

การผลิตไขมันทดแทนเนยโกโก้จากน้ำมันปาล์มส่วนกลางด้วยกรรมวิธีอินเทอร์เอสเทอริฟิเคชัน
โดยใช้เอนไซม์

The Production of Cocoa Butter Equivalent from Palm Oil Midfraction
using Enzymatic Interesterification

ภกวรรณ ชัยขจรวัฒน์ (Pakhawan Chaikajonwat)* จิรดา บรรจงสินศิริ (Jirada Banjongsinsiri)**

นภา พรหมสร (Napa Promsom)** ดร.โสภาค สอนไว (Dr. Sopark Sonwai)***

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการดัดแปรโครงสร้างโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันปาล์มส่วนกลาง (PMF) ร่วมกับ methyl stearate ด้วยปฏิกิริยาอินเทอร์เอสเทอริฟิเคชัน (Interesterification) โดยใช้เอนไซม์ไลเปสที่มีความจำเพาะต่อตำแหน่ง *sn*-1,3 immobilized Lipozyme (*Mucor miehei*) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เพื่อการผลิตไขมันทดแทนเนยโกโก้ Cocoa butter equivalent (CBE) ซึ่งเป็นการแลกเปลี่ยนหมู่เอซิลในโครงสร้างไตรกลีเซอไรด์และเกิดการจัดเรียงตัวใหม่ ทำให้คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของน้ำมันเปลี่ยนแปลงไป โดยได้ศึกษาปัจจัยของสภาวะที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาอินเทอร์เอสเทอริฟิเคชัน ได้แก่ อัตราส่วนของสารตั้งต้น (PMF:methyl stearate), อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา โดยกำหนดให้เอนไซม์มีปริมาณน้ำอิสระ (a_w) เริ่มต้นเป็น 0.32 และใช้เวลาทำปฏิกิริยา 20 ชั่วโมง ซึ่งพบว่าที่สภาวะอัตราส่วนของสารตั้งต้น 1:2 (w/w) และที่ 65°C ทำให้ได้ CBE ที่มีองค์ประกอบของไตรกลีเซอไรด์ รูปแบบการหลอมเหลว และค่าเปอร์เซ็นต์การเป็นของแข็งในรูปผลึก (%SFC) ใกล้เคียงกับเนยโกโก้มากที่สุด

ABSTRACT

This research studied the modification of triglyceride structure of palm oil midfraction (PMF) with methyl stearate by enzymatic interesterification using *sn*-1,3 specific immobilized lipase Lipozyme from *Mucor miehei* as a catalyst for the production cocoa butter equivalent (CBE). The effect of substrate ratio and reaction temperature was studied. The initial water activity and reaction time were fixed at 0.32 and 20 hrs respectively. The best conditions for cocoa butter equivalent production were substrate ratio (palm oil midfraction : methyl stearate, w/w of substrate) at 1:2 and reaction temperature at 65°C. This conditions gave CBE with triglyceride composition, melting profile and solid fat content (SFC) that were most similar to cocoa butter.

คำสำคัญ: น้ำมันปาล์มส่วนกลาง ปฏิกิริยาอินเทอร์เอสเทอริฟิเคชัน ไขมันทดแทนเนยโกโก้

Key Words: Palm oil mid fraction, Interesterification, Cocoa butter equivalent

* นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

** บัณฑิต หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

*** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทนำ

ปัจจุบันเนยโกโก้มีราคาแพงและมีการผันแปรของปริมาณการผลิตแบบปีต่อปี เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพดินฟ้าอากาศและความไม่มั่นคงด้านสภาวะทางการเมืองของประเทศผู้ปลูกต้นโกโก้ จึงได้มีความพยายามในการแสวงหาพืชชนิดอื่นที่สามารถให้น้ำมันที่มีองค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ คุณสมบัติทางเคมี คุณสมบัติทางกายภาพ และพฤติกรรมการตกผลึกที่เหมือนหรือใกล้เคียงกับของเนยโกโก้ มาผลิตเป็นไขมันทดแทนเนยโกโก้ (cocoa butter equivalents : CBE) การทำอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันแบบใช้เอนไซม์ในการผลิตไขมันทดแทนเนยโกโก้ นั้น เป็นการเปลี่ยนชนิดของกรดไขมัน (fatty acid chain) ที่จับอยู่กับกลีเซอรอลในตำแหน่งพันธะที่ 1 (*sn*-1) และ 3 (*sn*-3) ของโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ ด้วยการใช้เอนไซม์ไลเปสที่ทำงานจำเพาะ (ชนิด *sn*-1,3 specific lipase) มาทำการตัดกรดไขมันชนิดที่ไม่ต้องการออกไปจากตำแหน่งพันธะที่ 1 และ 3 แล้วทำการต่อกรดไขมันชนิดที่ต้องการเข้าไปแทนที่ (Xu, 2000) โดยเอนไซม์ไลเปสที่ใช้นั้นส่วนใหญ่ผลิตได้จากจุลินทรีย์ชนิด *Mucor miehei*, *Mucor javanicus*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus arrhizus* และ *Rhizopus delemar* เป็นต้น (Senanayake และ Shahidi, 2005) ส่วนกรดไขมันที่ต้องการเข้ามาแทนที่ในตำแหน่งพันธะที่ 1 และ 3 นั้น ส่วนใหญ่จะเป็น palmitic และ/หรือ stearic ซึ่งอาจได้มาจาก acyl donor ในรูปแบบที่หลากหลาย เช่น กรดไขมันอิสระ หรือกรดไขมันที่อยู่ในรูปเอสเทอร์ กระบวนการดังกล่าวมีข้อดีที่เหนือกว่ากระบวนการอื่นๆ ในหลายๆ ด้าน เช่น เป็นกระบวนการที่ใช้พลังงานต่ำ มี by-products น้อย และเป็น green process เนื่องจากก่อให้เกิดของเสียที่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมในปริมาณต่ำ (Xu, 2000) ซึ่งในน้ำมันพืชแต่ละชนิดจะมีชนิดและปริมาณกรดไขมันที่แตกต่างกัน น้ำมันปาล์มซึ่งจัดได้ว่ามีองค์ประกอบของกรดไขมันส่วนใหญ่ใกล้เคียงกับเนยโกโก้มากที่สุด มีความแตกต่างกันที่ตำแหน่งของพันธะเอสเทอร์เท่านั้น ซึ่ง

