ผิวหน้าผลิตภัณฑ์มีความมันวาว เนื้อเนียน โครงสร้างผลึกเสถียร ผลิตภัณฑ์มีความคงตัวสูง และสามารถปาดเกลี่ยได้ดี (Miskandar et al., 2002b) แม้จะมีข้อดีเหล่านี้แต่ไขมันเนยก็ยังข้อจำกัดเนื่องจากเป็นไขมันที่ได้จากสัตว์ ทำให้มีปริมาณคอเลสเตอรอลและกรดไขมันอิ่มตัวสูงจึงเพิ่มความเสี่ยงต่อโรคหลอดเลือดหัวใจ มีผลกระทบต่อสุขภาพตามมา (Zock & Katan, 1997)

2.3 เนยเทียม

เนยเทียม (margarine) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ทดแทนเนย (substitute for butter) มีลักษณะเป็นอิมัลชันแบบน้ำในน้ำมัน (O/W emulsion) และต้องมีปริมาณไขมันที่เป็นองค์ประกอบอย่างน้อย 80% ตามข้อกำหนดของกฎหมาย ในปี 2556 เนยเทียมมีองค์ประกอบสองเฟส ได้แก่ เฟสน้ำ (aqueous phase) ซึ่งประกอบไปด้วยน้ำ เกลือ และสารกันเสีย ส่วนเฟสไขมัน (fat phase) ซึ่งเป็นเฟสที่สำคัญมีผลต่อพฤติกรรมการตกผลึกและโครงสร้างผลึกของเนยเทียม มีองค์ประกอบของน้ำมัน เลซิติน โมโนเอซิลกลีเซอรอล และไดเอซิลกลีเซอรอลซึ่งเป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ รวมทั้งยังมีสารแต่งสี กลิ่นรส และสารต้านอนุมูลอิสระที่ถูกเติมเพิ่มเข้าไปเพื่อปรับปรุงลักษณะปรากฏและเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ (Miskandar et al., 2005) เนยเทียมที่ดีต้องไม่เกิดการแยกตัวของน้ำมัน (oil separation) และการแยกตัวของน้ำ (water separation) ไม่มีการเปลี่ยนสี (discoloration) และไม่เกิดลักษณะเนื้อสัมผัสแบบเนื้อทราย (sandiness) หรือเนื้อสัมผัสแบบเป็นเม็ด (graininess) เมื่อเก็บรักษาไว้นานขึ้น (Charteris & Keogh, 1991) ดังนั้นจึงควรเลือกชนิดและอัตราส่วนของน้ำมัน กระบวนการแปรรูป และวิธีการเก็บรักษาให้เหมาะสมเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดปัญหาดังกล่าว อย่างไรก็ตามการเคลื่อนที่มารวมตัวกันของผลึก และการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึกจากรูปแบบ β' ไปเป็นรูปแบบ β เป็นปัญหาหลักที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์เนยเทียม ด้วยเหตุนี้จึงมีความพยายามอย่างยิ่งในการผลิตเนยเทียมที่มีลักษณะโครงสร้างผลึกรูปแบบ β' เนื่องจากให้ผลึกขนาดเล็กละเอียด ผลิตภัณฑ์จึงมีความเรียบเนียน และเป็นเนื้อเดียวกัน ขณะที่ลักษณะโครงสร้างผลึกรูปแบบ β มีแนวโน้มทำให้ผลิตภัณฑ์เกิด post-hardened นำไปสู่ปัญหาลักษณะเนื้อสัมผัสแบบเป็นเม็ดและเนื้อทราย เกิดการแยกตัวของน้ำมันที่ผิวหน้าในที่สุด ซึ่งลักษณะเหล่านี้ล้วนทำให้ผลิตภัณฑ์เสื่อมคุณภาพไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค (Miskandar et al., 2002a)

เนยเทียมมีหลายประเภทขึ้นอยู่กับลักษณะเนื้อสัมผัสและการนำไปใช้งานในด้านต่างๆ ประเภทของเนยเทียมเมื่อแบ่งตามความแข็งและจุดหลอมเหลวของไขมัน สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด ได้แก่

1. Bakery margarine หรือเนยเทียมสำหรับใช้ในผลิตภัณฑ์ขนมอบ

เนยเทียมชนิดนี้มักผลิตมาจากน้ำมันเมล็ดปาล์ม (ทั้งที่เติมและไม่เติมไฮโดรเจน) นิยมใช้ทำหน้าที่แทนเนยขาวในผลิตภัณฑ์เค้ก คุกกี้ ขนมปัง และเพสตรี้ เนื่องจากมีช่วงความพลาสติกที่กว้างเช่นเดียวกันกับเนยขาวจึงสามารถใช้แทนกันได้ โดยทั่วไปแล้วเนยเทียมชนิดนี้ไม่จำเป็นต้องนำไปแช่เย็น มีความแน่นเนื้อสูง จึงทนทานต่อการทำงานของแป้งโดว์ ช่วยเค้กขึ้นฟูได้ง่าย สามารถเพิ่มปริมาณเนื้อเค้ก และทำให้ครีมมีความคงตัวมากขึ้น (Manley, 1983)

2. Table margarine หรือเนยเทียมสำหรับใช้บริโภคทั่วไป

เนยเทียมสำหรับใช้บริโภคทั่วไปสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มตามลักษณะเนื้อสัมผัส ได้แก่

2.1 Tub margarines: เนยเทียมชนิดนี้มักมีปริมาณไขมันแข็งในรูปผลึก (SFC) ต่ำที่อุณหภูมิต่ำ จึงทำให้สามารถปาดเกลี่ยได้ทันทีเมื่อนำออกจากตู้เย็น

2.2 Packet margarines: เนยเทียมชนิดนี้มีคุณสมบัติคล้ายกับเนยเทียมแบบ tub แต่ไม่สามารถปาดเกลี่ยได้ทันทีหลังนำออกจากตู้เย็นที่มีอุณหภูมิประมาณ 5-10°C เนื่องจากมีค่า SFC ที่สูงกว่า (Pande et al., 2013) ดังแสดงไว้ในตารางที่ 5 ด้วยเหตุนี้เนยเทียมแบบ packet จึงนิยมนำไปใช้ในประเทศที่มีสภาพอากาศแบบเขตร้อน ซึ่งมีอุณหภูมิโดยรอบประมาณ 30°C จำเป็นต้องมีปริมาณไขมันแข็งที่สูง เพื่อรักษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์

ตารางที่ 5 ปริมาณไขมันแข็งในรูปผลึก (SFC) ของเนยเทียมสำหรับใช้บริโภคทั่วไปแต่ละชนิด

Table margarine	Solid Fat Content (%SFC)				
type	10.0°C	21.1°C	26.7°C	33.3°C	37.8°C
Tub margarine	13	8	6	2	0
Packet margarine	28	16	12	2-3	0

ที่มา: Gunstone and Norris (1983)

2.4 การเกิดผลึกแบบเม็ดทรงกลมในผลิตภัณฑ์เนยเทียม

ผลึกแบบเม็ดทรงกลมในผลิตภัณฑ์เนยเทียมที่มีน้ำมันปาล์มเป็นองค์ประกอบหลักเกิดขึ้นจากผลึกที่มีลักษณะเป็นเม็ดเล็กๆ ซึ่งเป็นกลุ่มก้อนของผลึกไขมัน มักปรากฏขึ้นเมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไว้ที่อุณหภูมิต่ำเป็นเวลานาน เนื่องจากการปรากฏตัวของผลึกแบบเม็ดทรงกลมนี้เป็นสิ่งที่ไม่ต้องการให้เกิดขึ้นในเนยเทียมจึงมีการทำศึกษาถึงกลไกการก่อตัวของผลึกแบบเม็ดนี้เป็นจำนวนมากในระหว่างสองทศวรรษที่ผ่านมา ดังแสดงไว้ในตารางที่ 6

มีงานวิจัยจำนวนมากกล่าวว่าการเกิดผลึกแบบเม็ดทรงกลมเป็นการเกิด “fat bloom” รูปแบบหนึ่ง ซึ่งมักพบในผลิตภัณฑ์ช็อกโกแลตที่เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึกของไตรกลีเซอไรด์ที่มีจุดหลอมสูงจากรูปแบบ β' ไปเป็นรูปแบบ β เมื่อเก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลานานเพราะผลึกไขมันที่มีโครงสร้างรูปแบบ β มักมีขนาดที่ใหญ่และมีแนวโน้มที่จะรวมตัวกันได้ง่ายเมื่อเปรียบเทียบกับผลึกที่อยู่ในโครงสร้างรูปแบบ β' นอกจากนี้การผสมน้ำมันปาล์มกับส่วนต่างๆ (fractions) ของไขมันเนย เพื่อผลิตเนยเทียมประเภท butter blend ทำให้ได้ไตรกลีเซอไรด์ผสมที่มีชนิดและขนาดของโมเลกุลที่มีความหลากหลายและแตกต่างกันมาก เพราะในน้ำมันปาล์มประกอบไปด้วยกรดไขมัน

สายยาวเป็นส่วนใหญ่ ในขณะที่ไขมันเนยประกอบด้วยกรดไขมันอิ่มตัวสายสั้นเป็นหลัก ทำให้เกิดปรากฏการณ์ eutectic effect (Danthine et al., 2015) นั่นคือเกิดการเข้ากันไม่ได้หรือการเข้ากันได้ยากของไตรกลีเซอไรด์จากไขมันทั้งสองชนิด ส่งผลให้ตกผลึกได้ยากขึ้น ผลิตภัณฑ์มีความอ่อนตัว และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึกไขมันจากรูปแบบ β' ไปเป็น β ได้ง่ายขึ้น (Rousseau et al., 2005) ทำให้เกิดผลึกเป็นเม็ดแบบทรงกลม และได้ผลิตภัณฑ์มีที่ลักษณะเนื้อสัมผัสแบบเป็นเม็ดในที่สุด

ตารางที่ 6 การศึกษาเกี่ยวกับกลไกการเกิดผลึกแบบเม็ดทรงกลมในผลิตภัณฑ์เนยเทียม

Fat blends	Sample preparation	Hypothesis	Reference
Palm oil, Soybean oil, Milk fat	Shear crystallization at 300 rpm using heat exchanger, $T_{storage}$: 5°C	Agglomeration of β' crystals (POP) in the presence of POO (liquid fat)	Miura and Konishi (2001)
Palm oil, Soybean oil, Hydrogenated soybean oil	Shear crystallization at 3000 rpm using homogenizer mixer, $T_{storage}$: 5°C	Precipitation of β' and β crystals (PPP and POP)	Tanaka et al. (2007)
Palm oil, Palm stearin	Shear crystallization at 300 rpm using ice cream maker, $T_{storage}$: 28°C	Agglomeration of POP	Saadi et al. (2011)
Palm oil, Soybean oil	Shear crystallization at 130 rpm using heat exchanger, $T_{storage}$: 5°C	Polymorphic transition $\beta' \rightarrow \beta$ crystals of high melting TAG	Shiota et al. (2011)

อย่างไรก็ตามมีบางงานวิจัยได้ศึกษาการเกิดผลึกแบบเม็ดทรงกลมของน้ำมันผสมระหว่างน้ำมันปาล์มและน้ำมันถั่วเหลือง โดยทำการวิเคราะห์ XRD พบว่าผลึกเหล่านี้มีทั้งโครงสร้างรูปแบบ β (แกนกลาง) และ β' (ด้านนอก) ผสมกันอยู่ เนื่องจากไตรกลีเซอไรด์ที่มีจุดหลอมเหลวสูงจะตกผลึกออกมาก่อน ซึ่งผลึกเหล่านี้มักเป็นรูปแบบ β และทำหน้าที่เป็นตัวล่อผลึก จึงสามารถช่วยเร่งการตกผลึกของไตรกลีเซอไรด์ที่มีจุดหลอมเหลวต่ำกว่า ให้มาตกผลึกร่วมกัน เพื่อสร้างผลึกแบบเม็ดทรงกลมขนาดใหญ่ จึงทำให้เห็นว่าผลึกแบบเม็ดทรงกลมมีทั้งโครงสร้างรูปแบบ β และ β' ผสมกันอยู่นั่นเอง

2.5 กระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่น

กระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่น (interesterification) เป็นหนึ่งในกระบวนการที่สามารถดัดแปลงองค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride: TAG) ของไขมัน ช่วยปรับปรุงคุณสมบัติด้านต่างๆ เช่น พฤติกรรมการหลอมเหลวและตกผลึก ค่า SFC รวมถึงค่าความแข็ง (hardness) ให้มีความเหมาะสมกับผลิตภัณฑ์ต่างๆมากยิ่งขึ้น ทำให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะตามที่ต้องการ ส่งผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์และการยอมรับของผู้บริโภค การดัดแปลงองค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์สามารถทำได้หลายวิธีดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 การดัดแปลงองค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ด้วยวิธีต่างๆ

Modified fats	Description	Advantages	Disadvantages
Blended oils	Different base stocks are mixed together to obtain a specific composition, consistency and/or stability in the final product	-Cost-effective -Good consumer acceptance	-Oils used have a higher SFA content than IE equivalents -Crystallization properties may not always be ideal
Fractionated oils	Separates fats and oils into two or more fractions (*e.g.* palm olein and palm stearin from palm oil) with different	Most fractionations do not require use of additional chemicals	-All fractions are used and enter food supply chain – no decrease in overall SFA consumption at a population level

	melting points. The palm oil industry uses fractionation to alter and extend the functionality of palm oil for use in different food and feed applications		-Poor crystallization properties that affect product stability (*e.g.* 'blooming' of fat)
Partially hydrogenated oil	Partially hydrogenated oils are defined as oils that have been hydrogenated, but not to complete or near-complete saturation (*i.e.* double bonds are hydrogenated or converted from a cis to trans configuration)	-Uses cheaper vegetable-based oils with a lower SFA content than animal-derived alternatives -Provides fats with a wide range of functionality	-Generates TFA during the hydrogenation process, which remain in the oil as the hydrogenation process is incomplete -Production requires use of metal catalysts
Fully hydrogenated oil	Full hydrogenation of vegetable oils produces fats in which all the fatty acids are fully saturated with hydrogen. Such fats on their own are too waxy and solid to	-No TFA present in the final product (unlike PHOs) -Can use locally sourced oils (*e.g.* rapeseed oil) -Can be stearic acid-rich (neutral effect on LDL-C) if derived from oils	-Poor textural qualities (*e.g.* does not melt in the mouth) -May be higher in some SFA that have adverse CVD health effects -Consumer resistance to products with 'hydrogenated' on food

	use in many food production applications	such as rapeseed or soya oils that are rich in 18-carbon fatty acids	label -Manufacturing difficulties due to high melting points (above 80°C) -Production requires use of metal catalysts
Interesterified fat	Rearranges the fatty acid composition of TAG, the predominant form of dietary fat, to alter the solid fat content and melt profile	-Does not generate TFA -IE fats can be blended with oils for use in a wide range of applications -Avoids use of alternative fats higher in SFA	-Potential equipment set-up/running costs

ที่มา: Berry et al. (2019)

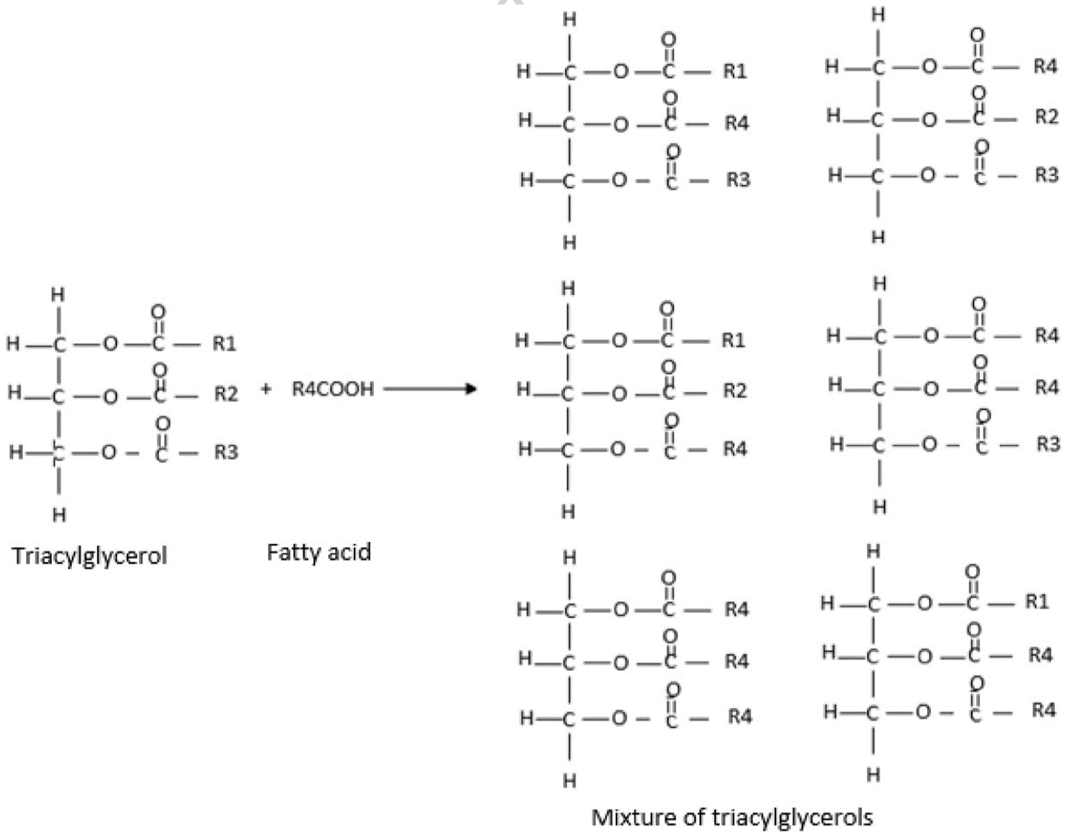
หมายเหตุ: CVD, cardiovascular disease; IE, interesterified; LDL-C, low-density lipoprotein cholesterol; PHO, partially hydrogenated oil; SFA, saturated fatty acids; TAG, triglyceride; TFA, *trans* fatty acids

อินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นเป็นกระบวนการที่สลับตำแหน่งของกรดไขมันที่เข้าจับกับกลีเซอรอลในโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ ทำให้เกิดการจัดเรียงตัวใหม่ของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบได้เป็นไตรกลีเซอไรด์รูปแบบใหม่ซึ่งมีผลทำให้สมบัติทางเคมีและกายภาพเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมตามที่ต้องการ โดยไม่มีเปลี่ยนแปลงชนิดและสร้าง trans-isomer ของกรดไขมันจากกระบวนการเติมไฮโดรเจนบางส่วน (partial hydrogenation) ที่มีผลกระทบต่อสุขภาพไขมันหลังผ่านกระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นสามารถมีจุดหลอมเหลวสูงขึ้นหรือลดลงขึ้นอยู่กับการจัดเรียงตัวของกรดไขมัน ต่างจากกระบวนการเติมไฮโดรเจนที่ทำให้น้ำมันมีจุดหลอมเหลวสูงขึ้นเท่านั้น

กระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ประเภท คือ Acidolysis, Alcoholysis, Glycerolysis และ Transesterification

1. Acidolysis

ปฏิกิริยานี้เป็นปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับกรดไขมันและโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ ตัวอย่างเช่น การทำปฏิกิริยาของน้ำมันมะพร้าวและกรดสเตียริก เพื่อแทนที่กรดไขมันสายสั้นในน้ำมันมะพร้าวด้วยกรดสเตียริกบางส่วน ทำให้คุณสมบัติของน้ำมันมะพร้าวเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมโดยจะมีจุดหลอมเหลว ค่าความแข็งที่เพิ่มมากขึ้น

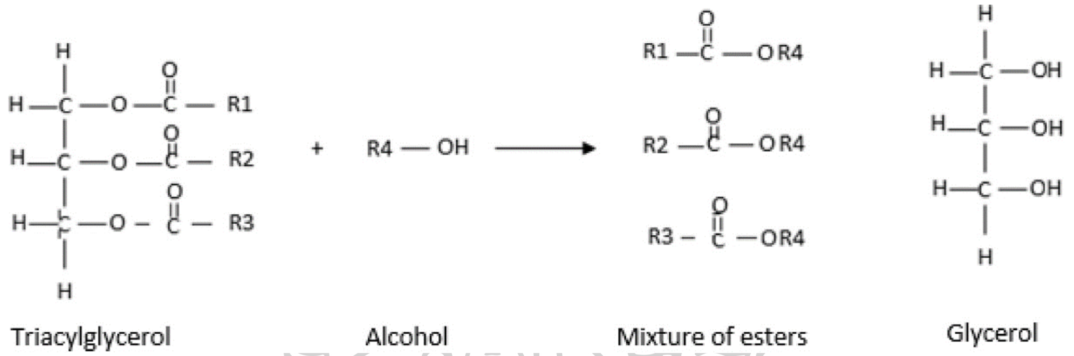


ภาพที่ 3 ปฏิกิริยา Acidolysis

ที่มา: Sivakanthan and Madhujith (2020)

2. Alcoholysis

ปฏิกิริยานี้เป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างแอลกอฮอลกับโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ ดังแสดงในภาพที่ 4 ปฏิกิริยา Alcoholysis ควรหลีกเลี่ยงกับการใช้ในน้ำมันสำหรับบริโภคเนื่องจากทำให้เกิด by-product ที่ไม่ต้องการ เช่น monoacylglycerols และ diacylglycerols ในระหว่างการทำปฏิกิริยา

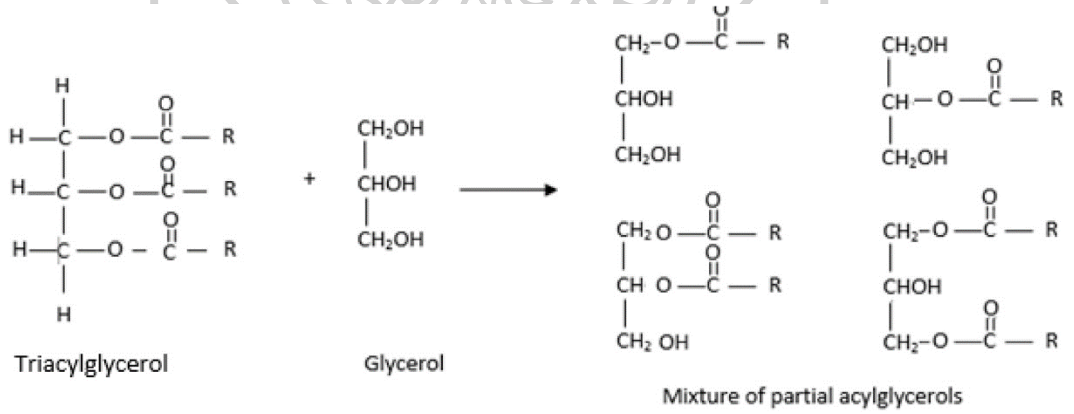


ภาพที่ 4 ปฏิกิริยา Alcoholysis

ที่มา: Sivakanthan and Madhujith (2020)

3. Glycerolysis

ปฏิกิริยานี้คล้ายกับปฏิกิริยา Alcoholysis ซึ่งใช้กลีเซอรอลทำหน้าที่แทนแอลกอฮอล ดังแสดงในภาพที่ 5

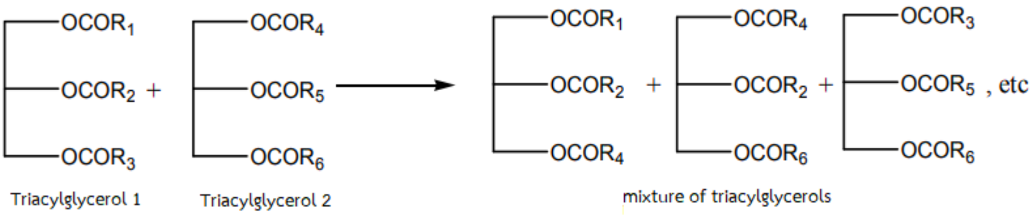


ภาพที่ 5 ปฏิกิริยา Glycerolysis

ที่มา: Sivakanthan and Madhujith (2020)

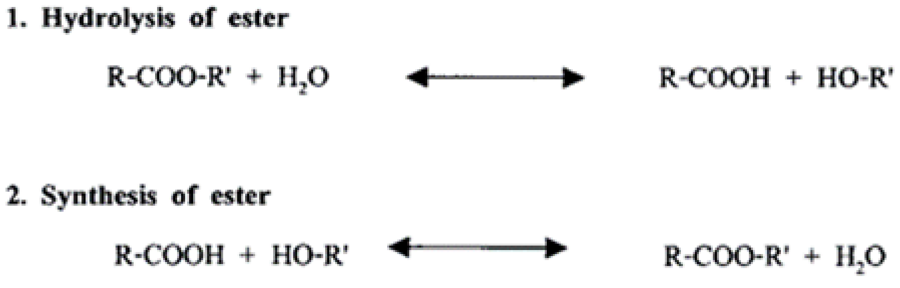
4. Transesterification

ปฏิกิริยาทรานส์เอสเตอริฟิเคชั่นเป็นปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนหมู่เอซิล (acyl group) ในโครงสร้างไตรกลีเซอไรด์จากตัวหนึ่งไปยังอีกตัวหนึ่ง เพื่อให้เกิดการจัดเรียงตัวใหม่ของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบได้ไตรกลีเซอไรด์รูปแบบใหม่ ดังแสดงในภาพที่ 6 ปฏิกิริยานี้ได้รับความนิยมมากที่สุดในอุตสาหกรรมน้ำมันด้านอาหาร (Rousseau & Maragoni, 2008)



ภาพที่ 6 ปฏิกิริยา Transesterification
ที่มา: Hamam (2013)

ในระหว่างการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่นจะประกอบไปด้วย 2 กลไกที่เกี่ยวข้อง โดยกลไกแรกคือกระบวนการ hydrolysis จะมีการตัดพันธะเอสเทอร์ที่เชื่อมโยงกรดไขมันเข้ากับกลีเซอรอลออก ทำให้ได้กรดไขมันอิสระที่ถูกตัดแบบสุ่มอยู่ภายในระบบ และกลไกที่สองคือกระบวนการ esterification เป็นการเชื่อมต่อกรดไขมันอิสระเหล่านั้นไปยังตำแหน่งใหม่บนกลีเซอรอลโมเลกุลเดียวกัน(intraesterification) หรือกลีเซอรอลโมเลกุลอื่น (interesterification)(Sreenivasan, 1978) กลไกทั้งสองนี้ได้แสดงไว้ในภาพที่ 7



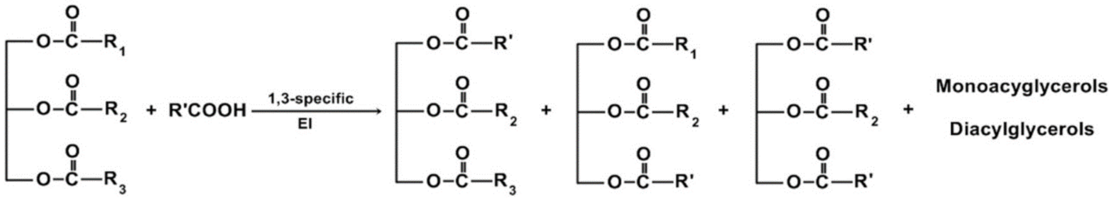
ภาพที่ 7 กลไกการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเตอริฟิเคชั่น
ที่มา: Yamane (1987)

กระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นสามารถเกิดขึ้นได้ 2 แบบคือกระบวนการที่ใช้สารเคมี (chemical Interesterification: CIE) เช่น sodium methoxide และกระบวนการที่ใช้เอนไซม์ (enzymatic Interesterification: EIE) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ซึ่งมีทั้งแบบจำเพาะและแบบสุ่มขึ้นอยู่กับชนิดของเอนไซม์ไลเปสที่ใช้ ต่างจากกระบวนการที่ใช้สารเคมีที่ทำให้เกิดการจัดเรียงตัวของกรดไขมันแบบสุ่มเท่านั้น

2.5.1 กระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

EIE นิยมใช้เพื่อปรับปรุงคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของไขมันให้มีลักษณะเป็นไปตามที่ต้องการ นิยมใช้เพิ่มปริมาณกรดไขมันจำเป็น เช่น กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (Polyunsatiurated fatty acid: PUFA) หรือกรดไขมันที่มีความยาวสายไฮโดรคาร์บอนสั้นและกรดไขมันที่มีความยาวสายไฮโดรคาร์บอนปานกลาง เพื่อปรับปรุงคุณค่าทางโภชนาการของไขมันให้ดีขึ้นโดยใช้เอนไซม์ไลเปสที่จำเพาะต่อกรดไขมัน (Kadhum & Shamma, 2017) กระบวนการนี้มักเกิดขึ้นระหว่างไขมันที่มีจุดหลอมเหลวสูง เช่น ส่วนต่างๆของน้ำมันปาล์มและน้ำมันเหลว ทำให้เกิดไตรกลีเซอไรด์รูปแบบใหม่ที่มีคุณสมบัติเฉพาะตัว (Mensink et al., 2016)

