



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ “การผลิตไขมันทดแทนเนยโกโก้จากน้ำมันเมล็ดมะม่วง น้ำมันคาโนล่าที่มีกรดโอเลอิกสูง
และน้ำมันปาล์มส่วนกลาง ด้วยกระบวนการตกผลึกลำดับส่วน
กระบวนการอินเตอร์เอสเทอริฟิเคชันแบบใช้เอนไซม์ และการผสมน้ำมัน”

โดย

โสภาค สอนไว
มหาวิทยาลัยศิลปากร

มีนาคม 2562



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ “การผลิตไขมันทดแทนเนยโกโก้จากน้ำมันเมล็ดมะม่วง น้ำมันคาโนล่าที่มีกรดโอเลอิกสูง
และน้ำมันปาล์มส่วนกลาง ด้วยกระบวนการตกผลึกลำดับส่วน
กระบวนการอินเตอร์เอสเทอริฟิเคชันแบบใช้เอนไซม์ และการผสมน้ำมัน”

โดย

โสภาค สอนไว

มหาวิทยาลัยศิลปากร

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

และมหาวิทยาลัยศิลปากร

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ RSA5780019

ชื่อโครงการ การผลิตไขมันทดแทนเนยโกโก้จากน้ำมันเมล็ดมะม่วง น้ำมันคาโนล่าที่มีกรดโอเลอิกสูง และน้ำมันปาล์มส่วนกลาง ด้วยกระบวนการตกผลึกลำดับส่วน กระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันแบบใช้เอนไซม์ และการผสมน้ำมัน

ชื่อนักวิจัย โสภาค สอนไ

Email ssonwai@gmail.com

ระยะเวลาโครงการ สิงหาคม 2557-มีนาคม 2562

การตกผลึกลำดับส่วนหรือการตกผลึกแยกส่วนที่อุณหภูมิและเวลาแตกต่างกันของน้ำมันเมล็ดมะม่วงทำให้ได้ผลึกของน้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนแข็งและส่วนเหลวที่มีความแตกต่างกันทั้งในด้านองค์ประกอบกรดไขมัน องค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ รวมไปถึงคุณสมบัติด้านการตกผลึก จากการศึกษาพบว่าส่วนแข็งของน้ำมันเมล็ดมะม่วงที่ได้จากการตกผลึกที่ 21°C เป็นเวลา 1 วันมีกรดสเตียริกเป็นองค์ประกอบในปริมาณที่สูง จึงเลือกไปใช้ในการทำปฏิกิริยาเอนอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันด้วยเอนไซม์กับน้ำมันคาโนล่าที่ 65°C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เพื่อผลิตน้ำมันที่มี SOS ในปริมาณสูง แต่เมื่อนำไปทำปฏิกิริยาเอนอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันให้ได้น้ำมันที่มีคุณสมบัติเปลี่ยนไปและมีปริมาณของไตรกลีเซอไรด์ชนิด SOS ลดลงรวมถึงมีลักษณะอ่อนลง นอกจากนี้การที่จะผลิตน้ำมันส่วนแข็งดังกล่าวให้ได้ในปริมาณที่มากพอจากน้ำมันเมล็ดมะม่วงตั้งต้นที่ได้จากการสกัดในห้องปฏิบัติการ การนั้นเป็นไปได้ยากเพราะเครื่องสกัดที่ใช้มีขนาดเล็ก และการทดลองพบว่าแม้ใช้น้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนแข็งเป็นน้ำมันตั้งต้นในการทำปฏิกิริยาเอนอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันด้วยเอนไซม์ก็ยังทำให้ได้ไขมันที่มีค่า SFC ต่ำกว่าของเนยโกโก้ ดังนั้นเพื่อเป็นการเพิ่มความแข็งแรงให้กับน้ำมันผสมก่อนและหลังการทำปฏิกิริยาเอนอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันด้วยเอนไซม์รวมถึงเพิ่มการใช้ประโยชน์จากน้ำมันเมล็ดมะม่วงให้ได้มากที่สุด จึงได้เปลี่ยนน้ำมันตั้งต้นในการทำปฏิกิริยาเอนอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันด้วยเอนไซม์ไปเป็นน้ำมันเมล็ดมะม่วงผสมกับน้ำมันคาโนล่าและน้ำมันปาล์มสเตียรินหรือน้ำมันปาล์มสเตียรินที่ผ่านการทำไฮโดรจิเนชันโดยสมบูรณ์ ซึ่งก็พบว่ายังให้ค่า SFC ที่ต่างจากเนยโกโก้ และมีปริมาณของไตรกลีเซอไรด์ชนิด SOS ลดลงและมีลักษณะอ่อนลง จึงได้มีการเปลี่ยน acyl donor จากน้ำมันปาล์มสเตียรินและน้ำมันปาล์มสเตียรินที่ผ่านการทำไฮโดรจิเนชันโดยสมบูรณ์ไปเป็นกรดสเตียริกสำหรับการทำปฏิกิริยา ซึ่งพบว่าแม้ว่าจะทำให้ปริมาณของไตรกลีเซอไรด์อิ่มตัวชนิด SOS เพิ่มขึ้นแต่ก็เกิดการเพิ่มขึ้นของไตรกลีเซอไรด์ไม่อิ่มตัว OOS และ OOP ทำให้ยังมีปัญหาเรื่องค่า SFC คือมีค่าต่ำเกินไปที่อุณหภูมิต่ำกว่า 25°C และมีค่าสูงเกินไปที่อุณหภูมิสูงกว่า 25°C ทำให้ต้องทำการทดลองใหม่ในอนาคตโดยอาจเปลี่ยน acyl donor หรือเปลี่ยนชนิดเอนไซม์ในการทำปฏิกิริยา

คำหลัก การตกผลึกลำดับส่วน ไขมันทดแทนเนยโกโก้ น้ำมันเมล็ดมะม่วง น้ำมันคาโนล่า

Abstract

Project Code RSA5780019

Project Title Production of cocoa butter equivalent from mango kernel fat, high oleic canola oil and palm mid fraction using fractionation, enzymatic interesterification and blending

Investigator Sopark Sonwai

Email ssonwai@gmail.com

Project Period August 2014-March 2019

This research studied the production of cocoa butter equivalent (CBE) via enzymatic interesterification (EIE) of mango kernel fat (MKF) blended with high oleic canola oil (CO). The work began with studying the effect of temperature and time on the fractionation of MKF in order to obtain a fraction that was rich in stearic acid. It was found that the fractionation of MKF at 21 °C for 1 day gave high yield for a solid fraction that contained high content of stearic acid. This solid fraction was blended with CO and the EIE was performed at 65°C for 6 h using Lipozyme RM IM, an sn-1,3-selective lipase from *Mucor miehei*. However, the fat obtained after EIE became softer with unexpected lower content of SOS. In addition, it was difficult to obtain high amount of the solid fraction of MKF from the small lab-scale crystallizer. As a result, the studies were switched to unfractionated MKF+CO with the addition of palm stearin or fully hydrogenated palm stearin in order to increase hardness of the fat after EIE. However, the fat obtained after EIE still showed softer characteristic, lower solid fat content (SFC) and lower amount of SOS compared to cocoa butter (CB). The acyl donor was hence changed once again to stearic acid. This resulted in a fat with higher content of SOS but unfortunately with an increase in OOS and OOP content as well. OOS and OOP are less saturated triglycerides and this led to a decrease in SFC than CB at the temperatures <25°C. Future work will be focusing on changing acyl donor type as well as the type of enzyme for EIE.

Keywords Fractionation, cocoa Butter equivalent, mango kernel fat, canola oil

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	3
Abstract	4
บทที่ 1 บทนำ	6
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	8
บทที่ 3 วิธีการทดลอง	22
บทที่ 4 ผลการทดลองและการอภิปราย	27
บทที่ 5 สรุป	59
เอกสารอ้างอิง	61

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

มะม่วงจัดเป็นหนึ่งในผลไม้ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจต่อประเทศในภูมิภาคเขตร้อน สำหรับในประเทศไทยแล้วมีผลผลิตรวมในประเทศประมาณ 1 - 1.4 ล้านตันต่อปี การผลิตมะม่วงในทางการค้าของประเทศไทยจำแนกได้เป็น 3 ประเภท คือใช้กินผลดิบ ผลสุก และแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์กระป๋อง โดยมีส่วนของเมล็ดมะม่วงที่เป็นของเหลือทิ้ง (waste) จากการบริโภคและการผลิตมะม่วงกระป๋องในแต่ละปีเป็นปริมาณมหาศาล โดยเฉพาะแค่มะม่วงพันธุ์แก้วพันธุ์เดียวนั้นจะก่อให้เกิดเมล็ดเหลือทิ้งถึง 57,01 ตันต่อปี ทำให้เกิดการสูญเสียโดยเปล่า 9 ประโยชน์ ทั้งๆ ที่ส่วนเนื้อในเปลือกแข็งที่เป็นสีขาวยของเมล็ดมะม่วงสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้คือนำไปผลิตเป็นแยมหรือนำไปสกัดน้ำมัน ซึ่งน้ำมันเมล็ดมะม่วงนี้มีความเป็นพิษอยู่ตรงที่ว่าเป็นหนึ่งในน้ำมันจากพืชเพียง ชนิด 6 ที่ได้รับการยินยอมโดยองค์กรควบคุมคุณภาพช็อคโกแลตของสหภาพยุโรป (EU Chocolate Directive) ให้ใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตไขมันทดแทนเนยโกโก้ cocoa butter alternative ชนิด cocoa butter equivalent หรือ CBE สำหรับใช้แทนหรือผสมกับเนยโกโก้ในช็อคโกแลต ซึ่งเนยโกโก้ นั้นเป็นไขมันจากต้นโกโก้ที่เป็นส่วนผสมหลักของช็อคโกแลต ในปัจจุบันเนยโกโก้มีราคาแพงและมีการผันแปรของปริมาณการผลิตแบบปีต่อปีเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพดินฟ้าอากาศและความไม่มั่นคงด้านสภาวะทางการเมืองของประเทศผู้ปลูกต้นโกโก้ ทำให้ปริมาณความต้องการของไขมันทดแทนเนยโกโก้พุ่งสูงขึ้น เนยโกโก้ นั้นประกอบไปด้วยไตรกลีเซอไรด์หลักๆ 3 ชนิดด้วยกันคือ POP, POS และ SOS เมื่อ P คือกรดปาล์มติก O คือกรดโอเลอิก และ S คือกรดสเตียริก ซึ่งการผลิต CBE นั้นโดยทั่วไปได้จากการเลือกน้ำมันที่มีไตรกลีเซอไรด์ชนิด SOS เป็นองค์ประกอบในปริมาณสูง มาผสมกับน้ำมันที่มีไตรกลีเซอไรด์ชนิด POP และ POS เป็นองค์ประกอบในปริมาณสูง โดยทำการเลือกมาจากพืชทั้ง ชนิด 6 ที่กำหนดไว้โดยองค์กรควบคุมคุณภาพช็อคโกแลตของสหภาพยุโรป ดังกล่าวไว้ข้างต้น

น้ำมันเมล็ดมะม่วงมีองค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ชนิด SOS ในปริมาณสูง เมื่อนำน้ำมันเมล็ดมะม่วงมาผสมกับน้ำมันจากพืชชนิดอื่นที่มี POP และ POS ในปริมาณสูง เช่น น้ำมันปาล์มส่วนกลาง (palm-mid fraction หรือ PMF) ในอัตราส่วนที่เหมาะสม จะทำให้ได้ไขมันทดแทนเนยโกโก้ชนิด CBE ที่มีคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพเหมือนกันกับของเนยโกโก้ สามารถผสมเข้ากันได้ดีกับเนยโกโก้เมื่อทำการผลิตช็อคโกแลต โดยไม่ทำให้เกิดการ