สามารถเปลี่ยนสลับตำแหน่งด้วยการเติมกรดสเตียริกเข้าไปหรือที่มีอยู่เดิมด้วยปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชัน จะทำให้ไขมันทดแทนเนยโกโก้จากน้ำมันปาล์ม (ปราชญ์, 2547) ซึ่งส่งผลให้ราคาช็อกโกแลตลดลง

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมไขมันทดแทนเนยโกโก้จากน้ำมันปาล์มส่วนกลาง

วิธีการวิจัย

วัตถุดิบ

1. น้ำมันปาล์มส่วนกลาง (Palm midfraction : PMF) (IV=36) จากบริษัท มรกตอินดัสตรีส์ จำกัด (มหาชน)
2. เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปทางการค้า Lipozyme (R) immobilized from *Mucor miehei* ชนิดที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อตำแหน่ง *sn*-1,3 ของ triglyceride จากบริษัท sigma Aldrich
3. เนยโกโก้ (Cocoa butter) จากบริษัทบริษัท ซีโน-แปซิฟิเคเทรดดิ้ง (ไทยแลนด์) จำกัด
4. Methyl stearate เกรด analysis
5. $MgCl_2$
6. เคมีภัณฑ์สำหรับวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

อุปกรณ์

1 อุปกรณ์สำหรับเตรียมไขมันทดแทนเนยโกโก้

- 1.1 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)
- 1.2 หม้อกวนสาร (Temperature control reactor)
- 1.3 เทอร์โมมิเตอร์
- 1.4 เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 1.5 ขวดสีชา
- 1.6 กระดาษกรอง

2 ชุดเครื่องมือสำหรับวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ

- 2.1 High-performance liquid chromatography (HPLC) ยี่ห้อ Shimadzu
- 2.2 Differential Scanning calorimeter (DSC) ยี่ห้อ Perkin Elmer รุ่น DSC 8000 24

2.3 pulse-Nuclear Magnetic Resonance

Spectroscopy (p-NMR) ยี่ห้อ Bruker

วิธีการทดลอง

1. การศึกษาเพื่อหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการดัดแปร

น้ำมันปาล์มส่วนกลาง

1.1 นำ PMF ปริมาณ 10 กรัม ผสมกับ methyl stearate ปริมาณ 5 กรัม

1.2 นำตัวอย่างมาใส่ในเครื่อง temperature control reactor ควบคุมอุณหภูมิตัวอย่างที่ 60 °C และปรับความเร็วรอบในการกวนเป็น 200 rpm (รอบ/นาที)

1.3 เติมเอนไซม์ไลเปสปริมาณ 0.5 กรัม ลงในเครื่อง temperature control reactor หลังจากให้ความร้อนและกวนแล้ว 5 นาที

1.4 ใช้เวลาในการทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 20 ชั่วโมง

1.5 ทำการเก็บตัวอย่างน้ำมันดัดแปร โดยดูดตัวอย่างมาปริมาณ 0.05 กรัม ผสมกับอะซิโตน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดสีชาแล้วเขย่าให้เข้ากันเพื่อนำไปศึกษาองค์ประกอบของไตรกลีเซอไรด์ ส่วนตัวอย่างน้ำมันดัดแปรที่เหลือนำมากรองเอาเอนไซม์ออกเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -18°C

1.6 ทำการทดลองใหม่ตามวิธีการทดลองเดียวกันโดยเปลี่ยนอุณหภูมิเป็น 65 และ 70 °C ตามลำดับ

1.7 เก็บตัวอย่างน้ำมันดัดแปรที่ได้ไปวิเคราะห์องค์ประกอบของไตรกลีเซอไรด์, รูปแบบการหลอมเหลว, จุดหลอมเหลว และค่าเปอร์เซ็นต์การเป็นของแข็งในรูปผลึก (Solid fat content, SFC) เปรียบเทียบกับ PMF ที่ไม่ผ่านการดัดแปรและเนยโกโก้