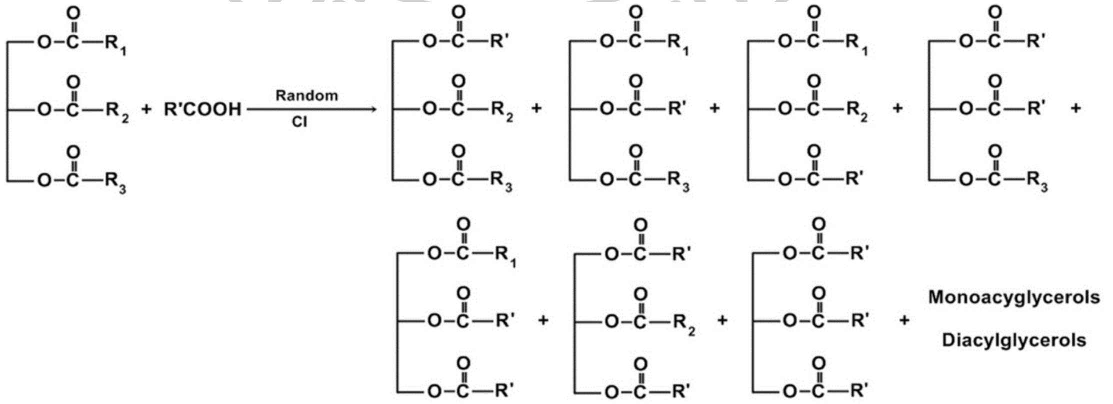
EIE เป็นกระบวนการที่มีประสิทธิภาพและมีความจำเพาะเจาะจงสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่ใช้เอนไซม์ชนิดที่มีความจำเพาะเจาะจงสามารถเข้าตัดและสลับกรดไขมันที่จับกับกลีเซอรอล ณ ตำแหน่ง *sn*-1 และ *sn*-3 เท่านั้น โดยที่ตำแหน่ง *sn*-2 ของไตรกลีเซอไรด์ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง ทำให้ได้ไขมันที่มีองค์ประกอบของไตรกลีเซอไรด์ที่จำเพาะและมีคุณสมบัติตามที่ต้องการ ดังแสดงในภาพที่ 8 จึงสามารถผลิตไตรกลีเซอไรด์รูปแบบใหม่ที่ต้องการได้อย่างรวดเร็ว ได้ผลผลิตสูง ควบคุมปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นได้ง่าย กระบวนการนี้สามารถเร่งปฏิกิริยาได้ในสภาวะที่ไม่รุนแรงคือใช้อุณหภูมิและความดันต่ำ โดยทั่วไปอยู่ที่ 55-70°C จึงช่วยลดต้นทุนและการใช้พลังงานได้ นอกจากนี้ยังช่วยคงความเสถียรของกรดไขมันที่เกิดออกซิเดชั่นได้ง่าย รวมถึงองค์ประกอบต่างๆ เช่น วิตามินอี เนื่องจากอุณหภูมิที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาค่อนข้างต่ำ ดังนั้น EIE จึงเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคที่ใส่ใจในสุขภาพมากกว่า (MacKenzie & Stevenson, 2000; Marangoni & Rousseau, 1995; Noor Lida et al., 2015; Zhang & Bartlett, 2000) นอกจากนี้แล้วการใช้เอนไซม์ยังไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมและผู้ปฏิบัติการเมื่อเทียบกับการใช้สารเคมี (Chen et al., 2007)



ภาพที่ 8 กระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา
ที่มา: Norizzah et al. (2018)

2.5.2 กระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้สารเคมีเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

CIE นิยมใช้ metal alkylates หรือ alkali metals เช่น sodium methoxide และ sodium เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Pires et al., 2008) ทำให้เกิดการสลับตำแหน่งของกรดไขมันที่เข้าจับกับกลีเซอรอลบนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์แบบสุ่ม ดังแสดงในภาพที่ 9 โดยปกติกระบวนการนี้จะถูกดำเนินการภายใต้อุณหภูมิในช่วง 70-120°C ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่สูง และใช้เวลาที่ค่อนข้างสั้นเมื่อเทียบกับกระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ อย่างไรก็ตามกระบวนการนี้ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์พลอยได้ที่ไม่ต้องการเป็นจำนวนมาก (Criado et al., 2008) จำเป็นต้องเพิ่มขั้นตอนการล้าง การฟอกสี และกำจัดกลิ่น ซึ่งทำให้เกิดความยุ่งยากซับซ้อน อีกทั้งตัวเร่งปฏิกิริยาเคมีที่ใช้ยังมีความไวต่อปฏิกิริยาสูง ต้องจัดการด้วยความระมัดระวังเป็นอย่างยิ่ง เพื่อป้องกันการสัมผัสกับผิวหนังหรือดวงตาที่ทำให้เกิดอันตรายต่อผู้ปฏิบัติงานเมื่อตัวเร่งปฏิกิริยาเคมีสัมผัสกับน้ำอาจก่อให้เกิดการระเบิดขึ้นได้ (Husum et al., 2004) (Husum et al., 2004)



ภาพที่ 9 กระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้สารเคมีเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา
ที่มา: Norizzah et al. (2018)

จากที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นว่า EIE ได้รับความนิยมในอุตสาหกรรมอาหารมากกว่า CIE เนื่องจาก EIE มีความจำเพาะเจาะจงและแม่นยำสูง ให้ผลผลิตที่ต้องการอย่างรวดเร็ว ได้ผลิตภัณฑ์ที่หลากหลาย ลดการสูญเสียน้ำมัน เกิดผลิตภัณฑ์พลอยได้ที่ไม่ต้องการเพียงเล็กน้อย ไม่จำเป็นต้องเพิ่มขั้นตอนใดๆหลังผ่านกระบวนการ ลดความยุ่งยากซับซ้อน และสามารถดำเนินการภายใต้สภาวะการทำงานที่ไม่รุนแรง ทำให้การเสื่อมสลายของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs) อยู่ในระดับต่ำ ช่วยรักษาคุณค่าทางโภชนาการและสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น วิตามินอี ที่มีอยู่ในน้ำมันไว้ได้ นอกจากนี้เอนไซม์ยังมีความเป็นพิษน้อยกว่าตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี จึงเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และนำกลับมาใช้ซ้ำได้หากเลือกใช้เอนไซม์ที่ผ่านการตรึงรูปแล้วแทนที่เอนไซม์อิสระ (Criado et al., 2007, 2008; Husum et al., 2004) การเปรียบเทียบความแตกต่างของกระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นที่ใช้สารเคมีและเอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาแสดงไว้ในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ความแตกต่างของกระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นที่ใช้สารเคมีและเอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

Characteristic	Chemical interesterification (CIE)	Enzymatic interesterification (EIE)
Catalyst	Chemical catalyst (sodium alkylates, metallic sodium, sodium/potassium mixtures)	Biocatalyst (microbial lipases)
Reaction condition	Harsh processing conditions	Mild processing conditions
Reaction	Random reaction that produces positional randomization of the acyl groups in the TAG	Random or stereospecific reaction. Highly specific reaction than chemical interesterification
Production of by-products	High	Low
Control of reaction	Control is difficult than enzyme reaction	Enzyme can be easily inactivated to stop the reaction
Product recovery	Difficult	Easy
Trans fat production	No	No

Cost	Relatively less, high temperature requirement increase the cost	Cost of enzyme is expensive, however, cost can be reduced if immobilize enzymes are used
Technical challenge	Post-process purification is necessary to remove by-products (soaps), bleaching and deodorization are necessary	The activity and stability of enzymes can be affected by temperature, pH, and the presence of heavy metals
Environmental concern	Environmentally not friendly	Environmentally friendly

ที่มา: Sivakanthan and Madhujith (2020)

มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุอุปกรณ์

ไขมันเนย (BF) น้ำมันพืชชนิด A (VOA) และน้ำมันพืชชนิด B (VOB) ได้รับการสนับสนุนจาก Suksomboon Vegetable Oil Co., Ltd. (ประเทศไทย) เนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้าทั้ง 3 ยี่ห้อจากห้างสรรพสินค้าท้องถิ่น (ประเทศไทย) เอนไซม์ไลเปสชนิด DF IM ได้รับการสนับสนุนจาก Amano Enzyme Asia Pacific Co., Ltd. (ประเทศไทย) ซึ่งเป็นเอนไซม์ชนิด *sn*-1,3 specific lipase ที่ผลิตจากเชื้อ *Rhizopus oryzae* Molecular sieves (3A, beads, 4-8 mesh) จาก Aldric Chemical Company (สหรัฐอเมริกา) สารมาตรฐาน (standard reagents) สำหรับการวิเคราะห์องค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ ด้วยเทคนิค high performance liquid chromatography (HPLC) จาก Larodan AB (สวีเดน) สารเคมีจาก Labscan Asia Co., Ltd. (ประเทศไทย), Thermo Fisher Scientific Inc. (ออสเตรเลีย) และ Macron Fine Chemicals (สหรัฐอเมริกา) สารเคมีทั้งหมดในการวิเคราะห์เป็น AR grade และ HPLC grade

3.2 การเตรียมตัวอย่าง

เตรียมตัวอย่างไขมันผสมก่อนทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นโดยนำไขมันเนย น้ำมันพืชชนิด A และน้ำมันพืชชนิด B มาให้ความร้อนในอ่างน้ำร้อน (water bath) ที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 10 นาที เพื่อทำลายโครงสร้างผลึกส่วนที่เป็นของแข็ง จากนั้นผสมน้ำมันทั้งสามชนิดในอัตราส่วนที่เหมาะสมให้เข้ากัน

3.3 การศึกษาการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นโดยใช้เอนไซม์

3.3.1 นำไขมันผสมไปทำ EIE ด้วยเอนไซม์ไลเปสชนิด DF IM (Amano Asia Pacific, Bangkok, Thailand) ซึ่งเป็นเอนไซม์ชนิด *sn*-1,3 specific lipase จากเชื้อ *Rhizopus oryzae* ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 45, 50 และ 55°C ใช้เอนไซม์ในปริมาณ 5% และ Molecular sieves 5% (โดยน้ำหนัก) ของไขมันผสม ชั่งมวลของไขมันผสมในปริมาณ 50 กรัม นำไปใส่ลงในบีกเกอร์แบบ 2 ชั้น (double-jacket) ขนาด 250 มิลลิลิตร และใส่แท่งแม่เหล็กสำหรับกวน (magnetic bar) ลงไป มีน้ำร้อนอุณหภูมิที่ต้องการศึกษาไหลวนจากอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิมาอยู่ด้านข้างรอบๆบีกเกอร์ตลอดเวลา เมื่อเวลาผ่านไปนาน 5 นาทีแรกจึงเติมเอนไซม์ลงไปและเริ่มจับเวลา 6 ชั่วโมง กวนตัวอย่างด้วยความเร็ว 300 รอบต่อนาที กำหนดให้ค่าปริมาณน้ำอิสระ (water activity : a_w) เริ่มต้น

ของเอนไซม์เป็น 0.12 โดยการเก็บเอนไซม์ไว้ข้ามคืนในเตาอบแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 40°C แล้วนำไปใส่ในโถดูดความชื้น (desiccator) ที่บรรจุสารละลายเกลืออิ่มตัวลิเทียมคลอไรด์ (LiCl) และนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิคงที่เป็นระยะเวลา 5 วัน หรือจนกระทั่งน้ำหนักคงที่

3.3.2 ที่ทุกๆ 1 ชั่วโมงของการทำปฏิกิริยาที่แต่ละอุณหภูมิ ดึงตัวอย่างน้ำมันออกมากรองด้วยสุญญากาศผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 41 แล้วนำตัวอย่างน้ำมันไปกำจัดกรดไขมันอิสระตามวิธีการของ Alim et al. (2008) ที่ระบุไว้ในภาคผนวก ก จากนั้นนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของไขมันผสมที่แต่ละชั่วโมงของการทำปฏิกิริยาจนครบ 6 ชั่วโมงด้วยเทคนิค high performance liquid chromatography (HPLC) ตามวิธีที่ระบุไว้ในภาคผนวก ข

3.3.3 พล็อตกราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณไตรกลีเซอไรด์ชนิดต่างๆ ตามระยะเวลาของการทำปฏิกิริยาของทั้งสามอุณหภูมิเพื่อหาระยะเวลาที่การเกิดปฏิกิริยาเริ่มเข้าสู่สภาวะสมดุลของแต่ละอุณหภูมิ ซึ่งจะเป็นระยะเวลาที่ปริมาณของไตรกลีเซอไรด์ชนิดหลักเริ่มคงที่หรือเริ่มไม่เปลี่ยนแปลงตามเวลา

3.3.4 นำน้ำมันหลังทำ EIE ที่ใช้ระยะเวลาที่การเกิดปฏิกิริยาเริ่มเข้าสู่สภาวะสมดุลของแต่ละอุณหภูมิที่ได้จากการศึกษาหัวข้อ 3.3.3 มาทำการศึกษาเปรียบเทียบกับไขมันผสมตั้งต้นและไขมันที่สกัดจากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้าอย่างน้อย 2 ตัวอย่าง แล้วทำการศึกษาพฤติกรรมการตกผลึกและการหลอมเหลวของตัวอย่างน้ำมันทั้งหมดดังรายการต่อไปนี้

3.3.4.1 ศึกษาค่า SFC ที่อุณหภูมิต่างๆ ด้วยเทคนิค pulsed-nuclear magnetic resonance หรือ p-NMR ตามวิธีของ Fiebig and Luttke (2003) ที่ระบุไว้ในภาคผนวก ค ไขมันเนยเทียมที่ดีควรให้ค่า SFC ที่อุณหภูมิต่างๆและพฤติกรรมการหลอมเหลวที่ใกล้เคียงกับเนยเทียมทางการค้า

3.3.4.2 ศึกษาอุณหภูมิในการหลอมเหลวและตกผลึกและพลังงานที่เกี่ยวข้อง (enthalpy) ด้วยเทคนิค differential scanning calorimetry หรือ DSC ตามวิธีของ AOCS Official Method Cj 1-94 (AOCS, 1997) ที่ระบุไว้ในภาคผนวก ง ไขมันเนยเทียมที่ดีควรให้เทอร์โมแกรม (thermogram) ของการตกผลึกและการหลอมเหลวที่ใกล้เคียงกับเนยเทียมทางการค้า

3.3.4.3 ศึกษาลักษณะรูปร่างผลึกรวมถึงขนาดผลึกด้วยเทคนิค polarized-light microscopy (PLM) ตามวิธีที่ระบุไว้ในภาคผนวก จ โดยเก็บตัวอย่างไขมันที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลาอย่างน้อย 3 เดือนและบันทึกภาพผลึกทุกๆ 1 เดือน ไขมันเนยเทียมที่ดีควรให้ผลึกรูปเข็มขนาดเล็กทำให้เนยเทียมมีเนื้อสัมผัสที่เรียบเนียน มีความเสถียร

3.3.4.4 ศึกษาโครงสร้างผลึกด้วยเทคนิค x-ray diffraction (XRD) ตามวิธีที่ระบุไว้ในภาคผนวก ฉ โดยเก็บตัวอย่างไขมันที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลาอย่างน้อย 3 เดือนและวิเคราะห์

โครงสร้างผลึกทุกๆ 1 เดือน ไขมันเนยเทียมที่ดีควรตกผลึกลงในโครงสร้าง β' อย่างเดียว หรือตกผลึกลงในโครงสร้าง β' ในปริมาณที่มากกว่าโครงสร้าง β ทั้งนี้เพราะโครงสร้าง β' ให้ผลึกที่มีลักษณะรูปเข็มขนาดเล็ก ทำให้เนยเทียมมีเนื้อสัมผัสที่เรียบเนียน มีความเสถียร ส่วนโครงสร้าง β ให้ผลึกแบบเป็นเม็ดรูปทรงกลม เสี่ยงต่อการเกิดลักษณะเนื้อสัมผัสแบบเป็นเม็ด

3.3.5 เลือกสภาวะในการทำ EIE ที่เหมาะสมที่สุด จากทั้ง 3 อุณหภูมิที่ทำการศึกษา โดยเลือกสภาวะที่ทำให้ได้ไขมันหลังการทำปฏิกิริยาที่มีค่า SFC ที่ใกล้เคียงกับเนยเทียมทางการค้า และตกผลึกลงในโครงสร้าง β' ผลึกมีขนาดเล็กและไม่มีการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างและขนาดผลึกตามเวลา

3.4 การศึกษาการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นโดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี

3.4.1 นำไขมันผสมไปทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นโดยใช้โซเดียมเมทอกไซด์ (sodium methoxide) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ชั่งไขมันผสมในปริมาณ 50 กรัม นำไปใส่ลงในบีกเกอร์แบบ 2 ชั้นขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วหลอมเหลวน้ำมันพร้อมกับกำจัดความชื้นโดยการให้ความร้อนที่ 80°C พร้อมการกวนผสมด้วยอัตรา 300 รอบต่อนาที ด้วยแท่งแม่เหล็กสำหรับกวนภายใต้สภาวะที่มีแก๊สไนโตรเจน (N_2 blanket) เป็นระยะเวลา 30 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิไปยังอุณหภูมิของการทำปฏิกิริยาที่ต้องการศึกษาคือ 80, 85 และ 90°C เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นมาถึงอุณหภูมิที่ต้องการศึกษาแล้วจึงเริ่มปฏิกิริยาด้วยการเติมโซเดียมเมทอกไซด์ในปริมาณ 0.3% (โดยน้ำหนัก) ของไขมันผสม ทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาเป็นระยะเวลา 1-6 ชั่วโมง ภายใต้ฟองแก๊สไนโตรเจน จากนั้นหยุดปฏิกิริยาด้วยการเติมสารละลายกรดซิตริก (20% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในปริมาณ 4% ทิ้งไว้นาน 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำร้อนเพื่อกำจัดสิ่งเจือปน ตามด้วยการเติมสารละลายโซเดียมซัลเฟต (sodium sulphate) 5% โดยน้ำหนัก เพื่อกำจัดน้ำที่ตกค้าง แล้วเติมดินฟอกสี (bleaching clay) 1.5% โดยน้ำหนัก ทิ้งไว้ 20 นาที เพื่อฟอกสี แล้วจึงกรองน้ำมันด้วยสุญญากาศผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 41 จากนั้นนำตัวอย่างน้ำมันไปวิเคราะห์เปรียบเทียบกับไขมันผสมตั้งต้น

3.4.2 วิเคราะห์องค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของไขมันผสมหลังการทำ CIE ทั้งสามอุณหภูมิเปรียบเทียบกับไขมันผสมตั้งต้น ด้วยเทคนิค HPLC

3.4.3 พล็อตกราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณไตรกลีเซอไรด์ชนิดต่างๆ ตามระยะเวลาของการทำปฏิกิริยาของทั้งสามอุณหภูมิเพื่อหาระยะเวลาที่การเกิดปฏิกิริยาเริ่มเข้าสู่สภาวะสมดุลของแต่ละอุณหภูมิ ซึ่งจะเป็นระยะเวลาที่ปริมาณของไตรกลีเซอไรด์ชนิดหลักเริ่มคงที่หรือเริ่มไม่เปลี่ยนแปลงตามเวลา

3.4.4 นำน้ำมันหลังทำ CIE ที่ใช้ระยะเวลาที่การเกิดปฏิกิริยาเริ่มเข้าสู่สภาวะสมดุลของแต่ละอุณหภูมิที่ได้จากการศึกษาในหัวข้อที่ 3.4.3 มาทำการศึกษาเปรียบเทียบกับไขมันผสมตั้งต้นและไขมันที่สกัดจากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้าอย่างน้อย 2 ตัวอย่าง แล้วทำการศึกษาพฤติกรรมการตกผลึกและการหลอมเหลวของตัวอย่างน้ำมันทั้งหมดดังรายการการศึกษาที่ระบุไว้ในข้อ 3.3.4.1-3.3.4.4

3.4.5 เลือกสภาวะในการทำ CIE ที่เหมาะสมที่สุด จากทั้ง 3 อุณหภูมิที่ทำการศึกษา โดยเลือกสภาวะที่ทำให้ได้ไขมันหลังการทำปฏิกิริยาที่มีค่า SFC ที่ใกล้เคียงกับเนยเทียมทางการค้า และตกผลึกลงในโครงสร้าง β' ผลึกมีขนาดเล็กและไม่มีการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างและขนาดผลึกตามเวลา

3.5 การผลิตเนยเทียมและการศึกษาสมบัติของเนยเทียม

นำไขมันผสมที่ได้จากการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นทั้งแบบใช้เอนไซม์และแบบใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมีภายใต้สภาวะที่เลือกไว้ในข้อ 3.3 และ 3.4 มาผลิตเป็นเนยเทียมแบบเนยผสมตามวิธีของ Podchong et al. (2018) ที่ระบุไว้ในภาคผนวก ช แล้วศึกษาคุณสมบัติด้านต่างๆ เช่น ค่าความแข็ง (hardness) และความสามารถในการปาดเกลี่ย (spreadability) ด้วยเครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (texture analyzer) ตามวิธีของ Podchong et al. (2018) ที่ระบุไว้ในภาคผนวก ซ ค่า SFC ด้วยเทคนิค p-NMR และโครงสร้างผลึกด้วยเทคนิค XRD เทียบกับเนยเทียมทางการค้า จากนั้นนำไปเก็บรักษาที่สภาวะการเก็บจริง (อุณหภูมิตู้เย็น) เป็นระยะเวลา 6 เดือน แล้วติดตามดูลักษณะรูปร่างรวมถึงขนาดผลึกด้วยเทคนิค PLM และติดตามดูการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึกทุกๆ 1 เดือน เพื่อยืนยันว่าสภาวะในการผลิตไขมันเนยเทียมที่เลือกไว้นั้นเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึกจาก β' ไปเป็น β น้อยที่สุด และไม่เกิดผลึกแบบเม็ดทรงกลมในระหว่างการเก็บรักษา และเพื่อให้ได้ตัวอย่างของเนยเทียมแบบเนยผสมที่ผ่านการทำ EIE และ CIE ที่ได้รับการทดสอบในสภาพการใช้งานจริงหรือใกล้เคียงกับการใช้งานจริงอย่างละ 1 ตัวอย่าง

3.6 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์

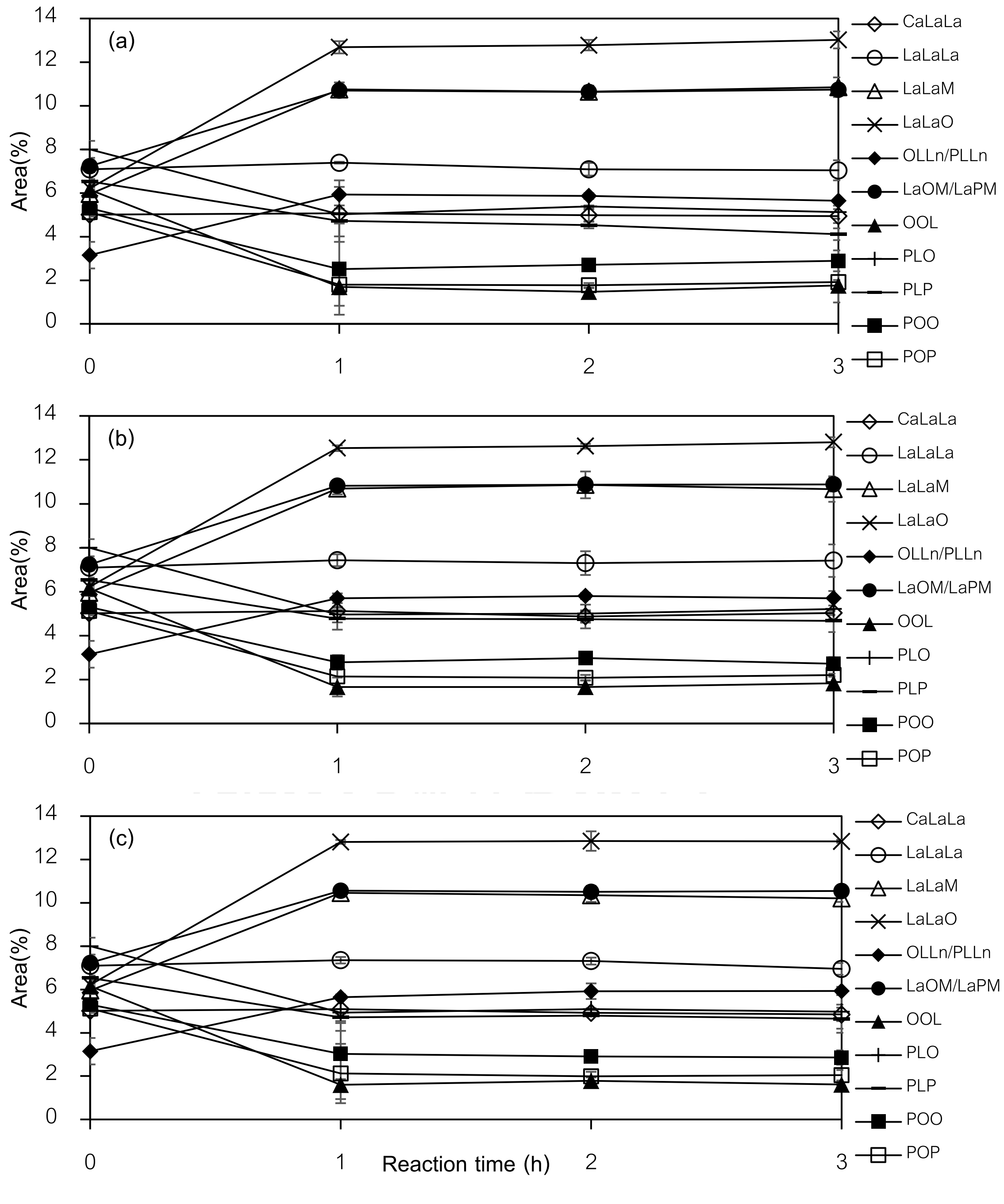
ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (completely randomize design, CRD) จากนั้นนำผลการทดลองมาวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี least significant difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p<0.05$) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS

บทที่ 4
อภิปรายผลการทดลอง

4.1 การศึกษาการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นโดยใช้เอนไซม์

4.1.1 การทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นโดยใช้เอนไซม์

เมื่อทำปฏิกิริยา EIE กับไขมันผสมระหว่างไขมันเนย น้ำมันพืชชนิด A และน้ำมันพืชชนิด B ที่อุณหภูมิ 45, 50 และ 55°C เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง ใช้ปริมาณสารตั้งต้น 10 กรัม ใช้ปริมาณเอนไซม์ 5% โดยได้ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของไขมันที่ทุกๆ ชั่วโมงของการทำปฏิกิริยา ได้ผลดังแสดงในภาพที่ 10 โดยในภาพแสดงเฉพาะผล 3 ชั่วโมงแรกของการทำ EIE เพื่อความชัดเจน จากภาพพบว่าหลังทำปฏิกิริยาทั้ง 3 อุณหภูมิ ไตรกลีเซอไรด์ชนิด LaLaM, LaLaO, OLLn/PLLn, และ LaOM/LaPM ในไขมันผสมมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นจากไขมันผสมตั้งต้น ซึ่งตรงข้ามกับไตรกลีเซอไรด์ชนิด OOL, PLO, PLP, POO และ POP ที่มีปริมาณลดลง ในขณะที่ไตรกลีเซอไรด์ชนิด CaLaLa และ LaLaLa เกิดการเปลี่ยนแปลงปริมาณเพียงเล็กน้อยในระหว่างการทำปฏิกิริยา บ่งชี้ได้ว่าการทำปฏิกิริยา EIE ทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนชนิดของกรดไขมันบนโครงสร้างโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ที่เป็นองค์ประกอบในไขมันผสม จึงทำให้ปริมาณของไตรกลีเซอไรด์ชนิดต่างๆ เปลี่ยนแปลงไป นอกจากนี้ยังพบว่าการทำปฏิกิริยาทั้ง 3 อุณหภูมิเริ่มเข้าสู่สมดุลหลังจาก 1 ชั่วโมงเป็นต้นไป ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่ปริมาณของไตรกลีเซอไรด์ชนิดต่างๆ เริ่มคงที่ ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงตามเวลา เมื่อเปรียบเทียบการทำงานของเอนไซม์ Amano DF IM กับเอนไซม์ในประเภท *sn*-1,3 specific lipase เหมือนกัน เช่น เอนไซม์ Lypozyme RM IM พบว่า Lypozyme RM IM ใช้ระยะเวลานานกว่าในการทำงานเพื่อให้เข้าสู่สภาวะสมดุล เช่น 6 ชั่วโมง ตามการรายงานของ Ornla-ied et al. (2021) ส่วนเอนไซม์ Amano DF IM นั้นใช้ระยะเวลาสั้นกว่ามาก เช่น 1 ชั่วโมงตามที่ได้รายงานไว้ในงานวิจัยนี้



ภาพที่ 10 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของไตรกลีเซอไรด์ชนิดหลักในไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ตามระยะเวลาของการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ที่ (a) 45°C, (b) 50°C และ (c) 55°C

หมายเหตุ: Cy; caprylic acid (C8:0), Ca; capric acid (C10:0), M; myristic acid (C14:0), P; palmitic acid (C16:0), S; stearic acid (C18:0), O; oleic acid (C18:1), L; linoleic acid (C18:2), Ln; linolenic acid (C18:3).