เปลี่ยนแปลงของคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ซ็อกโกแลตและกระบวนการผลิตแต่อย่างใด อย่างไรก็ตาม นอกเหนือไปจาก SOS แล้ว ในน้ำมันเมล็ดมะม่วงหิมพานต์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ชนิดอื่นๆ อีกด้วย เช่น SOO และ POO โมเลกุลไตรกลีเซอไรด์เหล่านี้มีจุดหลอมเหลวที่ต่ำกว่าของ SOS ซึ่งเมื่อทำการผลิต CBE โดยการผสมน้ำมันเมล็ดมะม่วงหิมพานต์กับ PMF นั้น โมเลกุลไตรกลีเซอไรด์เหล่านี้จะส่งผลเสียต่อคุณสมบัติของ CBE ที่ผลิตได้ เช่น ทำให้มีจุดหลอมเหลวต่ำเกินไป ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องเพิ่มปริมาณ SOS ในน้ำมันเมล็ดมะม่วงหิมพานต์ก่อนการนำไปผสมกับ PMF เพื่อให้ได้ CBE ที่มีองค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพที่เหมือนหรือใกล้เคียงกับของเนยโกโก้ให้มากที่สุด โดยในงานวิจัยนี้มีความสนใจที่จะศึกษาการเพิ่มโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ SOS ในน้ำมันเมล็ดมะม่วงหิมพานต์ด้วยการตกผลึกลำดับส่วนแบบใช้ตัวทำละลาย (solvent fractionation) ซึ่งวิธีการดังกล่าวเป็นกระบวนการแยก (separation process) ที่อาศัยความแตกต่างกันของจุดหลอมเหลวของโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ชนิดต่างๆ โดยจะทำการศึกษาถึงอิทธิพลของ อุณหภูมิในการตกผลึกและระยะเวลาในการตกผลึก ที่จะทำให้ได้ส่วน (fraction) ของน้ำมันเมล็ดมะม่วงหิมพานต์ที่มีปริมาณของโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ชนิด SOS และปริมาณของกรดสเตียริกที่สูงที่สุด จากนั้นนำส่วนของน้ำมันเมล็ดมะม่วงหิมพานต์ดังกล่าวไปเพิ่มปริมาณของ SOS ให้สูงขึ้นโดยการผสมส่วนของน้ำมันเมล็ดมะม่วงหิมพานต์ที่กรดสเตียริกสูงเข้ากับน้ำมันคาโนลา (ซึ่งมีกรดโอเลอิกในปริมาณสูง) แล้วนำไปทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันแบบใช้เอนไซม์เพื่อสร้างไตรกลีเซอไรด์ชนิด SOS ให้สูงขึ้นมาอีก จากนั้นจะนำน้ำมันที่ได้จากการทำปฏิกิริยาที่มี SOS ในปริมาณสูงดังกล่าวไปผลิต CBE โดยการผสมกับ PMF ที่อัตราส่วนที่เหมาะสมต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

เพื่อการผลิตไขมันทดแทนเนยโกโก้จากน้ำมันเมล็ดมะม่วงหิมพานต์โดยใช้กรรมวิธีร่วมกันคือ

- การตกผลึกแยกส่วนน้ำมันเมล็ดมะม่วงหิมพานต์
- การทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันโดยใช้เอนไซม์กับน้ำมันคาโนลา
- การผสมน้ำมันกับน้ำมันปาล์มส่วนกลาง

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 มะม่วงและน้ำมันเมล็ดมะม่วง

มะม่วงจัดเป็นหนึ่งในผลไม้ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจต่อประเทศในภูมิภาคเขตร้อน โดยอินเดียเป็นประเทศที่มีการผลิตมะม่วงมากที่สุดเป็นอันดับหนึ่งของโลก รองลงมาคือ บราซิล จีน ไทย ปากีสถาน เม็กซิโก และอินโดนีเซีย สำหรับในประเทศไทยแล้วมีผลผลิตรวมในประเทศประมาณ 1 - 1.4 ล้านตันต่อปี (สำนักบริหารการนำเข้าส่งออกสินค้าทั่วไป กลุ่มวิเคราะห์สินค้า 2, 2549) การผลิตมะม่วงในทางการค้าของประเทศไทยจำแนกได้เป็น 3 ประเภท คือ ใช้กินผลดิบ ผลสุกและแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์กระป๋อง โดยในปี 2549 (มกราคม - กันยายน) ประเทศไทยมีการส่งออกมะม่วงสดและผลิตภัณฑ์ในปริมาณ 21,064 ตัน มูลค่า 628.24 ล้านบาท (สำนักบริหารการนำเข้าส่งออกสินค้าทั่วไป กลุ่มวิเคราะห์สินค้า 2, 2549)

ประเทศไทยในปัจจุบันได้สั่งสินค้าประเภทโกโก้เข้ามา เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตไอศกรีม ลูกอม ลูกกวาด และช็อกโกแลต โดยองค์ประกอบที่สำคัญของช็อกโกแลตคือเนยโกโก้ ซึ่งเนยโกโก้เป็นไขมันที่ได้มาจากการบีบอัด cocoa liquor ด้วยแรงดันสูง (สมศักดิ์และคณะ, 2530; สุวรรณ, 2543) เนยโกโก้นี้มีคุณสมบัติพิเศษกว่าไขมันชนิดอื่นคือมีความคงตัวสูง จะแข็งตัวได้ที่อุณหภูมิห้องปกติ (20 องศาเซลเซียส) เริ่มละลายที่ 30 องศาเซลเซียส และละลายได้หมดที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิของร่างกายเล็กน้อย อย่างไรก็ตามเนยโกโก้มีราคาแพง ทำให้ในปัจจุบันมีการใช้ไขมันทดแทนเนยโกโก้ซึ่งผลิตได้จากไขมันและน้ำมันพืชแหล่งอื่นๆ เช่น palm oil, kokum butter และ shea butter เป็นต้น ทดแทนการใช้เนยโกโก้ที่ผลิตจากเมล็ดโกโก้เพื่อลดต้นทุนในการผลิต (Bernard, 1989; Talbot, 1999) โดยเนยโกโก้เทียมจะเป็นไขมันที่มีองค์ประกอบของกรดไขมันและไตรกลีเซอไรด์ คุณสมบัติทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพเช่น อุณหภูมิในการตกผลึกและจุดหลอมเหลวใกล้เคียงกับเนยโกโก้ (ณัฐยาวรรณ, 2547) จากการศึกษาพบว่าในเมล็ดมะม่วงมีน้ำมันที่มีองค์ประกอบของไตรกลีเซอไรด์คล้ายกับเนยโกโก้ ดังตารางที่ 1 โดยเมื่อนำเมล็ดมะม่วงมาสกัดด้วยตัวทำละลายจะทำให้ได้ไขมันแข็งที่รับประทานได้เป็นไขมันหรือน้ำมันเมล็ดมะม่วง ซึ่งพบว่ามีคุณลักษณะและคุณสมบัติคล้ายกับของเนยโกโก้ (วิจิตร, 2529; Talbot, 1999; Solis-Fuentes และ Duran-de-Bazua, 2004) โดยน้ำมันที่สามารถนำมาใช้ทดแทนเนยโกโก้โดยเปรียบเทียบแหล่งที่มา

องค์ประกอบของไตรกลีเซอไรด์และปริมาณที่มีอยู่ทั่วไปในธรรมชาติสามารถนำมาใช้ร่วมกับหรือทดแทนเนยโกโก้ได้ดังนี้

Fat	Area of origin	Triglyceride composition			Comments
		POP	POSt	StOSt	
Cocoa butter	-	M	H	H	-
Palm (<i>Elaeis guineensis</i>)	Malaysia	H	M	L	Readily available
Illipe (<i>Shorea</i>	Borneo	L	H	H	Intermittent availability
<i>stenoptera</i>)	West Africa	L	M	H	Variable availability
Shea					
(<i>Butyrospermum</i>	India	L	M	H	Variable quality
<i>parkii</i>)	El Salvador	L	L	H	Intermittent availability
Sal (<i>Shorea robusta</i>)					
Aceituno	Tropics	L	L	H	Unexploited, low yields
(<i>Simarouba glauca</i>)					
Mango kernel	India	L	L	H	Low availability,
(<i>Mangifera indica</i>)					Variable quality
Kokum (<i>Garcinia indica</i>)	China	H	L	L	Unexploited, problems
					to obtain edible quality
Chinese vegetable					
tallow					
(<i>Sapium sebiferum</i>)					

ตารางที่ 1 Natural fats used in CBE manufacture (H = high; M = medium; L = low) (ที่มา: Talbot, 1999)

จากตารางที่ 1 จะเห็นได้ว่าน้ำมันจากเมล็ดมะม่วงซึ่งเป็นหนึ่งในน้ำมันจากพืชที่สามารถใช้แทนเนยโกโก้ในการผลิตช็อกโกแลตได้นั้นยังไม่มีการศึกษาเพื่อนำไปใช้ประโยชน์อย่างจริงจัง โดยจากข้อมูลของผลผลิตมะม่วงของประเทศไทยในปี 2545 ดังตารางที่ 2 พบว่ามะม่วงที่มีการปลูกและให้ผลผลิตมากที่สุดคือมะม่วงพันธุ์แก้ว 358,078.37 ตัน (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2545) คิดเป็น 30% ของผลผลิตมะม่วงทั้งหมด โดยมีรายงานในนิตยสารผู้ส่งออกว่ามะม่วงที่ได้ทำการส่งไปยังโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปทำเป็นน้ำมันมะม่วงกระป๋องและมะม่วงขึ้นกระป๋องในปี 2542 คือมะม่วงพันธุ์แก้วและพันธุ์สามปี และที่มีการแปรรูปเป็นมะม่วงอบแห้งและแช่แข็งสำหรับส่งออกทางประเทศตะวันออกคือมะม่วงพันธุ์แก้วและพันธุ์โชคอนันต์

พันธุ์มะม่วง	ผลผลิตรวม (ไร่)	พื้นที่ปลูกรวม (ไร่)	ผลผลิตเฉลี่ย (กก./ไร่)	ผลผลิตรวม (ตัน)
มะม่วงทั้งหมด	1,160,558	1,394,925	1,019.92	1,183,677.41
แก้ว	324,935	381,597	1,102	358,078.37
เขียวเสวย	303,943	365,297	920	279,627.56
น้ำดอกไม้	182,807	229,603	1,088	198,894.71
อกร่อง	90,245	99,445	958	86,454.71
โชคอนันต์	27,959	44,297	1,028	28,741.85

ตารางที่ 2 ผลผลิตของมะม่วงในประเทศไทยในปี 2545 (ที่มา: กรมส่งเสริมการเกษตร, 2545)

จากตารางที่ 2 จะเห็นว่าหากนำเมล็ดมะม่วงพันธุ์แก้วที่เป็นวัสดุเหลือใช้หรือของทิ้ง (residue/waste) จากโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปมาทำการผลิตเป็นน้ำมันเมล็ดมะม่วงจะสามารถให้ผลผลิตได้เป็นจำนวนมาก โดยเฉลี่ยมะม่วงพันธุ์แก้วหนึ่งผลจะหนักประมาณ 204.10 กรัม และเมล็ด (คิดจากเปลือกแข็งและภายในเมล็ดทั้งหมด) หนัก 32.5 กรัม (รัชชัยและคณะ, 2546) หากเรานำเมล็ดไปทำการสกัดเอาน้ำมันออกมาตามกรรมวิธีที่ Solis-Fuentesc และ Duran-de-Bazua (2004) ได้ทดลองใช้ในการสกัดเมล็ดมะม่วงเม็กซิกัน พันธุ์ Manila ทำให้ได้น้ำมันเมล็ดมะม่วงประมาณ 5.28–11.26% (น้ำหนักแห้งของเมล็ดในไม่รวมเปลือกแข็ง) ซึ่งหากคิดจากมะม่วงพันธุ์แก้วที่มีผลผลิตในปี 2545 แล้วพบว่ามีเมล็ดมะม่วงพันธุ์แก้วที่เหลือทิ้งจำนวน 57,018.85 ตัน เมื่อนำมาคิดเป็นปริมาณน้ำมันที่จะสกัดได้ โดยให้น้ำหนักของเมล็ดมะม่วงสดที่มีการแกะเปลือกแข็งทิ้งไปแล้วเป็น 5 กรัมต่อผล