1.8 คัดเลือกค่าอุณหภูมิจากการทดลองที่ให้น้ำมันดัดแปรที่มีองค์ประกอบของไตรกลีเซอไรด์, รูปแบบการหลอมเหลว, จุดหลอมเหลว และค่าเปอร์เซ็นต์การเป็นของแข็งในรูปผลึก ใกล้เคียงกับเนยโกโก้มากที่สุด

2. การศึกษาเพื่อหา Substrate ratio ที่เหมาะสมในการดัดแปรน้ำมันปาล์มส่วนกลาง

2.1 ศึกษาจากอุณหภูมิที่เหมาะสมจากการศึกษาทดลองข้างต้น (65 °C) มาใช้ในการดัดแปร PMF เพื่อศึกษาหา Substrate ratio ที่เหมาะสม

2.2 ชั่งอัตราส่วน PMF : Methyl stearate จำนวน 3 ชุดการทดลอง ดังนี้

1 : 1 = 10 กรัม : 10 กรัม

2 : 3 = 10 กรัม : 15 กรัม

1 : 2 = 10 กรัม : 20 กรัม

โดยทำการทดลองตามขั้นตอนเดียวกันกับที่ได้กล่าวไว้ในหัวข้อก่อนหน้านี้

2.3 คัดเลือกการทดลองที่ให้น้ำมันดัดแปรที่มีองค์ประกอบของไตรกลีเซอไรด์, รูปแบบการหลอมเหลว, จุดหลอมเหลว และค่าเปอร์เซ็นต์การเป็นของแข็งในรูปผลึกใกล้เคียงกับเนยโกโก้มากที่สุด

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

1. การศึกษาเพื่อหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการดัดแปร

น้ำมันปาล์มส่วนกลาง

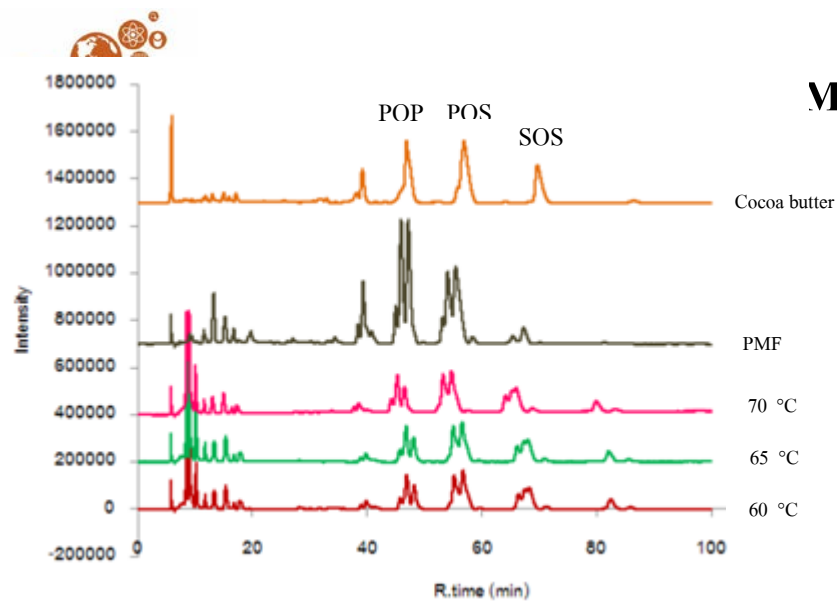
การดัดแปรโครงสร้าง PMF โดยศึกษาผลของอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา ซึ่งใช้เวลาในการทำปฏิกิริยา 20 ชั่วโมง อัตราส่วน PMF: methyl stearate เป็น 2:1 จากการทดลองจะเห็นได้ว่า เมื่อนำน้ำมันดัดแปรไปวิเคราะห์องค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์เปรียบเทียบกับเนยโกโก้ และ PMF ดังภาพที่ 1 จะพบว่า น้ำมันดัดแปรที่ใช้อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาที่ 60, 65 และ 70 °C มีปริมาณองค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ POP และ SOS แตกต่างกัน โดยมีปริมาณ POP ลดลง และปริมาณ SOS เพิ่มขึ้น จากรายงานของ Chong และคณะ (1992) ได้ใช้เอนไซม์ ไลเปสตรึงรูปจากเชื้อ *Mucor miehei* เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาอินเทอร์เอสเทอร์ริฟิเคชันที่มีความจำเพาะที่ตำแหน่ง sn-1,3 ของน้ำมันปาล์มโอเลอิน ซึ่งกล่าวไว้ว่า Optimum Temperature ของเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปจากเชื้อ *Mucor miehei* อยู่ที่ช่วง 60 -70 °C ซึ่งที่ 65 °C เป็นช่วงกลางของอุณหภูมิ Optimum Temperature ของเอนไซม์เหมาะสม ที่จะใช้เป็น

อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา และเห็นว่ามีฟิคเพิ่มขึ้นมาในช่วง retention time 0-20 มากขึ้น เป็นผลเนื่องจาก monodiglycerides และ diglycerides ที่ถูกเอนไซม์ตัดออกมาในขณะที่เกิดปฏิกิริยาและไม่ได้ไปจับกันเป็นไตรกลีเซอไรด์นั่นเอง (Abigor และคณะ, 2003)