จากนั้นได้ทำปฏิกิริยา EIE ทั้ง 3 อุณหภูมิในสเกลที่ใหญ่ขึ้น ใช้ปริมาณสารตั้งต้น 50 กรัม โดยใช้ระยะเวลาที่การเกิดปฏิกิริยาเริ่มเข้าสู่สภาวะสมดุลของแต่ละอุณหภูมิ นั่นคือ 1 ชั่วโมง นำไขมันผสมใส่ลงในบีกเกอร์แบบ 2 ชั้น (double-jacketted beaker) แล้วทำปฏิกิริยาโดยใช้เอนไซม์ Amano DF IM ปริมาณ 5% โดยน้ำหนัก เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ใช้ความเร็วรอบในการกวนผสม 300 รอบต่อนาที จากนั้นนำน้ำมันที่ผ่านการทำปฏิกิริยานี้ไปกำจัดกรดไขมันอิสระ แล้วทำการศึกษาองค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของการทำปฏิกิริยานาน 1 ชั่วโมงของทั้ง 3 อุณหภูมิ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 แสดงองค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันตั้งต้น รวมถึงไขมันผสมทั้งก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยา EIE ทั้ง 3 อุณหภูมิ ที่ระยะเวลา 1 ชั่วโมง พบว่าไขมันเนยมีไตรกลีเซอไรด์ชนิดหลัก ได้แก่ OLLn/PLLn (14.13%), PLL (12.98%), MLP/MMO (12.24%) และ OOL (11.79%) ในขณะที่น้ำมันพืชชนิด A มีไตรกลีเซอไรด์ชนิดหลัก ได้แก่ LaOM/LaPM (14.73%), LaOO/LaPO/LaPP (12.66%), LaLaLa (12.08%), LaLaM (11.57%) และ LaLaO (10.22%) และน้ำมันพืชชนิด B มีไตรกลีเซอไรด์ชนิดหลัก ได้แก่ PLP (19.89%), PLO (17.90%), POP (16.97%) และ POO (10.67%) เมื่อนำน้ำมันทั้งสามชนิดมาผสมกันในอัตราส่วนที่ต้องการศึกษาทำให้ปริมาณและองค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของไขมันผสมที่ได้เปลี่ยนแปลงไปตามอัตราส่วนของน้ำมันตั้งต้น ภายหลังการทำปฏิกิริยา EIE ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่สลับตำแหน่งของกรดไขมันที่เข้าจับกับกลีเซอรอลภายในหรือระหว่างโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ (Kim et al., 2008) ทำให้เกิดไตรกลีเซอไรด์ชนิดใหม่ขึ้นมา ได้แก่ CyCyCa และ CaCaCa นอกจากนี้ยังเกิดการเพิ่มขึ้นของไตรกลีเซอไรด์ที่มีจุดหลอมเหลวปานกลาง ได้แก่ LaLaLa, LaLaM, LaLaO, LaMM และ LaOM/LaPM เป็นต้น รวมถึงการลดลงของไตรกลีเซอไรด์ที่มีจุดหลอมเหลวสูง ได้แก่ PLO, PLP, POO, POP, PPP และ POS เป็นต้น ซึ่งอาจทำให้มีคุณสมบัติแตกต่างไปจากเดิม

ตารางที่ 9 องค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ (TAG) ของน้ำมันตั้งต้น ไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ทั้งก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ (EIE) ที่อุณหภูมิ 45, 50 และ 55°C ระยะเวลา 1 ชั่วโมง

ECN	TAG	BF	VOA	VOB	NIE	EIE		
						45ºC	50ºC	55ºC
28	CyCyCa					1.13 ± 0.03^{a}	1.07 ± 0.48^{b}	1.12 ± 0.06^{a}
30	CaCaCa					2.67 ± 0.04^{c}	2.74 ± 0.21^{b}	2.81 ± 0.14^{a}
32	CyCyO		1.38 ± 0.08^{d}		1.35 ± 0.03^{e}	1.43 ± 0.12^{c}	1.60 ± 0.12^{b}	1.63 ± 0.07^{a}
32	CaCaLa		3.33 ± 0.11^{b}		3.39 ± 0.11^{a}	2.74 ± 0.07^{e}	2.86 ± 0.23^{c}	2.79 ± 0.29^{d}
34	CaLaLa		6.25 ± 0.13^{a}		5.01 ± 0.09^{d}	5.07 ± 0.01^{c}	5.12 ± 0.04^{b}	5.09 ± 0.64^{c}
34	CyLaM		1.25 ± 0.03^{b}		2.25 ± 0.01^{a}	0.66 ± 0.16^{c}	0.51 ± 0.35^{e}	0.59 ± 1.83^{d}
36	LaLaLa		12.08 ± 0.14^{a}		7.09 ± 0.13^{e}	7.39 ± 0.04^{c}	7.43 ± 0.27^{b}	7.35 ± 0.15^{d}
38	LaLaM		11.57 ± 0.57^{a}		5.95 ± 0.16^{e}	10.75 ± 0.32^{b}	10.69 ± 0.26^{c}	10.46 ± 0.17^{d}
40	LaLaO		10.22 ± 0.20^{d}		6.21 ± 0.05^{e}	12.68 ± 0.28^{b}	12.53 ± 0.13^{c}	12.81 ± 0.09^{a}
40	LaMM		3.26 ± 0.48^{a}		1.32 ± 0.27^{e}	1.93 ± 0.31^{d}	1.99 ± 0.03^{c}	2.04 ± 0.03^{b}
42	OLLn/PLLn	14.13 ± 0.42^{a}			3.15 ± 0.61^{e}	5.93 ± 0.65^{b}	5.70 ± 0.22^{c}	5.64 ± 0.07^{d}
42	LaOM/LaPM		14.73 ± 0.56^{a}		7.23 ± 0.27^{e}	10.70 ± 0.19^{c}	10.82 ± 0.19^{b}	10.56 ± 0.03^{d}
42	MMM	1.58 ± 0.81^{a}			0.63 ± 0.09^{d}	1.23 ± 0.47^{bc}	1.24 ± 0.04^{b}	1.21 ± 0.28^{c}
44	OLL	5.71 ± 0.28^{a}	3.73 ± 0.23^{c}	2.67 ± 0.10^{e}	4.06 ± 0.15^{b}	2.74 ± 0.36^{d}	2.27 ± 0.03^{f}	2.20 ± 0.36^{g}
44	PLL	12.98 ± 0.74^{a}		10.20 ± 0.01^{b}	5.79 ± 0.02^{d}	6.08 ± 0.22^{c}	5.74 ± 0.46^{e}	6.08 ± 0.31^{c}
44	LaOO/LaPO/LaPP		12.66 ± 0.63^{a}		7.42 ± 0.04^{b}	7.06 ± 0.04^{c}	6.67 ± 0.61^{e}	6.78 ± 1.75^{d}
44	MLP/MMO	12.24 ± 1.24^{a}	0.46 ± 0.06^{d}		0.33 ± 0.16^{e}	1.02 ± 0.15^{b}	0.95 ± 0.25^{c}	1.04 ± 0.98^{b}
46	OOL	11.79 ± 0.22^{a}	5.38 ± 0.21^{d}	6.78 ± 0.71^{b}	6.15 ± 0.27^{c}	1.70 ± 0.87^{e}	1.66 ± 0.43^{f}	1.60 ± 0.26^{g}
46	PLO	7.05 ± 0.29^{c}	4.78 ± 0.36^{f}	17.90 ± 0.70^{a}	8.00 ± 0.39^{b}	5.02 ± 1.26^{d}	4.96 ± 0.36^{e}	4.93 ± 0.84^{e}
46	PLP	7.54 ± 0.28^{b}		18.89 ± 0.22^{a}	6.53 ± 0.11^{c}	4.72 ± 0.71^{e}	4.77 ± 0.50^{d}	4.71 ± 0.17^{e}
46	MPP	2.84 ± 0.77^{a}	1.64 ± 0.10^{c}	2.79 ± 0.99^{b}	1.29 ± 0.92^{d}	0.54 ± 0.05^{f}	0.60 ± 0.04^{e}	0.58 ± 1.29^{e}
48	OOO	7.09 ± 0.82^{a}	3.28 ± 0.06^{d}	4.85 ± 0.02^{b}	3.37 ± 0.13^{c}	0.99 ± 1.16^{e}	0.84 ± 0.42^{g}	0.94 ± 0.92^{f}
48	POO	8.45 ± 0.92^{b}	2.31 ± 0.25^{g}	10.67 ± 0.07^{a}	5.30 ± 0.28^{c}	2.51 ± 2.09^{f}	2.78 ± 0.33^{e}	3.02 ± 2.08^{d}
48	POP	3.76 ± 0.03^{c}	0.65 ± 0.63^{f}	16.97 ± 0.63^{a}	5.12 ± 0.34^{b}	1.80 ± 0.45^{e}	2.14 ± 0.50^{d}	2.12 ± 1.37^{d}
48	PPP	0.56 ± 0.15^{c}		2.68 ± 0.35^{a}	0.65 ± 0.07^{b}	0.20 ± 0.13^{e}	0.31 ± 0.49^{d}	0.34 ± 0.14^{d}
50	OOS	2.03 ± 0.09^{a}	0.88 ± 0.14^{d}	1.63 ± 0.24^{b}	1.31 ± 0.15^{c}	0.79 ± 0.24^{e}	0.75 ± 0.07^{f}	0.73 ± 0.15^{f}
50	POS	1.92 ± 0.18^{b}	0.16 ± 0.03^{g}	2.51 ± 0.27^{a}	1.01 ± 0.26^{c}	0.50 ± 0.01^{f}	0.85 ± 0.16^{d}	0.72 ± 2.43^{e}
50	PPS	0.32 ± 0.06^{b}		0.46 ± 0.59^{a}	0.10 ± 0.01^{d}	0.01 ± 0.09^{e}	0.10 ± 0.00^{d}	0.14 ± 0.22^{c}

หมายเหตุ: Cy; caprylic acid (C8:0), Ca; capric acid (C10:0), M; myristic acid (C14:0), P; palmitic acid (C16:0), S; stearic acid (C18:0), O; oleic acid (C18:1), L; linoleic acid (C18:2), Ln; linolenic acid (C18:3), BF; butter fat, VOA; vegetable oil type A, VOB; vegetable oil type B, ECN; equivalent carbon number, ECN = CN-2 dB, CN: carbon number of triacylglycerols, dB: total number of double bonds in the triacylglycerols.

4.1.2 การศึกษาพฤติกรรมการตกผลึกและการหลอมเหลวของไขมันที่ได้จากการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นโดยใช้เอนไซม์

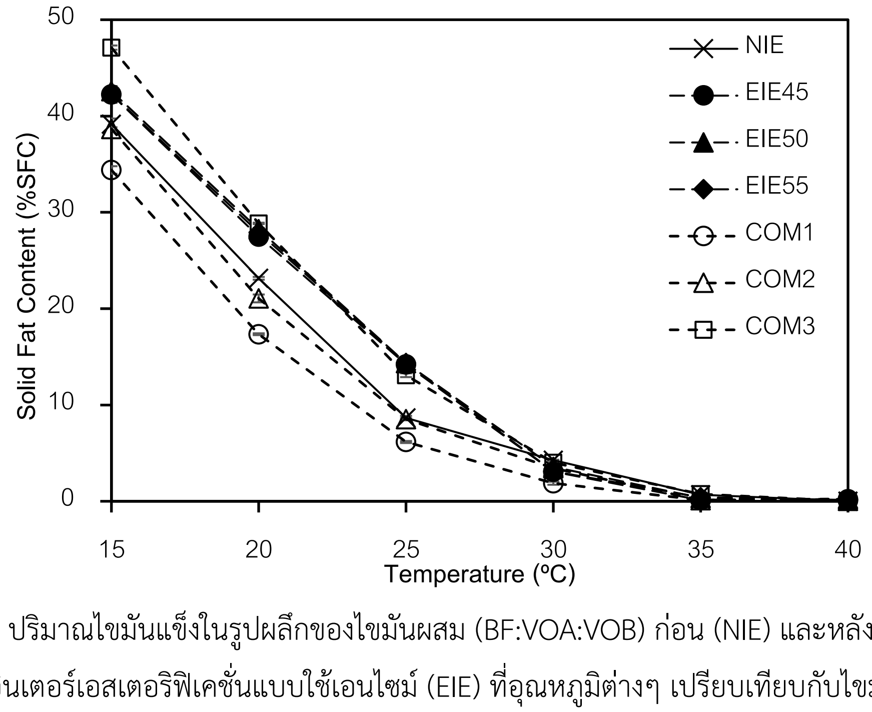
เมื่อทำการศึกษาพฤติกรรมการตกผลึกและการหลอมเหลวของตัวอย่างน้ำมันที่ได้จากปฏิกิริยา EIE ทั้ง 3 อุณหภูมิ ที่ระยะเวลา 1 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับไขมันผสมตั้งต้นและไขมันที่สกัดจากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า ได้ผลดังแสดงต่อไปนี้

4.1.2.1 การศึกษาค่า SFC ที่อุณหภูมิต่างๆ

ค่า SFC คือค่าเปอร์เซ็นต์ไขมันส่วนที่เป็นของแข็งในรูปผลึก ณ อุณหภูมิที่ต้องการศึกษา เนื่องจากค่า SFC มีผลต่อสมบัติทางกายภาพของไขมัน เช่น ความสามารถในการปาดเกลี่ย ความรู้สึกเมื่อรับประทานภายในปาก (mouthfeel) และความคงตัวของผลิตภัณฑ์ ด้วยเหตุนี้ค่า SFC จึงมักใช้ในการกำหนดลักษณะของไขมันที่มีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลวหรือไขมันพลาสติก (plastic fat) และถือเป็นหนึ่งในพารามิเตอร์เชิงคุณภาพที่สำคัญของเนยเทียม (Adhikari et al., 2010)

การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งในรูปผลึกของไขมันผสมทั้งก่อนและหลังทำปฏิกิริยาได้แสดงไว้ในภาพที่ 11 จากภาพพบว่าไขมันผสมก่อนทำปฏิกิริยา (NIE) ให้เส้นกราฟ SFC ที่อยู่ในช่วงของตัวอย่างเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า การทำปฏิกิริยา EIE ทั้ง 3 อุณหภูมิ (EIE45, EIE50 และ EIE55 สำหรับการทำปฏิกิริยาที่ 45, 50 และ 55°C ตามลำดับ) มีผลทำให้ค่า SFC เปลี่ยนแปลงไปในทิศทางเดียวกัน โดยค่า SFC ของไขมันผสมหลังทำปฏิกิริยา EIE จะเพิ่มขึ้นมากกว่าไขมันผสมก่อนทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ $\leq$ 25°C แต่ยังอยู่ภายในช่วงของค่า SFC ของตัวอย่างเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการทำปฏิกิริยาส่งผลให้ไตรกลีเซอไรด์ที่มีเลข equivalent carbon number (ECN) อยู่ในช่วง 36-42 มีปริมาณเพิ่มขึ้น ส่วนใหญ่เป็นไตรกลีเซอไรด์ที่มีกรดไขมันสายกลาง (medium chain fatty acid: MCFA) เป็นองค์ประกอบของหลัก เช่น กรดไมริสติก (myristic acid: M) และกรดลอริก (Lauric acid: La) (ตารางที่ 9) ทำให้ไขมันที่ได้มีลักษณะการหลอมเหลวที่เฉพาะตัวและรวดเร็ว เป็นของแข็งที่อุณหภูมิต่ำ ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีความคงตัว อีกทั้งยังให้ cooling sensation ที่ดี ในขณะที่อุณหภูมิ $\geq$ 30°C ค่า SFC ของตัวอย่าง EIE ทั้ง 3 อุณหภูมิ จะต่ำกว่าของ NIE เล็กน้อย ทั้งนี้เนื่องจากการลดลงของไตรกลีเซอไรด์ที่มีเลข ECN อยู่ในช่วง 46-50 (ตารางที่ 9) ซึ่งเป็นไตรกลีเซอไรด์ที่มีจุดหลอมเหลวสูง และมีค่า SFC เป็น 0% ที่อุณหภูมิร่างกาย แสดงว่าไขมัน EIE ทั้ง 3 ตัวอย่าง สามารถหลอมเหลวได้อย่างสมบูรณ์ได้ที่อุณหภูมิร่างกาย ไม่ทำให้เกิดความรู้สึกเป็นไขเมื่อรับประทานภายในปาก (Beckett, 2008)

เมื่อพิจารณาค่า SFC ของตัวอย่าง EIE ทั้ง 3 อุณหภูมิเปรียบเทียบกับไขมันที่สกัดได้จากเนยผสมทางการค้า พบว่าตัวอย่าง EIE มีลักษณะของเส้นกราฟ SFC ใกล้เคียงกันกับตัวอย่าง COM3 เป็นอย่างมาก ซึ่งที่อุณหภูมิ 20°C ทั้งตัวอย่าง EIE และตัวอย่าง COM3 มีค่า SFC สูงกว่า 10% จึงจะไม่ทำให้เกิดปัญหาการแยกตัวของน้ำมันเหลว (oiling off) ในผลิตภัณฑ์เนยเทียม ผลิตภัณฑ์จะยังคงลักษณะปรากฏที่ดีเอาไว้ได้ และจะมีความคงตัวสูง (Laia et al., 2000) นอกจากนี้แล้วที่อุณหภูมิ 25°C ตัวอย่างทั้งสี่ยังมีค่า SFC ต่ำกว่า 32% แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการปาดเกลี่ยที่ดีที่อุณหภูมิห้อง (Teles dos Santos et al., 2014) และยังมีค่า SFC ต่ำกว่า 3.5% ที่อุณหภูมิ 35°C จึงจะไม่ทำให้เกิดความรู้สึกเป็นไขเมื่อรับประทานภายในปากและหลอมเหลวได้อย่างสมบูรณ์ที่อุณหภูมิร่างกาย (Chrysan, 2005) จากที่กล่าวมาข้างต้นแสดงให้เห็นว่าไขมันผสมหลังผ่านปฏิกิริยา EIE ทั้ง 3 อุณหภูมิมีความเหมาะสมสำหรับนำไปใช้ผลิตเป็นไขมันเนยเทียมได้ โดยอุณหภูมิที่แตกต่างกันของการทำปฏิกิริยา คือ 45, 50 และ 55°C ไม่ส่งผลให้เกิดความแตกต่างต่อ SFC ของตัวอย่าง ทั้งนี้ผู้ผลิตเอนไซม์ได้แนะนำว่าอุณหภูมิในการทำงานที่เหมาะสมของเอนไซม์ชนิดนี้คือ 50 ± 5°C จึงเป็นที่มาของการศึกษาเปรียบเทียบการทำงานของเอนไซม์ที่ 45, 50 และ 55 °C ในงานวิจัยนี้



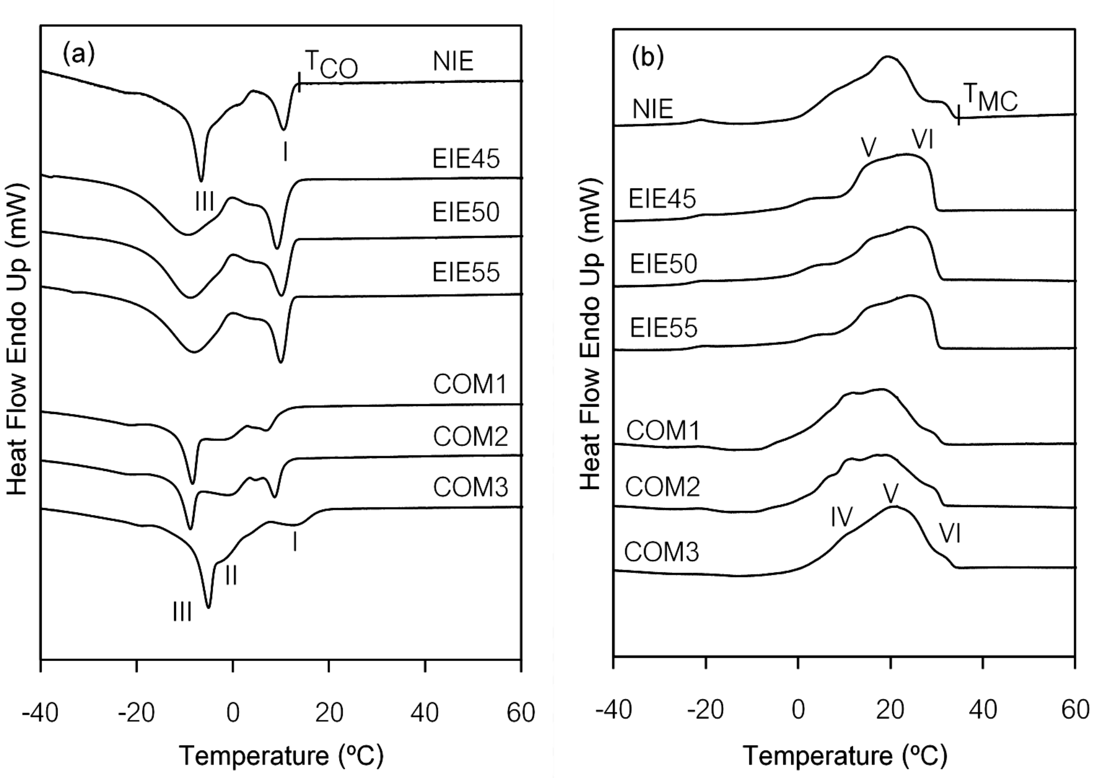
ภาพที่ 11 ปริมาณไขมันแข็งในรูปผลึกของไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ (EIE) ที่อุณหภูมิต่างๆ เปรียบเทียบกับไขมันที่สกัดได้จากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า

4.1.2.2 การศึกษาเทอร์โมแกรมการตกผลึกและหลอมเหลว และพลังงานที่เกี่ยวข้อง

ภาพที่ 12(a) แสดงเทอร์โมแกรมการตกผลึกของน้ำมันตัวอย่าง พบว่า NIE แสดงพีคการตกผลึก 2 พีคหลักที่เด่นชัดที่อุณหภูมิ 10.6 (T_{pI}) และ -6.8°C (T_{pIII}) (ตารางที่ 10) แสดงให้เห็นว่า NIE มีองค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ที่หลากหลายชนิดในโครงสร้างโมเลกุล พีค I แสดงการตกผลึกของไตรกลีเซอไรด์กลุ่มที่มีจุดหลอมเหลวสูงกว่า ส่วนพีค III แสดงการตกผลึกของไตรกลีเซอไรด์กลุ่มที่มีจุดหลอมเหลวต่ำกว่า หลังจากทำปฏิกิริยา EIE พีคทั้งสองขยับไปทางด้านที่มีอุณหภูมิต่ำลงเล็กน้อย การทำปฏิกิริยา EIE ทำให้เกิดการสร้างไตรกลีเซอไรด์ตัวใหม่ขึ้นมา โดยเฉพาะไตรกลีเซอไรด์ที่มีจุดหลอมเหลวต่ำ (CyCyCa และ CaCaCa) ทำให้พีค III ขยับไปทางด้านที่มีอุณหภูมิต่ำลง และชนิดของไตรกลีเซอไรด์ในกลุ่มนี้มีความหลากหลายขึ้น ส่งผลให้มีพีคการตกผลึกที่กว้างขึ้น นอกจากนี้ EIE ยังทำให้ไตรกลีเซอไรด์ที่มีจุดหลอมเหลวสูงกว่ามีปริมาณลดลง ทำให้พีค I ขยับไปทางด้านที่มีอุณหภูมิต่ำลงด้วย และส่งผลให้ความหลากหลายของไตรกลีเซอไรด์กลุ่มที่มีจุดหลอมเหลวสูงกว่าลดลง จึงทำให้พีคการตกผลึกดังกล่าวมีความคมมากขึ้นเล็กน้อย สอดคล้องกับค่า T_{co} ซึ่งเป็นค่าที่บอกถึงอุณหภูมิในการเริ่มตกผลึก ที่ลดลงหลังจากทำปฏิกิริยา EIE ส่วนเทอร์โมแกรมการตกผลึกของเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้ามีลักษณะใกล้เคียงกับตัวอย่าง NIE แม้จะมีพีคการตกผลึกขนาดเล็ก (พีค II) เพิ่มขึ้นมาระหว่างพีคที่ I กับ III แสดงให้เห็นว่าเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้าทั้ง 3 ยี่ห้อผลิตจากไขมันเนย น้ำมันพืชชนิด A และน้ำมันพืชชนิด B โดยไม่มีการใช้ปฏิกิริยา EIE ในกระบวนการ

ภาพที่ 12(b) แสดงการหลอมเหลวของตัวอย่างไขมันผสมซึ่งมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการปลดปล่อยกลิ่นรสและการยอมรับของผู้บริโภค โดยปกติแล้วไขมันเนยเทียมมักไม่มีจุดหลอมเหลวที่ชัดเจนแต่จะแสดงช่วงของการหลอมเหลวเนื่องจากความหลากหลายของไตรกลีเซอไรด์ที่เป็นองค์ประกอบ (Pande & Akoh, 2013) ตัวอย่าง NIE มีช่วงอุณหภูมิการหลอมเหลวที่กว้างและประกอบไปด้วยหลายพีคซ้อนทับกัน มีการหลอมเหลวหลักเกิดขึ้นที่ 19.3 (T_{pV}) และ 31.5°C (T_{pVI}) มีค่าอุณหภูมิที่การหลอมเหลวสิ้นสุด (T_{mc}) ซึ่งเป็นค่าที่บอกถึงอุณหภูมิที่ไขมันหลอมเหลวจนเสร็จสมบูรณ์ อยู่ที่ 34.3°C (ตารางที่ 10) หลังจากทำปฏิกิริยา EIE ตัวอย่างยังคงแสดงพีคของการหลอมเหลวหลักที่ประกอบไปด้วยหลายพีคซ้อนทับกัน บ่งชี้ว่าตัวอย่างไขมันมีชนิดของไตรกลีเซอไรด์ที่หลากหลาย ซึ่งถือเป็นลักษณะที่ดี เนื่องจากการมีไตรกลีเซอไรด์หลากหลายชนิดจะทำให้ไขมันมีแนวโน้มที่จะตกผลึกในโครงสร้างรูปแบบ β' ซึ่งเป็นลักษณะที่ต้องการในผลิตภัณฑ์เนยเทียม (Campos et al., 2002) ค่า T_{mc} ของตัวอย่าง EIE (31-32.6°C) มีค่าต่ำกว่าของตัวอย่าง NIE ซึ่งเป็นผลมาจากการลดลงของไตรกลีเซอไรด์ที่มีจุดหลอมเหลวสูงหลังจากทำปฏิกิริยาดังได้อธิบายไปก่อนหน้านี้ ผลการศึกษานี้มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันกับงานวิจัยของ (Lakum & Sonwai, 2018) ซึ่งได้รายงานว่า T_{mc} ของตัวอย่างไขมันผสมระหว่างน้ำมันถั่วเหลือง ปาล์มสเตียริน และน้ำมันมะพร้าว

ลดลงหลังทำปฏิกิริยา EIE ทำให้ได้ไขมันที่มีคุณสมบัติเหมาะสมมากขึ้นสำหรับนำไปใช้ผลิตเนยเทียม เมื่อพิจารณาเทอร์โมแกรมการหลอมเหลวของตัวอย่างไขมันที่สกัดได้จากเนยผสมทางการค้าพบว่ามีลักษณะเป็นพีคหลายพีคที่ซ้อนทับกัน เช่นเดียวกันกับเทอร์โมแกรมการหลอมเหลวของตัวอย่าง NIE และ EIE



ภาพที่ 12 DSC เทอร์โมแกรมการตกผลึก (a) และการหลอมเหลว (b) ของไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ (EIE) ที่อุณหภูมิต่างๆ เปรียบเทียบกับไขมันที่สกัดได้จากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า

นอกจากนี้ จากตารางที่ 10 จะเห็นได้ว่าค่าเอนทาลปีของการตกผลึก (ΔH_c) และการหลอมเหลว (ΔH_m) ลดลงหลังการทำปฏิกิริยา EIE ทั้ง 3 อุณหภูมิ แสดงให้เห็นว่าการจัดเรียงตัวกันเป็นโครงสร้างผลึกของโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ในตัวอย่างเหล่านี้มีความเป็นระเบียบน้อยลง

ตารางที่ 10 ค่า DSC parameters ที่เกี่ยวข้องกับการตกผลึกและการหลอมเหลวของไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ (EIE) ที่อุณหภูมิต่างๆ เปรียบเทียบกับไขมันที่สกัดได้จากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า

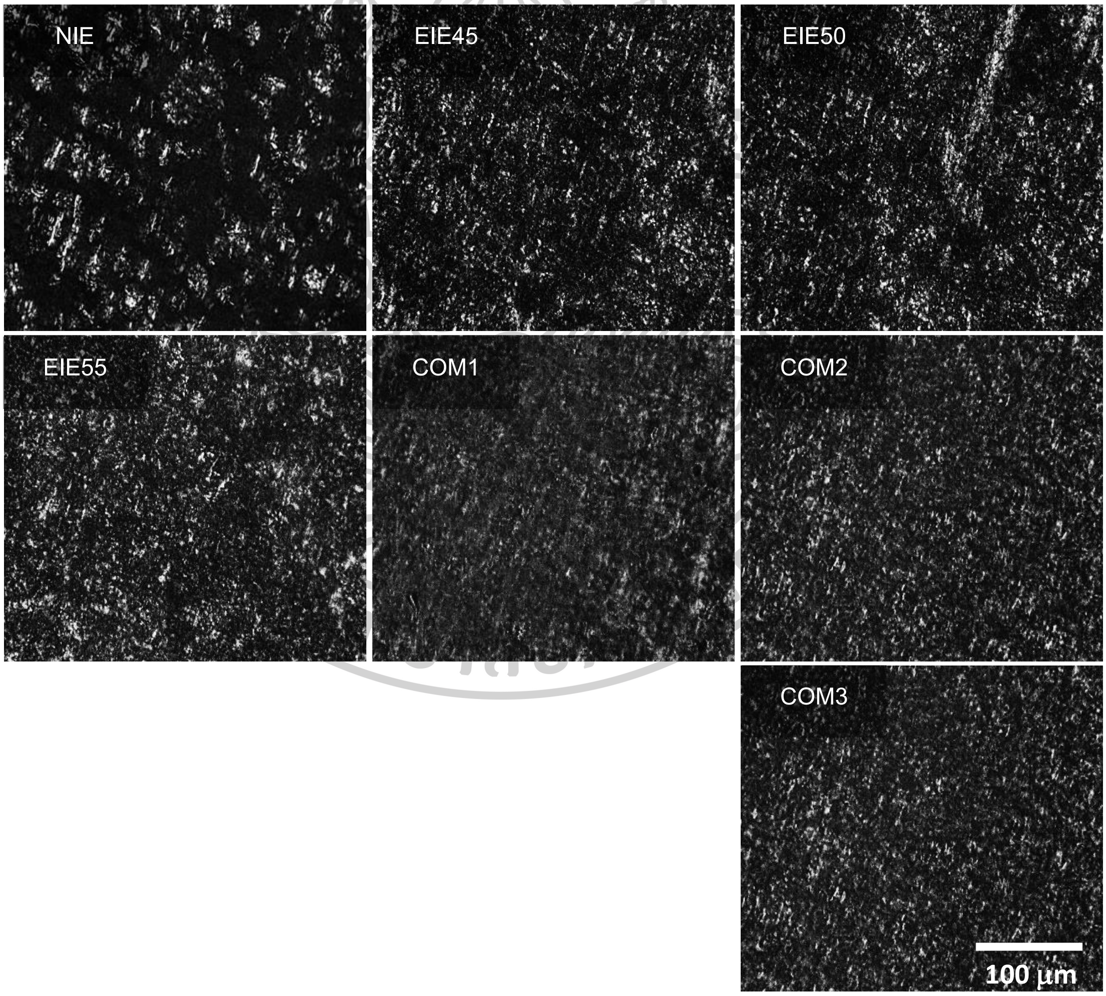
Samples	Crystallization				
	T_{co} (°C)	T_{pI} (°C)	T_{pII} (°C)	T_{pIII} (°C)	ΔH_c (J/g)
NIE	14.40 ± 0.16^{b}	10.61 ± 0.02^{a}		-6.77 ± 0.25^{a}	90.40 ± 4.32^{a}
EIE45	13.84 ± 0.34^{b}	9.90 ± 0.90^{a}		-9.08 ± 0.66^{b}	78.31 ± 2.18^{b}
EIE50	14.32 ± 0.13^{b}	9.61 ± 0.83^{a}		-9.40 ± 0.49^{b}	80.47 ± 3.13^{b}
EIE55	13.63 ± 0.04^{b}	9.34 ± 0.90^{a}		-9.02 ± 1.27^{b}	82.53 ± 1.09^{ab}
COM1	14.85 ± 0.83^{b}	7.40 ± 0.36^{b}	-0.87 ± 0.02^{b}	-8.27 ± 0.08^{b}	52.37 ± 1.49^{c}
COM2	14.01 ± 0.91^{b}	9.67 ± 1.15^{a}	-0.34 ± 0.01^{a}	-8.94 ± 0.03^{b}	60.87 ± 1.83^{c}
COM3	18.15 ± 1.04^{a}	10.81 ± 0.95^{a}	-1.29 ± 0.14^{c}	-5.46 ± 0.08^{a}	73.02 ± 0.93^{b}