ความชื้นของเมล็ดมะม่วงสด 40% และจะสกัดน้ำมันได้ 5.28% ของน้ำหนักแห้งของเมล็ดที่ผ่านการอบแห้งแล้วให้มีความชื้นประมาณ 10% ตามที่ Solis-Fuentesc และ Duran-de-Bazua (2004) ได้รายงานไว้ จะสามารถผลิตน้ำมันได้ในปริมาณกว่า 278 ตัน ซึ่งเป็นปริมาณที่มาก โดยจากข้อมูลของเว็บไซต์ชื่อ From nature with love (2550) พบว่าในปัจจุบันน้ำมันมะม่วงขายกันอยู่ที่ราคา 416.76 บาทต่อ 1 กิโลกรัม การนำเมล็ดมะม่วงทั้งหมดมาผลิตเป็นน้ำมันจะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงถึง 115.83 ล้านบาท โดยน้ำมันที่ผลิตได้ส่วนใหญ่สามารถนำไปใช้เป็นไขมันทดแทนเนยโกโก้ได้เพื่อลดการนำเข้าเนยโกโก้และไขมันทดแทนเนยโกโก้จากต่างประเทศได้

ตั้งแต่อดีตมาจนถึงปัจจุบัน มีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับน้ำมันเมล็ดมะม่วงที่มุ่งเน้นการใช้ประโยชน์โดยการนำไปผลิตเป็นไขมันทดแทนเนยโกโก้ ในปริมาณค่อนข้างจำกัด ที่โดดเด่นคืองานของ Solis-Fuentesc และ Duran-de-Bazua (2004) ซึ่งได้ทดลองศึกษามะม่วงสายพันธุ์ Manila ของประเทศ Mexico โดยการนำเนื้อในเมล็ดมะม่วงมาทำการอบด้วย hot air oven ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนได้ความชื้นที่ต่ำกว่า 10% แล้วนำไปบดให้ละเอียดทำการสกัดไขมันด้วย Soxhlet โดยใช้ hexane เป็นตัวทำละลายในการสกัด ทำการสกัดนาน 6 ชั่วโมงแล้วทำการระเหย solvent ออกโดยใช้ rotavapour ภายใต้สภาวะสุญญากาศ จะได้ crude fat ออกมาในปริมาณ 5.28 – 11.26% ของน้ำหนักเมล็ดแห้งไม่รวมเปลือกแข็ง ซึ่ง Solis-Fuentes และ Duran-de-Bazua (2004) ได้นำวิธีการทำให้บริสุทธิ์ของ Wesson method มาใช้ ได้ purified fat เพื่อนำมาศึกษาคุณสมบัติและองค์ประกอบต่างๆ ดังนี้

- การวิเคราะห์คุณลักษณะทางเคมีและทางกายภาพของน้ำมันเมล็ดมะม่วงพบว่ามีค่า refractive index เท่ากับ 1.466 ค่า acidity value เท่ากับ 0.60% (as oleic acid) ค่า saponification index เท่ากับ 189.0 และค่า iodine index เท่ากับ 47.7
- การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันโดยเตรียมตัวอย่างเป็น methyl ester ของกรดไขมัน ใช้วิธีของ Boron trifluoride method (AOAC, 2000) ด้วยเครื่อง GC-MS พบว่า ปริมาณกรดไขมัน oleic (O), stearic (St) และ palmitic (P) เท่ากับ 40.81%, 39.07% และ 9.29% (w/w) ตามลำดับ

นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาการตกผลึกของน้ำมันเมล็ดมะม่วงอย่างคร่าวๆ เปรียบเทียบกับของเนยโกโก้ด้วยใช้เทคนิค scanning differential calorimetry และเทคนิค x-ray diffraction โดย Solis-Fuentes และ Duran-de-Bazua (2004) และ Solis-Fuentes และคณะ (2005) ซึ่งพบว่าน้ำมันเมล็ดมะม่วงสายพันธุ์ Manila ของประเทศ Mexico เมื่อตกผลึกแล้วจะมีโครงสร้างที่เสถียรที่สุดเป็น β ที่มี x-ray diffraction characteristics (ทั้งจำนวนและตำแหน่งของ diffraction peaks) เหมือนกับของเนยโกโก้ ซึ่งจะแตกต่างจากน้ำมันปาล์ม น้ำมันเมล็ดปาล์ม น้ำมันถั่ว

เหลือง และน้ำมันมะพร้าว ที่เมื่อตกผลึกแล้วจะมีโครงสร้างที่เสถียรที่สุดเป็น β' การศึกษายังพบอีกว่าปริมาณไขมันที่อยู่ในสภาพของของแข็ง (solid fat content หรือ SFC) ของน้ำมันเมล็ดมะม่วงหิมพานต์ตกผลึกเป็นของแข็งมีค่าต่ำกว่าของเนยโกโก้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 33°C ทำให้มีลักษณะอ่อนกว่าเนยโกโก้เล็กน้อย ในทางกลับกันค่า SFC ของน้ำมันเมล็ดมะม่วงหิมพานต์จะมีค่าสูงกว่าที่อุณหภูมิสูงกว่า 33°C ทำให้มีความแข็งมากกว่าของเนยโกโก้หรือมีลักษณะเป็น harder fat เมื่อเทียบกับของเนยโกโก้ ซึ่งถือเป็นคุณสมบัติเด่นของน้ำมันเมล็ดมะม่วงหิมพานต์เพราะสามารถนำไปผลิตเป็นไขมันทดแทนเนยโกโก้สำหรับใช้เป็นส่วนผสมในช็อกโกแลตทนอุณหภูมิสูงได้

2.2 ไขมันทดแทนเนยโกโก้

ไขมันทดแทนเนยโกโก้ (cocoa butter alternatives; CBA) เป็นไขมันที่ใช้ทดแทนเนยโกโก้ในการผลิตช็อกโกแลต เป็นไขมันที่มีลักษณะแข็ง (hard butter) และมีคุณสมบัติทางเคมีได้แก่ องค์ประกอบของกรดไขมันและไตรกลีเซอไรด์และทางกายภาพใกล้เคียงกับเนยโกโก้ ส่งผลให้เกิดการหลอมเหลวอย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิร่างกายและมีความคงตัวสูง (Lipp และ Anklem, 1998) โดย Talbot (1999) กล่าวว่าทางเลือกแหล่งชนิดของไขมันที่เหมาะสมในการผลิตเนยโกโก้เทียมต้องพิจารณาถึงเหตุผลดังต่อไปนี้

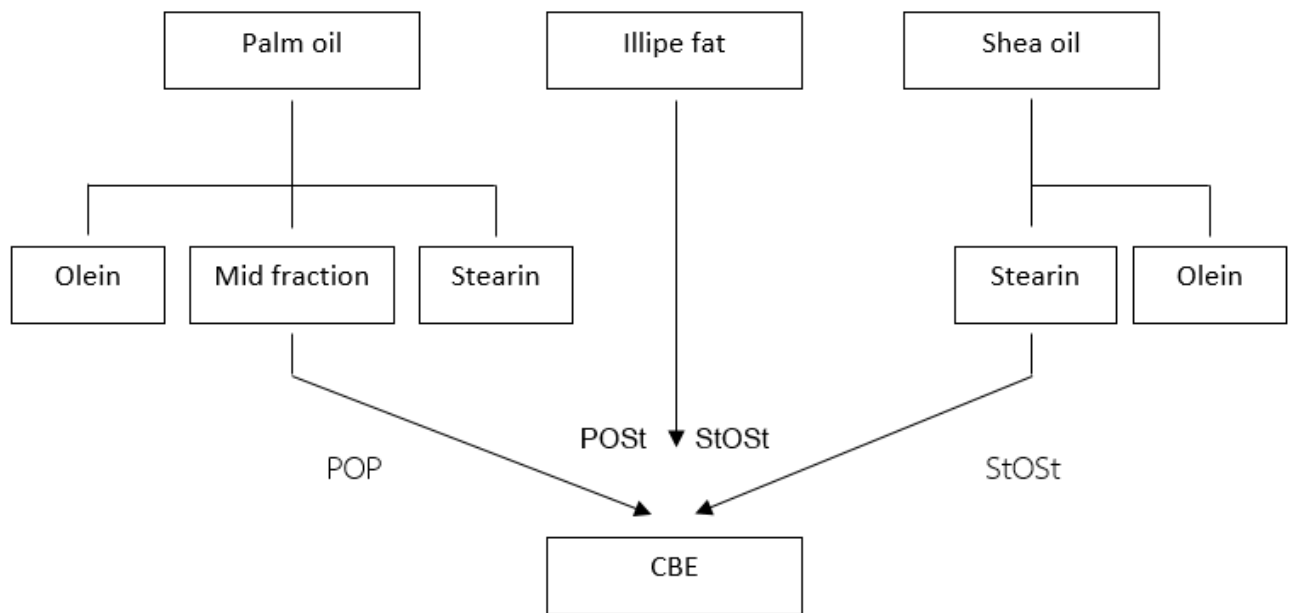
- ต้องเป็นไขมันที่มีช่วงของการหลอมเหลวที่คล้ายกับเนยโกโก้
- เป็นไขมันที่ประกอบด้วยชนิดของกรดไขมันและไตรกลีเซอไรด์ที่คล้ายกับเนยโกโก้
- เป็นไขมันที่เมื่อผสมกับไขมันของเนยโกโก้แล้วสามารถเข้ากันได้
- เป็นไขมันที่เมื่อผ่านกระบวนการผลิตเป็นช็อกโกแลตต้องมีลักษณะคล้ายกับผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากเนยโกโก้มาตรฐาน
- เป็นไขมันที่เมื่อทำการตกผลึกแล้วต้องมีโครงสร้างของผลึกเหมือนเนยโกโก้ในรูป β -form
- ลักษณะปรากฏและอายุในการเก็บรักษาโดยปราศจาก fat bloom ของผลิตภัณฑ์ช็อกโกแลตที่ประกอบด้วยเนยโกโก้เทียมต้องเหมือนกับผลิตภัณฑ์ที่ผลิตโดยใช้เนยโกโก้เป็นองค์ประกอบไขมันเพียงอย่างเดียว
- เป็นไขมันที่ทำให้เกิดความคงตัวของกลิ่นที่ดีของผลิตภัณฑ์

ไขมันทดแทนเนยโกโก้สามารถแบ่งได้เป็น 3 ชนิด (สุวรรณ, 2543; Lipp และ Anklem, 1998) ดังนี้