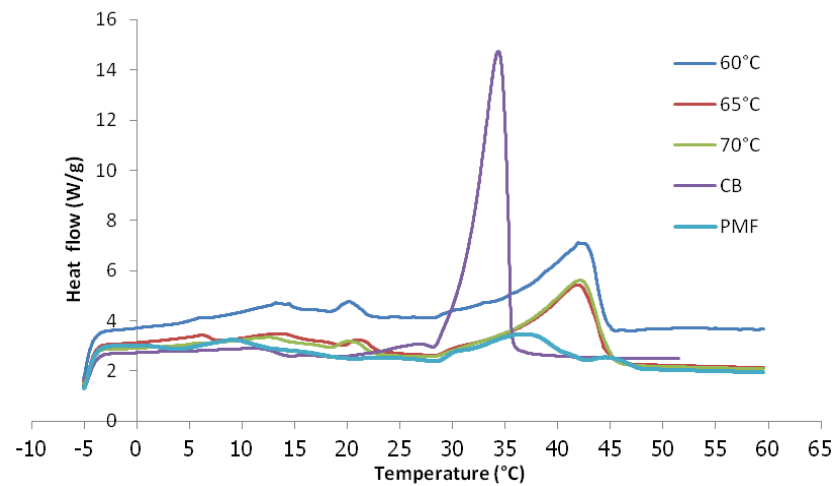
จากการวิเคราะห์รูปแบบการหลอมเหลวของน้ำมันดัดแปรที่ใช้อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา 60, 65 และ 70 °C เนยโกโก้ และ PMF ด้วยเทคนิค DSC ดังภาพที่ 2 พบว่าเนยโกโก้มีช่วงการหลอมเหลวอยู่ที่ 27 – 35 °C ซึ่งมีช่วงการหลอมเหลวที่แคบทำให้มีคุณสมบัติที่สำคัญได้แก่ เป็นของแข็งที่อุณหภูมิห้อง และสามารถหลอมเหลวได้อย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิร่างกาย (ณัฐยารธรรม, 2547; Kaphueakngam และคณะ, 2009) ส่วนน้ำมันดัดแปรที่ใช้อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา 60, 65 และ 70 °C มีรูปแบบการหลอมเหลวที่ไม่แตกต่างกัน แต่มีความแตกต่างจากน้ำมัน PMF และมีช่วงการหลอมเหลวที่กว้างกว่าเนยโกโก้ โดยน้ำมันดัดแปรที่ใช้อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา 60, 65 และ 70 °C มีช่วงการหลอมเหลวอยู่ที่ 27 – 45 °C แสดงว่า น้ำมันดัดแปรนี้จะมีค่าความแข็งมากกว่าเนยโกโก้ที่อุณหภูมิสูงแต่อาจไม่สามารถหลอมเหลวได้หมดที่อุณหภูมิร่างกาย ส่วนน้ำมัน PMF มีช่วงการหลอมเหลวอยู่ที่ 27 – 44 °C โดยกราฟมีช่วงอุณหภูมิเป็น 2 ช่วง จะเป็นไหล่ทางขวา

จากการวิเคราะห์หาค่าเปอร์เซ็นต์การเป็นของแข็งในรูปผลึก (%SFC) ณ อุณหภูมิต่างๆ ดังนี้ 15, 17.5, 20, 22.5, 25, 27.5, 30, 32.5, 35, 37.5 และ 40 °C ของ

น้ำมันดัดแปร, เนยโกโก้ และ PMF ดังภาพที่ 3 พบว่าค่าเปอร์เซ็นต์การเป็นของแข็งในรูปผลึกของเนยโกโก้ที่อุณหภูมิ 15 °C มีค่า 83.25% และจะมีค่าลดลงจนเป็น 0 หรือละลายเป็นของเหลวจนหมดที่อุณหภูมิ 30-40 °C จากรายงานของ Bernard และคณะ (1989) กล่าวว่าอุณหภูมิต่ำกว่า 25-30°C เนยโกโก้สามารถทนความร้อนได้ อุณหภูมิ 27-33°C จะเกิดการละลายของเนยโกโก้และมีการปลดปล่อยกลีเซอรอลออกมา และอุณหภูมิสูงกว่า 35°C จะเกิดการหลอมละลายเป็นของเหลวโดยสมบูรณ์ ส่วนน้ำมันดัดแปรที่อุณหภูมิ 60, 65 และ 70 °C นั้น มีค่าเปอร์เซ็นต์การเป็นของแข็งในรูปผลึกที่อุณหภูมิ 15 °C ใกล้เคียงกันที่ประมาณ 46-47% ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับ PMF ด้วย โดยน้ำมัน PMF จะละลายเป็นของเหลวจนหมดที่อุณหภูมิ 35-40 °C แต่ น้ำมันดัดแปรที่อุณหภูมิ 60, 65 และ 70 °C มีค่าลดลงจนเหลือ 4.85%, 1.96% และ 3.22% ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 40 °C โดยที่อุณหภูมิของการดัดแปร 65 °C จะมีค่าเปอร์เซ็นต์การเป็นของแข็งในรูปผลึกเหลือน้อยที่สุด โดยการทำน้ำมันดัดแปรที่ได้มีค่า SFC หลงเหลืออยู่ที่อุณหภูมิเข้าใกล้ 40 °C นั้นแสดงให้เห็นว่าน้ำมันดัดแปรดังกล่าวอาจมีคุณสมบัติด้านทานอุณหภูมิสูงได้ดีกว่าเนยโกโก้ ทั้งนี้ค่า SFC ที่หลงเหลืออยู่ไม่ควรสูงเกินไปเพราะอาจทำให้เกิดความรู้สึกเป็นไข เมื่อรับประทาน จากผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทั้งหมดข้างต้น อุณหภูมิที่ 65 °C จึงเป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการทำปฏิกิริยา

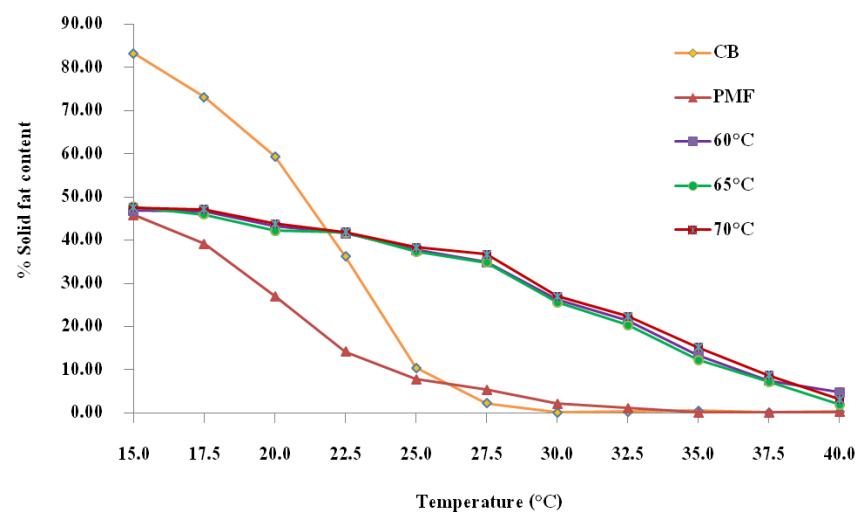


ภาพที่ 1 Chromatogram จากการวิเคราะห์โครงสร้างองค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันดัดแปรที่อุณหภูมิ 60, 65 และ 70 °C, เนยโกโก้ และ PMF จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC



ภาพที่ 2 Thermogram จากการวิเคราะห์รูปแบบการหลอมเหลวของน้ำมันดัดแปรที่อุณหภูมิ

60, 65 และ 70 °C, เนยโกโก้ และ PMF การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง DSC



ภาพที่ 3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า % Solid fat content และอุณหภูมิ (°C) ของน้ำมันดัดแปรที่อุณหภูมิ 60, 65 และ 70 °C เปรียบเทียบกับ CB และ PMF จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง p-NMR

2. การศึกษาเพื่อหา Substrate ratio ที่เหมาะสมในการ ดัดแปรน้ำมันปาล์มส่วนกลาง

เมื่อนำน้ำมันดัดแปรที่ใช้อัตราส่วนของสารตั้งต้น 1:1, 2:3 และ 1:2 (PMF : methyl stearate) โดยน้ำหนักของสารตั้งต้น มาวิเคราะห์องค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์เปรียบเทียบกับเนยโกโก้ และ PMF ได้ผลดังภาพที่ 4 พบว่า จะมีปริมาณไตรกลีเซอไรด์ POP มีปริมาณลดลงอย่างมาก และ SOS มีปริมาณเพิ่มขึ้น โดยน้ำมันดัดแปรที่ใช้อัตราส่วนของสารตั้งต้น 1:2 (PMF : methyl stearate) มีปริมาณ SOS เพิ่มขึ้นมากที่สุด เนื่องจากการทำงานของเอนไซม์ไลเปสที่ตัดพันธะเอสเทอร์ที่ตำแหน่ง 1 และ 3 ของไตรกลีเซอไรด์ และเมื่อมีการเพิ่มปริมาณของ methyl stearate ทำให้มีปริมาณกรดสเตียริกมาช่วยเติมที่ตำแหน่ง 1 และ 3 ที่ถูกตัดออกไปได้มากขึ้น ส่งผลให้ได้ปริมาณ SOS มากขึ้น และจะมีฟิสิกเพิ่มขึ้นมาที่เวลาประมาณนาที่ที่ 68 และสำหรับฟิสิกที่เพิ่มขึ้นมาในช่วงเวลา 0-20 นาที่ มากกว่าเดิมนั้น เป็นผลมาจาก monodiglycerides และ diglycerides ที่ถูกเอนไซม์ตัดออกมาในขณะที่เกิดปฏิกิริยาและไม่ได้ไปจับกันเป็นไตรกลีเซอไรด์ (Abigor และคณะ, 2003)