Samples	Melting				
	T_{pIV} (°C)	T_{pV} (°C)	T_{pVI} (°C)	T_{mc} (°C)	ΔH_m (J/g)
NIE		19.28 ± 0.11^{b}	31.52 ± 0.17^{a}	34.33 ± 0.05^{a}	118.37 ± 1.63^{a}
EIE45		14.90 ± 0.05^{d}	23.61 ± 0.25^{d}	31.06 ± 0.69^{cd}	105.91 ± 1.16^{cd}
EIE50		15.26 ± 0.37^{d}	24.03 ± 0.41^{d}	32.58 ± 0.78^{b}	105.59 ± 0.99^{cd}
EIE55		14.83 ± 0.53^{d}	24.22 ± 0.15^{d}	31.80 ± 0.42^{bcd}	103.87 ± 1.55^{d}
COM1	9.87 ± 0.11^{a}	17.48 ± 0.23^{c}	28.77 ± 0.69^{c}	30.91 ± 0.09^{c}	100.57 ± 1.31^{c}
COM2	10.24 ± 0.71^{a}	16.93 ± 0.01^{c}	29.75 ± 0.07^{bc}	32.05 ± 0.02^{bc}	108.25 ± 1.45^{bc}
COM3	9.81 ± 0.12^{a}	21.42 ± 0.01^{a}	30.23 ± 0.92^{b}	34.64 ± 0.11^{a}	110.07 ± 0.74^{b}

หมายเหตุ: T_{co} คืออุณหภูมิที่เริ่มเกิดการตกผลึก (crystallization onset temperature), T_{mc} คืออุณหภูมิที่การหลอมเหลวสิ้นสุด (melting completion temperature), T_p คืออุณหภูมิของพีคการตกผลึกหรือหลอมเหลวต่างๆ, ΔH_c และ ΔH_m คือเอนทาลปี (enthalpy) ของการตกผลึกและการหลอมเหลว ตามลำดับ, ตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4.1.2.3 การศึกษาลักษณะสัณฐานผลึก

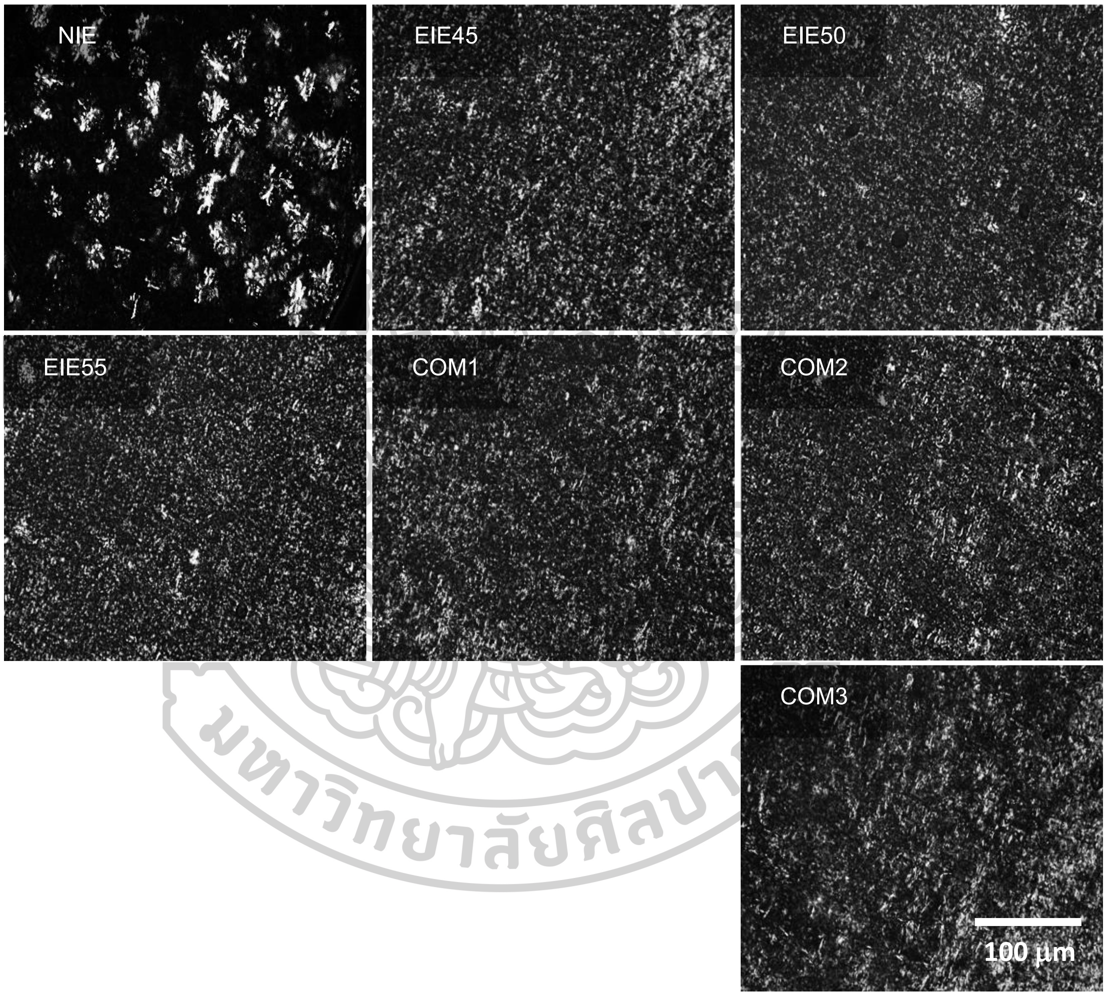
โครงข่ายผลึกเป็นองค์ประกอบสำคัญในโครงสร้างของไขมันพลาสติก คุณสมบัติด้านต่างๆ เช่น ความสามารถในการปาดเกลี่ย เนื้อสัมผัส และความรู้สึกเมื่อรับประทานภายในปาก ขึ้นอยู่กับความแข็งแรงของโครงข่ายผลึก (Ribeiro et al., 2009) ผลึกที่มีขนาดเล็กมักจะตกผลึกเป็นจำนวนมาก จะมีการกระจายตัวอย่างหนาแน่น ทำให้โครงข่ายผลึกแข็งแรง ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีเนื้อสัมผัสเรียบเนียน ในขณะที่ผลึกขนาดใหญ่ มักเกาะกลุ่มรวมตัวกันได้ง่าย ทำให้โครงข่ายผลึกหลวม ไม่แข็งแรง และอาจทำให้เกิดเนื้อสัมผัสแบบเป็นเม็ดในผลิตภัณฑ์สุดท้ายได้ (Pande & Akoh, 2013)



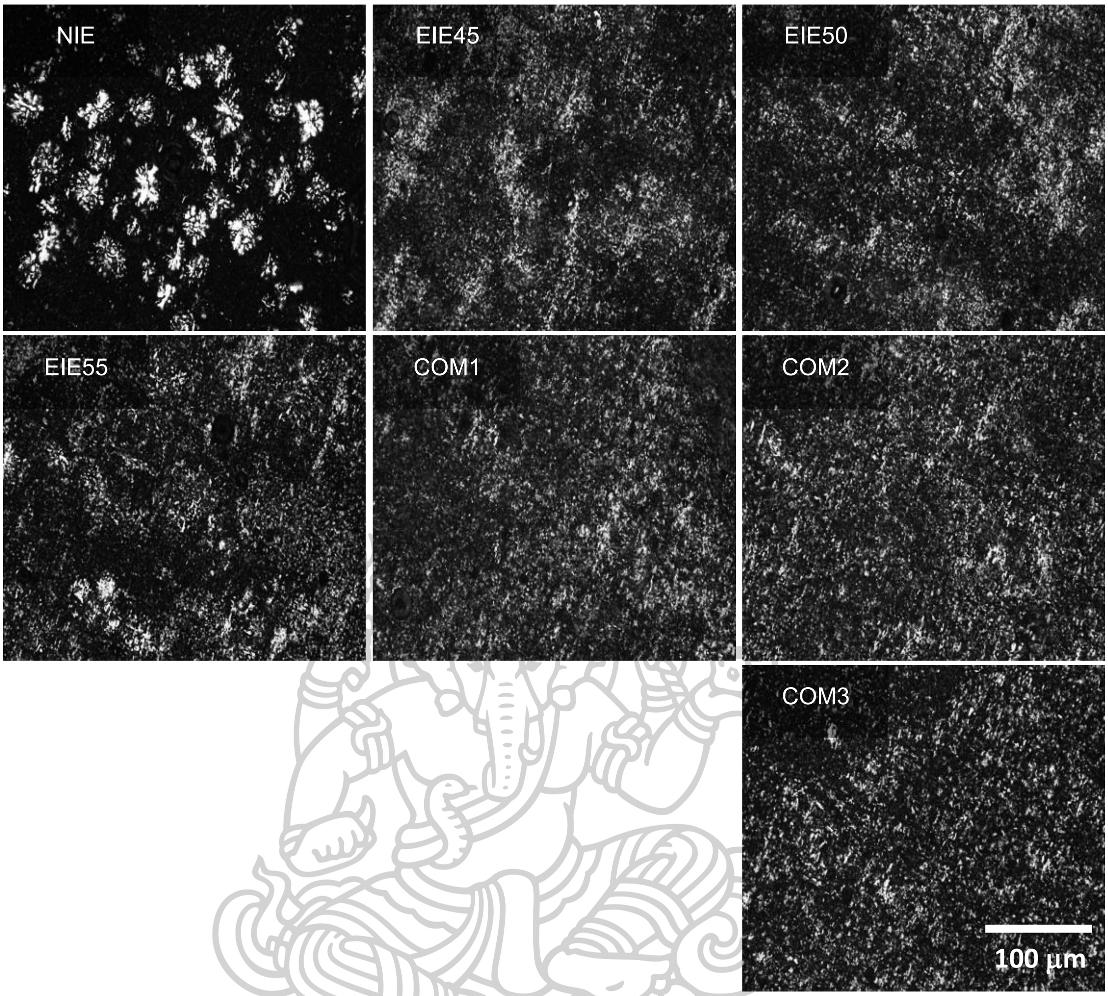
ภาพที่ 13 ลักษณะสัณฐานผลึกของไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ทั้งก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ (EIE) ที่อุณหภูมิต่างๆ เปรียบเทียบกับไขมันที่สกัดได้จากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า หลังตกผลึกที่ 4°C และเก็บรักษานาน 24 ชั่วโมง

ภาพที่ 13, 14 และ 15 แสดงลักษณะปรากฏของผลึกตัวอย่างไขมันหลังจากเก็บที่อุณหภูมิ 4°C เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง, 1 เดือน และ 3 เดือน ตามลำดับ จากภาพพบว่าที่ 24 ชั่วโมง NIE มีผลึกเป็นรูปเข็มที่มีการกระจายตัวแบบสุ่ม มีขนาดของผลึกในช่วง 25 ไมครอน เมื่อเก็บรักษาไว้นานขึ้นผลึกของ NIE จะมีการโตขึ้นอย่างต่อเนื่องตามระยะเวลาในการเก็บรักษา ที่ระยะการเก็บนาน 3 เดือน ผลึกมีลักษณะเป็นทรงกลมขนาดใหญ่ที่เกิดขึ้นจากการที่ผลึกรูปเข็มมาโตขึ้นด้วยกันออกจากศูนย์กลางในแนวรัศมี มีขนาดเฉลี่ยของผลึกเป็น 50 ไมครอน โดยทั่วไปแล้วปากของมนุษย์จะสามารถรับรู้ถึงลักษณะเนื้อสัมผัสแบบเป็นเม็ดในผลิตภัณฑ์ได้เมื่อผลึกมีขนาดตั้งแต่ 30 ไมครอนขึ้นไป (Beckett, 2008) ในขณะที่ตัวอย่าง EIE จากทั้ง 3 อุณหภูมิ มีผลึกเป็นรูปเข็มขนาดเล็กกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอที่ 24 ชั่วโมง มีขนาดเฉลี่ยของผลึก < 10 ไมครอน และขนาดผลึกไม่มีการโตขึ้นตามระยะเวลาที่เก็บรักษานาน 3 เดือน ส่วนไขมันที่สกัดจากเนยผสมทางการค้านั้นแสดงลักษณะปรากฏของผลึกและการเปลี่ยนแปลงของลักษณะปรากฏตามเวลาที่ใกล้เคียงกับตัวอย่าง EIE ผลึกที่มีขนาดเล็กละเอียดแบบนี้ถือเป็นลักษณะที่ต้องการในผลิตภัณฑ์เนยเทียม เนื่องจากจะทำให้ผลิตภัณฑ์มีเนื้อที่เรียบและเนียนละเอียด และผลิตภัณฑ์มีความสเถียร (Lee et al., 2008) ผลการศึกษาส่วนนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ruan et al. (2014) ซึ่งทำปฏิกิริยา EIE ในไขมันผสมระหว่างน้ำมันเมล็ด camellia ปาล์มสเตียริน และน้ำมันมะพร้าว แล้วพบว่าหลังทำปฏิกิริยาไขมันผสมมีขนาดของผลึกเล็กลง มีการเกาะกลุ่มรวมตัวกันน้อย และมีการกระจายตัวเป็นเนื้อเดียวกันมากกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับไขมันผสมก่อนทำปฏิกิริยา นอกจากนี้งานวิจัยของ Adhikari et al. (2010) ที่ผลิตเนยเทียมปราศจากไขมันทรานส์ผ่านการทำปฏิกิริยา EIE จากไขมันผสมระหว่างน้ำมันรำข้าว ปาล์มสเตียริน และน้ำมันมะพร้าว พบว่าไขมันก่อนทำปฏิกิริยามีผลึกเป็นรูปแท่งผสมกับผลึกทรงกลมขนาดใหญ่ อย่างไรก็ตามหลังทำปฏิกิริยาพบว่าไขมันมีรูปร่างผลึกเปลี่ยนไปเป็นรูปเข็มขนาดเล็ก โดยสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ลักษณะโครงสร้างผลึกที่ระบุว่าไขมันหลังทำปฏิกิริยามีแนวโน้มตกผลึกในโครงสร้างรูปแบบ β' มากกว่าเนื่องจากการลดลงของไตรกลีเซอไรด์ชนิด POP และ PPP (ซึ่งเป็น β-tending triglycerides หรือเป็นไตรกลีเซอไรด์ที่มักตกผลึกลงในโครงสร้าง β ในรูปร่างทรงกลม ทำให้เกิดลักษณะเนื้อสัมผัสแบบเป็นเม็ด) ในปาล์มสเตียริน ในงานวิจัยนี้ก็พบผลการศึกษาในทางเดียวกัน เนื่องจากเกิดการลดลงของ POP หลังการทำปฏิกิริยา EIE (ภาพที่ 10) ส่งผลให้ตัวอย่าง EIE ตกผลึกลงในโครงสร้างแบบ β' ดังได้แสดงไว้ในหัวข้อถัดไปของรายงานวิจัยนี้ เป็นที่น่าสังเกตว่าตัวอย่างทางการค้าทั้ง 3 ตัวอย่างยังคงให้ผลึกไขมันที่มีขนาดเล็กใกล้เคียงกับขนาดผลึกไขมันในตัวอย่าง EIE หลังจากการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 3 เดือน ทั้งนี้มีความเป็นไปได้ว่าการผลิตเนยเทียมแบบเนยผสมทั้ง 3 ตัวอย่างนั้นมีการเติมสารอิมัลซิไฟเออร์บางตัว เช่น โมโนกลีเซอไรด์ ไดกลีเซอไรด์ ซอร์บิแทนเอสเตอร์ หรือ ซูโครสเอสเตอร์ ลงไปช่วยชะลอหรือยับยั้งการเปลี่ยนโครงสร้างผลึกไขมัน

จาก β' ไปเป็น β ในผลิตภัณฑ์ (Huck-Iriart et al., 2009; Saberi et al., 2011) ทำให้ขนาดผลึกไม่เปลี่ยนแปลงมากนักตามระยะเวลา อย่างไรก็ตามการเติมสารอิมัลซิไฟเออร์ลงไปในผลิตภัณฑ์นั้นอาจช่วยชะลอการเปลี่ยนโครงสร้างได้ภายในช่วงเวลาสั้นๆ นอกจากนี้ต้องเลือกใช้ชนิดและปริมาณสารอิมัลซิไฟเออร์ที่เหมาะสม เพราะอาจส่งผลต่อคุณสมบัติด้านการตกผลึกของไขมัน รวมถึงค่า SFC ของผลิตภัณฑ์ และคุณสมบัติด้านอื่นๆ ได้ (Garbolino et al., 2005)



ภาพที่ 14 ลักษณะสัณฐานผลึกของไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ทั้งก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ (EIE) ที่อุณหภูมิต่างๆ เปรียบเทียบกับไขมันที่สกัดได้จากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า หลังตกผลึกที่ 4°C และเก็บรักษานาน 1 เดือน



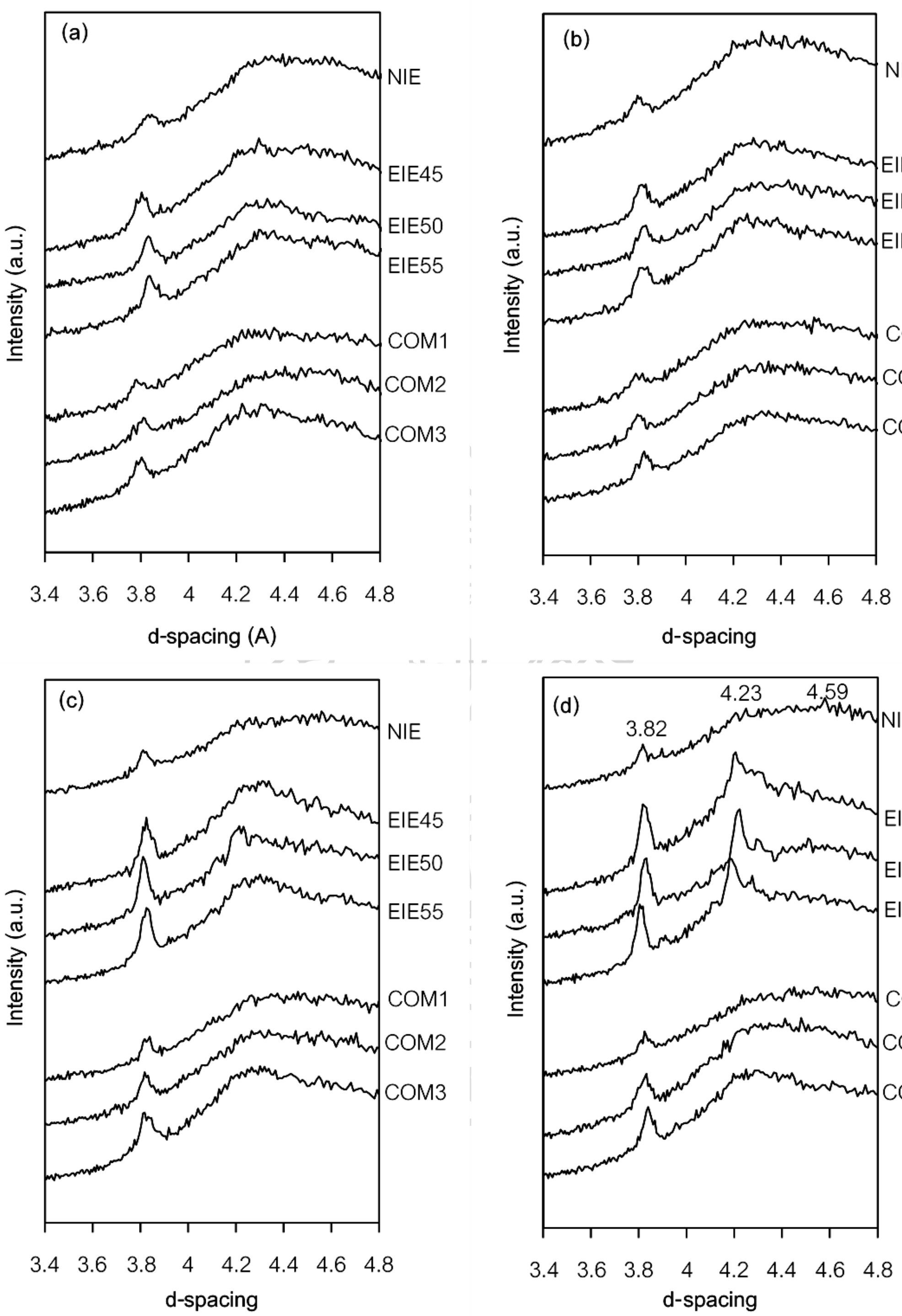
ภาพที่ 15 ลักษณะสัณฐานผลึกของไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ทั้งก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ (EIE) ที่อุณหภูมิต่างๆ เปรียบเทียบกับไขมันที่สกัดได้จากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า หลังตกผลึกที่ 4°C และเก็บรักษานาน 3 เดือน

4.1.2.4 การศึกษาโครงสร้างผลึก

รูปแบบโครงสร้างผลึกไขมันมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของเนยเทียม แต่ละโครงสร้างผลึกนั้นจะมีลักษณะการจัดเรียงตัวของโมเลกุลแบบเป็นระเบียบแบบแผนที่แตกต่างกันไป โดยจะมีค่าระยะห่างของโมเลกุลหรือค่า d-spacing ในระนาบภาคตัดขวางของการจัดเรียงตัว (short spacing) ที่วัดได้จากเทคนิค XRD ที่แตกต่างกัน จากภาพที่ 16 แสดงค่า d-spacing ของตัวอย่างไขมันผสมเมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4°C ตามระยะเวลาต่างๆ ในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน จะเห็นว่าที่เวลา 24 ชั่วโมง ตัวอย่างไขมันทุกตัวอย่างทั้งก่อนและหลังทำปฏิกิริยาและตัวอย่างทางการค้าให้ค่า d-spacing ที่ 3.82 Å (ภาพที่ 16(a)) สอดคล้องกับโครงสร้างผลึกแบบ β' ที่มี unit cell เป็นแบบ orthorhombic (D'Souza et al., 1990) เมื่อเก็บรักษาไว้นานขึ้นพีคที่ตำแหน่ง d-

spacing 3.82 Å มีความสูงเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 16(b)) รวมถึงมีการเกิดขึ้นของพีคที่ตำแหน่ง d-spacing 4.23 Å ในตัวอย่างหลังทำปฏิกิริยา EIE ที่ระยะเวลาการเก็บ 2 เดือน (ภาพที่ 16(c)) ซึ่งสอดคล้องกับโครงสร้างผลึกแบบ β' เช่นกัน (D'Souza et al., 1990) แสดงว่าเกิดการตกผลึงลงในโครงสร้าง β' เพิ่มขึ้นตามเวลาในทุกตัวอย่าง ที่ระยะเวลา 3 เดือน ตัวอย่าง NIE แสดงพีคของการตกผลึกเพิ่มขึ้นที่ตำแหน่ง d-spacing เป็น 4.59 Å สอดคล้องกับโครงสร้างผลึกแบบ β ที่มี unit cell เป็นแบบ triclinic (D'Souza et al., 1990) แสดงให้เห็นว่าเริ่มเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึกจากรูปแบบ β' ไปเป็น β ในระหว่างการเก็บรักษาในตัวอย่าง NIE ในขณะที่ตัวอย่างอื่นๆ ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างผลึก

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าหลังการทำปฏิกิริยา EIE ไขมันมีแนวโน้มที่จะตกผลึกลงในโครงสร้าง β' และมีการเปลี่ยนโครงสร้างจาก β' ไปเป็น β น้อยกว่า ซึ่งเป็นลักษณะที่ดีในไขมันเนยเทียม เนื่องจากโครงสร้างรูปแบบ β' นี้ให้ผลึกรูปเข็มขนาดเล็ก สามารถเกาะกลุ่มรวมตัวกันเป็นโครงข่ายผลึกที่แข็งแรง ช่วยดักจับน้ำมันเหลวไว้ภายในช่องว่างระหว่างผลึกได้ดี ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีผิวหน้ามันวาว เนื้อสัมผัสเรียบเนียน และมีความสามารถในการปาดเกลี่ยที่ดี (Miskandar et al., 2002b) ต่างจากผลึกรูปแบบ β ที่มีลักษณะเป็นทรงกลมขนาดใหญ่มีแนวโน้มรวมตัวกันได้ง่ายและอาจทำให้เกิดลักษณะเนื้อสัมผัสแบบเป็นเม็ดในผลิตภัณฑ์ ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของ Zhao et al. (2014) ซึ่งทำปฏิกิริยา EIE ของไขมันผสมระหว่างปาล์มสเตียรินและน้ำมันเมล็ด Australis แล้วพบว่าน้ำมันหลังทำปฏิกิริยามีโครงสร้างผลึกรูปแบบ β' มากขึ้น ในขณะที่โครงสร้างรูปแบบ β ลดลง โดยนักวิจัยกลุ่มดังกล่าวคาดว่าการทำปฏิกิริยา EIE ส่งผลให้ไขมันตกผลึกได้มากขึ้น (จากค่า SFC ที่เพิ่มขึ้น) ทำให้สามารถสร้างโครงข่ายผลึกที่แข็งแรง จึงยากที่จะเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจากรูปแบบ β' ไปเป็น β โดยในงานวิจัยนี้เราพบการเพิ่มขึ้นของค่า SFC หลังทำปฏิกิริยา EIE เช่นกัน (ภาพที่ 11) นอกจากนี้ผลการศึกษาในงานวิจัยนี้ของเราได้แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างทางการค้าทั้ง 3 ตัวอย่างยังคงมีผลึกไขมันในโครงสร้าง β' หลังจากการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 3 เดือน ทั้งนี้มีความเป็นไปได้ว่าการผลิตเนยเทียมแบบเนยผสมทั้ง 3 ตัวอย่างนั้นมีการเติมสารอิมัลซิไฟเออร์บางตัวลงไปช่วยชะลอหรือยับยั้งการเปลี่ยนโครงสร้างผลึกไขมันจาก β' ไปเป็น β ดังได้กล่าวไปแล้วก่อนหน้านี้



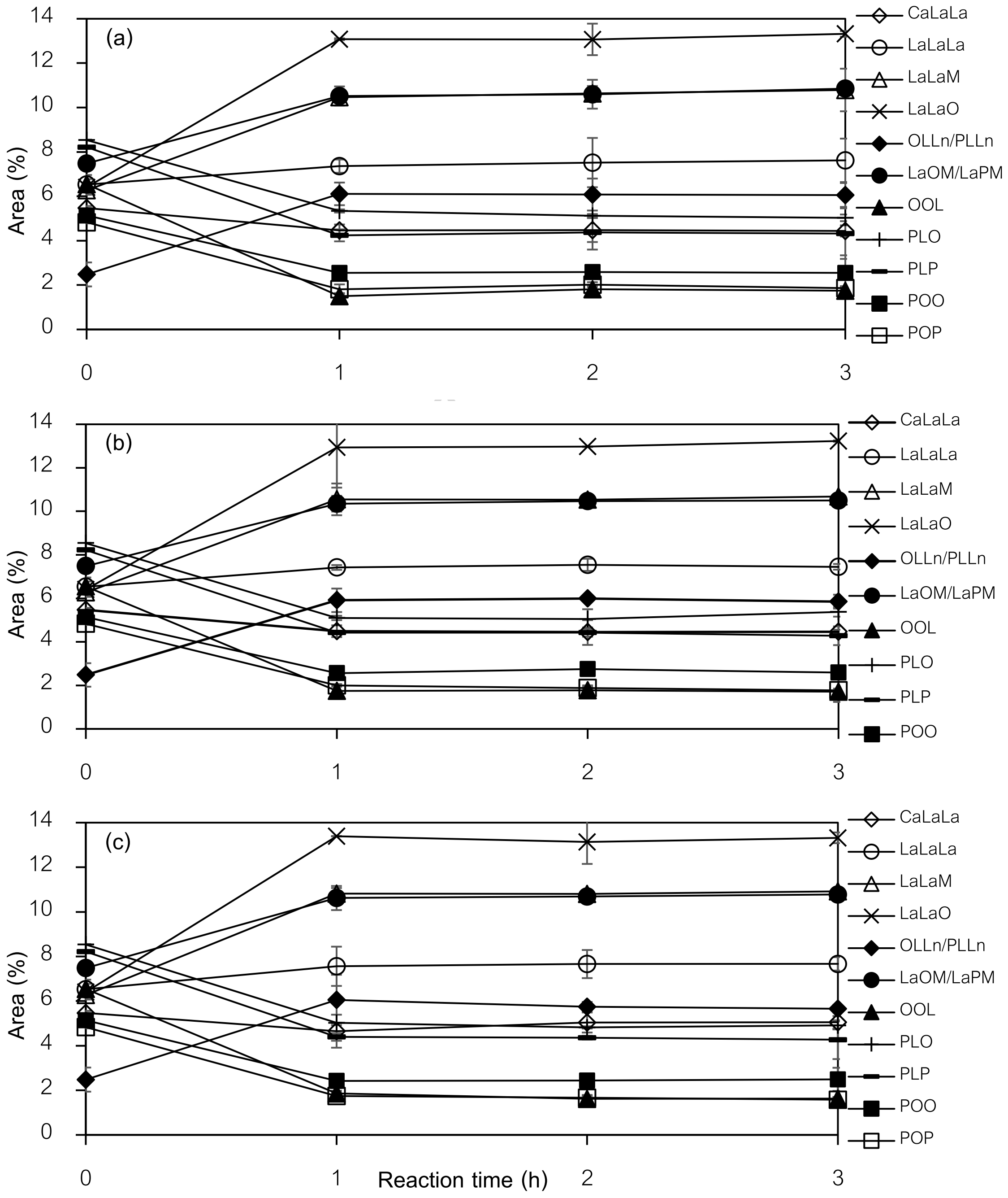
ภาพที่ 16 ลักษณะโครงสร้างผลึกของไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ทั้งก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ (EIE) ที่อุณหภูมิต่างๆ เปรียบเทียบกับไขมันที่สกัดได้จากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า หลังตกผลึกที่ 4°C และเก็บรักษาไว้ที่ระยะเวลา (a) 0 เดือน, (b) 1 เดือน, (c) 2 เดือน และ (d) 3 เดือน

4.2 การศึกษาการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นโดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี

4.2.1 การทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นโดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี

ภาพที่ 17 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณไตรกลีเซอไรด์ชนิดหลักในไขมันผสม (ไขมันเนย น้ำมันพืชชนิด A และน้ำมันพืชชนิด B) ระหว่างการทำปฏิกิริยา CIE ทั้ง 3 อุณหภูมิ พบว่าหลังทำปฏิกิริยา ไตรกลีเซอไรด์ชนิด LaLaM, LaLaO, OLLn/PLLn, และ LaOM/LaPM มีปริมาณเพิ่มสูงขึ้น ตรงข้ามกับ ไตรกลีเซอไรด์ ชนิด OOL, PLO, PLP, POO และ POP ซึ่งมีปริมาณลดลง ในขณะที่ไตรกลีเซอไรด์ชนิด CaLaLa และ LaLaLa เกิดการเปลี่ยนแปลงปริมาณเพียงเล็กน้อยในระหว่างการทำปฏิกิริยา บ่งชี้ได้ว่าการทำปฏิกิริยา CIE ทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนชนิดของกรดไขมันบนโครงสร้างโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ที่เป็นองค์ประกอบในไขมันผสม ทำให้ปริมาณไตรกลีเซอไรด์ชนิดต่างๆ เปลี่ยนแปลงไป โดยการเปลี่ยนแปลงของปริมาณไตรกลีเซอไรด์ชนิดต่างๆ เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับของปฏิกิริยาแบบ EIE แต่มีความแตกต่างของปริมาณไตรกลีเซอไรด์บางตัว (ภาพที่ 10) นอกจากนี้ยังพบว่าปฏิกิริยาเริ่มเข้าสู่สมดุลหลังจาก 1 ชั่วโมงเป็นต้นไป เช่นเดียวกับตัวอย่างที่ผ่านการทำปฏิกิริยา EIE เนื่องจากปริมาณไตรกลีเซอไรด์ชนิดต่างๆ เริ่มคงที่และไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้นตามเวลา

จากผลการทดลองที่แสดงให้เห็นว่าปฏิกิริยาเริ่มเข้าสู่สมดุลหลังจาก 1 ชั่วโมงเป็นต้นไปทั้ง 3 อุณหภูมิ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกระยะเวลาที่เหมาะสมของการทำปฏิกิริยาไว้ที่ 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไขมันผสม (BF:VOA:VOB) มาทำปฏิกิริยาในสภาวะเดิม โดยใช้ sodium methoxide เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ปริมาณ 0.3% โดยน้ำหนักของน้ำมันตั้งต้น แล้วทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 1 ชั่วโมง พร้อมการผสมด้วยอัตรา 300 รอบต่อนาที ภายใต้สภาวะที่มี N_2 แล้วทำการศึกษาพฤติกรรมการตกผลึกและการหลอมเหลวของน้ำมันที่ผ่านการทำปฏิกิริยาในสภาวะนี้เปรียบเทียบกับไขมันผสมตั้งต้นและไขมันที่สกัดจากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้าต่อไป



ภาพที่ 17 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของไตรกลีเซอไรด์ชนิดหลักในไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ตามระยะเวลาของการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมีที่ (a) 80°C, (b) 85°C และ (c) 90°C

ตารางที่ 11 องค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันตั้งต้น ไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ทั้งก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นโดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี (CIE) ที่อุณหภูมิ 80, 85 และ 90°C ระยะเวลา 1 ชั่วโมง

ECN	TAG	BF	VOA	VOB	NIE	CIE		
						80°C	85°C	90°C
28	CyCyCa					1.59 ± 0.08^{b}	1.61 ± 0.32^{b}	1.71 ± 0.11^{a}
30	CaCaCa					2.81 ± 0.08^{b}	2.83 ± 0.58^{b}	2.91 ± 0.05^{a}
32	CyCyO		0.74 ± 0.10^{d}		1.43 ± 0.11^{b}	1.40 ± 0.16^{c}	1.45 ± 0.16^{ab}	1.47 ± 0.06^{a}
32	CaCaLa		3.51 ± 0.13^{a}		3.39 ± 0.14^{b}	2.82 ± 0.04^{d}	2.83 ± 0.04^{d}	2.95 ± 0.38^{c}
34	CaLaLa		7.03 ± 0.06^{a}		5.47 ± 0.09^{b}	4.47 ± 0.26^{d}	4.49 ± 0.27^{d}	4.65 ± 0.74^{c}
34	CyLaM		0.47 ± 0.03^{d}		1.96 ± 0.21^{a}	1.46 ± 0.11^{c}	1.50 ± 0.09^{b}	1.46 ± 0.72^{c}
36	LaLaLa		11.55 ± 0.01^{a}		6.53 ± 0.43^{e}	7.36 ± 0.30^{d}	7.42 ± 0.11^{c}	7.56 ± 0.88^{b}
38	LaLaM		12.05 ± 0.02^{a}		6.27 ± 0.20^{e}	10.47 ± 0.09^{d}	10.55 ± 0.73^{c}	10.82 ± 0.25^{b}
40	LaLaO		10.21 ± 0.06^{d}		6.41 ± 0.21^{e}	13.08 ± 0.04^{b}	12.93 ± 1.84^{c}	13.39 ± 0.01^{a}
40	LaMM		3.27 ± 0.06^{a}		1.50 ± 0.16^{e}	1.90 ± 0.27^{d}	2.12 ± 0.96^{c}	2.17 ± 0.62^{b}
42	OLLn/PLLn	13.26 ± 0.45^{a}			2.48 ± 0.54^{e}	6.11 ± 0.51^{b}	5.91 ± 0.54^{d}	6.05 ± 1.13^{c}
42	LaOM/LaPM		14.69 ± 0.03^{a}		7.48 ± 0.23^{e}	10.52 ± 0.43^{c}	10.35 ± 0.36^{d}	10.62 ± 0.54^{b}
42	MMM	2.74 ± 0.08^{a}			0.61 ± 0.36^{e}	1.04 ± 0.72^{d}	1.09 ± 0.02^{c}	1.14 ± 0.23^{b}
44	OLL	5.21 ± 0.22^{a}	4.04 ± 0.08^{b}	2.26 ± 0.30^{e}	3.75 ± 0.62^{c}	2.59 ± 0.16^{d}	2.57 ± 0.13^{d}	1.96 ± 0.66^{f}
44	PLL	13.21 ± 0.21^{a}		10.54 ± 0.01^{b}	5.93 ± 0.58^{d}	6.01 ± 0.03^{c}	5.69 ± 1.12^{e}	5.52 ± 0.12^{f}
44	LaOO/LaPO/LaPP		12.27 ± 0.08^{a}		7.15 ± 0.05^{b}	6.96 ± 0.21^{c}	6.84 ± 0.98^{d}	6.62 ± 0.21^{e}
44	MLP/MMO	13.81 ± 0.87^{a}	0.40 ± 0.04^{d}		0.29 ± 0.11^{e}	0.91 ± 0.26^{c}	0.96 ± 0.54^{b}	0.91 ± 0.21^{c}
46	OOL	11.26 ± 0.98^{a}	6.24 ± 0.04^{c}	5.36 ± 0.19^{d}	6.55 ± 0.23^{b}	1.50 ± 0.14^{g}	1.74 ± 0.27^{f}	1.86 ± 0.04^{e}
46	PLO	7.23 ± 0.28^{c}	5.36 ± 0.08^{d}	18.07 ± 0.23^{a}	8.54 ± 0.02^{b}	5.34 ± 0.07^{d}	5.10 ± 0.10^{e}	5.02 ± 0.01^{f}
46	PLP	7.59 ± 0.21^{c}		19.06 ± 0.15^{a}	8.22 ± 0.03^{b}	4.24 ± 0.27^{f}	4.43 ± 0.08^{d}	4.39 ± 0.17^{e}
46	MPP	2.57 ± 0.29^{b}	1.65 ± 0.01^{c}	3.75 ± 0.57^{a}	0.21 ± 0.14^{e}	0.54 ± 0.02^{d}	0.54 ± 0.02^{d}	0.55 ± 1.29^{d}
48	OOO	6.74 ± 0.24^{a}	2.99 ± 0.12^{d}	3.77 ± 0.19^{b}	3.36 ± 0.39^{c}	0.87 ± 1.16^{e}	0.89 ± 0.11^{e}	0.90 ± 1.15^{e}
48	POO	8.42 ± 0.30^{b}	2.37 ± 0.05^{f}	11.41 ± 0.12^{a}	5.14 ± 0.01^{c}	2.55 ± 0.09^{d}	2.56 ± 0.09^{d}	2.42 ± 0.32^{e}
48	POP	3.03 ± 0.00^{c}	0.60 ± 0.14^{g}	17.41 ± 0.39^{a}	4.83 ± 0.05^{b}	1.81 ± 0.22^{e}	2.00 ± 0.06^{d}	1.74 ± 0.24^{f}
48	PPP	0.43 ± 0.16^{c}		2.77 ± 0.06^{a}	0.65 ± 0.13^{b}	0.24 ± 0.18^{e}	0.35 ± 0.46^{d}	0.20 ± 0.07^{f}
50	OOS	2.00 ± 0.03^{a}	0.42 ± 0.22^{g}	1.87 ± 0.01^{b}	0.90 ± 0.17^{c}	0.67 ± 0.24^{d}	0.50 ± 0.77^{e}	0.46 ± 0.11^{f}
50	POS	1.78 ± 0.14^{b}	0.14 ± 0.01^{g}	3.11 ± 0.18^{a}	0.91 ± 0.04^{c}	0.58 ± 0.01^{d}	0.52 ± 0.73^{e}	0.44 ± 0.10^{f}
50	PPS	0.31 ± 0.08^{b}		0.63 ± 0.03^{a}	0.10 ± 0.53^{e}	0.18 ± 0.09^{d}	0.22 ± 0.01^{c}	0.10 ± 0.03^{e}

หมายเหตุ: Cy; caprylic acid (C8:0), Ca; capric acid (C10:0), M; myristic acid (C14:0), P; palmitic acid (C16:0), S; stearic acid (C18:0), O; oleic acid (C18:1), L; linoleic acid (C18:2), Ln; linolenic acid (C18:3), BF; butter fat, VOA; vegetable oil type A, VOB; vegetable oil type B, ECN; equivalent carbon number, ECN = CN-2 dB, CN: carbon number of triacylglycerols, dB: total number of double bonds in the triacylglycerols.

ตารางที่ 11 แสดงองค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันตั้งต้น (ไขมันเนย น้ำมันพืชชนิด A และน้ำมันพืชชนิด B) ไขมันผสมทั้งก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยา CIE ทั้ง 3 อุณหภูมิที่ระยะเวลา 1 ชั่วโมง พบว่าองค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันตั้งต้นและไขมันผสม NIE ใกล้เคียงกับที่ได้รายงานไปก่อนหน้านี้ (ตารางที่ 9) หลังการทำปฏิกิริยา CIE ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงปริมาณไตรกลีเซอไรด์ที่มีอยู่เดิมในไขมันผสม โดยมีการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของไตรกลีเซอไรด์บางตัว รวมถึงเกิดการสร้างไตรกลีเซอไรด์ชนิดใหม่ขึ้นมา เนื่องจากปฏิกิริยานี้ทำให้เกิดการจัดเรียงตัวใหม่ของกรดไขมันแบบสุ่มในโครงสร้างโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ (Lopez et al., 2006) จากผลการทดลองในตารางที่ 11 จะเห็นว่าไตรกลีเซอไรด์ที่มีจุดหลอมเหลวสูง เช่น POO, POP และ PPP มีปริมาณลดลงหลังจากทำปฏิกิริยาในขณะที่ไตรกลีเซอไรด์ที่มีจุดหลอมเหลวปานกลาง เช่น LaLaLa, LaLaM, LaLaO, LaMM และ LaOM/LaPM มีปริมาณเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Norizzah et al. (2018) ที่ทำปฏิกิริยา CIE ในไขมันผสม (น้ำมันปาล์มและน้ำมันเมล็ดปาล์ม) แล้วได้รายงานการลดลงของปริมาณไตรกลีเซอไรด์ที่มีจุดหลอมเหลวสูงและการเพิ่มขึ้นของไตรกลีเซอไรด์ที่มีจุดหลอมเหลวปานกลางหลังจากทำปฏิกิริยา

4.2.2 การศึกษาพฤติกรรมการตกผลึกและการหลอมเหลวของไขมันที่ได้จากการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นโดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี

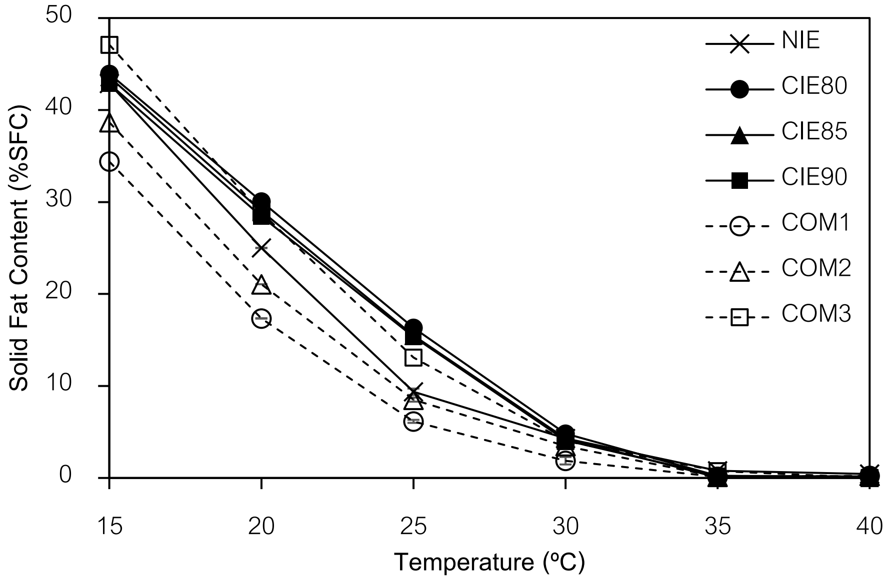
เมื่อทำการศึกษาพฤติกรรมการตกผลึกและการหลอมเหลวของตัวอย่างน้ำมันที่ได้จากปฏิกิริยา CIE ทั้ง 3 อุณหภูมิ ที่ระยะเวลา 1 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับไขมันผสมตั้งต้นและไขมันที่สกัดจากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า ได้ผลดังแสดงต่อไปนี้

4.2.2.1 การศึกษาค่า SFC ที่อุณหภูมิต่างๆ

การทำปฏิกิริยา CIE ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณและองค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ซึ่งส่งผลต่อค่า SFC ดังแสดงในภาพที่ 18 โดยจะเห็นว่าไขมันผสมหลังทำปฏิกิริยา CIE ทั้ง 3 อุณหภูมิ (CIE80, CIE85 และ CIE90 สำหรับการทำปฏิกิริยาที่ 80, 85 และ 90°C ตามลำดับ) มีค่า SFC สูงกว่าไขมันผสมก่อนทำปฏิกิริยา หรือ NIE ที่อุณหภูมิ < 30°C แต่ที่อุณหภูมิ ≥ 30°C ค่า SFC ของ CIE จะต่ำกว่า NIE เนื่องจากการปฏิกิริยา CIE ทำให้ไตรกลีเซอไรด์ที่มีจุดหลอมเหลวปานกลางมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้น และไตรกลีเซอไรด์ที่มีจุดหลอมเหลวสูงมีปริมาณลดลง เช่น POO, POP และ PPP (ตารางที่ 11) เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Ornla-ied et al. (2022) ที่ได้ผลิตไขมันทดแทนเนยโกโก้จากไขมันผสมระหว่างปาล์มสเตียริน น้ำมันมะพร้าว และปาล์มสเตียรินที่ผ่านการไฮโดรจีเนชั่นอย่างสมบูรณ์ (fully hydrogenated palm stearin) ด้วยกระบวนการ CIE แล้วพบว่าไขมันหลังทำ

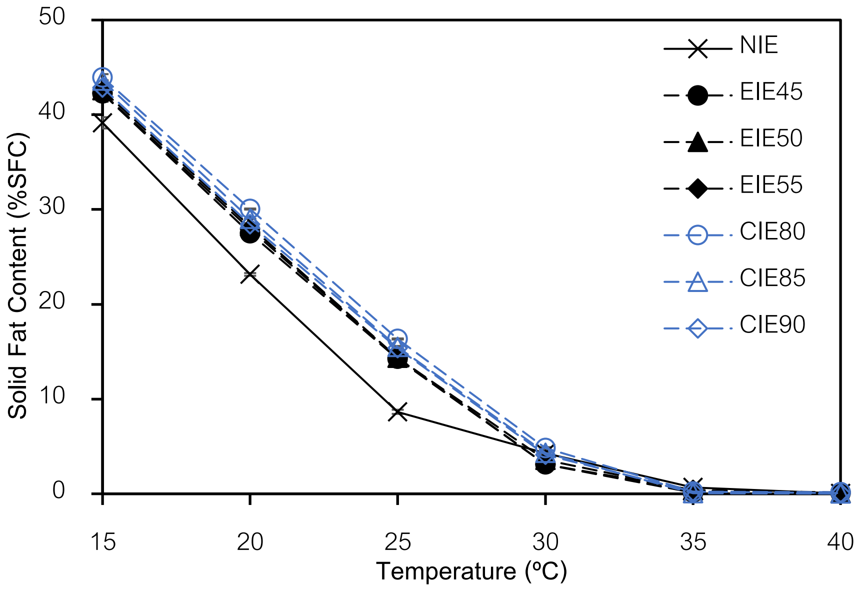
ปฏิกิริยาแสดงเส้น SFC ที่มีความชันเพิ่มขึ้น โดย CIE จะมีค่า SFC สูงกว่าไขมันผสมตั้งต้นที่อุณหภูมิ < 30°C แต่จะต่ำกว่าที่อุณหภูมิ ≥ 30°C เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของปริมาณไตรกลีเซอไรด์ที่มีกรดไขมันอิ่มตัวเพียงตำแหน่งเดียว ซึ่งมีจุดหลอมเหลวปานกลาง และการลดลงของไตรกลีเซอไรด์ที่มีไขมันอิ่มตัวทั้ง 3 ตำแหน่งในไขมันผสมหลังจากทำปฏิกิริยา

เมื่อพิจารณาค่า SFC ของ CIE ทั้ง 3 อุณหภูมิ เปรียบเทียบกับไขมันที่สกัดได้จากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า พบว่า CIE ทุกตัวอย่างมีลักษณะของเส้นกราฟ SFC ใกล้เคียงกับตัวอย่าง COM3 เป็นอย่างมาก โดยที่อุณหภูมิ 20°C ทั้งตัวอย่าง CIE และตัวอย่าง COM3 มีค่า SFC สูงกว่า 10% ซึ่งจะไม่ทำให้เกิดปัญหาการแยกตัวของน้ำมันเหลว (oiling off) ในผลิตภัณฑ์เนยเทียม จึงยังคงลักษณะปรากฏที่ดีเอาไว้ได้ ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความคงตัวสูง (Laia et al., 2000) นอกจากนี้ที่อุณหภูมิ 25°C ตัวอย่างทั้งสองยังมีค่า SFC ต่ำกว่า 32% แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการปาดเกลี่ยที่ดีที่อุณหภูมิห้อง (Teles dos Santos et al., 2014) และยังมีค่า SFC ต่ำกว่า 3.5% ที่อุณหภูมิ 35°C จึงไม่ทำให้เกิดความรู้สึกเป็นไขเมื่อรับประทานภายในปาก (Chrysan, 2005) แสดงให้เห็นว่าไขมันผสมหลังผ่านปฏิกิริยา CIE มีความเหมาะสมสำหรับนำไปใช้ผลิตเป็นไขมันเนยเทียมได้เช่นกัน



ภาพที่ 18 ปริมาณไขมันแข็งในรูปผลึกของไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี (CIE) ที่อุณหภูมิต่างๆ เปรียบเทียบกับไขมันที่สกัดได้จากเนยผสมทางการค้า

เมื่อเปรียบเทียบค่า SFC ของตัวอย่าง CIE ทั้ง 3 อุณหภูมิ กับตัวอย่าง EIE ทั้ง 3 อุณหภูมิ ได้ผลดังแสดงในภาพที่ 19 จากภาพจะเห็นว่าตัวอย่าง CIE ให้ค่า SFC ที่สูงกว่าตัวอย่าง EIE เล็กน้อยที่อุณหภูมิ < 30°C ทั้งนี้อาจเป็นเพราะตัวอย่าง CIE มีปริมาณของไตรกลีเซอไรด์ที่มีจุดหลอมเหลวปานกลาง (CaLaLa, LaLaO และ LaMM) สูงกว่าของตัวอย่าง EIE



ภาพที่ 19 ปริมาณไขมันแข็งในรูปผลึกของไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ (EIE) และแบบใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี (CIE) ที่อุณหภูมิต่างๆ

4.2.2.2 การศึกษาเทอร์โมแกรมการตกผลึกและหลอมเหลว และพลังงานที่เกี่ยวข้อง

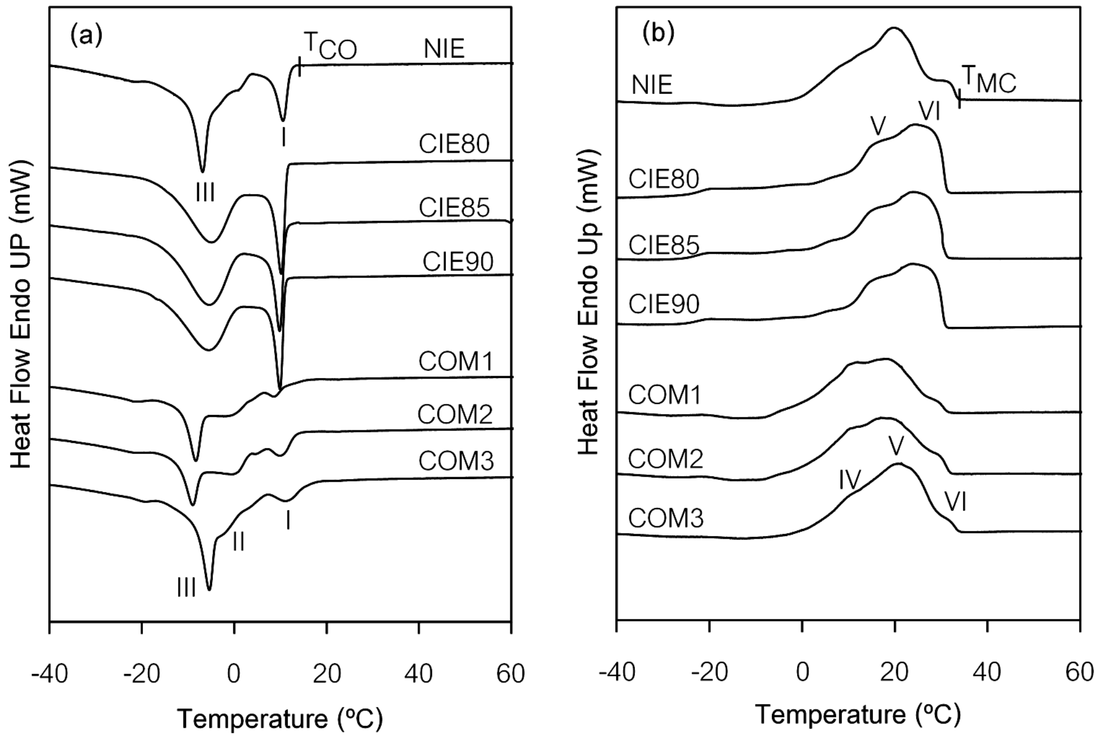
ภาพที่ 20(a) แสดงเทอร์โมแกรมการตกผลึกของตัวอย่างไขมันผสมพบว่า NIE มีพีคการตกผลึกที่ใกล้เคียงกับที่ได้แสดงไปแล้วก่อนหน้านี้ (ภาพที่ 12 และตารางที่ 10) โดยมีพีคการตกผลึก 2 พีคหลักที่เด่นชัด โดยพีคแรกแสดงการตกผลึกของไตรกลีเซอไรด์ที่มีจุดหลอมเหลวสูงกว่า มีตำแหน่งของพีคอยู่ที่ 10.6°C (T_{pI}) และพีคที่สองแสดงการตกผลึกของไตรกลีเซอไรด์ที่มีจุดหลอมเหลวต่ำกว่ามีตำแหน่งของพีคอยู่ที่ -6.7°C (T_{pIII}) (ตารางที่ 12) หลังจากทำปฏิกิริยา CIE พีคการตกผลึกของไขมันที่ด้านอุณหภูมิต่ำ (พีค III) จะขยับไปทางด้านที่มีอุณหภูมิสูงขึ้นจากเดิมเล็กน้อยจาก -6.7°C เป็น -5.0°C (CIE80), -5.4°C (CIE85) และ -5.1°C (CIE90) และแสดงช่วงการตกผลึกที่กว้างขึ้น เนื่องจากการทำปฏิกิริยา CIE ทำให้ไตรกลีเซอไรด์ที่เป็นองค์ประกอบในกลุ่มที่มีจุดหลอมเหลวต่ำมีความหลากหลายชนิดมากขึ้น ตรงข้ามกับพีคการตกผลึกของไขมันด้านที่มีอุณหภูมิสูงกว่า (พีค I) ซึ่งจะขยับไปทางด้านที่มีอุณหภูมิต่ำลงจาก 10.6°C เป็น 9.7°C (CIE80), 9.6°C (CIE85) และ 9.9°C

(CIE90) และพีคมีความคมมากขึ้นเมื่อเทียบกับ NIE เนื่องจากการทำปฏิกิริยา CIE ทำให้ไตรกลีเซอไรด์ที่มีจุดหลอมเหลวสูงกว่ามีปริมาณลดลง ส่งผลให้ความหลากหลายของไตรกลีเซอไรด์กลุ่มที่มีจุดหลอมเหลวสูงกว่าลดลง ซึ่งสอดคล้องกับค่า T_{co} ซึ่งเป็นค่าที่บอกถึงอุณหภูมิในการเริ่มต้นตกผลึกที่ลดลงหลังจากทำปฏิกิริยา CIE ส่วนพีคการตกผลึกของตัวอย่างทางการค้านั้นได้อธิบายไปแล้วก่อนหน้านี้ว่ามีลักษณะใกล้เคียงกับตัวอย่าง NIE แสดงให้เห็นว่าเนยเทียมทางการค้าทั้ง 3 ยี่ห้อผลิตจากไขมันเนย ผสมกับน้ำมันพืชชนิด A และน้ำมันพืชชนิด B โดยไม่มีการใช้ปฏิกิริยา EIE หรือ CIE ในกระบวนการ

ภาพที่ 20(b) แสดงการหลอมเหลวของตัวอย่างไขมันผสม โดยจะเห็นได้ว่าตัวอย่างไขมันผสมมีช่วงการหลอมเหลวที่กว้าง และประกอบไปด้วยพีคการหลอมเหลวหลายพีคเนื่องจากมีไตรกลีเซอไรด์หลากหลายชนิดในองค์ประกอบ หลังทำปฏิกิริยา CIE พบว่าตำแหน่งพีคหลักของการตกผลึก (T_{pV} และ T_{PVI}) ลดลง และค่า T_{mc} ของตัวอย่าง CIE ซึ่งเป็นค่าที่บอกถึงอุณหภูมิที่ไขมันหลอมเหลวอย่างสมบูรณ์มีค่าลดลงจาก 34.5°C ของตัวอย่าง NIE เป็น ~32°C เป็นผลมาจากการลดลงของไตรกลีเซอไรด์ที่มีจุดหลอมเหลวสูงดังที่ได้กล่าวไปก่อนหน้านี้ ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยของ Andreia Schäfer De Martini Soares et al. (2009) ที่ระบุว่าการทำปฏิกิริยา CIE ของไขมันผสมระหว่างปาล์มสเตียรินและปาล์มโอเลอินส่งผลให้ไตรกลีเซอไรด์ชนิดที่มีกรดไขมันอิ่มตัวทั้ง 3 ตำแหน่งซึ่งมีจุดหลอมเหลวสูง มีปริมาณเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากการจัดเรียงตัวแบบสุ่มของกรดไขมันในโครงสร้างไตรกลีเซอไรด์ขึ้นอยู่กับชนิดและอัตราส่วนของไขมันผสมที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา CIE เมื่อพิจารณาเทอร์โมแกรมการหลอมเหลวของตัวอย่างไขมันที่สกัดได้จากเนยผสมทางการค้าพบว่ามีลักษณะเป็นพีคหลายพีคที่ซ้อนทับกัน บ่งชี้ได้ว่ามีองค์ประกอบของกรดไขมันที่หลากหลาย

มหาวิทยาลัยศิลปากร

นอกจากนี้ตารางที่ 12 ยังได้แสดงว่าค่าเอนทาลปีของการตกผลึกและการหลอมเหลวลดลงหลังการทำปฏิกิริยา CIE ทั้ง 3 อุณหภูมิ แสดงให้เห็นว่าการจัดเรียงตัวกันเป็นโครงสร้างผลึกของโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์มีความเป็นระเบียบน้อยลง



ภาพที่ 20 DSC เทอร์โมแกรมการตกผลึก (a) และการหลอมเหลว (b) ของไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี (CIE) ที่อุณหภูมิต่างๆ เปรียบเทียบกับไขมันที่สกัดได้จากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า

ตารางที่ 12 ค่า DSC parameters ที่เกี่ยวข้องกับการตกผลึกและการหลอมเหลวของไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นโดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี (CIE) ที่อุณหภูมิต่างๆ เปรียบเทียบกับไขมันที่สกัดได้จากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า