2.2.1 Cocoa Butter Equivalent (CBE)

CBE เป็นไขมันพืชกลุ่ม non-lauric fat ที่มีคุณสมบัติและสูตรโครงสร้างทางเคมีเหมือนกับเนยโกโก้และสามารถใช้ทดแทนเนยโกโก้ได้ทุกสัดส่วนในการผลิตช็อกโกแลตโดยไม่ทำให้คุณสมบัติทางกายภาพของช็อกโกแลตได้แก่ การหลอมเหลว คุณสมบัติการไหลเมื่อหลอมละลายและกระบวนการผลิตเปลี่ยนแปลงไป ซึ่ง กฎหมายของทวีปยุโรป อนุญาตให้มีการใช้ CBE ที่ผลิตจากไขมันพืชชนิดต่างๆ เพียง 6 ชนิดเท่านั้นคือ palm oil, illipé fat, sal fat, kokum fat, shea oil และ mango kernel (ดังได้แสดงไว้ในตารางที่ 1) เป็นส่วนผสมของช็อกโกแลต (Stewart และ Kristott, 2004) ซึ่งโดยทั่วไปการผลิต CBE สามารถทำได้โดยการตกผลึกแยกส่วน (fractional crystallization) น้ำมันเนือปาล์มหรือสังเคราะห์โดยตรงจากกลีเซอรอลและกรดไขมันที่เลือกแล้ว หรือจากการตกผลึกไขมันจาก Borneo tallow (หรือ Illipe fat) ด้วยอะซีโตน แต่จะมีการผลิตด้วยวิธีนี้น้อย เนื่องจากราคาแพงและไม่ค่อยมีผู้ผลิต ในปัจจุบันใช้วิธีการสังเคราะห์เข้ามาช่วยโดยนำมาดัดแปลงทางเอนไซม์เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา tranesterification และ Interesterification โดยปกติการใช้ CBE จะใช้ไม่เกิน 5% ของน้ำหนักผลิตภัณฑ์สุดท้ายเพื่อให้สอดคล้องกับกฎหมายด้านอาหารของทวีปยุโรปที่ยอมรับให้ผลิตภัณฑ์ช็อกโกแลตสามารถมีส่วนผสมที่เป็นไขมันจากพืชชนิดอื่นๆ ที่ไม่ใช่เนยโกโก้ได้ไม่เกิน 5% โดยน้ำหนักของผลิตภัณฑ์สุดท้าย แต่ถ้าใช้ CBE แทนเนยโกโก้เกินกว่า 5% หรือแทนทั้งหมดจะเรียกผลิตภัณฑ์ว่า supercoating

ตัวอย่างแผนภาพของการผลิต CBE จากน้ำมันจากพืชชนิดต่างๆ ได้แสดงไว้ใน ภาพที่ 1 โดยแผนภาพจะที่แบ่งบอกให้ทราบถึงแหล่งที่มาของไตรกลีเซอไรด์ที่สำคัญทั้ง 3 ชนิดคือ POP, POST และ StOST ที่เป็นองค์ประกอบหลักของเนยโกโก้และ CBE



ภาพที่ 1 แผนภาพแสดงกระบวนการผลิต Cocoa Butter Equivalents (ที่มา: Talbot, 1999)

2.2.2 Cocoa Butter Substitutes (CBS)

เป็นไขมันพืชในกลุ่ม lauric fat ที่ได้จากน้ำมันปาล์มและน้ำมันมะพร้าว โดยกระบวนการตกผลึกแยกส่วนและเติมไฮโดรเจนแล้วทำให้บริสุทธิ์ ทำให้ไขมันที่ได้มีความแข็ง ความรู้สึกเมื่อนำไปเคี้ยวและการปลดปล่อยกลิ่นคล้ายกับเนยโกโก้ เป็นไขมันที่มีกรดลอริกสูงและมีชนิดของไตรกลีเซอไรด์ต่างจากเนยโกโก้ ถ้านำไปผสมกับเนยโกโก้จะทำให้เกิดผลึกหลายโครงสร้างปนกันและจุดหลอมเหลวของส่วนผสมจะลดลงเนื่องจาก eutectic effect จึงไม่ควรใช้ผสมกับเนยโกโก้ ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีคุณสมบัติทางกายภาพใกล้เคียงกับเนยโกโก้ แต่คุณสมบัติทางเคมีจะแตกต่างกันจึงสามารถใช้ทดแทนเนยโกโก้ได้ 100%

2.2.3 Cocoa Butter Replacers (CBR)

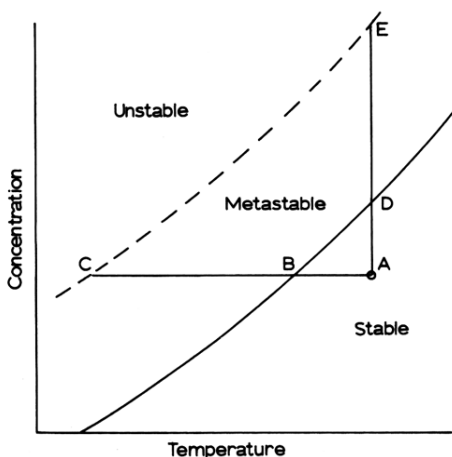
เป็นไขมันพืชในกลุ่ม non-lauric fat ที่ได้มาจากน้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันฝ้าย น้ำมันข้าวโพด น้ำมันถั่วลิสง และเมล็ดปาล์ม แล้วนำมาผ่านกระบวนการไฮโดรจีเนชั่น และการตกผลึกแยกส่วน การเติมไฮโดรเจนจะทำภายใต้สภาวะที่เลือกไว้เพื่อให้เกิด trans-acid ซึ่งจะช่วยให้เพิ่มปริมาณของแข็ง ในน้ำมัน CBR ที่เตรียมโดยวิธีนี้จะมีกรดปาล์มมิติก สเตียริกและโอเลอิกเช่นเดียวกับเนยโกโก้ แต่การจัดเรียงสาย hydrocarbon chain ของกรดไขมันในโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์จะไม่เหมือนกับของเนยโกโก้จึงทำให้สมบัติทางกายภาพแตกต่างจากเนยโกโก้ ทำให้เมื่อผสมกันกับเนย

โกโก้แล้วเมื่อตกผลึกจะเกิดผลึกหลายโครงสร้างปนกันและมีปรากฏการณ์ eutectics เกิดขึ้น ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะไม่มี ความมันวาวและเกิด Fat bloom มาก ไขมันในกลุ่มนี้จึงใช้ทดแทนเนยโกโก้ได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น

2.3 การตกผลึก

การตกผลึกของน้ำมันหรือไขมันสำหรับการบริโภคมีความสำคัญมากสำหรับการผลิตในอุตสาหกรรมอาหาร โดยความรู้ในเรื่องพฤติกรรมของการตกผลึก (crystallization behavior) ของน้ำมันสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับ ผลิตภัณฑ์อาหารหลายๆ ชนิด เช่น ลูกอม ลูกกวาด ช็อกโกแลต มาร์การีน สเปรด และรวมถึงผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ต่างๆ (Gordon และ Rahman, 1991) การตกผลึกสามารถเกิดขึ้นได้ทั้งกับสารละลาย ซึ่งจะประกอบไปด้วยตัวทำละลายและตัวถูกละลาย และกับ melt ซึ่งเป็นสารที่ถูกทำให้อยู่ในสภาพของเหลวโดยการเพิ่มอุณหภูมิให้สูงกว่าจุดหลอมเหลวของของสารนั้น (Myerson, 2002) การตกผลึกของสารละลายจะเกิดขึ้นได้เมื่อสารละลายนั้นมีความเข้มข้นสูงกว่าความเข้มข้น ณ จุดอิ่มตัว (saturation) ที่อุณหภูมิของการตกผลึก หรือเรียกว่ามีความเข้มข้นอิ่มตัวยิ่งยวด (supersaturation) นั่นเอง ส่วนการตกผลึกของ melt จะเกิดขึ้นเมื่ออุณหภูมิของการตกผลึกอยู่ต่ำกว่าจุดหลอมเหลวของ melt (Mullin, 1993) การตกผลึกของน้ำมันหรือไขมันสามารถเกิดขึ้นได้ทั้งกับน้ำมันหรือไขมันที่อยู่ในสภาพ melt และกับน้ำมันหรือไขมันที่อยู่ในรูปสารละลายที่มีความเข้มข้นอิ่มตัวยิ่งยวดกับตัวทำละลาย อย่างไรก็ตามสารละลายที่มีความเข้มข้นอิ่มตัวยิ่งยวดไม่จำเป็นต้องเกิดการตกผลึกเสมอไป ทั้งนี้จะขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นอิ่มตัวยิ่งยวดของสารละลายนั้นเป็นหลัก ดังแสดงไว้ในกราฟความสัมพันธ์ของอุณหภูมิและความเข้มข้นของสารละลาย หรือ saturation-supersaturation solubility diagram ในภาพที่ 2

เส้นทึบในภาพที่ 2 คือเส้น solubility curve ซึ่งจะแสดงค่าความเข้มข้น ณ จุดอิ่มตัวของสารละลายที่อุณหภูมิต่างๆ พื้นที่ใต้กราฟที่อยู่ต่ำกว่าเส้น solubility curve เรียกว่า stable zone ซึ่งเป็นพื้นที่ที่จะไม่เกิดการตกผลึกเพราะความเข้มข้นของสารละลายมีค่าต่ำกว่าจุดอิ่มตัว เส้นประในรูปแบ่งพื้นที่เหนือเส้น solubility curve ออกเป็น ส่วน ส่วนที่อยู่ระหว่างเส้น 2solubility curve และเส้นประเรียกว่า meta-stable zone ซึ่งการตกผลึกจะเกิดขึ้นได้ในพื้นที่นี้ก็ต่อเมื่อมีการใช้เทคนิค เช่นการล่อผลึก (crystal seeding) เข้าช่วย สำหรับพื้นที่เหนือเส้นประเรียกว่า unstable zone หรือ labile zone ซึ่งเป็นพื้นที่ที่การตกผลึกของสารละลายจะเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วด้วยตัวเอง (เรียกว่า spontaneous crystallization)



ภาพที่ 2 Saturation-supersaturation solubility diagram (ที่มา: Timms, 1994)

การตกผลึกของสารละลายใดๆ ที่อยู่ในสภาวะอิ่มตัวยิ่งยวดนั้นจะเริ่มจากการสร้างจุดเริ่มต้นของการตกผลึก หรือที่เรียกว่านิวเคลียส ขึ้นมาก่อน โดยที่นิวเคลียสอาจประกอบไปด้วยโมเลกุลของตัวถูกละลายตั้งแต่ไม่กี่สิบ โมเลกุลไปจนถึงเป็นจำนวนพันโมเลกุล ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดและธรรมชาติของสารละลาย (Mullin, 1993) หลังจาก การสร้างนิวเคลียสให้มีขนาดเท่ากับขนาดวิกฤต (critical size) แล้วจึงจะเกิดการเคลื่อนที่ของโมเลกุลตัวถูกละลาย ในสารละลายเข้ามาแปะติดที่ผิวของนิวเคลียสเพื่อเกิดการโตเป็นผลึกที่สมบูรณ์ต่อไป กระบวนการสร้างนิวเคลียส หรือที่เรียกว่า nucleation process นั้นสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทหลักคือ primary nucleation และ secondary nucleation โดย primary nucleation คือการสร้างนิวเคลียสขึ้นในระบบที่ยังไม่มีการตกผลึกเกิดขึ้น หรืออาจกล่าวได้ว่าเป็นการสร้างนิวเคลียสเพื่อการตกผลึกครั้งแรกของระบบ ซึ่ง primary nucleation สามารถ แบ่งย่อยออกได้เป็น 2 ประเภทคือ homogeneous nucleation สำหรับการตกผลึกของสารละลายที่เกิดขึ้นได้เอง เมื่อสารละลายนั้นมีความเข้มข้นอิ่มตัวยิ่งยวดที่สูงมากจนเข้าสู่ labile zone (Mullin, 1993) และ heterogeneous nucleation สำหรับการตกผลึกของสารละลายในสภาวะที่มีสิ่งเจือปนหรือสิ่งแปลกปลอมใน ระบบ โดยการสร้างนิวเคลียสสำหรับการตกผลึกแบบนี้สามารถเกิดขึ้นได้ที่สภาวะอิ่มตัวยิ่งยวดที่ไม่สูงมากนัก เนื่องจากว่าสิ่งเจือปนหรือสิ่งแปลกปลอมในระบบจะช่วยลดพลังงานที่ต้องการใช้ในการสร้างนิวเคลียสหรือ free energy for nucleation ลง ส่วน secondary nucleation นั้นคือการสร้างนิวเคลียสขึ้นในระบบที่มีผลึกของตัว ถูกละลายเกิดขึ้นหรือปรากฏอยู่แล้ว ซึ่งการสร้างนิวเคลียสแบบนี้ไม่เป็นที่ต้องการสำหรับการตกผลึกทาง