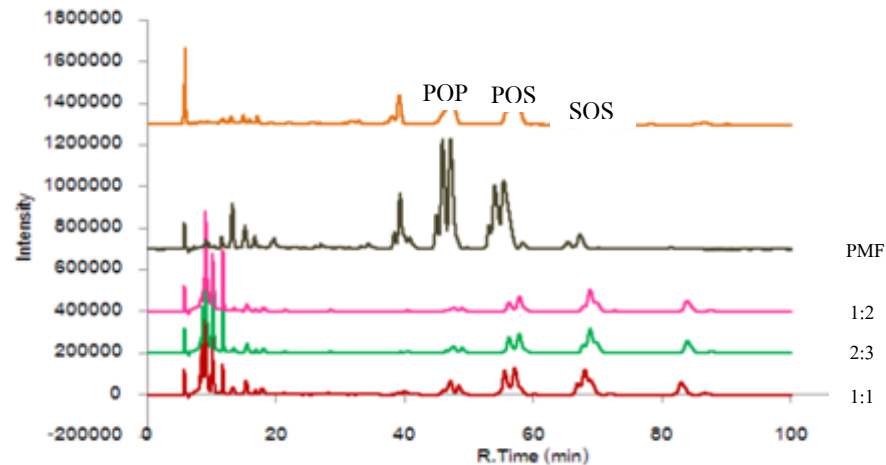
จากการวิเคราะห์รูปแบบการหลอมเหลว ดังภาพที่ 5 พบว่า เนยโกโก้มีช่วงการหลอมเหลวอยู่ที่ 27–35°C ซึ่งมีช่วงการหลอมเหลวที่แคบ PMF มีช่วงการหลอมเหลวอยู่ที่ 27 – 44 °C โดยกราฟมีช่วงอุณหภูมิ 2 ช่วง จะเป็นไหลทางขวา ส่วนน้ำมันดัดแปร มีช่วงการหลอมเหลวที่กว้างกว่าเนยโกโก้และมีช่วงการหลอมเหลวหลายช่วง โดยน้ำมันดัดแปรที่ใช้อัตราส่วนของสารตั้งต้น 1:1, 2:3 และ 1:2 (PMF : methyl stearate) โดยน้ำหนักของสารตั้งต้น มีช่วงการหลอมเหลวช่วงที่ 1 อยู่ที่ 9–23, 7– 28 และ 15-29 °C ตามลำดับ และช่วงการหลอมเหลวช่วงที่ 2 อยู่ที่ 27 – 53, 27-55 และ 27-56 °C ตามลำดับ แสดงว่าน้ำมันดัดแปรที่มีไตรกลีเซอไรด์ชนิดอื่นๆเพิ่มขึ้นมาขณะทำปฏิกิริยา โดยช่วงการหลอมเหลวช่วงที่ 1 คาดว่าน่าจะเป็นไตรกลีเซอไรด์ชนิด Polyunsaturated triglyceride

ซึ่งเป็นไตรกลีเซอไรด์ที่ประกอบไปด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัว จึงมีจุดหลอมเหลวที่ต่ำ เช่น OOO เป็นต้น และช่วงการหลอมเหลวที่ 2 คาดว่าน่าจะเป็นไตรกลีเซอไรด์ชนิด Trisaturated triglyceride เช่น PPP PPS PSS และอื่นๆ ซึ่งเป็นไตรกลีเซอไรด์ที่ประกอบไปด้วยกรดไขมันอิ่มตัว จึงทำให้มีความแข็งมากกว่าเนยโกโก้ที่อุณหภูมิสูง และนุ่มกว่าเนยโกโก้ที่อุณหภูมิต่ำ แต่ไม่สามารถหลอมเหลวได้หมดที่อุณหภูมิร่างกาย