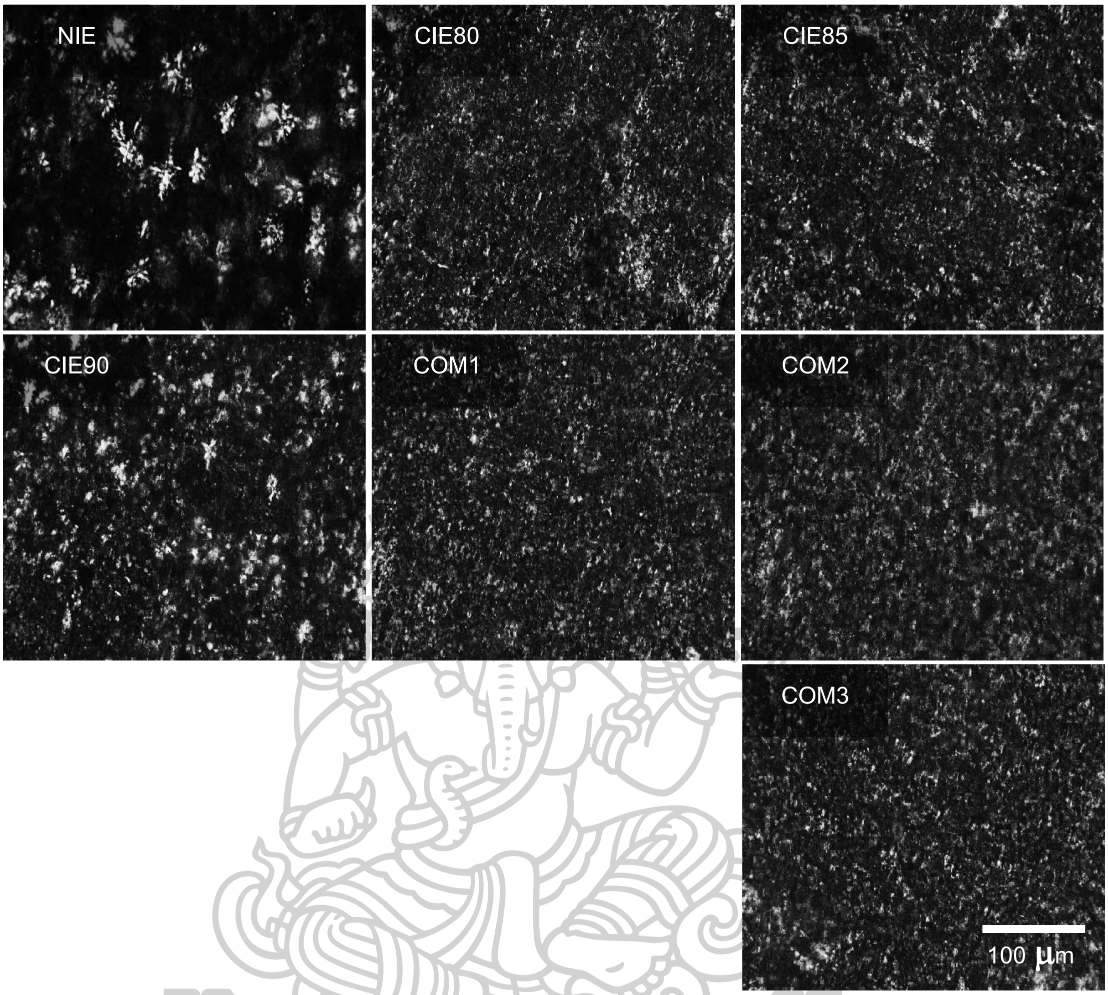
Samples	Crystallization				
	T_{co} (°C)	T_{pI} (°C)	T_{pII} (°C)	T_{pIII} (°C)	ΔH_c (J/g)
NIE	14.05 ± 0.33^{b}	10.58 ± 0.02^{a}		-6.72 ± 0.18^{b}	98.53 ± 1.63^{a}
CIE80	12.38 ± 0.06^{c}	9.70 ± 0.61^{a}		-5.04 ± 0.04^{a}	72.11 ± 1.92^{b}
CIE85	12.39 ± 0.17^{c}	9.64 ± 0.23^{a}		-5.40 ± 0.14^{a}	74.40 ± 2.43^{b}
CIE90	12.22 ± 0.23^{c}	9.92 ± 0.05^{a}		-5.14 ± 0.46^{a}	71.99 ± 0.60^{b}
COM1	14.85 ± 0.83^{b}	7.40 ± 0.36^{b}	-0.87 ± 0.02^{b}	-8.27 ± 0.08^{c}	52.37 ± 1.49^{d}
COM2	14.01 ± 0.91^{b}	9.67 ± 1.15^{a}	-0.34 ± 0.01^{a}	-8.94 ± 0.03^{d}	60.87 ± 1.83^{c}
COM3	18.15 ± 1.04^{a}	10.81 ± 0.95^{a}	-1.29 ± 0.14^{c}	-5.46 ± 0.08^{a}	73.02 ± 0.93^{b}
Samples	**Melting**				
	T_{pIV} (°C)	T_{pV} (°C)	T_{pVI} (°C)	T_{mc} (°C)	ΔH_m (J/g)
NIE		19.43 ± 0.32^{b}	31.61 ± 0.30^{a}	34.46 ± 0.24^{a}	115.07 ± 0.46^{a}
CIE80		14.66 ± 0.49^{d}	24.21 ± 0.45^{d}	31.94 ± 0.16^{bc}	94.36 ± 0.86^{d}
CIE85		14.51 ± 0.05^{d}	24.07 ± 0.21^{d}	31.99 ± 0.07^{bc}	94.29 ± 0.33^{d}
CIE90		14.65 ± 0.22^{d}	24.01 ± 0.16^{d}	31.69 ± 0.04^{c}	91.85 ± 0.24^{e}
COM1	9.87 ± 0.11^{a}	17.48 ± 0.23^{c}	28.77 ± 0.69^{c}	30.91 ± 0.09^{d}	100.57 ± 1.31^{c}
COM2	10.24 ± 0.71^{a}	16.93 ± 0.01^{c}	29.75 ± 0.07^{bc}	32.05 ± 0.02^{b}	108.25 ± 1.45^{b}
COM3	9.81 ± 1.12^{a}	21.42 ± 0.01^{a}	30.23 ± 0.92^{b}	34.64 ± 0.11^{a}	110.07 ± 0.74^{b}

หมายเหตุ: T_{co} คืออุณหภูมิที่เริ่มเกิดการตกผลึก (crystallization onset temperature), T_{mc} คืออุณหภูมิที่การหลอมเหลวสิ้นสุด (melting completion temperature), T_p คืออุณหภูมิของพีคการตกผลึกหรือหลอมเหลวต่างๆ, ΔH_c และ ΔH_m คือเอนทาลปี (enthalpy) ของการตกผลึกและการหลอมเหลว ตามลำดับ, ตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

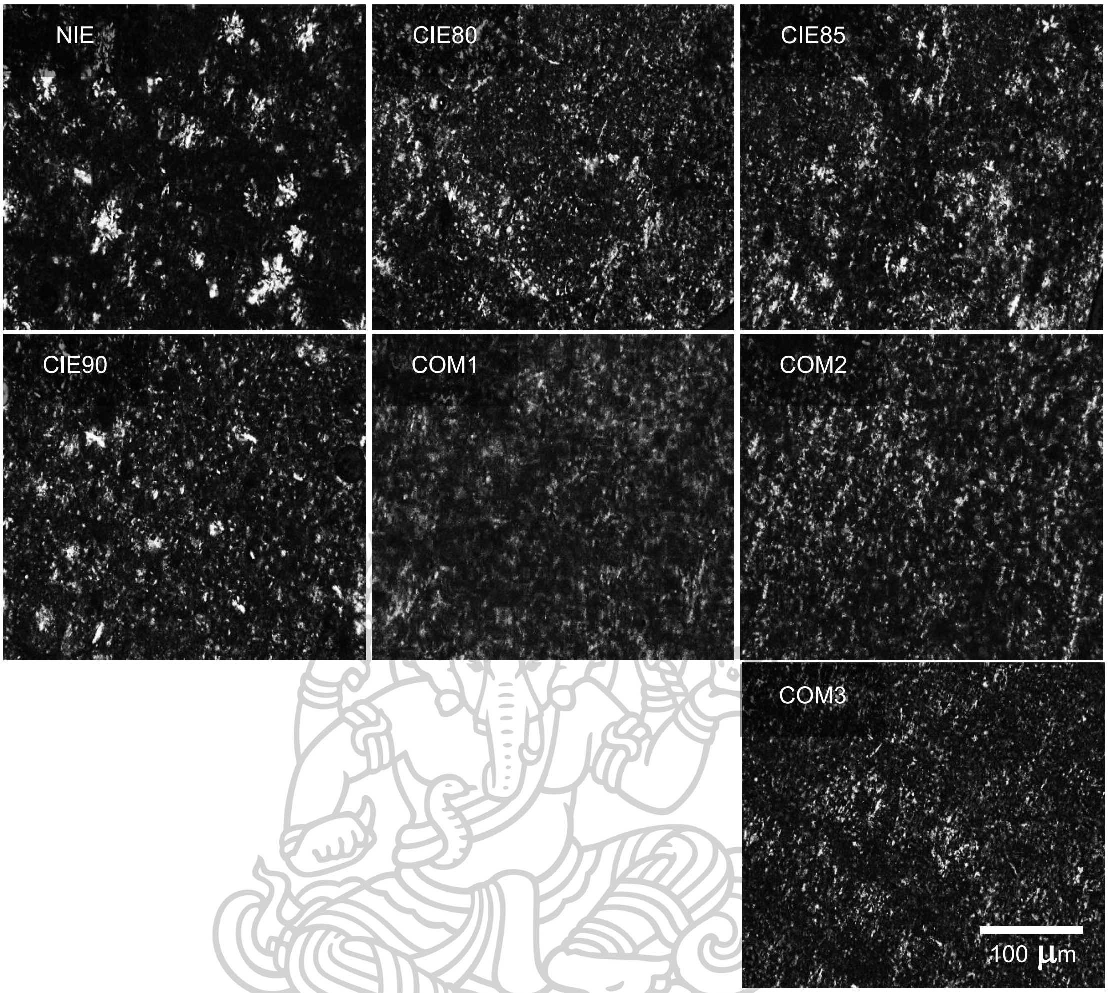
4.2.2.3 การศึกษาลักษณะสัณฐานผลึก

ขนาดและรูปร่างของผลึกมีผลต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ หากผลึกมีขนาดใหญ่กว่า 30 ไมครอน จะทำให้เกิดลักษณะเนื้อสัมผัสแบบเป็นเม็ด (Ornla-ied et al., 2022) ซึ่งไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค จากผลการทดลองเมื่อเก็บรักษาตัวอย่างที่ได้จากการทำปฏิกิริยา CIE ไว้ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง พร้อมกับตัวอย่าง NIE และตัวอย่างทางการค้าในภาพที่ 21 จะเห็นว่า NIE มีผลึกเป็นรูปทรงกลมขนาดใหญ่ มีขนาดประมาณ 26 ไมครอน การทำปฏิกิริยา CIE ส่งผลให้ผลึกมีรูปร่างและขนาดเปลี่ยนแปลงไป โดยผลึกที่ได้จะมีลักษณะเป็นรูปเข็มขนาดเล็กประมาณ 12 ไมครอน กระจายตัวแบบสุ่ม เช่นเดียวกับไขมันที่สกัดจากเนยผสมทางการค้า เมื่อเก็บรักษาไว้นานขึ้นผลึกของ NIE จะมีการโตขึ้นอย่างต่อเนื่องตามระยะเวลาในการเก็บรักษา ที่ระยะการเก็บนาน 3 เดือน (ภาพที่ 23) ผลึกมีขนาดเฉลี่ยเป็น 55 ไมครอน ซึ่งสามารถรับรู้ถึงลักษณะเนื้อสัมผัสแบบเป็นเม็ดในผลิตภัณฑ์ ในขณะที่ตัวอย่าง CIE จากทั้ง 3 อุณหภูมิ ไม่เห็นถึงการโตขึ้นของผลึกตามระยะเวลาที่เก็บรักษานาน 3 เดือน ผลึกมีขนาดเฉลี่ย < 15 ไมครอน จึงไม่ทำให้เกิดความรู้สึกถึงลักษณะเนื้อสัมผัสแบบเป็นเม็ด ถือเป็นลักษณะที่ต้องการในผลิตภัณฑ์เนยเทียม เนื่องจากผลึกรูปเข็มขนาดเล็กละเอียดนี้ทำให้ผลิตภัณฑ์มีเนื้อที่เรียบเนียนและมีความสเถียรตามที่ได้กล่าวไว้ก่อนหน้า สอดคล้องกับงานวิจัยของ Fauzi et al. (2013) ที่พบว่าผลึกของไขมันผสมระหว่างปาล์มสเตียริน น้ำมันเมล็ดปาล์ม และน้ำมันถั่วเหลือง มีขนาดเล็กลงหลังทำปฏิกิริยา

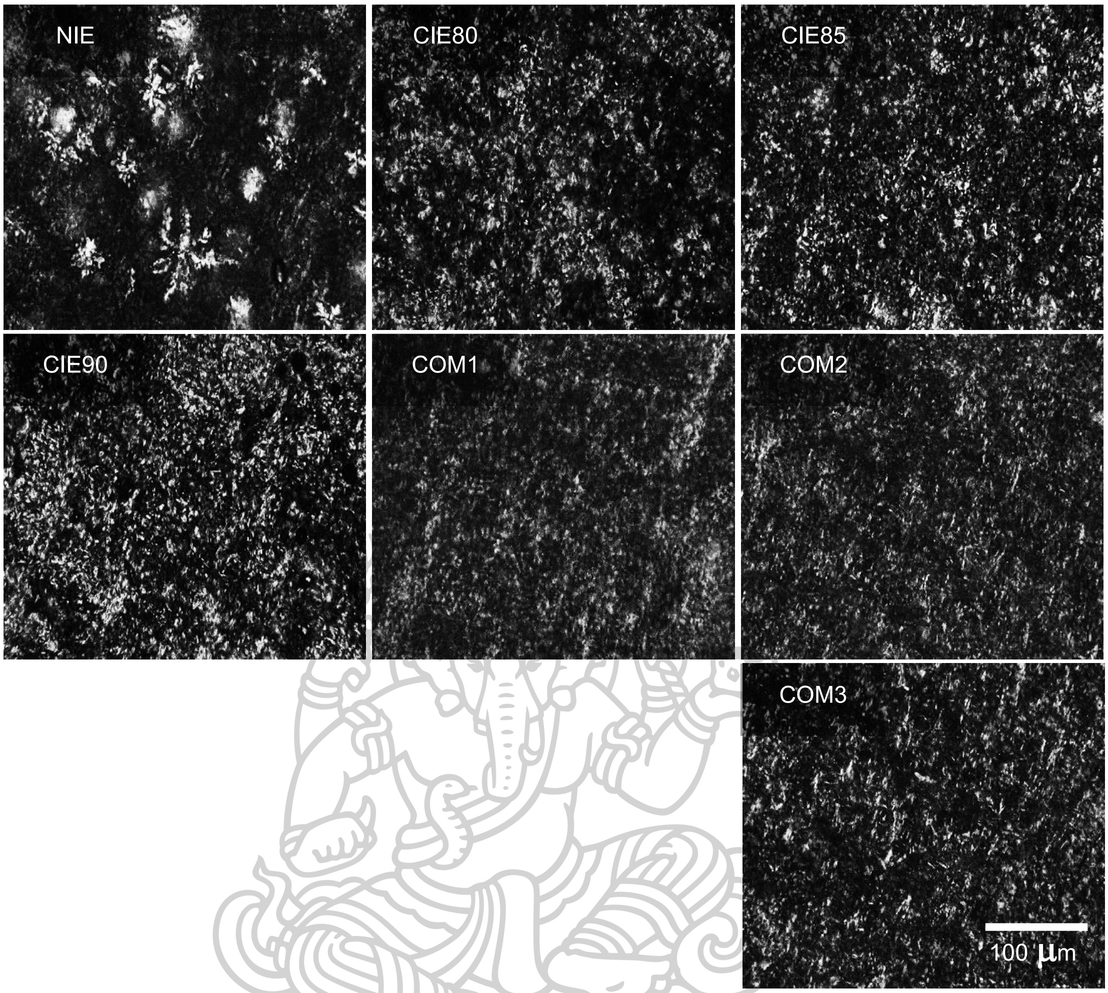
มหาวิทยาลัยศิลปากร



ภาพที่ 21 ลักษณะสัณฐานผลึกของไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ทั้งก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี (CIE) ที่อุณหภูมิต่างๆ เปรียบเทียบกับไขมันที่สกัดได้จากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า หลังตกผลึกที่อุณหภูมิ 4°C และเก็บรักษานาน 24 ชั่วโมง



ภาพที่ 22 ลักษณะสัณฐานผลึกของไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ทั้งก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี (CIE) ที่อุณหภูมิต่างๆ เปรียบเทียบกับไขมันที่สกัดได้จากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า หลังตกผลึกที่อุณหภูมิ 4°C และเก็บรักษานาน 1 เดือน



ภาพที่ 23 ลักษณะสัณฐานผลึกของไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ทั้งก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี (CIE) ที่อุณหภูมิต่างๆ เปรียบเทียบกับไขมันที่สกัดได้จากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า หลังตกผลึกที่อุณหภูมิ 4°C และเก็บรักษานาน 3 เดือน

4.2.2.4 การศึกษาโครงสร้างผลึก

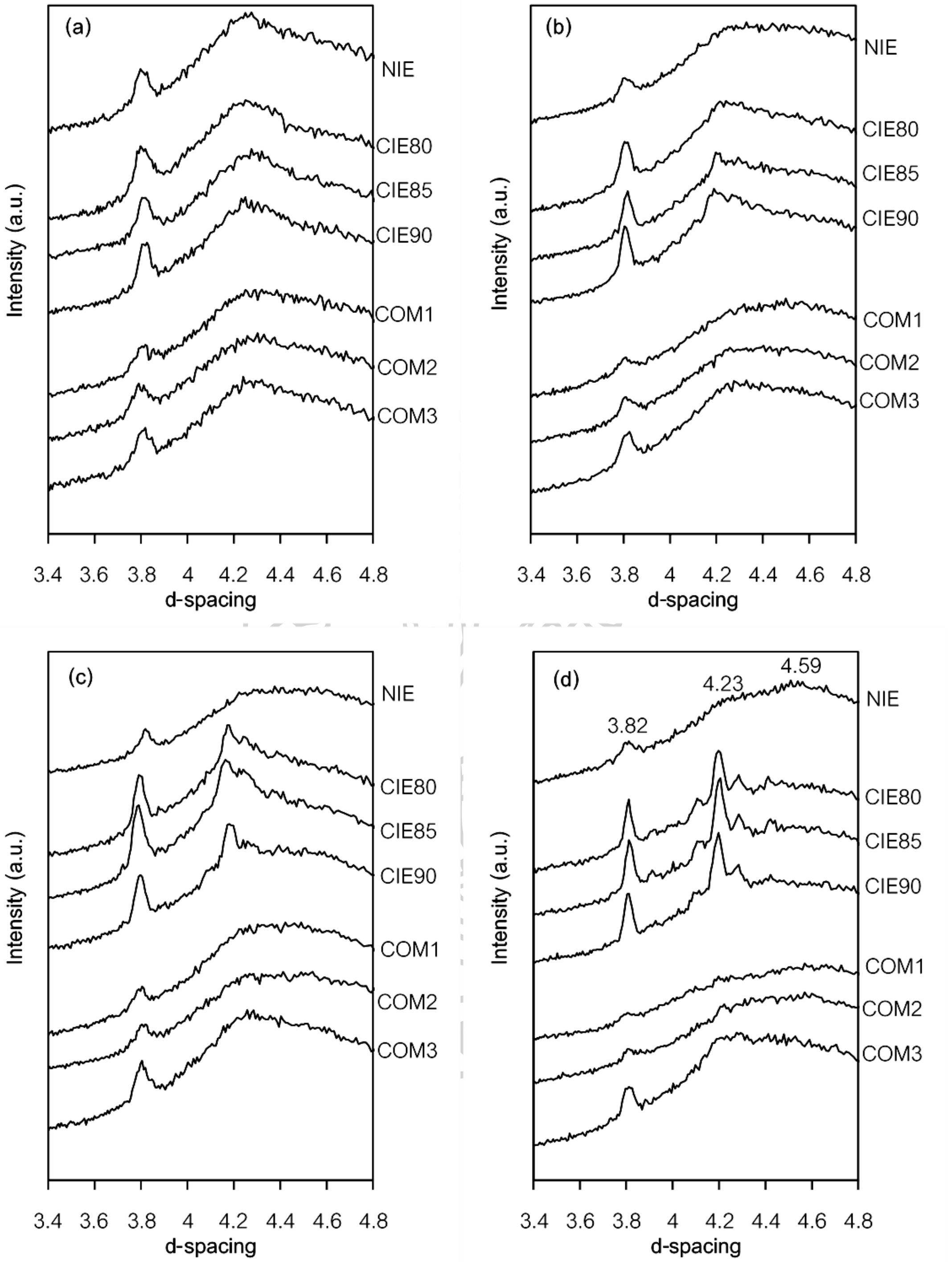
ภาพที่ 24 แสดงลักษณะโครงสร้างผลึกของตัวอย่างน้ำมัน เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4°C ตามระยะเวลาต่างๆ ในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน จะเห็นว่าที่เวลา 24 ชั่วโมง NIE มีโครงสร้างผลึกรูปแบบ β' (3.82 Å) ที่เด่นชัด และไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไปจากเดิมหลังทำปฏิกิริยา CIE (ภาพที่ 24(a)) สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้าของ Norizzah et al. (2018) ที่กล่าวว่าปฏิกิริยา CIE ไม่ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะโครงสร้างผลึกของไขมันผสมระหว่างน้ำมันปาล์มและน้ำมันเมล็ดปาล์ม เมื่อเก็บรักษาไว้นานขึ้นพีคที่ตำแหน่ง d-spacing 3.82 Å จะมีความสูงเพิ่มขึ้น รวมถึงมีการเกิดของพีคที่ตำแหน่ง d-spacing 4.23 Å ในตัวอย่างหลังทำปฏิกิริยา CIE ที่ระยะเวลาการเก็บ 1 และ 2 เดือน (ภาพที่ 24(b) และ 24(c)) ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับโครงสร้าง

ผลึกรูปแบบ β' เช่นกัน เนื่องจากตัวอย่างน้ำมันที่มีองค์ประกอบของกรดไขมันหลายชนิดมักจะตกผลึกในโครงสร้างรูปแบบ β' เป็นหลัก ด้วยเหตุนี้ปฏิกิริยา CIE ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดการสลับตำแหน่งของกรดไขมันในโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์แบบสุ่ม ทำให้ไตรกลีเซอไรด์ที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันมีความแตกต่างจากก่อนทำปฏิกิริยาแต่มีความหลากหลายเช่นเดิม CIE จึงตกผลึกในโครงสร้างรูปแบบ β' ด้วยเช่นกัน อย่างไรก็ตามที่ระยะเวลา 3 เดือน (ภาพที่ 24(d)) ตัวอย่าง NIE แสดงพีคของการตกผลึกเพิ่มขึ้นที่ตำแหน่ง d-spacing เป็น 4.59 Å สอดคล้องกับโครงสร้างผลึกแบบ β แสดงให้เห็นว่าเริ่มเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึกจากรูปแบบ β' ไปเป็น β ในระหว่างการเก็บรักษาในตัวอย่าง NIE ขณะที่ตัวอย่างอื่นๆ ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างผลึก

ผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าหลังการทำปฏิกิริยา CIE ไขมันมีแนวโน้มที่จะตกผลึกลงในโครงสร้าง β' และมีการเปลี่ยนโครงสร้างจาก β' ไปเป็น β น้อยกว่า ซึ่งเป็นลักษณะที่ดีในไขมันเนยเทียม เนื่องจากโครงสร้างรูปแบบ β' นี้ให้ผลึกรูปเข็มขนาดเล็ก สามารถเกาะกลุ่มกันเป็นโครงข่ายผลึกที่แข็งแรง ช่วยดักจับน้ำมันเหลวไว้ภายในช่องว่างระหว่างผลึกได้ดี ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีผิวหน้ามันวาว เนื้อสัมผัสเรียบเนียน และมีความสามารถในการปาดเกลี่ยที่ดี (Miskandar et al., 2002b) ต่างจากผลึกรูปแบบ β ที่มีลักษณะเป็นทรงกลมขนาดใหญ่มีแนวโน้มรวมตัวกันได้ง่ายและอาจทำให้เกิดลักษณะเนื้อสัมผัสแบบเป็นเม็ดในผลิตภัณฑ์

นอกจากนี้ผลการศึกษาในงานวิจัยนี้ของเราได้แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างทางการค้าทั้ง 3 ตัวอย่างยังคงมีผลึกไขมันในโครงสร้าง β' หลังจากการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 3 เดือน ทั้งนี้มีความเป็นไปได้ว่าการผลิตเนยเทียมแบบเนยผสมทั้ง 3 ตัวอย่างนั้นมีการเติมสารอิมัลซิไฟเออร์บางตัวลงไปช่วยชะลอหรือยับยั้งการเปลี่ยนโครงสร้างผลึกไขมันจาก β' ไปเป็น β ดังได้กล่าวไปแล้วก่อนหน้านี้

มหาวิทยาลัยศิลปากร



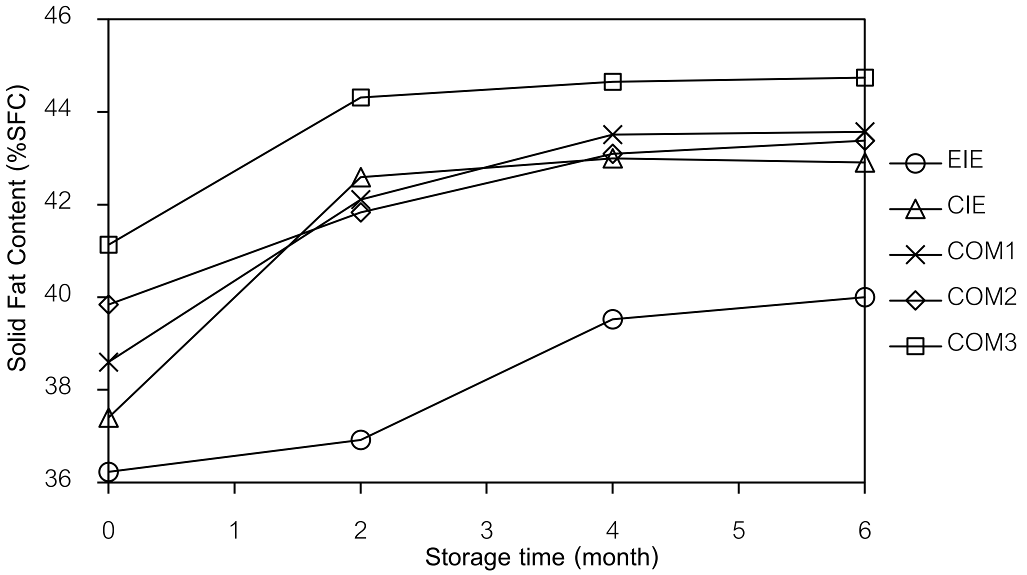
ภาพที่ 24 ลักษณะโครงสร้างผลึกของไขมันผสม (BF:VOA:VOB) ทั้งก่อน (NIE) และหลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี (CIE) ที่อุณหภูมิต่างๆ เปรียบเทียบกับไขมันที่สกัดได้จากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า หลังตกผลึกที่ 4°C และเก็บรักษาไว้ที่ระยะเวลา (a) 0 เดือน, (b) 1 เดือน, (c) 2 เดือน และ (d) 3 เดือน

4.3 การผลิตเนยเทียมและการศึกษาสมบัติของเนยเทียม

จากการศึกษาในหัวข้อ 4.1 และ 4.2 ที่ผ่านมา งานวิจัยนี้จึงได้คัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมที่สุดของการทำปฏิกิริยาทั้งสองแบบ โดยเลือกสภาวะในการทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 50°C เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมงสำหรับการทำปฏิกิริยา EIE และเลือกสภาวะในการทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 80°C เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมงสำหรับการทำปฏิกิริยา CIE มาผลิตไขมันเนยเทียมสำหรับใช้ผลิตเนยเทียมแบบเนยผสม จากนั้นนำเนยเทียมไปเก็บรักษาในสภาวะการเก็บจริงที่อุณหภูมิตู้เย็น เป็นระยะเวลา 6 เดือน แล้วศึกษาสมบัติด้านต่างๆ เปรียบเทียบกับเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า ได้ผลดังต่อไปนี้

4.3.1 การศึกษาค่า SFC ตามระยะเวลาการเก็บรักษา

ภาพที่ 25 แสดงการเปลี่ยนแปลงค่า SFC ของเนยเทียมระหว่างเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นระยะเวลานาน 6 เดือน พบว่าค่า SFC เดือนที่ 0 ของตัวอย่างเนยเทียม CIE และ EIE มีค่าต่ำกว่าของเนยเทียมทางการค้า ค่า SFC ของเนยเทียมทุกตัวอย่างเพิ่มขึ้นประมาณ 3-6% ในช่วงระยะเวลา 2 เดือนแรก หลังจากนั้นค่า SFC จะเริ่มคงที่เมื่อเก็บไว้นาน 4 เดือน ยกเว้นตัวอย่างเนยเทียม EIE ที่มีค่า SFC เพิ่มสูงขึ้นจนถึงเดือนที่ 4 อย่างไรก็ตามค่า SFC จะเริ่มคงที่เมื่อเก็บไว้นาน 6 เดือน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการที่ไขมันผสมที่ได้จากการทำ EIE มีองค์ประกอบของไตรกลีเซอไรด์ที่มีความหลากหลายมากกว่า จึงเกิดการตกผลึกช้ากว่าหรือใช้ระยะเวลานานกว่าในการตกผลึก การเพิ่มขึ้นของค่า SFC ของตัวอย่างเนยเทียมตามระยะเวลาในการเก็บนั้นสอดคล้องกับงานวิจัยของ Podchong et al. (2018) ที่ได้ผลิตเนยเทียมจากน้ำมันผสมระหว่างน้ำมันรำข้าวและปาล์มสเตียรินที่ผ่านการตกผลึกแยกส่วน (fractionated palm stearin) ในอัตราส่วนต่างๆ แล้วพบว่าที่อุณหภูมิ 4°C ค่า SFC ของเนยเทียมทุกตัวอย่างเพิ่มสูงขึ้นประมาณ 3-5% เมื่อเก็บไว้นาน 8 สัปดาห์ เนื่องจากการตกผลึกอย่างต่อเนื่องของไตรกลีเซอไรด์ในไขมันผสม จึงส่งผลให้ค่า SFC เพิ่มสูงขึ้น ในขณะที่งานวิจัยก่อนหน้าของ Sonwai and Luangsasipong (2013) ที่พบว่าค่า SFC ของเนยเทียมที่ผลิตขึ้นจากน้ำมันผสมระหว่างน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ ปาล์มสเตียริน และน้ำมันปาล์ม รวมถึงเนยเทียมทางการค้า มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมากในสัปดาห์แรกเท่านั้น หลังจากนั้นจะมีค่าคงที่ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาการเก็บนนาน 8 สัปดาห์เช่นกัน