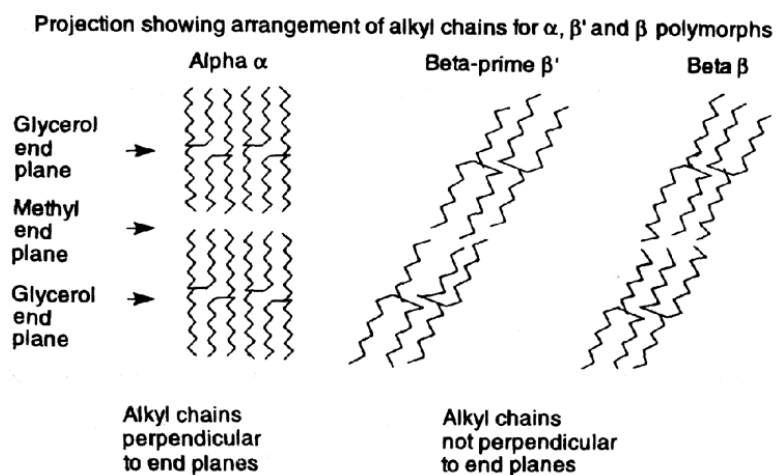
อุตสาหกรรมอาหาร เช่นการผลิตน้ำตาลทรายหรือนมข้นหวานเป็นต้น เนื่องจากจะทำให้เกิดการกระจายตัวของขนาดผลึก (crystal size distribution) สูง หรือมีความสม่ำเสมอของขนาดผลึกต่ำนั่นเอง (Myerson, 2002)

สารบางชนิดสามารถตกผลึกได้หลายโครงสร้างผลึก (crystallographic structure) ขึ้นอยู่กับสถานะของปัจจัยต่างๆ ที่ควบคุมการตกผลึก ความสามารถในการตกผลึกได้หลายโครงสร้างนี้เรียกว่า polymorphism โดยแต่ละโครงสร้างจะมีคุณสมบัติทางกายภาพเช่น จุดหลอมเหลว ความหนาแน่น ความแข็งที่แตกต่างกัน (Sato, 2001) น้ำมันและไขมันมีไตรกลีเซอไรด์เป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งไตรกลีเซอไรด์มีคุณสมบัติ polymorphism โดยสามารถตกผลึกได้ถึง 3 โครงสร้างหลัก คือ α β' และ β โดยแต่ละโครงสร้างมีลักษณะการจัดเรียงตัวของโมเลกุลที่ต่างกันไปดังแสดงในภาพที่ 3

โครงสร้าง α มีโครงสร้างพื้นฐานของผลึกเป็นแบบ hexagonal นั่นคือจะมีการจัดเรียงตัวของสายกรดไขมัน (fatty acid chain) เป็นเส้นตรงและขนานกันไปในทิศทางที่ตั้งฉากกับระนาบเมทิล (methyl end plane) ที่อยู่ ณ ตำแหน่งหัวและท้ายสุดของโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ โครงสร้าง α มีความเสถียรน้อยเนื่องจากสายของกรดไขมันมีการจับตัวกันแบบหลวมๆ โครงสร้าง β' มีโครงสร้างพื้นฐานของผลึกเป็นแบบ orthorhombic โดยสายของกรดไขมันจะมีการทำมุมเอียงกับระนาบเมทิล ซึ่งจะทำให้การจัดเรียงตัวของโมเลกุลทำได้อย่างแน่นหนาขึ้น โครงสร้าง β' จึงมีความเสถียรมากกว่าโครงสร้าง α รวมทั้งมีจุดหลอมเหลวและความหนาแน่นสูงกว่า (Kaneko, 2001)

ส่วนโครงสร้าง β เป็นโครงสร้างที่มีความเสถียรที่สุดและมีจุดหลอมเหลวสูงที่สุด มีโครงสร้างพื้นฐานของผลึกเป็นแบบ triclinic โดยสายกรดไขมันของโครงสร้างนี้มีการทำมุมเอียงกับระนาบเมทิลมากกว่าเมื่อเทียบกับโครงสร้าง β'

โดยทั่วไปแล้วน้ำมันจะตกผลึกลงในโครงสร้าง α ได้ง่ายที่สุด เนื่องจากใช้พลังงานในการตกผลึกน้อยที่สุด ขณะที่ β' ใช้พลังงานมากกว่า α ในการตกผลึก จึงทำให้ตกผลึกได้ยากกว่า α ส่วน β ใช้พลังงานในการตกผลึกสูงที่สุดจึงตกผลึกได้ยากที่สุด (Sato, 2001) การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของผลึกไขมันจะเกิดขึ้นตามเวลาเพื่อให้เกิดความเสถียรมากขึ้น โดยโครงสร้าง α จะเปลี่ยนไปเป็น β' และ β ในที่สุด แต่จะไม่สามารถเปลี่ยนโครงสร้างย้อนกลับได้ นอกเสียจากว่าจะนำไขมันนั้นไปหลอมแล้วทำการตกผลึกใหม่ (Timms, 1995) ไขมันหลายชนิดเช่น เนยโกโก้ (cocoa butter) สามารถตกผลึกได้ทั้ง 3 โครงสร้าง (Beckett, 2000) แต่ไขมันบางชนิดสามารถตกผลึกได้เฉพาะโครงสร้าง α และ β' (Sato, 1999)



ภาพที่ 3 Crystal packing of triglycerides (ที่มา: Talbot, 1999)

2.4 กระบวนการอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชัน (Interesterification)

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

2.4.1 Chemical Interesterification

เป็นวิธีที่มีการใช้มานานแล้วในอุตสาหกรรม เพื่อดัดแปลงโครงสร้างของน้ำมันและไขมัน (Jeyarani และ Reddy, 2010) โดยใช้สารเคมีเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เช่น Sodium metal และ Sodium alkoxide ซึ่งมีราคาไม่แพง (Yazdi และ Alemzadeh, 2011) และสามารถใช้ได้สะดวก แต่อย่างไรก็ตามจะพบว่าการจัดเรียงตัวของ fatty acid ในโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์เป็นแบบสุ่ม นอกจากนี้กระบวนการยังต้องทำที่สภาวะอุณหภูมิสูง ทำให้เกิดการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์สุดท้าย (Kurashige และคณะ, 1993)

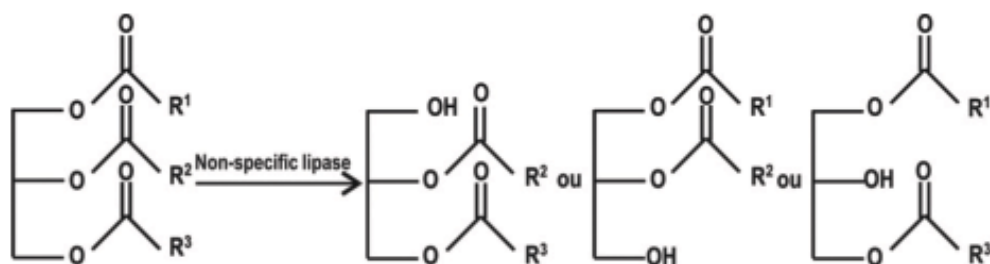
2.4.2 Enzymatic Interesterification

Enzymatic Interesterification จะใช้เอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เป็นวิธีที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อตำแหน่งของ acyl groups ในโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์มากกว่า สามารถผลิตผลิตภัณฑ์ให้มีรูปแบบของไตรกลีเซอไรด์ใหม่ตามต้องการได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งการใช้เอนไซม์ ไลเปสนี้ยังช่วยให้มีปริมาณ by products น้อยกว่าการใช้สารเคมีเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา นอกจากนี้ยังใช้พลังงานน้อย เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และสามารถควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ได้ดีกว่าอีกด้วย การใช้เอนไซม์ไลเปสที่มีความจำเพาะที่ตำแหน่งไตรกลีเซอไรด์ sn-1 และ sn-3 นั้น เอนไซม์จะไปทำลายพันธะของโครงสร้างไตรกลีเซอไรด์เฉพาะตำแหน่งที่ 1 และ 3 โดยไม่เปลี่ยนกรดไขมันที่ตำแหน่งที่ 2 ในขณะที่เอนไซม์ไลเปสชนิดไม่จำเพาะเจาะจงจะตัดแบบสุ่มทุกตำแหน่งของไตรกลีเซอไรด์ ส่งผลให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีชนิดของโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ตามที่ต้องการน้อย (Yazdi และ Alemzadeh, 2011)

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

ปฏิกิริยาสังเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์จากการแลกเปลี่ยนกรดไขมัน (interesterification) แบ่งออกเป็น 2 ปฏิกิริยาหลัก ดังนี้

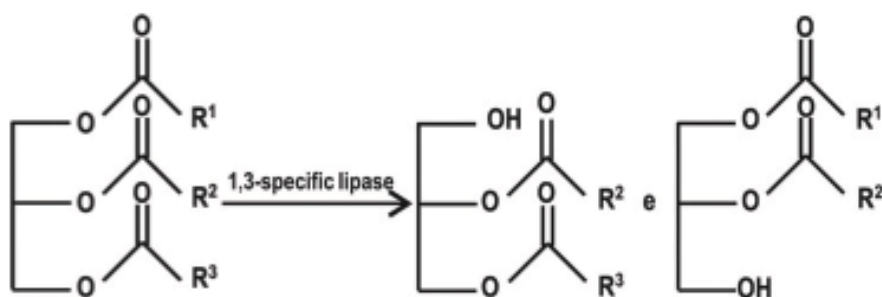
i) ปฏิกิริยาไม่จำเพาะพันธะเอสเทอร์ (non-specific lipase) (ภาพที่ 4) ไลเปสทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสไตรกลีเซอไรด์ได้เป็นกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอลอย่างสมบูรณ์แบบสุ่ม ซึ่งจะได้โมโนเอซิลกลีเซอรอลและไดเอซิลกลีเซอรอลเป็นผลิตภัณฑ์



ภาพที่ 4 การเกิดปฏิกิริยาอินเทอร์เอสเทอริฟิเคชันโดยไลเปสที่ไม่จำเพาะบนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์

ที่มา: Barros และคณะ (2010)

ii) ปฏิกิริยาจำเพาะพันธะเอสเทอร์ที่ 1,3 (ภาพที่ 5) ไลเปสทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสไตรกลีเซอไรด์เฉพาะที่พันธะของคาร์บอนตำแหน่งที่ 1 และคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ได้เป็นกรดไขมันอิสระ 2-โมโนกลีเซอไรด์ และ 1,2- หรือ 2,3 ไดกลีเซอไรด์ ซึ่ง 2 ผลิตภัณฑ์หลังไม่เสถียรทางเคมี อาจช่วยส่งเสริมการย้ายหมู่ acyl กลายเป็น 1,3 - ไดเอซิลกลีเซอรอล และ 1-หรือ 3- โมโนเอซิลกลีเซอรอล (Barros และคณะ, 2010)



ภาพที่ 5 การเกิดปฏิกิริยาอินเทอร์เอสเทอริฟิเคชันโดยไลเปสที่จำเพาะบนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์

ที่มา: Barros และคณะ (2010)

กระบวนการอินเทอร์เอสเทอริฟิเคชันโดยใช้สารเคมีหรือเอนไซม์ ใช้ในการปรับปรุงสมบัติทางกายภาพและสมบัติเชิงหน้าที่ของไขมันและน้ำมันโดยการเปลี่ยนตำแหน่งหรือชนิดของกรดไขมันบนกลีเซอรอล ไขมันและน้ำมันที่ถูกเปลี่ยนโครงสร้างเพื่อให้มีสมบัติทางกายภาพ เคมี และทางโภชนาการนี้เรียกว่า Structured lipid (SL) (Fomuso และ Akoh, 2001) ซึ่งโดยทั่วไปจะเป็นไตรเอซิลกลีเซอรอล (TAG) แต่ยังสามารถรวมถึงโมโนเอซิลกลีเซอรอล (MAG) ไดเอซิลกลีเซอรอล (DAG) และกลีเซอโรฟอสโฟลิปิด (GPL) (Pande และ Akoh, 2013) แม้ว่ากระบวนการอินเทอร์เอสเทอริฟิเคชันโดยสารเคมีเป็นกระบวนการที่ต้นทุนต่ำกว่าและสามารถเพิ่มขนาดการผลิตได้