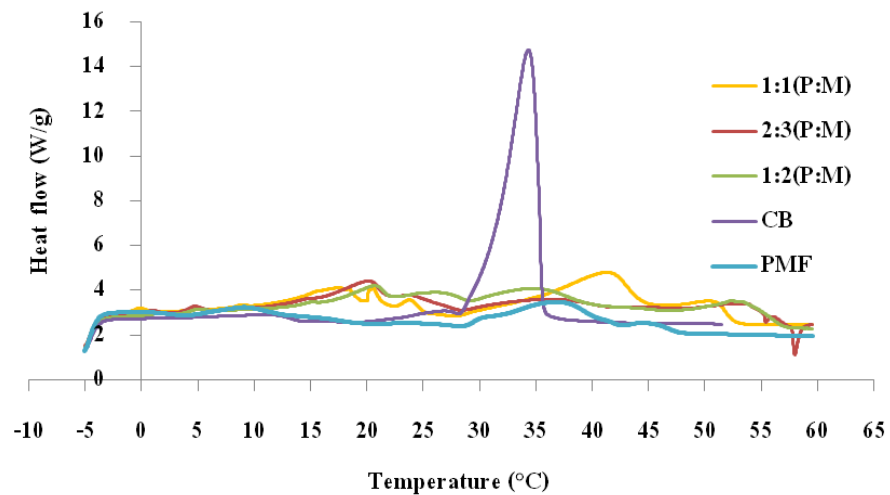
จากการวิเคราะห์หาค่าเปอร์เซ็นต์การเป็นของแข็งในรูปผลึก (%SFC) ณ อุณหภูมิต่างๆ ของน้ำมันดัดแปรที่ใช้อัตราส่วนของสารตั้งต้น 1:1, 2:3 และ 1:2 (PMF : methyl stearate) ดังภาพที่ 6 พบว่า ปริมาณไขมันแข็งของเนยโกโก้ที่อุณหภูมิ 15 °C มีค่า 83.25% และจะมีค่าลดลงจนเป็น 0 หรือละลายเป็นของเหลวจนหมดที่อุณหภูมิ 30-40 °C ในขณะที่น้ำมันดัดแปรที่ใช้อัตราส่วนของสารตั้งต้น 1:1, 2:3 และ 1:2 (PMF : methyl stearate) โดยน้ำหนักของสารตั้งต้นนั้น มีค่าเปอร์เซ็นต์การเป็นของแข็งในรูปผลึกที่อุณหภูมิ 15 °C สูงขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาณ Methyl stearate ดังนี้ 55.51%, 66.48% และ 74.99% ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างจาก PMF โดยที่อัตราส่วนของสารตั้งต้น 1:2 (PMF : methyl stearate) มีค่าเปอร์เซ็นต์การเป็นของแข็งในรูปผลึกที่อุณหภูมิเริ่มต้น 15 °C ใกล้เคียงกับเนยโกโก้มากที่สุด น้ำมันดัดแปรทั้ง 3 อัตราส่วนข้างต้นจะมีปริมาณไขมันแข็งลดลงจนเหลือ 11.49%, 15.35% และ 12.74% ตามลำดับที่อุณหภูมิ 40 °C ผลการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นว่าน้ำมันดัดแปรจะมีความแข็งมากกว่าเนยโกโก้ที่อุณหภูมิสูง ซึ่งอาจทำให้น้ำมันดัดแปรจะเกิดความรู้สึกเป็นไขภายในปากเมื่อรับประทาน และเมื่อพิจารณาจากผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทั้งหมดข้างต้น น้ำมันดัดแปรที่อัตราส่วนของสารตั้งต้น 1:2 (PMF : methyl stearate) เป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดในการทำปฏิกิริยา โดยควรมีการทำการแยกไตรกลีเซอไรด์ไตรกลีเซอไรด์ และโมโนกลีเซอไรด์ออกจากน้ำมันที่ดัดแปรแล้วเพื่อให้น้ำมันมีคุณสมบัติใกล้เคียงเนยโกโก้มากขึ้น เช่นการทำ Column chromatography เป็นต้น

ซึ่งมีผู้ทำการศึกษาในทำนองเดียวกัน เช่น งานวิจัยของ Chong และคณะ(1992)ได้ทำ fractionation น้ำมันตัวอย่างที่ได้หลังการตัดแปรรูป, Abigor และคณะ (2003); Ciftci และคณะ (2009) ได้ทำ Silica Column chromatography เพื่อกำจัดไตรกลีเซอไรด์, ไดกลีเซอไรด์ และโมโนกลีเซอไรด์ที่

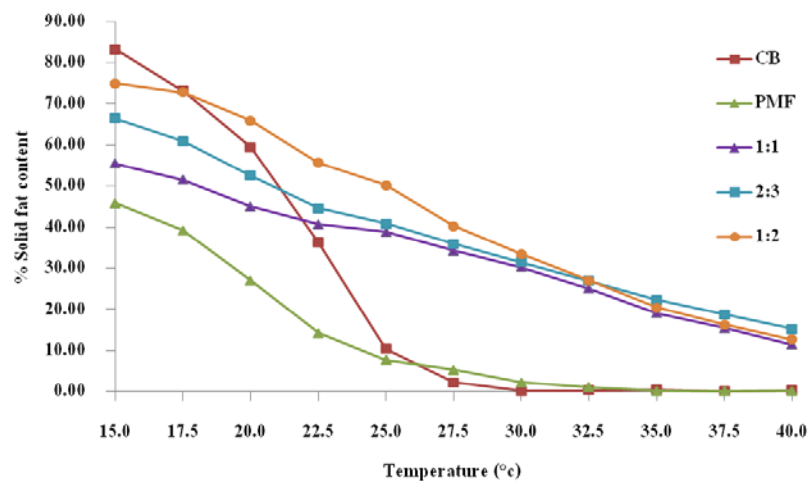
ไม่ต้องการออกไป และ Pinyaphong และ Phutrakul (2009); Tchobo และคณะ (2009) ได้ใช้การทำ Thin layer chromatography เพื่อวิเคราะห์โมโนกลีเซอไรด์ ไดกลีเซอไรด์หลังการตัดแปรรูปน้ำมันตัวอย่าง



ภาพที่ 4 Chromatogram ของน้ำมันตัดแปรรูปที่ใช้อัตราส่วนของสารตั้งต้น 1:1, 2:3 และ 1:2 (PMF : methyl stearate) โดยน้ำหนักของสารตั้งต้น, เนยโกโก้ และ PMF จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC



ภาพที่ 5 Thermogram จากการวิเคราะห์รูปแบบการหลอมเหลวของน้ำมันตัดแปรรูปใช้อัตราส่วนของสารตั้งต้น 1:1, 2:3 และ 1:2 (PMF : methyl stearate) โดยน้ำหนักของสารตั้งต้น, เนยโกโก้ และ PMF จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง DSC



ภาพที่ 6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า % Solid fat content และอุณหภูมิ (°C) ของ CBE ที่ substrate ratio 1:1, 2:3, 1:2 เปรียบเทียบกับ CB และ PMF จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง p-NMR