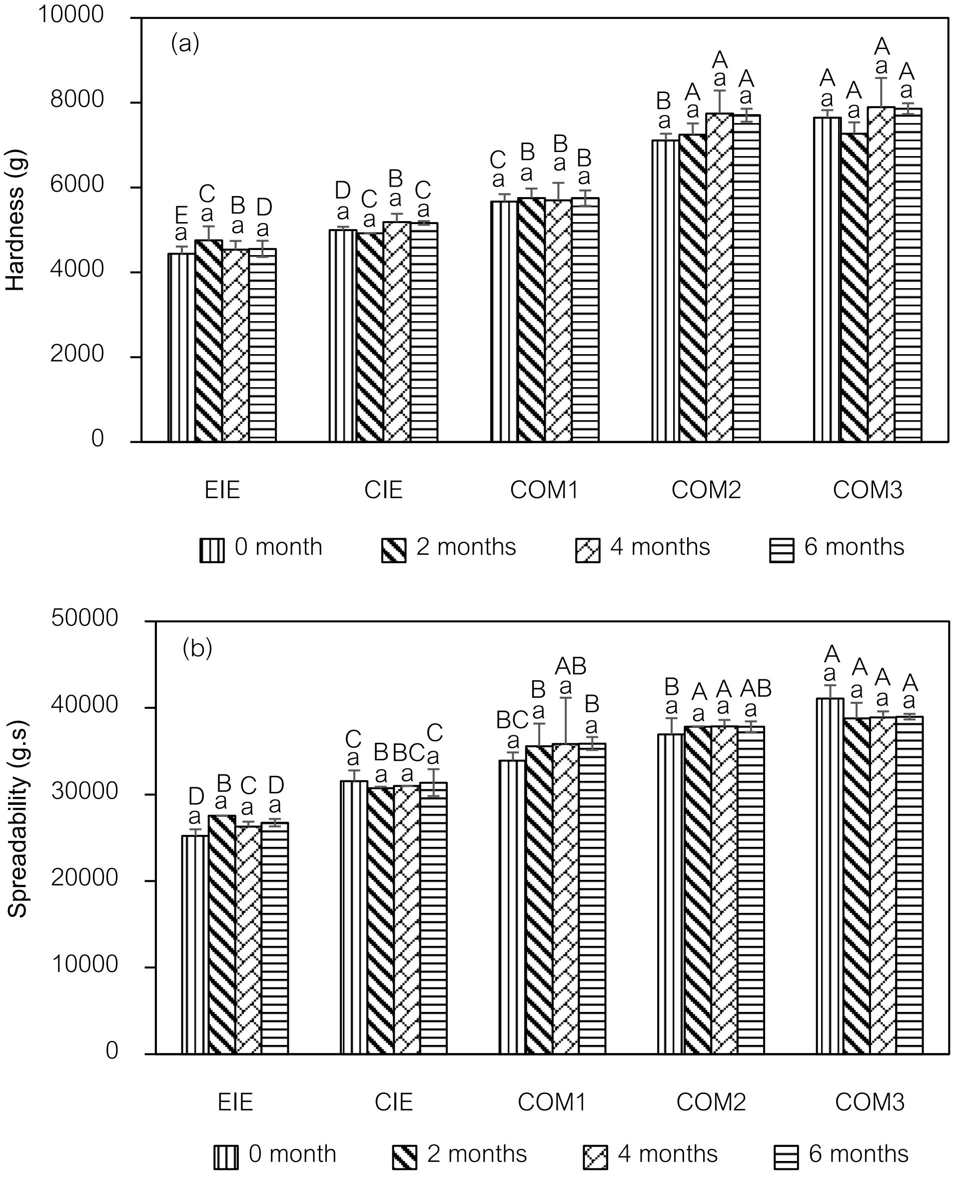
ภาพที่ 25 ปริมาณไขมันแข็งในรูปผลึกของเนยเทียมที่ผลิตจากไขมันผสม (BF:VOA:VOB) หลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ (EIE) และแบบใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี (CIE) เปรียบเทียบกับเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นระยะเวลา 6 เดือน

3.4.2 การศึกษาค่าความแข็งและความสามารถในการปาดเกลี่ยของเนยเทียม

ภาพที่ 26(a) แสดงการเปลี่ยนแปลงค่าความแข็งของเนยเทียมในระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลานาน 6 เดือนพบว่าตัวอย่างเนยเทียม COM3 มีค่าความแข็งสูงที่สุด และตัวอย่างเนยเทียมที่ผลิตได้จากปฏิกิริยา EIE มีค่าความแข็งต่ำที่สุดตลอดระยะเวลา 6 เดือนเมื่อเปรียบเทียบกับเนยเทียมทุกตัวอย่าง นอกจากนี้ยังพบว่าความแข็งของเนยเทียมทุกตัวอย่างมีค่าคงที่ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมตลอดระยะเวลาการเก็บ บ่งชี้ให้เห็นว่าเนยเทียมทุกตัวอย่างเกิดการตกผลึกอย่างสมบูรณ์ ได้โครงข่ายผลึกที่แข็งแรง จึงมีความเสถียรและคงตัวสูง สอดคล้องกับการศึกษาค่า SFC ดังที่กล่าวไปก่อนหน้า ยกเว้นเนยเทียม EIE ที่ยังคงมีการเพิ่มขึ้นของค่า SFC อย่างไรก็ตามค่าความแข็งและค่า SFC ไม่จำเป็นต้องมีการเปลี่ยนแปลงไปในทิศทางเดียวกันเสมอไป

ภาพที่ 26(b) แสดงการเปลี่ยนแปลงค่าความสามารถในการปาดเกลี่ย (spreadability) ของเนยเทียมในระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลานาน 6 เดือน ค่าความสามารถในการปาดเกลี่ยต่ำหมายความว่าตัวอย่างเนยเทียมปาดเกลี่ยได้ง่าย หรือใช้แรงน้อยในการปาดเกลี่ย (Swenson et al., 2000) จากผลการทดลองจะเห็นว่าค่าความสามารถในการปาดเกลี่ยมีความสอดคล้องกันกับค่าความแข็งของเนยเทียม นั่นคือตัวอย่างที่มีค่าความแข็งมากจะถูกปาดเกลี่ยได้ยากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่มีค่าความแข็งน้อย จากภาพจะเห็นว่าเนยเทียม COM3 ปาดเกลี่ยได้ยากที่สุด และเนย

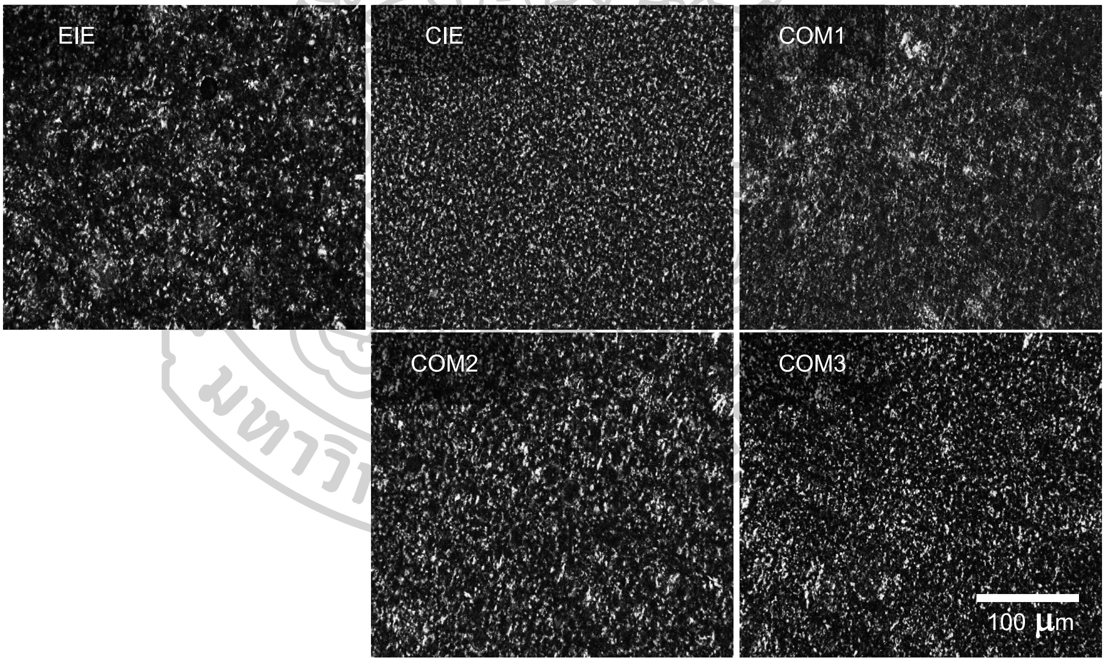
เทียม EIE ปาดเกลี่ยได้ง่ายที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าความสามารถในการปาดเกลี่ยของเนยเทียมทุกตัวอย่างไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงตามระยะเวลาการเก็บเช่นเดียวกับค่าความแข็ง



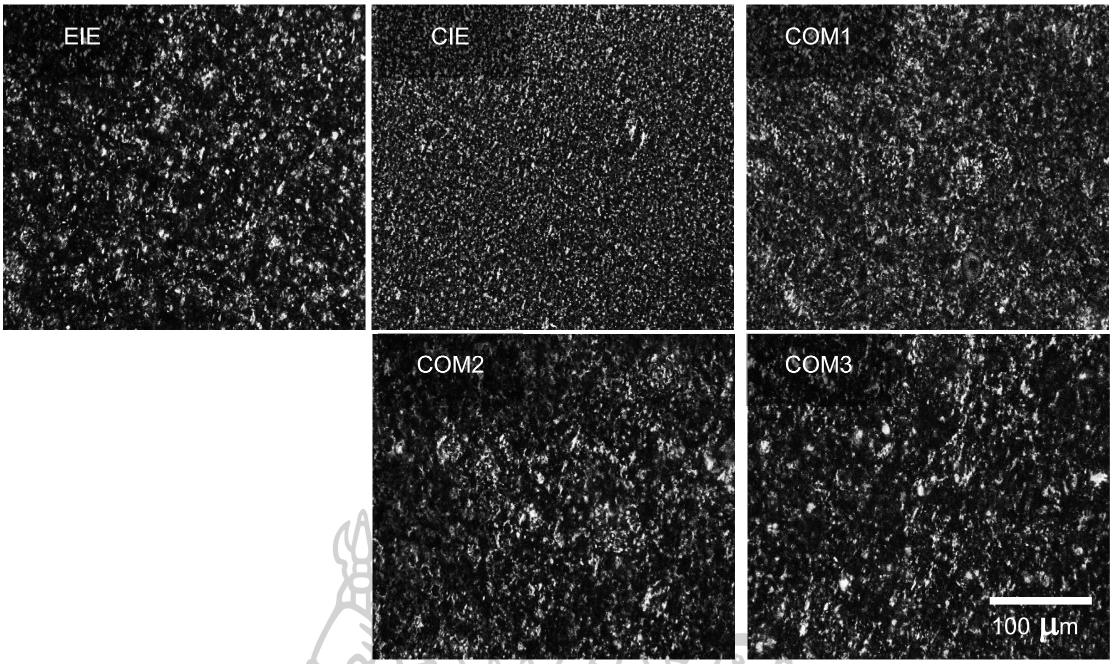
ภาพที่ 26 ค่าความแข็ง (a) และความสามารถในการปาดเกลี่ย (b) ของเนยเทียมที่ผลิตจากไขมันผสม (BF:VOA:VOB) หลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ (EIE) และแบบใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี (CIE) เปรียบเทียบกับเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นระยะเวลา 6 เดือน (ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่เหมือนกันแสดงถึงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ระหว่างเนยเทียมชนิดเดียวกันที่ระยะเวลาการเก็บรักษาต่างๆ และตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่เหมือนกันแสดงถึงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ระหว่างเนยเทียมแต่ละชนิดที่ระยะเวลาการเก็บเดียวกัน)

4.3.3 การศึกษาลักษณะสัณฐานผลึก

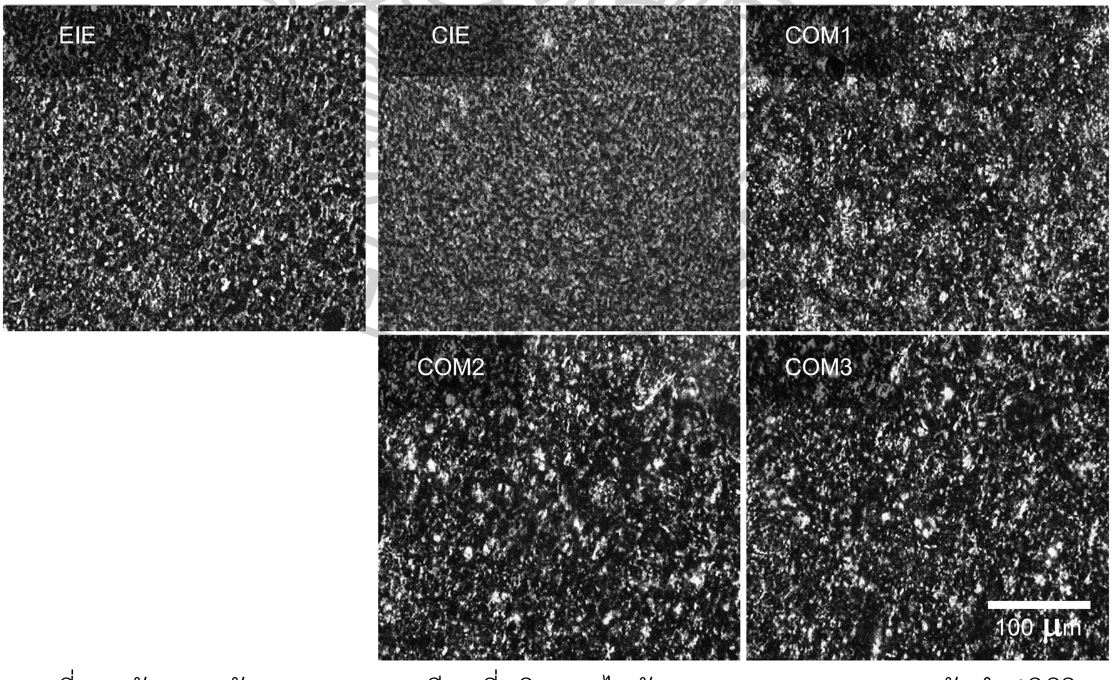
ภาพที่ 27, 28, 29 และ 30 แสดงลักษณะปรากฏของเนยเทียมหลังจากเก็บที่อุณหภูมิ 4°C เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง 2 เดือน 4 เดือน และ 6 เดือน ตามลำดับ จากภาพจะเห็นว่ามีองค์ประกอบของหยดน้ำ (water droplets) ขนาดเล็กกระจายตัวอยู่ทั่วในโครงข่ายผลึกไขมันและไม่เกิดการโตขึ้นของขนาดหยดน้ำเมื่อเก็บไว้นาน 6 เดือน บ่งชี้ได้ว่าอิมัลชันมีความเสถียรและคงตัว ความคงตัวของหยดน้ำเหล่านี้เป็นผลมาจากการที่มีโครงข่ายผลึกไขมันที่แข็งแรงป้องกันไม่ให้หยดน้ำเกิดการรวมตัวกัน ซึ่งการศึกษาก่อนหน้าที่พบว่าผลึกรูปเข็มขนาดเล็กมีแนวโน้มที่จะเกาะกลุ่มกันเพื่อสร้างโครงข่ายผลึกที่แข็งแรง ส่งผลให้อิมัลชันในผลิตภัณฑ์เนยเทียมมีความคงตัว ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีเนื้อสัมผัสเรียบเนียนและสามารถปาดเกลี่ยได้ดี นอกจากนี้ในกระบวนการผลิตเนยเทียมยังมีขั้นตอนการเติมสารอิมัลซิไฟเออร์ลงไปทำหน้าที่ลดแรงตึงผิว จึงอาจช่วยให้อิมัลชันมีความคงตัวมากยิ่งขึ้น และไม่เกิดการแยกชั้นระหว่างเฟสน้ำและเฟสไขมัน



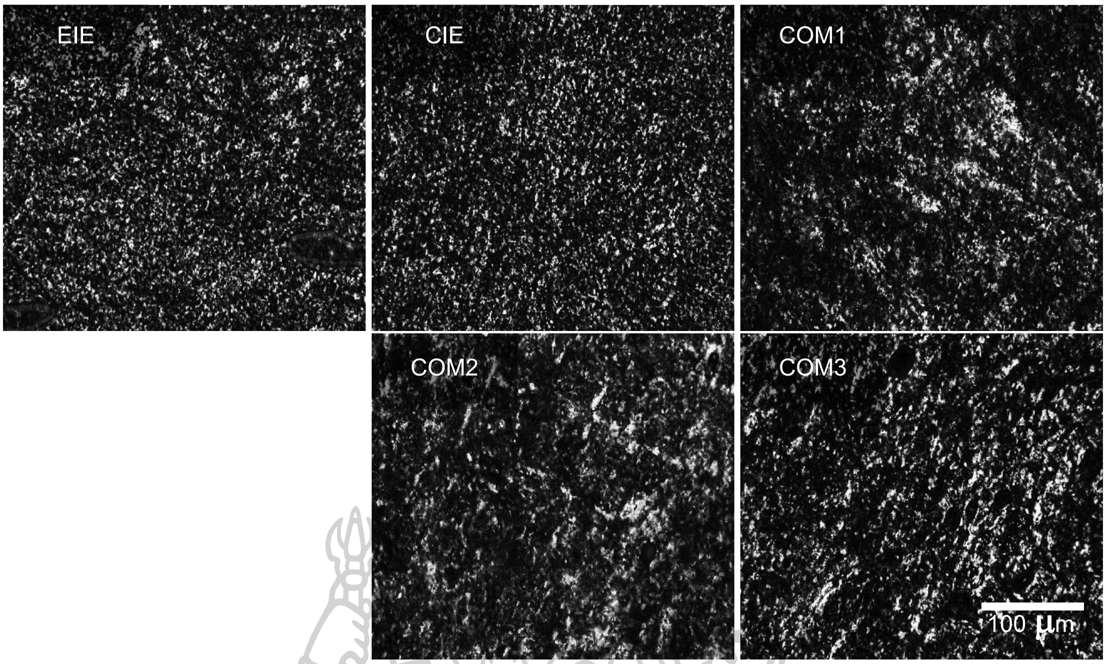
ภาพที่ 27 ลักษณะสัณฐานของเนยเทียมที่ผลิตจากไขมันผสม (BF:VOA:VOB) หลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ (EIE) และแบบใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี (CIE) เปรียบเทียบกับเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง



ภาพที่ 28 ลักษณะสัณฐานของเนยเทียมที่ผลิตจากไขมันผสม (BF:VOA:VOB) หลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ (EIE) และแบบใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี (CIE) เปรียบเทียบกับเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นระยะเวลา 2 เดือน



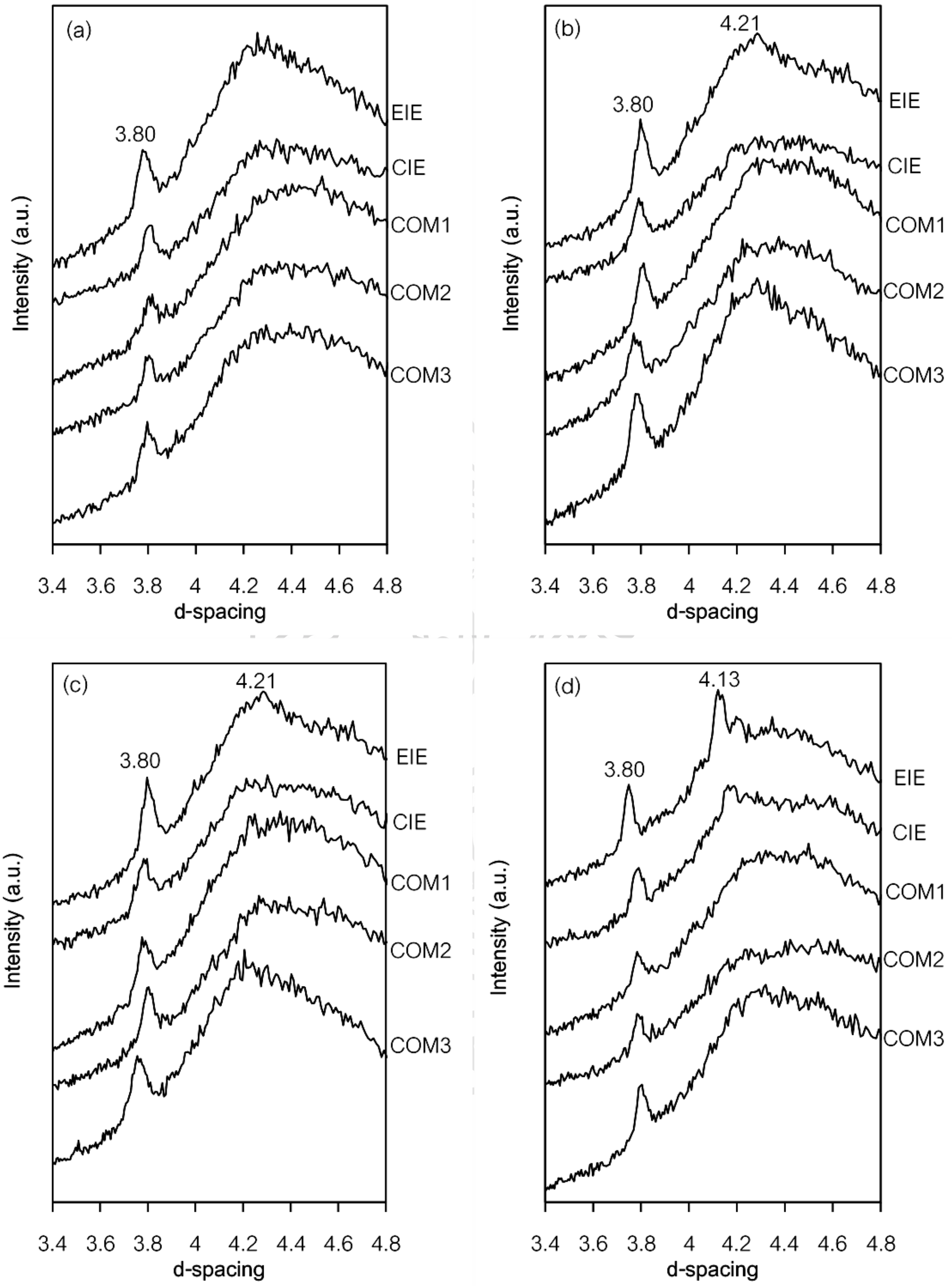
ภาพที่ 29 ลักษณะสัณฐานของเนยเทียมที่ผลิตจากไขมันผสม (BF:VOA:VOB) หลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ (EIE) และแบบใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี (CIE) เปรียบเทียบกับเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นระยะเวลา 4 เดือน



ภาพที่ 30 ลักษณะสัณฐานของเนยเทียมที่ผลิตจากไขมันผสม (BF:VOA:VOB) หลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ (EIE) และแบบใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี (CIE) เปรียบเทียบกับเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นระยะเวลา 6 เดือน

4.3.4 การศึกษาโครงสร้างผลึก

จากภาพที่ 31 แสดงลักษณะโครงสร้างผลึกจากค่า d-spacing ของเนยเทียมเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4°C ตลอดเวลา 6 เดือน จะเห็นว่าเนยเทียมทุกตัวอย่างมีค่า d-spacing ที่ 3.82 Å และ 4.2 Å ซึ่งสอดคล้องกับโครงสร้างผลึกรูปแบบ β' ซึ่งเป็นลักษณะที่ดีในเนยเทียม ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีผิวหน้ามันวาว เนื้อสัมผัสเรียบเนียน และมีความสามารถในการปาดเกลี่ยที่ดี (Miskandar et al., 2002b) นอกจากนี้ยังไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึกจากรูปแบบ β' ไปเป็น β ตลอดระยะเวลา 6 เดือน ทั้งนี้เนื่องจากองค์ประกอบของไตรกลีเซอไรด์ในไขมันที่ใช้ในการผลิตเนยเทียม EIE และ CIE นั้นมีความหลากหลายของชนิดโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ จึงทำให้มีแนวโน้มที่จะตกผลึกลงในโครงสร้าง β' ส่วนในเนยเทียมทางการค้านั้นโดยทั่วไปจะมีการเติมสารอิมัลซิไฟเออร์บางตัวลงไป คาดว่าจะสามารถช่วยชะลอหรือยับยั้งการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึก เนื่องจากโครงสร้างผลึกรูปแบบ β ไม่เป็นที่ต้องการในเนยเทียมเพราะมีแนวโน้มทำให้เกิดลักษณะเนื้อสัมผัสแบบเป็นเม็ดในผลิตภัณฑ์



ภาพที่ 31 ลักษณะโครงสร้างผลึกของเนยเทียมที่ผลิตจากไขมันผสม (BF:VOA:VOB) หลังทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ (EIE) และแบบใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี (CIE) เปรียบเทียบกับเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4°C นาน (a) 0 เดือน (b) 2 เดือน (c) 4 เดือน และ (d) 6เดือน

บทที่ 5
สรุป

จากการศึกษาพบว่าไขมันผสมตั้งต้นที่เหมาะสมในการผลิตเนยเทียมแบบเนยผสมคือไขมันเนย น้ำมันพืชชนิด A และน้ำมันพืชชนิด B ในอัตราส่วนที่ให้ค่า SFC อยู่ในช่วงของไขมันที่สกัดจากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า โดยสามารถนำมาทำปฏิกิริยา EIE ได้ทั้ง 3 อุณหภูมิคือ 45, 50 และ 55°C และมีระยะเวลาที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาทั้ง 3 อุณหภูมิคือ 1 ชั่วโมง ทำให้ได้ไขมันหลังทำปฏิกิริยาที่มีเส้นกราฟ SFC อยู่ในช่วงของเส้นกราฟของไขมันที่สกัดจากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า นอกจากนี้ยังให้ขนาดของผลึกที่เล็ก ไม่มีการโตของผลึก และไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึกจากรูปแบบ β' ไปเป็น β ในระหว่างการเก็บเป็นระยะเวลา 3 เดือน ทำให้ไม่เกิดปัญหาเนื้อสัมผัสแบบเป็นเม็ดในผลิตภัณฑ์สุดท้าย และได้มีการศึกษาการทำปฏิกิริยา CIE กับไขมันผสมในอัตราส่วนเดียวกัน โดยทำปฏิกิริยาที่ 3 อุณหภูมิ คือ 80, 85 และ 90°C ใช้โซเดียมเมทอกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ปริมาณ 0.3% โดยน้ำหนักของน้ำมันตั้งต้น พบว่าระยะเวลาที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาทั้ง 3 อุณหภูมิ คือ 1 ชั่วโมง ทำให้ได้ไขมันหลังทำปฏิกิริยาที่มีเส้นกราฟ SFC อยู่ในช่วงของเส้นกราฟของไขมันที่สกัดจากเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า นอกจากนี้ยังให้ขนาดของผลึกที่เล็ก ไม่มีการโตของผลึก และไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึกจากรูปแบบ β' ไปเป็น β ในระหว่างการเก็บเป็นระยะเวลา 3 เดือน จึงไม่เกิดปัญหาเนื้อสัมผัสแบบเป็นเม็ดในผลิตภัณฑ์สุดท้ายเช่นกัน จากนั้นนำไขมันที่ได้จากการทำปฏิกิริยาทั้ง EIE และ CIE ในสภาวะที่เหมาะสม โดยเลือกสภาวะในการทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 50°C เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมงสำหรับการทำปฏิกิริยา EIE และเลือกสภาวะในการทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 80°C เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมงสำหรับการทำปฏิกิริยา CIE มาผลิตไขมันเนยเทียมสำหรับใช้ผลิตเนยเทียมแบบเนยผสมแล้วศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติด้านต่างๆ ตามระยะเวลาการเก็บรักษา ที่อุณหภูมิ 4°C พบว่าเนยเทียมที่ผลิตจากไขมันหลังทำปฏิกิริยา EIE และ CIE ให้ค่า SFC ค่าความแข็ง และความสามารถในการปาดเกลี่ยต่ำกว่าเนยเทียมแบบเนยผสมทางการค้า และเมื่อติดตามดูลักษณะรูปร่างรวมถึงขนาดของผลึกพบว่าผลึกยังคงมีขนาดเล็ก ไม่มีการโตในระหว่างการเก็บเป็นระยะเวลา 6 เดือน อีกทั้งยังไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึกจากรูปแบบ β' ไปเป็นรูปแบบ β ในเนยเทียมทุกตัวอย่าง เนื่องจากไขมันหลังทำปฏิกิริยา EIE และ CIE มีความหลากหลายของชนิดโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ จึงทำให้มีแนวโน้มที่จะตกผลึกลงในโครงสร้างรูปแบบ β' ยังไม่ทำให้เกิดลักษณะเนื้อสัมผัสแบบเป็นเม็ดในผลิตภัณฑ์สุดท้าย

รายการอ้างอิง

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. *J. Sci. Food Agr.*, *90*.

Alim, M. A., Lee, J. H., Shin, J. A., Lee, Y. J., Choi, M. S., Akoh, C. C., & Lee, K. T. (2008). Lipase-catalyzed production of solid fat stock from fractionated rice bran oil, palm stearin, and conjugated linoleic acid by response surface methodology. *Food Chem.*, *106*. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.06.035

Andreia Schäfer De Martini Soares, F., Claro da Silva, R., Caroline Guimarães da Silva, K., Bertolessi Lourenço, M., Ferreira Soares, D., & Antonio Gioielli, L. (2009). Effects of chemical interesterification on physicochemical properties of blends of palm stearin and palm olein. *Food Research International*, *42*(9), 1287-1294. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.03.022

AOCS. (1997). *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society*. American Oil Chemists' Society.

Beckett, S. T. (2008). *The science of chocolate* (2nd ed.). The Royal Society of Chemistry, RSC Publishing.

Berry, S. E., Bruce, J. H., Steenson, S., Stanner, S., Buttriss, J. L., Spiro, A., & Gibson, P. S. (2019). Interesterified fats: What are they and why are they used? A briefing report from the roundtable on interesterified fats in foods. *Nutr. Bull.*, *44*, 363.

Bockisch, M. (1998). Chapter 8 - Fat as or in Food. In *Fats and Oils Handbook* (pp. 719-802). AOCS Press. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-9818936-0-0.50013-5

Campos, R., Narine, S. S., & Marangoni, A. G. (2002). Effect of cooling rate on the structure and mechanical properties of milk fat and lard. *Food Research International*, *35*(10), 971-981. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0963-9969(02)00159-X

Charteris, W., & Keogh, K. (1991). Fats and oils in table spreads. *Lipid Technology*, *3*(1), 16-22.

Chen, C. W., Chong, C. L., Ghazali, H. M., & Lai, O. M. (2007). Interpretation of triacylglycerol profiles of palm oil, palm kernel oil and their binary blends. *Food Chemistry*, *100*(1), 178-191. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.044

Chong, C. N., Hoh, Y., & Wang, C. W. (1992). Fractionation procedures for obtaining cocoa butter-like fat from enzymatically interesterified palm olein. *Journal of the American Oil Chemists Society*, *69*, 137-140.

Chrysan, M. M. (2005). Margarines and Spreads. In F. Shahidi (Ed.), *Bailey's Industrial Oil and Fat Products* (6th ed., Vol. 4, pp. 33-82). John Wiley & Sons.