ง่าย แต่มันเป็นกระบวนการที่ขาดความจำเพาะเจาะจง เอนไซม์ไลเปส (EC.3.1.1.3, triacylglycerol acylhydrolase) จึงถูกใช้ในกระบวนการอินเตอร์เอสเทอริฟิเคชันโดยใช้เอนไซม์ และเป็นที่ต้องการมากกว่า เพราะเอนไซม์มีความจำเพาะต่อตำแหน่งและโครงสร้าง ช่วยควบคุมผลิตภัณฑ์สุดท้ายได้ดีกว่า เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม จำเพาะต่อปฏิกิริยา และให้พลังงานต่ำ เอนไซม์ไลเปสที่ใช้ทั่วไปจะผลิตจากเชื้อ *Rhizomucormiehei*, *Candidirugose*, *Rhizopusoryzae*, *Thermomyceslauginosus* และ *Candida Antarctica* (Pande และ Akoh, 2013)

กระบวนการอินเตอร์เอสเทอริฟิเคชันโดยใช้เอนไซม์ไม่ก่อให้เกิดกรดไขมันทรานส์ เหมือนในกรณีที่ใช้สารเคมี ดังนั้นจึงไม่เป็นอันตรายต่อลิโปโปรตีนในพลาสมา ทำให้มีปริมาณไขมันแข็งตามต้องการมักใช้ไขมันแข็งตัว เช่น ปาล์มสเตียรีน หรือน้ำมันที่ผ่านกระบวนการไฮโดรจิเนชันอย่างสมบูรณ์ (น้ำมันถั่วเหลือง, น้ำมันเมล็ดฝ้าย) ปาล์มสเตียรีนเป็นผลึกของแข็งที่ได้จากกระบวนการแยกส่วน (Fractionation) ของน้ำมันปาล์มหลังจากการตกผลึกที่อุณหภูมิที่มีการควบคุม และประกอบด้วยสัดส่วนของไขมันชนิดอิ่มตัวสูงและกรดไขมันทรานส์ ที่มีจุดหลอมเหลวสูง ปาล์มสเตียรีนเป็นแหล่งของไขมันแข็งธรรมชาติ ซึ่งจะช่วยให้เพิ่มความคงตัวแก่อาหารหลายชนิด (Pande และ Akoh, 2013) และมักใช้ร่วมกับน้ำมันชนิดอื่นๆมากมาย ในการผลิตไขมันมาการีนที่ปราศจากไขมันชนิดทรานส์

บทที่ 3

วิธีการทดลอง

3.1 วัสดุและเครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย

3.1.1 วัตถุดิบ

- เมล็ดมะม่วง จัดหาเมล็ดมะม่วงสุกสายพันธุ์แก้วที่เป็นของเหลือทิ้งจากโรงงานแปรรูปมะม่วงจากจังหวัดราชบุรี หลังจากได้เมล็ดมะม่วงแล้วนำมาแกะเปลือกแข็งออกให้เหลือแต่ส่วนเนื้อสีขาวด้านในที่เรียกว่า เมล็ดมะม่วง เก็บใส่ถุงพลาสติก แล้วนำไปเก็บในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -18°C
- น้ำมันคาโนล่า น้ำมันปาล์มสเตียริน น้ำมันปาล์มสเตียรินที่ผ่านการทำไฮโดรจิเนชันโดยสมบูรณ์ จากบริษัทล่าสูง (ประเทศไทย) จำกัด

3.1.2 สารเคมี

- เฮกเซน
- ปิโตรเลียมอีเทอร์ (Petroleum ether, Mallinckrodt, UN 1208)
- เอทานอล
- โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์
- อะซีโตน
- เอนไซม์ Lipozyme RM IM (1,3-selective lipase) ผลิตจากเชื้อรา *Mucor miehei* จากบริษัท Sigma Aldrich
- Molecular sieves จาก Aldrich Chemical (Milwaukee, WI, USA)
- กรดไขมันมาตรฐาน จาก AccuStandard, Inc. (USA)
- ไตรกลีเซอไรด์มาตรฐาน จาก Sigma Chemical Co. Ltd. (St. Louis, MO, USA)

3.1.3 อุปกรณ์ที่ใช้

- ตู้อบแห้งแบบถาด
- เครื่องบดตัวอย่าง
- ตู้ Freezer -18°C
- เครื่องสกัดน้ำมัน

- เครื่อง Hot Plate with Magnatic Stirrer
- เครื่องระเหยตัวทำละลายแบบหมุน
- ตู้อบควบคุมอุณหภูมิ
- อ่างน้ำแบบควบคุมอุณหภูมิได้
- เครื่องกรอง Buchner (B-169 Vacuum system)

3.1.4 เครื่องมือในการวิเคราะห์

- เครื่อง Polarized Light Microscopy (PLM)(Olympus CH-2, Japan)
- กล้องถ่ายภาพแบบ digital พร้อมชุด adapter สำหรับเชื่อมต่อเข้ากับ PLM Olympus CAMEDIA digital camera (model NO. C-7070 Wide Zoom, 7.1 Megapixel, Japan)
- เครื่อง Differential Scanning Calorimeter ยี่ห้อ PerkinElmer รุ่น DSC 8000(
- เครื่อง Gas Chromatograph Model (GC-MS) ยี่ห้อ TEK MAR DOHRMANN รุ่น TEK MAR
- เครื่อง High-performance liquid Chromatography-UV Detektor (HPLC, Shimadzu SPD-M20A)
- เครื่อง pulsed-nuclear magnetic resonance หรือ p-NMR ของบริษัท BRUKER รุ่น the minispec mq20

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การสกัดน้ำมันเมล็ดมะม่วง

- นำเมล็ดมะม่วงแช่แข็งไปอบแห้งด้วยตู้อบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 65 °c เวลาประมาณ 6 ชั่วโมง
- นำเมล็ดมะม่วงอบแห้งไปบดด้วยเครื่องบดละเอียด
- สกัดน้ำมันจากเมล็ดมะม่วงผงด้วยเครื่อง Soxhlet extraction ในอัตราส่วนเมล็ดมะม่วงผง 400g ต่อ hexane 1000 ml
- นำน้ำมันที่สกัดได้ไปทำให้บริสุทธิ์โดยการประยุกต์ใช้วิธี Wesson

3.2.2 การตกผลึกแยกส่วน

- เตรียมน้ำมันเมล็ดมะม่วงบริสุทธิ์ทำการ fractionation ที่ อุณหภูมิ 21, 23 และ 25 ในอัตราส่วน 1:2 (น้ำมัน:อะซิโตน) ที่ระยะเวลา 3 ชั่วโมง, 1 วัน, 2 วัน และ 3 วัน

-เมื่อตกผลึกตามอุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆจนครบ จึงนำมาแยกน้ำมันเป็นส่วนแข็งและส่วนเหลวโดยใช้เครื่องกรองสุญญากาศ และระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง evaporation จากนั้นนำตัวอย่างไปเก็บในขวดที่บดแสงที่อุณหภูมิ 18 °C

3.2.3 การศึกษาการตกผลึกของน้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนต่างๆ

1) การศึกษาองค์ประกอบกรดไขมัน

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

2) การศึกษาองค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์

ทำการศึกษาองค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ด้วย High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ตามกรรมวิธีของ AOCS Official Method Ce5b-89 (AOCS, 1997) โดยใช้ column เป็นแบบ reverse phase C-18 (inertsill ODS-3; particle size 5 ไมโครเมตร; ขนาด 4.6 x250 มิลลิเมตร จำนวน 2 column) mobile phase คือ acetone : acetonitrile (70:-30) อัตราการไหล 0.72 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิคอลัมน์ที่ใช้เท่ากับ 30°C Injection volume 20 ไมโครลิตร และมี detector SPD-M20A หรือ diode array detector มีความยาวคลื่น

เท่ากับ 210 นาโนเมตร การระบุชนิดของไตรกลีเซอไรด์อาศัยค่า retention time ของไตรกลีเซอไรด์มาตรฐาน และอาศัยการเปรียบเทียบจากงานวิจัยด้านการวิเคราะห์ไขมันและน้ำมันโดย HPLC โดยอ้างอิงจากงานวิจัยของ (khatoon และคณะ., 2012) และรายงานปริมาณไตรกลีเซอไรด์จากร้อยละของพื้นที่ใต้กราฟของพีคไตรกลีเซอไรด์ที่เกิดขึ้นบนโครมาโตแกรมทั้งหมด

3) การศึกษาหลักการตกผลึกและการหลอมเหลว

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

4) การศึกษาค่าการเป็นของแข็งในรูปผลึก

ทำการศึกษาค่าเปอร์เซ็นต์การเป็นของแข็งในรูปผลึก (solid fat content: SFC) ที่อุณหภูมิต่างๆด้วย pulsed-nuclear magnetic resonance หรือ p-NMR ตามกรรมวิธีของ (Fiebig และ Lüttke, 2003) แล้วนำค่า SFC ที่วัดได้มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิในการตกผลึก (แกนนอน) และค่า SFC (แกนตั้ง) เพื่อศึกษาระดับการตกผลึกที่อุณหภูมิต่างๆ เพื่อให้ทราบว่าที่อุณหภูมิต่างๆ ตั้งแต่ 10-50 °C นั้น ตัวอย่างน้ำมันมีของแข็งในรูปผลึกคิดเป็นกี่เปอร์เซ็นต์ของผลึกทั้งหมดโดยน้ำหนัก และเพื่อให้ทราบพฤติกรรมหรือลักษณะการหลอมเหลวของตัวอย่างว่าที่อุณหภูมิเพิ่มขึ้นจาก

10 °C ไปยัง 50 °C นั้น ตัวอย่างเกิดการหลอมละลายอย่างรวดเร็วหรืออย่างช้าๆ ในปาก

5) การศึกษาสัณฐานผลึกของน้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนต่างๆ

ทำการศึกษาลักษณะรูปร่างผลึก ถูกลำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง polarized light microscopy (PLM) (Olympus BX51, Olympus Optical Co., Ltd., Tokyo, Japan) ตามกรรมวิธีของ (Liu และคณะ, 2010) โดยอาศัยกล้องจุลทรรศน์และเชื่อมต่ออุปกรณ์กับกล้องดิจิทัล (Olympus C-7070, Olympus Optical Co., Ltd.,

Tokyo, Japan) โดยนำตัวอย่างไขมันมาหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 80°C จนละลายหมด พร้อมกับทำการคนให้เข้ากัน แล้วเปิดตัวอย่างมา 20 μ l หยดลงบนกระจกสไลด์และปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ จากนั้นนำไปเก็บในตู้ควบคุม อุณหภูมิ 18 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปวางบนแท่นวางสไลด์ของเครื่อง PLM ใช้กำลังขยาย 100 เท่า เพื่อศึกษาลักษณะรูปร่าง ขนาด และจำนวนผลึกของแต่ละตัวอย่าง เพื่อให้ทราบว่าตัวอย่างของน้ำมันนั้นเมื่อตกผลึกแล้วรูปร่างและลักษณะของผลึก รวมถึงขนาดของผลึกจะมีแนวโน้มที่จะเป็นแบบใด

จากนั้น เลือกน้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนที่ให้ปริมาณกรดสเตียริกสูงและให้ yield สูง มาผสมกับน้ำมันคาโนล่า และในบางกรณีมีการเติมน้ำมันปาล์มสเตียรีน น้ำมันปาล์มสเตียรีนที่ผ่านการทำไฮโดรจิเนชันโดยสมบูรณ์ และ กรดสเตียริกทางการค้า แล้วทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันโดยใช้เอนไซม์ดังมีรายละเอียดของการทดลองดังนี้