สรุปผลการวิจัย

จากการดัดแปรโครงสร้างโครกลีเซอไรด์ของ PMF ผสมกับ methyl stearate ด้วยกระบวนการอินเตอร์เอสเทอร์ริฟิเคชัน มีเอนไซม์ไลเปสตรึงรูป *Mucor meihei* (a_w เท่ากับ 0.32) ทำให้ได้สภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมไขมันทดแทนเนยโกโก้ ได้แก่ อุณหภูมิ 65 °C, ปริมาณอัตราส่วนสารตั้งต้น PMF: methyl stearate คือ 1:2 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ ค่าเปอร์เซ็นต์การเป็นของแข็งในรูปผลึก พบว่า น้ำมันดัดแปรที่ได้จากสภาวะดังกล่าว มีค่าเปอร์เซ็นต์การเป็นของแข็งในรูปผลึกที่อุณหภูมิต่างๆใกล้เคียงกับ CB มากที่สุดจากทุกสภาวะที่ได้ทำการศึกษาและวิเคราะห์เหมาะสมที่สุดสำหรับการนำไปพัฒนาเพื่อผลิตเป็น CBE แต่ยังไม่ใกล้เคียงกับ CB เท่าที่ควร เนื่องจากในช่วงอุณหภูมิ 32-40 °C CBE จะมีค่าเปอร์เซ็นต์การเป็นของแข็งในรูปผลึกมากกว่า CB แสดงว่า CBE ที่ได้จะละลายได้ไม่หมดที่อุณหภูมิร่างกายและจะเป็น Waxy taste อย่างไรก็ตามการดัดแปรโครงสร้างของน้ำมันปาล์มส่วนกลางทำให้น้ำมันที่ได้มีคุณสมบัติใกล้เคียงเนยโกโก้มากขึ้น

ข้อเสนอแนะ

การทดลองนั้นต้องมีการศึกษาปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อกระบวนการอินเตอร์เอสเทอร์ริฟิเคชันอีกหลายปัจจัยร่วมด้วย เช่น ชนิดของ แหล่ง acyl donor, ปริมาณเอนไซม์ที่ใช้, ระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยา, ค่า a_w เริ่มต้นของเอนไซม์ เป็นต้น รวมทั้งวิธีการศึกษาคูสมบัติด้านต่างๆของน้ำมันที่ผ่านการดัดแปร อาจศึกษาปัจจัยต่างๆร่วมด้วย คือ

- องค์ประกอบของกรดไขมันด้วยเทคนิค Gas Chromatography แบบ GC-FID
- โครงสร้างผลึก (crystallographic structure) ด้วยเทคนิค X-Ray Diffraction
- □ รูปร่างผลึก (crystal morphology) ด้วยเทคนิค Polarized- Light Microscopy

เอกสารอ้างอิง

ณัฐยารณ พิชัยยุทธ. 2547. การใช้เนยโกโก้เทียมทดแทนเนยโกโก้สำหรับผลิตผลิตภัณฑ์เลียนแบบช็อคโกแลต. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

- ปราณี อ่านเปรื่อง. 2547. เอนไซม์ทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 4. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. 196-341.
- Abigor, R.D., Marmer, W.N., Foglia, T.A., Jones, K.C., DiCiccio, R.J., Ashby, D. & Uadia, P.O. 2003. Production of Cocoa Butter - like Fats by the Lipase- Catalyzed Interesterification of Palm Oil and Hydrogenated Soybean Oil. Journal of the American Oil Chemists' Society. 80(12):1193- 1196.
- Bernard, W.M. 1989. Chocolate, cocoa, and Confectionery. 3rd edition, v Science and Technology. New York.
- Chong, C.N., Hon, Y.M. & Wang, C.M. 1992. Fractionation procedures for obtaining cocoa butter-like fat bloom enzymatically interesterification palm olein. Journal of the American Oil Chemists' Society. 96: 137-140.
- Ciftci, O.N., lu, S.F. & Gogus, F. 2009. Conversion of olive pomace oil to cocoa butter-like fat in a packed-bed enzyme reactor. 100: 324–329.
- Kaphueakngam, P., Flood, A. & Sonwai, S. 2009. Production of cocoa butter equivalent from mango seed almond fat and palm oil mid-fraction. Asian Journal of Food and Agro-Industry. 2(04): 441-447.
- Pinyaphong, P. & Phutrakul, S. 2009. Modification of Palm Oil Structure to Cocoa Butter Equivalent by *Carica papaya* Lipase-Catalyzed Interesterification. World Academy of Science, Engineering and Technology. 54: 536-540
- Senanayake, S.P.J.N., and Shahidi, F., 2005. Modification of fats and oils via chemical and enzymatic methods. In Baily's Industrial Oil and Fat Products. 6th edition, edited by F. Shahidi, Wilie-Interscience, New York, pp. 555-584.
- Tchobo, F.P., Piombo, G., Pina, M., Soumanou, M.M., Villeneuve, P. & Sohounhloue, D.C.K. 2009. Enzymatic synthesis of Cocoa butter equivalent Through transesterification of Pentadasma butyracea butter. Journal of food Lipids. 16: 605-617.
- Xu, X. 2000. Production of specific- structured triglycerols by lipase- catalyzed reaction :a review. European Journal of Lipid Science and Technology. 102: 287-303.