Criado, M., Hernández-Martín, E., López-Hernández, A., & Otero, C. (2007). Enzymatic Interesterification of Extra Virgin Olive Oil with a Fully Hydrogenated Fat: Characterization of the Reaction and Its Products. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *84*(8), 717-726. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s11746-007-1104-y

Criado, M., Hernández-Martín, E., López-Hernández, A., & Otero, C. (2008). Enzymatic interesterification of olive oil with fully hydrogenated palm oil: Characterization of fats. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *110*(8), 714-724. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ejlt.200800017

D'Souza, V., deMan, J. M., & deMan, L. (1990). Short spacings and polymorphic forms of natural and commercial solid fats: A review. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *67*(11), 835-843. https://doi.org/10.1007/BF02540502

Danthine, S., Delatte, S., Blecker, C., Smith, K. W., & Bhaggan, K. (2015). Crystallization behaviour of binary fat blends containing shea stearin as hard fat. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, *117*, 1687.

deMan, J. M. (1964). Physical Properties of Milk Fat1. *Journal of Dairy Science*, *47*(11), 1194-1200. https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(64)88880-9

Fauzi, S. H., Rashid, N. A., & Omar, Z. (2013). Effects of chemical interesterification on the physicochemical, microstructural and thermal properties of palm stearin, palm kernel oil and soybean oil blends. *Food Chem*, *137*(1-4), 8-17. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.086

Fiebig, H. J., & Luttke, J. (2003). Solid fat content in fats and oils determination by

pulsed nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Eur. J. Lipid Sci.Technol.*, *105*, 377-380.

Forssell, P., Kervinen, R., Lappi, M., Linko, P., Suortti, T., & Poutanen, K. (1992). Effect of enzymatic interesterification on the melting point of tallow-rapeseed oil (LEAR) mixture. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *69*(2), 126-129. https://doi.org/10.1007/BF02540561

Garbolino, C., Bartoccini, M., & Flöter, E. (2005). The influence of emulsifiers on the crystallisation behaviour of a palm oil-based blend [https://doi.org/10.1002/ejlt.200501186]. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *107*(9), 616-626. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ejlt.200501186

Ghotra, B. S., Dyal, S. D., & Narine, S. S. (2002). Lipid shortenings: a review. *Food Research International*, *35*(10), 1015-1048. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0963-9969(02)00163-1

Grall, D. S., & Hartel, R. W. (1992). Kinetics of butterfat crystallization. *Journal of the American Oil Chemists Society*, *69*(8), 741-747. https://doi.org/10.1007/BF02635909

Gunstone, F. D., & Norris, F. A. (1983). *Lipids in Foods: Chemistry, Biochemistry and Technology*. Robert Maxwell M.C.

Hamam, F. (2013). Specialty Lipids in Health and Disease. *Food and Nutrition Sciences*, *04*, 63-70. https://doi.org/10.4236/fns.2013.49A1011

Huck-Iriart, C., Candal, R. J., & Herrera, M. L. (2009). Effects of Addition of a Palmitic Sucrose Ester on Low-Trans-Fat Blends Crystallization in Bulk and in Oil-in-Water Emulsions. *Food Biophysics*, *4*(3), 158-166. https://doi.org/10.1007/s11483-009-9113-z

Husum, T. L., Pederson, L. S., Nielson, P. M., Christensen, M. W., Kristensen, D., & Holm, H. C. (2004). Enzymatic interesterification: Process advantages and product benefits. *Palm Oil Development*, *39*, 7-10.

Jensen, R. G., Ferris, A. M., & Lammi-Keefe, C. J. (1991). The Composition of Milk Fat1. *Journal of Dairy Science*, *74*(9), 3228-3243. https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78509-3

Kadhum, A. A. H., & Shamma, M. N. (2017). Edible lipids modification processes: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *57*(1), 48-58. https://doi.org/10.1080/10408398.2013.848834

Kim, B. H., Lumor, S. E., & Akoh, C. C. (2008). Trans-free margarines prepared with canola oil/ palm stearin/palm kernel oil-based structured lipids. *J. Agr. Food Chem.*, *56*. https://doi.org/10.1021/jf801412v

Laia, O. M., Ghazalia, H. M., Cho, F., & Chong, C. L. (2000). Physical and textural properties of an experimental table margarine prepared from lipase-catalysed transesterified palm stearin: palm kernel olein mixture during storage. *Food Chemistry*, *71*(2), 173-179. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00084-4

Lakum, R., & Sonwai, S. (2018). Production of trans-free margarine fat by enzymatic interesterification of soy bean oil, palm stearin and coconut stearin blend [https://doi.org/10.1111/ijfs.13888]. *International Journal of Food Science & Technology*, *53*(12), 2761-2769. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/ijfs.13888

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. *J. Agr. Food Chem.*, *56*. https://doi.org/10.1021/jf072936y

Lee, Y. Y., Tang, T.-K., Phuah, E. t., Karim, N., Alwi, S., & Lai, O. M. (2013). Palm-based medium-and-long-chain triacylglycerol (P-MLCT): production via enzymatic interesterification and optimization using response surface methodology (RSM). *Journal of Food Science and Technology*, *52*. https://doi.org/10.1007/s13197-013-1065-0

List, G. R. (2016). 2 - Oilseed Composition and Modification for Health and Nutrition. In T. A. B. Sanders (Ed.), *Functional Dietary Lipids* (pp. 23-46). Woodhead Publishing. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-247-1.00002-8

Lopez, C., Bourgaux, C., Lesieur, P., Riaublanc, A., & Ollivon, M. (2006). Milk fat and primary fractions obtained by dry fractionation. 1. Chemical composition and crystallisation properties. *Chem. Phys. Lipids*, *144*, 17.

MacKenzie, A. D., & Stevenson, D. E. (2000). Production of high-oleic acid tallow fractions using lipase-catalyzed directed interesterification, using both batch and

continuous processing. *Enzyme and Microbial Technology*, *27*(3), 302-311. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0141-0229(00)00202-7

Macrae, A. R. (1983). Lipase-catalyzed interesterification of oils and fats. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *60*(2), 291-294. https://doi.org/10.1007/BF02543502

Manley, D. J. R. (1983). *Technology of Biscuits, Crackers, and Cookies* (illustrated ed.). Ellis Horwood Limited. https://books.google.co.th/books?id=aG1SPwAACAAJ

Marangoni, A. G., & Rousseau, D. (1995). Engineering triacylglycerols: The role of interesterification. *Trends Food Sci. Tech.*, *6*. https://doi.org/10.1016/S0924-2244(00)89167-0

Meng, Z., Geng, W., Wang, X., & Liu, Y. (2013). Fat crystal migration and aggregation and polymorphism evolution during the formation of granular crystals in beef tallow and palm oil. *J. Agric. Food Chem.*, *61*, 12676.

Mensink, R. P., Sanders, T. A., Baer, D. J., Hayes, K. C., Howles, P. N., & Marangoni, A. (2016). The Increasing Use of Interesterified Lipids in the Food Supply and Their Effects on Health Parameters. *Advances in Nutrition*, *7*(4), 719-729. https://doi.org/https://doi.org/10.3945/an.115.009662

Minato, A., Ueno, S., Smith, K., Amemiya, Y., & Sato, K. (1997). Thermodynamic and kinetic study on phase behavior of binary mixtures of POP and PPO forming molecular compound systems. *J. Phys. Chem. B*, *101*, 3498.

Miskandar, M. S., Che Man, Y. B., Yusoff, M. S. A., & Abdul Rahman, R. (2002a). Effect of emulsion temperature on physical properties of palm oil-based margarine. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, *79*, 1163.

Miskandar, M. S., Che Man, Y. B., Yusoff, M. S. A., & Abdul Rahman, R. (2002b). Effect of scraped-surface tube cooler temperatures on the physical properties of palm oil margarine. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, *79*, 931.

Miskandar, M. S., Man, Y. C., Yusoff, M. S. A., & Rahman, R. A. (2005). Quality of margarine: fats selection and processing parameters. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, *14*, 387.

Miura, S., & Konishi, H. (2001). Crystallization behavior of 1,3-dipalmitoyl-2-oleoyl-glycerol and 1-palmitoyl-2,3-dioleoyl-glycerol. *European Journal of Lipid*

Science and Technology, *103*(12), 804-809. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/1438-9312(200112)103:12<804::AID-EJLT804>3.0.CO;2-4

Nguyen, V., Rimaux, T., Truong, V., Dewettinck, K., & Van Bockstaele, F. (2020). Granular Crystals in Palm Oil Based Shortening/Margarine: A Review. *Crystal Growth & Design*, *20*(2), 1363-1372. https://doi.org/10.1021/acs.cgd.9b01191

Noor Lida, H. M. D., Miskandar, M. S., Rafidah, A. H., & Mohamad Roddy, R. (2015). *Pilot plant service for continuous enzymatic interesterification of oils and fats*. http://palmoilis.mpob.gov.my/publications/TOT/TS151-Noorlida.pdf

Norizzah, A. R., Nur Azimah, K., & Zaliha, O. (2018). Influence of enzymatic and chemical interesterification on crystallisation properties of refined, bleached and deodourised (RBD) palm oil and RBD palm kernel oil blends. *Food Res Int*, *106*, 982-991. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.02.001

Ornla-ied, P., Podchong, P., & Sonwai, S. (2022). Synthesis of cocoa butter alternatives from palm kernel stearin, coconut oil and fully hydrogenated palm stearin blends by chemical interesterification. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *102*(4), 1619-1627. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jsfa.11498

Ornla-ied, P., Tan, C. P., Wang, Y., & Sonwai, S. (2021). Cocoa Butter Alternatives from Enzymatic Interesterification of Palm Kernel Stearin, Coconut Oil, and Fully Hydrogenated Palm Stearin Blends [https://doi.org/10.1002/aocs.12434]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *98*(1), 53-64. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/aocs.12434

Pande, G., & Akoh, C. C. (2013). Enzymatic modification of lipids for trans-free margarine: Feature. *Lipid Technol.*, *25*. https://doi.org/10.1002/lite.201300253

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. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bcab.2012.08.005

Pires, A. S., Osório, N. M., Nascimento, A. C., van Keulen, F., da Fonseca, M. M. R., & Ferreira-Dias, S. (2008). Pattern recognition of lipase-catalyzed or chemically interesterified fat blends containing n-3 polyunsaturated fatty acids. *European*

Journal of Lipid Science and Technology, *110*(10), 893-904. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ejlt.200700270

Podchong, P., Sonwai, S., & Rousseau, D. (2018). Margarines Produced From Rice Bran Oil and Fractionated Palm Stearin and Their Characteristics During Storage. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *95*(4), 433-445. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/aocs.12052

Ribeiro, A. P. B., Basso, R. C., Grimaldi, R., Gioielli, L. A., & Goncalves, L. A. G. (2009). Instrumental methods for the evaluation of interesterified fats. *Food Anal. Method.*, *2*. https://doi.org/10.1007/s12161-009-9073-4

Rousseau, D., Hodge, S. M., Nickerson, M. T., & Paulson, A. T. (2005). Regulating the β' $\rightarrow \beta$ polymorphic transition in food fats. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, *82*, 7.

Rousseau, D., & Maragoni, A. G. (2008). Chemical interesterification of food lipids: Theory and practice. In C. C. Akoh & D. B. Min (Eds.), *Food lipids: Chemistry, Nutrition and Biotechnology* (pp. 301-333). Marcel Dekkar Inc. .

Ruan, X., Zhu, X.-M., Xiong, H., Wang, S.-q., Bai, C.-q., & Zhao, Q. (2014). Characterisation of zero-trans margarine fats produced from camellia seed oil, palm stearin and coconut oil using enzymatic interesterification strategy. *International Journal of Food Science & Technology*, *49*(1), 91-97. https://doi.org/10.1111/ijfs.12279

Saadi, S., Ariffin, A. A., Ghazali, H. M., Miskandar, M. S., Abdulkarim, S. M., & Boo, H. C. (2011). Effect of blending and emulsification on thermal behavior, solid fat content, and microstructure properties of palm oil-based margarine fats. *J. Food Sci.*, *76*, C21.

Saberi, A. H., Chin-Ping, T., & Oi-Ming, L. (2011). Phase Behavior of Palm Oil in Blends with Palm-Based Diacylglycerol [https://doi.org/10.1007/s11746-011-1860-6]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *88*(12), 1857-1865. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s11746-011-1860-6

Shin, J.-A., Akoh, C. C., & Lee, K.-T. (2010). Enzymatic interesterification of anhydrous butterfat with flaxseed oil and palm stearin to produce low-trans spreadable fat. *Food Chemistry*, *120*(1), 1-9. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.059

Shiota, M., Iwasawa, A., Kotera, M., Konno, M., Isogai, T., & Tanaka, L. (2011). Effect of

Fatty Acid Composition of Monoglycerides and Shear on the Polymorph Behavior in Water-in-Palm Oil-Based Blend. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *88*(8), 1103-1111. https://doi.org/10.1007/s11746-011-1774-3

Sivakanthan, S., & Madhujith, T. (2020). Current trends in applications of enzymatic interesterification of fats and oils: A review. *LWT*, *132*, 109880. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109880

Sonwai, S., & Luangsasipong, V. (2013). Production of Zero-trans Margarines from Blends of Virgin Coconut Oil, Palm Stearin and Palm Oil. *Food Science and Technology Research*, *19*, 425-437. https://doi.org/10.3136/fstr.19.425

Sreenivasan, B. (1978). Interesterification of fats. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *55*(11), 796-805. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/BF02682651

Swenson, B. J., Wendorff, W. L., & Lindsay, R. C. (2000). Effects of Ingredients on the Functionality of Fat-free Process Cheese Spreads. *Journal of Food Science*, *65*(5), 822-825. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb13594.x

Tanaka, L., Miura, S., & Yoshioka, T. (2007). Formation of Granular Crystals in Margarine with Excess Amount of Palm Oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *84*(5), 421-426. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s11746-007-1064-2

Teles dos Santos, M., Gerbaud, V., & Le Roux, G. A. C. (2014). Solid Fat Content of vegetable oils and simulation of interesterification reaction: Predictions from thermodynamic approach. *Journal of Food Engineering*, *126*, 198-205. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.11.012

Yamane, T. (1987). Enzyme technology for the lipids industry: An engineering overview. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *64*(12), 1657-1662. https://doi.org/10.1007/BF02542499

Zhang, H., & Bartlett, R. J. (2000). Light-induced disappearance of nitrite in the presence of iron (III). *Chemosphere*, *40*(4), 411-418. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00295-7

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. https://doi.org/10.1021/jf500267e

Zock, P. L., & Katan, M. B. (1997). Butter, margarine and serum lipoproteins. *Atherosclerosis*, *131*(1), 7-16. https://doi.org/10.1016/s0021-9150(96)06063-7

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก ก
วิธีกำจัดกรดไขมันอิสระ

อุปกรณ์

1. บีกเกอร์
2. หลอดหยดสารขนาด 3 มิลลิลิตร
3. เตาให้ความร้อน (hot plate)
4. ชุดอุปกรณ์ขาตั้งและบิวเรตขนาด 50 มิลลิลิตร
5. Magnetic bar
6. Magnetic stirrer
7. ขวดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร
8. ขวดปริมาตรขนาด 500 มิลลิลิตร

สารเคมี

1. เฮกเซน (AR grade)
2. เอทานอล 95% (v/v)
3. สารละลายฟีนอฟทาลีน 1% (w/v) เตรียมโดยละลายฟีนอฟทาลีน 1 กรัม ในเอทานอล 95% (v/v) ในขวดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร
4. สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ความเข้มข้น 0.5N เตรียมโดยเจือจางเอทานอล 95% (v/v) ให้เป็น 20% (v/v) และละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 14 กรัมในสารละลายเอทานอล 20% (v/v) ในขวดปริมาตรขนาด 500 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างไขมัน 0.85 กรัม และเติมเฮกเซน 5 มิลลิลิตร
2. เติมเอทานอล 95% (v/v) ปริมาตร 3 มิลลิลิตรลงในสารละลายตัวอย่าง
3. หยดสารละลายฟีนอฟทาลีน 2-3 หยด
4. ไตเตรตกับสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ความเข้มข้น 0.5N เมื่อถึงจุดยุติสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อน

5. ให้ความร้อนแก่สารละลายที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 3 นาที เพื่อป้องกันไขมันเกิดการตกผลึก
6. ใช้หลอดดูดสารแยกสารละลายส่วนใสด้านบนออกมาใส่ในบีกเกอร์ แล้วทำการระเหยเอาสารละลายเฮกเซนออก
7. ได้ไขมันที่ปราศจากกรดไขมันอิสระ

ที่มา: ดัดแปลงจาก Alim et al. (2008)

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก ข

วิธีการวิเคราะห์องค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ด้วยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

อุปกรณ์

1. เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (Shimadzu LC-20 AD, Shimadzu Corp, Kyoto, Japan)
2. คอลัมน์ reverse phase C-18 จำนวน 2 คอลัมน์ (Inertsil ODS-3; 4.6 × 250 mm; 5 µm particle size; by GL Sciences Inc., Japan)
3. Glass syringe ขนาด 5 มิลลิลิตร
4. Syringe filter PTFE membrane 0.45 µm
5. ขวด vial ขนาด 4 มิลลิลิตร
6. บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร

สารเคมี

1. อะซิโตน (HPLC grade)
2. อะซิโตไนไตรล์ (HPLC grade)
3. เตตระไฮโดรฟิวแรน
4. สารมาตรฐานสำหรับฉีด HPLC

วิธีการ

1. ต่อคอลัมน์ reverse phase C-18 จำนวน 2 คอลัมน์เข้ากับเครื่อง High Performance Liquid Chromatography
2. ตั้งสภาวะในการวิเคราะห์องค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์โดยปรับอุณหภูมิของคอลัมน์เป็น 35°C ใช้ตัวทำละลายวัฏภาคเคลื่อนที่ผสมระหว่าง 67% อะซิโตน และ 37% อะซิโตไนไตรล์ ที่อัตราการไหล 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที
3. ชั่งตัวอย่างไขมันปริมาณ 1 มิลลิกรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร
5. ละลายตัวอย่างไขมันด้วย 60:40% v/v ของอะซิโตนและเตตระไฮโดรฟิวแรน ปริมาณ 1 มิลลิลิตร

7. ใช้ Glass syringe ดูดสารละลายตัวอย่างใส่ขวด vial โดยกรองผ่าน Syringe filter PTFE ขนาด 0.45 µm
4. ฉีดตัวอย่างเข้าเครื่อง High Performance Liquid Chromatography ในปริมาตร 20 ไมโครลิตร
5. ระบุพีค TAG โดยเทียบ retention time กับสารมาตรฐาน โดยปริมาณของ TAG ที่เป็นองค์ประกอบในไขมันแต่ละตัวอย่างที่วิเคราะห์ได้นั้นจะแสดงผลเป็นร้อยละของพื้นที่ใต้กราฟ เมื่อคิดเทียบให้ร้อยละของพื้นที่ใต้กราฟของไตรกลีเซอไรด์องค์ประกอบทั้งหมดรวมกันเป็นร้อยละ 100

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก ค

วิธีการศึกษาค่าปริมาณไขมันแข็งในรูปผลึก (Solid fat content หรือ SFC) ด้วยเทคนิค pulsed-nuclear magnetic resonance หรือ p-NMR

อุปกรณ์

1. หลอดแก้วและฝาปิดหลอดสำหรับ NMR
2. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (cooler bath)
3. ชั้นตะแกรง (rack)

วิธีการ

1. บรรจุตัวอย่างไขมันใส่ในหลอด NMR ที่ความสูงประมาณ 4 เซนติเมตร แล้วปิดฝาหลอดให้สนิท
2. ให้ความร้อนแก่ตัวอย่างไขมันที่อุณหภูมิ 70-80°C เป็นเวลา 10 นาที เพื่อทำลายโครงสร้างผลึกส่วนที่เป็นของแข็ง
3. ลดอุณหภูมิของตัวอย่างไขมันลงอย่างรวดเร็วจนถึงอุณหภูมิ 0°C และคงไว้เป็นระยะเวลา 60 นาที
4. ทำการเพิ่มอุณหภูมิให้กับตัวอย่างจนถึงอุณหภูมิที่ต้องการวัด และคงไว้เป็นเวลา 30-35 นาที เพื่อให้ตัวอย่างไขมันเข้าสู่สภาวะสมดุล
5. วัดค่า %SFC แล้วพล็อตกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า %SFC (แกน y) และอุณหภูมิ (แกน x) เพื่อเปรียบเทียบปริมาณปริมาณไขมันแข็งในรูปผลึกที่อุณหภูมิต่างๆ

ที่มา: ดัดแปลงจาก Fiebig and Luttke (2003)

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก ง

วิธีการศึกษาอุณหภูมิในการหลอมเหลวและตกผลึกและพลังงานที่เกี่ยวข้อง (enthalpy) ด้วยเทคนิค differential scanning calorimetry (DSC)

อุปกรณ์

1. ถาดอะลูมิเนียม (aluminum pan) ขนาด 30 ไมโครลิตร
2. ชุดอุปกรณ์ DSC

วิธีการ

1. ชั่งน้ำหนักไขมันใส่ aluminum pan ปริมาณ 3-4 มิลลิกรัม
2. ปิดผนึกให้สนิท
3. ตั้งค่าโปรแกรมสำหรับการวิเคราะห์ ดังนี้
   3.1 ให้ความร้อนจากอุณหภูมิ 20°C ไปจนถึง 80°C ด้วยอัตรา 30°C /นาที
   3.2 คงไว้ที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 10 นาที
   3.3 ลดอุณหภูมิลงจาก 80°C จนกระทั่งถึง -60°C ด้วยอัตรา 10°C /นาที
   3.4 คงไว้ที่อุณหภูมิ -60°C เป็นเวลา 30 นาที
   3.5 ให้ความร้อนจากอุณหภูมิ -60°C ไปจนถึง 80°C ด้วยอัตรา 5°C /นาที
4. นำตัวอย่างใส่ในเครื่อง DSC เพื่อทำการวิเคราะห์ โดยใช้ถาดอะลูมิเนียมเปล่าเป็น reference pan
5. นำ DSC thermogram ที่ได้ มาหาอุณหภูมิในการหลอมเหลวและตกผลึกและพลังงานที่เกี่ยวข้อง (enthalpy)

ที่มา: ดัดแปลงจาก AOCS (1997)

ภาคผนวก จ

วิธีศึกษาลักษณะสัณฐานผลึกด้วยเทคนิค polarized-light microscopy หรือ PLM

อุปกรณ์

1. เครื่อง Polarized Light Microscopy (PLM)
2. กล้องถ่ายภาพดิจิตอล
3. กระจกสไลด์ (microscopic slide)
4. กระจกปิดสไลด์ (coverslip)
5. Spatula stainless

วิธีการ

1. หลอมเหลวตัวอย่างไขมันที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 10 นาที เพื่อทำลายโครงสร้างผลึกส่วนที่เป็นของแข็ง
2. ใส่ตัวอย่างไขมันลงในขวด vial
3. เก็บตัวอย่างไขมันไว้ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลาอย่างน้อย 3 เดือนและทำการวิเคราะห์ลักษณะสัณฐานผลึกทุกๆ 1 เดือน
4. นำช้อน Spatula มาตักตัวอย่างไขมันแล้วปาดตัวอย่างบางๆลงบนกระจกสไลด์
5. จากนั้นปิดด้วยกระจกปิดสไลด์
6. แล้วนำมาส่องดูลักษณะรูปร่างของผลึกด้วยเครื่อง PLM ร่วมกับกล้องถ่ายภาพดิจิตอลที่กำลังขยายของเลนส์ใกล้วัตถุเท่ากับ 40 เท่า
7. ปรับภาพให้เป็นโหมดสีเทา (gray scale) แล้ววัดขนาดของผลึกโดยใช้โปรแกรม ImageJ

ภาคผนวก ฉ

วิธีศึกษาโครงสร้างผลึกด้วยเทคนิค x-ray diffraction หรือ XRD

อุปกรณ์

1. ขวด vial ขนาด 4 มิลลิลิตร
2. ชุดอุปกรณ์ XRD
3. ตู้เย็น/ตู้บ่ม

วิธีการ

1. หลอมเหลวตัวอย่างไขมันที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 10 นาที เพื่อทำลายโครงสร้างผลึกส่วนที่เป็นของแข็ง
2. ใส่ตัวอย่างไขมันลงในขวด vial
3. เก็บตัวอย่างไขมันไว้ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลาอย่างน้อย 3 เดือนและทำการวิเคราะห์โครงสร้างผลึกทุกๆ 1 เดือน โดยเก็บข้อมูลในช่วง wide-angle x-ray scattering (2θ) เท่ากับ 15-35 องศา (step width เท่ากับ 0.01 องศา อัตราเร็วเท่ากับ 4.0 องศาต่อนาที) ซึ่งการวิเคราะห์จะถูกประมวลผลโดยซอฟต์แวร์ของ XRD
4. จากนั้นจึงคำนวณค่า d-short spacing จากสมการของแบรกก์ $2d\sin\theta = n\lambda$ ซึ่งมีค่าความยาวคลื่น (λ) ที่ใช้ในการคำนวณ เท่ากับ 1.540598 Å

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก ช
วิธีการผลิตเนยเทียมแบบเนยผสม

อุปกรณ์

1. Stand dispersion unit (IKA T25 digital ultra turrax, Germany)
2. บีกเกอร์แบบ 2 ชั้น (double-jacket)
3. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (cooler bath)

สูตรของเนยเทียมที่ผลิตในการทดลองนี้ประกอบไปด้วยเฟสไขมัน (82.5% ของน้ำมันผสมและ 0.5% ของเลซิติน) และเฟสน้ำ (16% ของน้ำและ 1% ของเกลือ)

วิธีการ

1. เตรียมเฟสไขมันโดยนำน้ำมันมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C แล้วเติมเลซิตินลงไปผสมให้เข้ากัน และคงไว้ที่อุณหภูมินี้เป็นเวลา 10 นาที
2. ลดอุณหภูมิของเฟสไขมันลงจนถึง 45°C
3. เตรียมเฟสน้ำโดยนำน้ำและเกลือมาผสมรวมกันที่อุณหภูมิห้อง
4. จากนั้นค่อยๆเติมเฟสน้ำที่เตรียมไว้ใส่ลงไปในเฟสไขมัน พร้อมทั้งกวนผสมด้วยเครื่อง Stand dispersion unit ใช้อัตราเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เพื่อให้เกิดอิมัลชันแบบหยาบ
5. เพิ่มอัตราเร็วขึ้นเป็น 12,000 รอบต่อนาที และใช้เวลาในการกวนผสม 3 นาที เพื่อทำให้เกิดอิมัลชันแบบละเอียด
6. ลดอุณหภูมิของอิมัลชันลงจนถึง 20°C ด้วยอัตรา ~8°C /นาที โดยใช้บีกเกอร์แบบ 2 ชั้นที่มีน้ำหล่อเย็นจากอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิไหลวนอยู่ด้านข้างรอบๆบีกเกอร์ตลอดเวลา พร้อมทั้งกวนผสมด้วยอัตราเร็วคงที่ 100 รอบต่อนาที
7. อิมัลชันหลังลดอุณหภูมิจะถูกใส่ลงในถ้วยชิมพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร ความสูง 4 เซนติเมตร จากนั้นจึงนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4°C เพื่อศึกษาสมบัติด้านต่างๆของเนยเทียมตามระยะเวลาต่างๆ

ที่มา: ดัดแปลงจาก Podchong et al. (2018)

ภาคผนวก ซ

วิธีการศึกษาคุณสมบัติด้านความแข็ง (hardness) และความสามารถในการปาดเกลี่ย (spreadability) ของเนยเทียม

อุปกรณ์

1. เครื่อง TA-XT2i Texture Analyzer (Stable Micro Systems, London, UK)
2. หัววัดชนิด 45° conical probe

วิธีการ

1. จัดเตรียมอุปกรณ์ให้พร้อมสำหรับการวิเคราะห์คุณสมบัติ
2. ตั้งค่าโปรแกรมสำหรับการวิเคราะห์ ดังนี้
   2.1 pre-test speed 1.0 มิลลิเมตรต่อวินาที
   2.2 test speed 1.0 มิลลิเมตรต่อวินาที
   2.3 post-test speed 10 มิลลิเมตรต่อวินาที
   2.4 penetration depth 15 มิลลิเมตร
3. นำตัวอย่างมาวางที่แท่นแล้วทำการวิเคราะห์คุณสมบัติ
4. ค่าของแรงสูงสุดที่เกิดขึ้นในระหว่างการกดตัวอย่างจะถูกรายงานเป็นค่าความแข็ง (hardness) และพื้นที่ใต้กราฟด้านบนระหว่างแรงและเวลาจะถูกรายงานเป็นค่าความสามารถในการปาดเกลี่ย (spreadability)

ที่มา: ดัดแปลงจาก

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นางสาว ศิรินภา รุ่งแสง
วัน เดือน ปี เกิด	2 มกราคม 2541
สถานที่เกิด	ราชบุรี
วุฒิการศึกษา	สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร
ที่อยู่ปัจจุบัน	32/12 หมู่ 18 ตำบล ท่าผา อำเภอ บ้านโป่ง จังหวัด ราชบุรี 70110
ผลงานตีพิมพ์	ศิรินภา รุ่งแสง และโสภาค สอนไว. 2564. ไขมันทดแทนเนยโกโก้จากน้ำมันเมล็ดปาล์มที่ผ่านการเติมไฮโดรเจนแบบสมบูรณ์ น้ำมันมะพร้าว และปาล์มสเตียรินที่ผ่านการเติมไฮโดรเจนแบบสมบูรณ์ผ่านกระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์ไลเปส TTL. การประชุมวิชาการบัณฑิตศึกษาระดับชาติ ครั้งที่ 11 เรื่อง "วิจัยและนวัตกรรมเพื่อเตรียมพร้อมรับการเปลี่ยนแปลง", 24-25 มิ.ย. 2564 มหาวิทยาลัยศิลปากร. หน้า S139-S145 ศิรินภา รุ่งแสง และโสภาค สอนไว. 2565. การผลิตไขมันเนยเทียมจากน้ำมันปาล์มและไขมันเนยด้วยกระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นแบบใช้เอนไซม์. การประชุมวิชาการบัณฑิตศึกษาระดับชาติ ครั้งที่ 12 เรื่อง "บัณฑิตวิจัย สร้างสรรค์ และนวัตกรรม : การขับเคลื่อนสังคมเข้าสู่ยุคปกติใหม่ด้วยองค์ความรู้", 23-24 มิ.ย. 2565 มหาวิทยาลัยศิลปากร. S482-S490.

มหาวิทยาลัยศิลปากร