3.2.4 การทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันโดยใช้เอนไซม์

ทำการชั่งมวลของ substrates รวมกันเป็น 5 กรัม ใส่ลงใน erlenmeyer flask ขนาด 50 ml และใส่ magnetic bar แล้วนำไปให้ความร้อนที่ 65°C เป็นเวลานาน 10 นาที แล้วจึงเติมเอนไซม์ในปริมาณ 5% ของ (โดยน้ำหนัก) substrates จากนั้นนำ erlenmeyer flask ไปจุ่มใน water-jacketed beaker ที่มีน้ำร้อนอุณหภูมิ 65°C ไหลวน โดยอุปกรณ์ทั้งหมดนี้จะวางอยู่บน magnetic-stirrer plate ที่ปรับความเร็วรอบของการหมุนของ magnetic bar ไว้เป็น 200 rpm เอนไซม์ที่จะใช้เป็นเอนไซม์ไลเปสตรังรูปมีชื่อทางการค้าว่า LipozymeTM ผลิตโดย Novozyme Laboratory Inc. (Copenhagen, Denmark) ซึ่งเป็นชนิด *sn*-1,3 specific lipase ผลิตจากเชื้อราชื่อ *Mucor miehei* โดยเอนไซม์ถูกตรึงบน macroparticulate ion exchange resin มีค่า a_w เริ่มต้นเป็น 0.12 ซึ่งสามารถเตรียมได้โดยการเก็บเอนไซม์ไว้ข้ามคืนในเตาอบแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 40°C แล้วนำไปเก็บไว้ในโถ desiccator ที่บรรจุสารละลายเกลืออิ่มตัว LiCl เก็บไว้ที่อุณหภูมิคงที่เป็นระยะเวลา 5 วัน หรือจนกระทั่งน้ำหนักคงที่ หลังจาก 24 ชั่วโมงของการทำปฏิกิริยาผ่านไป (หรือตามระยะเวลาที่ต้องการ) นำน้ำมันที่ผ่านการดัดแปลงโครงสร้างหลังการเกิดปฏิกิริยาไปแยกเอนไซม์ออกอย่างรวดเร็วด้วยการกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 41 หลังจากนั้นนำน้ำมันไปผ่านการทำให้บริสุทธิ์ (purification) เพื่อแยกโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ออกมาจากโมเลกุลเจอบนอื่นๆ ด้วยการ 1) ทำให้เป็นกลาง (neutralization) เพื่อกำจัดกรดไขมันอิสระ และ 2) กำจัดไตรกลีเซอไรด์และโมโนกลีเซอไรด์ออกไปจากน้ำมัน จากนั้นนำน้ำมันที่ได้ไปศึกษาพฤติกรรมการตกผลึกตามกรรมวิธีในหัวข้อ 3.2.3

บทที่ 4

ผลการทดลองและการอภิปราย

4.1 การสกัดน้ำมันเมล็ดมะม่วง

เมื่อทำการสกัดน้ำมันจากเมล็ดมะม่วงด้วยเครื่อง Soxhlet ตามวิธีของ Solis-Fuentes และDuran-de-Bazua (2004) แล้วนำไปทำให้น้ำมันบริสุทธิ์แล้วจะได้ปริมาณ % yield น้ำมัน เท่ากับ 5.13 % โดยเมื่อนำมาตกผลึกแยกส่วนที่ระยะเวลาและอุณหภูมิต่างๆ ได้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ปริมาณผลผลิตของน้ำมันตัวอย่างที่ระยะเวลาและอุณหภูมิตกผลึกต่างกัน

	น้ำหนักน้ำมันเริ่มต้น	น้ำหนักผลึกส่วนแข็ง	
อุณหภูมิและเวลาในการตกผลึก	(g)	(g)	% yield
21°C 3 hr	3.00	0.55	18.33
21°C 1 d	3.00	1.89	63.00
23°C 1 d	3.00	0.47	15.67
23°C 2 d	3.00	0.50	16.67
23°C 3 d	3.00	0.62	20.67
25°C 1 d	3.00	0.32	10.67
25°C 2 d	3.00	0.40	13.33
25°C 3 d	3.00	0.55	18.33

4.2 การศึกษาการตกผลึกแยกส่วนน้ำมันเมล็ดมะม่วง

4.2.1 การศึกษาองค์ประกอบกรดไขมัน

องค์ประกอบกรดไขมันหลักของน้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนแข็งและส่วนเหลวของน้ำมันเมล็ดมะม่วงหลังการตกผลึกแยกส่วนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4 และ 5 จากตารางจะเห็นว่าส่วนแข็งของน้ำมัน

เมสตีดมะม่วงหลังการการตกผลึกแยกส่วนจะมีปริมาณกรดสเตียริก (C18) สูงกว่าส่วนเหลว และส่วนแข็งที่ 23°C ตกผลึกเป็นเวลา 2 วันมีปริมาณของกรดสเตียริกสูงที่สุดแต่ให้ yield ต่ำมาก (< 2 %) การเพิ่มขึ้นของกรดไขมันอิ่มตัวสายยาว (ในที่นี้คือกรดสเตียริก) ในไขมันส่วนแข็งเมื่อเทียบกับน้ำมันตั้งต้นและน้ำมันส่วนเหลวนั้นได้มีการงานไว้ในหลายงานวิจัย เช่น งานวิจัยของ Marikkar และคณะ (2013), Yella Reddy (2010) และ Zaliha และคณะ (2004) ที่เป็นเช่นนี้เพราะกรดไขมันสายยาวมีจุดหลอมเหลวสูงกว่าจึงตกผลึกรวมอยู่ในส่วนแข็งของไขมันหลังจากการตกผลึกแยกส่วนนั่นเอง และส่วนแข็งอื่นๆ ที่เหลือยกเว้นส่วนแข็งที่ได้จากการตกผลึกที่ 21°C เป็นเวลา 1 วัน ให้ yield ต่ำกว่า 5% ในขณะที่ส่วนแข็งที่ได้จากการตกผลึกที่ 21°C เป็นเวลา 1 วัน นั้นแม้จะมีปริมาณกรดสเตียริกต่ำกว่าส่วนอื่นแต่ให้ yield ที่สูงถึง 63% ซึ่งจะเหมาะสมกว่าในการผลิตระดับอุตสาหกรรมเมื่อพิจารณาแล้วจึงได้เลือกส่วนแข็งดังกล่าวไปใช้ในการทำปฏิกิริยาเอนอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันด้วยเอนไซม์กับน้ำมันคาโนล่าเพื่อผลิตไขมันที่มี SOS ในปริมาณสูงต่อไป

Fatty acids	ตั้งต้น	21c3hr	21c1d	23c1d	23c2d	23c3d	25c1d	25c2d	25c3d
C16(P)	6.87	5.10	6.51	5.74	5.75	5.77	5.38	5.17	5.46
C18(S)	43.64	55.95	46.47	56.03	58.2	56.31	54.83	58.58	59.01
C18-1(O)	39.03	29.92	39.56	31.25	29.77	30.68	31.37	29.00	29.35
C18-2(L)	4.55	2.84	4.24	3.13	2.95	2.95	3.34	3.42	2.93
others	6.31	6.12	3.52	4.12	4.73	4.82	5.42	3.89	3.41

ตารางที่ 4 องค์ประกอบกรดไขมันของน้ำมันเมสตีดมะม่วง และส่วนแข็งของน้ำมันเมสตีดมะม่วงหลังการตกผลึกแยกส่วนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ (pure คือน้ำมันมะม่วงตั้งต้น)

Fatty acids	ตั้งต้น	21c3hr	21c1d	23c1d	23c2d	23c3d	25c1d	25c2d	25c3d
C16(P)	6.87	6.60	8.63	7.25	6.90	7.08	6.59	6.66	6.94
C18(S)	43.64	42.62	35.54	44.29	43.47	44.12	42.61	42.88	43.92
C18-1(O)	39.03	40.30	44.43	40.71	40.58	40.80	41.14	41.71	40.93
C18-2(L)	4.55	4.84	6.68	5.5	4.95	5.31	5.96	5.49	5.02
others	6.31	6.51	4.71	3.45	4.35	3.62	4.82	5.28	4.72

ตารางที่ 5 องค์ประกอบกรดไขมันของน้ำมันเมล็ดมะม่วง และส่วนเหลือของน้ำมันเมล็ดมะม่วงหลังการตกผลึกแยกส่วนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

4.2.2 การศึกษาองค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์

องค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันเมล็ดมะม่วงและส่วนแข็งของน้ำมันเมล็ดมะม่วงหลังการการตกผลึกแยกส่วนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ ได้แสดงไว้ในตารางที่ 6 จากตารางจะเห็นได้ว่าองค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์หลักๆ ในน้ำมันเมล็ดมะม่วงคือ SOS SLS SOO OOP และ SOP หลังการตกผลึกแยกส่วนแล้วพบว่าน้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนแข็งที่ได้จากการตกผลึกแยกส่วนที่ทุกอุณหภูมิและทุกเวลามีปริมาณของไตรกลีเซอไรด์ที่มีกรดสเตียริกเป็นองค์ประกอบถึง 2 ตัวในตำแหน่งที่ sn-1 และ sn-3 ของการเข้าจับกับกลีเซอรอลคือ SOS และ SLS เพิ่มขึ้นและมีการลดลงของปริมาณ SOO OOP และ SOP โดย SOS และ SLS นั้นพบมากที่สุดได้น้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนแข็งที่ได้จากการตกผลึกแยกส่วนที่ 23°C เป็นเวลา 2 วัน และที่ 23°C เป็นเวลา 1 วัน ตามลำดับ

องค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของส่วนเหลือทั้งหมด หลังการการตกผลึกแยกส่วนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ ได้แสดงไว้ในตารางที่ 7 ซึ่งจะเห็นได้ว่าหลังการตกผลึกแล้วน้ำมันเกือบทุกส่วนมีปริมาณของ SOS และ SLS ลดลง ทั้งนี้เพราะไตรกลีเซอไรด์ทั้งสองชนิดนี้ไปอยู่ในส่วนแข็งมากขึ้นนั่นเอง

การเพิ่มขึ้นของไตรกลีเซอไรด์ที่มีความอิ่มตัวสูงหรือในที่นี้ที่มีกรดไขมันอิ่มตัวสายยาวอย่างน้อย 2 ชนิดในโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ (SOS และ SLS) และการลดลงของไตรกลีเซอไรด์ที่มีความไม่อิ่มตัวสูง เช่น SOO และ OOP ในไขมันส่วนแข็งที่ได้จากการตกผลึกแยกส่วนนั้นได้มีการรายงานไว้หลายงานวิจัยก่อนหน้านี้ (Sonwai และคณะ, 2017; Kang และคณะ, 2013; Zaliha และคณะ, 2004)

Triacylglycerol									
(area %)	ตั้งต้น	21c3hr	21c 1d	23c 1d	23c 2d	23c 3d	25c 1d	25c 2d	25c 3d
OLO	3.9±0.3 ^a	3.5±0.2 ^{abc}	3.8±0.5 ^{ab}	2.9±0.4 ^d	3.7±0.6 ^{abc}	3.5±0.4 ^{abcd}	2.9±0.0 ^d	3.3±0.2 ^{bcd}	3.1±0.1 ^{cd}
SLL+OLP+SOLn	6.2±0.3 ^a	5.1±0.3 ^{bcd}	5.8±0.4 ^{ab}	4.4±0.5 ^{de}	5.3±0.2 ^{bc}	5.9±0.3 ^{ab}	4.3±0.2 ^e	5.2±0.3 ^{bc}	4.7±0.3 ^{cde}
PLP+SlnP	2.1±0.1 ^a	2.4±0.4 ^a	1.6±0.4 ^a	1.7±0.3 ^a	2±0.2 ^a	2.0±0.5 ^a	1.6±0.0 ^a	1.8±0.6 ^a	1.7±0.2 ^a
OOO	3.7±0.4 ^a	3.6±0.3 ^a	3.2±0.2 ^{ab}	3.1±0.3 ^{ab}	3.0±0.7 ^{ab}	3±0.2 ^{ab}	2.9±0.2 ^{ab}	2.5±0.3 ^b	2.5±0.2 ^b
OOP	12.2±0.2 ^a	9.0±0.2 ^c	9.9±0.5 ^{bc}	9.6±0.4 ^{bc}	9.2±0.2 ^c	9.8±0.3 ^{bc}	10.5±0.4 ^b	9.8±0.2 ^{bc}	10±0.7 ^{bc}
SLP+SlnS+POP	9.7±0.4 ^a	7.9±0.4 ^c	8.6±0.4 ^{bc}	9.2±0.1 ^{ab}	9.1±0.4 ^{ab}	9.5±0.2 ^a	9.1±0.7 ^a	9.4±0.4 ^{ab}	9.8±0.4 ^a
SOO	12.5±0.8 ^a	10.4±0.4 ^b	11.8±0.5 ^a	9.6±0.3 ^{bc}	9.0±0.3 ^{cd}	9.6±0.4 ^{bc}	9.6±0.5 ^{bc}	9.5±0.5 ^{bc}	8.4±0.5 ^d
SLS	14.7±1.1 ^a	15.3±0.7 ^a	15.6±0.8 ^a	14.8±0.6 ^a	14.5±0.6 ^a	15.3±0.6 ^a	15.5±0.3 ^a	16.3±0.7 ^a	16.1±0.8 ^a
SOP	6.1±0.8 ^a	4.7±0.6 ^a	5.0±0.4 ^a	6.0±0.5 ^a	5.9±0.4 ^a	5.6±0.2 ^a	6.1±0.5 ^a	5.5±0.2 ^a	5.8±0.9 ^a
SOS	22.1±1.6 ^d	29.8±1.5 ^{abc}	27.4±1.7 ^c	32.9±1.9 ^{ab}	33.5±2.3 ^a	29.3±1.7 ^{bc}	31.6±0.9 ^{ab}	30.4±1.4 ^{abc}	32.6±0.8 ^{ab}

ตารางที่ 6 องค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันเมล็ดมะม่วงและส่วนแข็งของน้ำมันเมล็ดมะม่วงหลัง การการตกผลึกแยกส่วนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

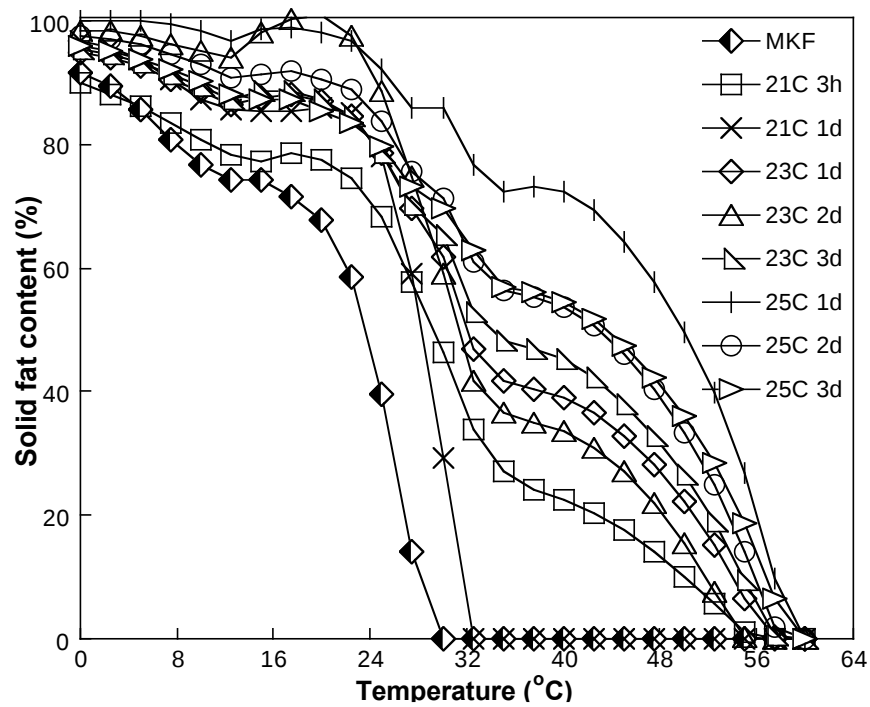
Triacylglycerol									
(area %)	ตั้งต้น	21c3hr	21c 1d	23c 1 d	23c 2d	23c 3 d	25c 1d	25c 2 d	25c 3 d
OLO	3.9±0.3 ^b	4.6±0.3 ^{ab}	4.9±0.4 ^{ab}	4.6±0.4 ^{ab}	4.8±0.3 ^{ab}	4.4±0.6 ^{ab}	5.0±0.7 ^a	5.3±0.2 ^a	4.3±0.1 ^{ab}
SLL+OLP+SOLn	6.2±0.3 ^c	7.0±0.3 ^b	7.8±0.3 ^b	7.2±0.1 ^{ab}	6.7±0.3 ^{bc}	6.7±0.3 ^{bc}	6.8±0.4 ^{bc}	6.9±0.3 ^{bc}	6.9±0.4 ^{bc}
PLP+SlnP	2.1±0.1 ^b	2.1±0.4 ^b	2.1±0.2 ^b	2.1±0.0 ^b	2.7±0.2 ^a	2.5±0.1 ^a	2.2±0.3 ^b	2.3±0.0 ^a	2.6±0.3 ^a
OOO	3.7±0.4 ^a	3.8±0.3 ^a	4.1±0.3 ^a	3.7±0.2 ^a	4.1±0.3 ^a	4.2±0.2 ^a	4.1±0.2 ^a	4.0±0.1 ^a	3.9±0.2 ^a
OOP	12.2±0.2 ^{bc}	12.4±0.8 ^{bc}	14.4±0.7 ^a	11.8±0.5 ^{bc}	13.1±0.4 ^b	12.3±0.5 ^{bc}	12.6±0.6 ^b	12.5±0.4 ^b	11.0±0.5 ^c
SLP+SlnS+POP	9.7±0.4 ^a	9.7±0.8 ^a	10.8±0.4 ^a	10.5±0.6 ^a	10.5±0.5 ^a	11.1±0.4 ^a	10.7±0.7 ^a	10.6±0.5 ^a	10.3±0.7 ^a
SOO	12.5±0.8 ^e	15.2±1.1 ^e	16.6±0.6 ^a	14.2±0.7 ^{cd}	15.9±0.7 ^{abc}	15.3±0.7 ^{abc}	14.5±0.5 ^{bcd}	13.5±0.6 ^{de}	16.2±0.7 ^{ab}
SLS	14.7±1.1 ^{ab}	16.3±1.2 ^{ab}	13.3±0.6 ^b	16.7±1.1 ^a	15.1±0.7 ^{ab}	15.3±0.4 ^{ab}	15.5±0.6 ^a	16.2±0.8 ^a	14.9±0.4 ^{ab}
SOP	6.1±0.8 ^{abc}	5.2±0.3 ^{abc}	4.1±0.4 ^e	6.4±0.4 ^{ab}	4.6±0.2 ^{de}	5.5±0.2 ^{bc}	5.4±0.3 ^{cd}	5.3±0.3 ^{cd}	6.6±0.2 ^a
SOS	22.1±1.6 ^a	23.3±1.3 ^a	11.7±1.2 ^b	22.5±1.4 ^a	22.5±1.7 ^a	22.6±1.8 ^a	22.9±1.4 ^a	22.8±0.7 ^a	22.8±0.9 ^a

ตารางที่ 7 องค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันเมล็ดมะม่วงและส่วนเหลวของน้ำมันเมล็ดมะม่วงหลังการการตกผลึกแยกส่วนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

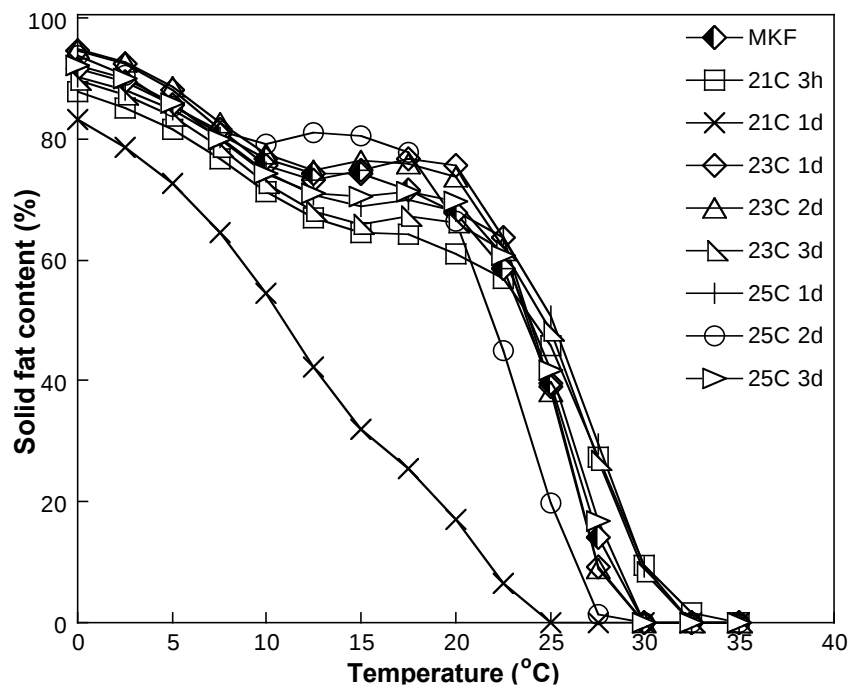
4.2.3 การศึกษาค่าเปอร์เซ็นต์การเป็นของแข็งในรูปผลึก

ภาพที่ 6 แสดงค่าเปอร์เซ็นต์การเป็นของแข็งในรูปผลึก หรือ solid fat content (SFC) ที่อุณหภูมิต่างๆ ของน้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนแข็งที่ได้จากการตกผลึกแยกส่วนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ จากภาพจะเห็นว่า SFC ของทุกตัวอย่างจะลดลงตามการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิ ทั้งนี้เพราะตัวอย่างเกิดการละลายที่อุณหภูมิสูงขึ้น โดยองค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ที่มีจุดหลอมเหลวต่ำจะเกิดการละลายก่อนและตามมาด้วยไตรกลีเซอไรด์ที่มีจุดหลอมเหลวสูง ค่า SFC ของน้ำมันเมล็ดมะม่วงตั้งต้นมีค่าต่ำกว่าของส่วนแข็งทุกตัวอย่างซึ่งให้ค่า SFC ที่แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดตลอดช่วงของอุณหภูมิที่ทำการศึกษา และ SFC ของส่วนแข็งที่ 25°C 1 วัน มีค่าสูงที่สุดเกือบทุกอุณหภูมิ ยกเว้น ที่ 18-22°C ที่ส่วนแข็งที่ 23°C 2 วันให้ค่า SFC ที่สูงกว่า นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบเฉพาะส่วนแข็งจะพบว่า ส่วนแข็งที่ 21°C 3 ชั่วโมง ให้ค่า SFC ต่ำที่สุดในช่วงอุณหภูมิที่ต่ำกว่า 28°C ซึ่งที่อุณหภูมิตั้งแต่ 28°C เป็นต้นไปนั้นส่วนแข็งที่ 21°C 1 วัน กลับให้ค่า SFC ที่ต่ำที่สุดแทน ซึ่งค่า SFC นั้นมีความสัมพันธ์กับชนิดและปริมาณขององค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ กล่าวคือสาเหตุที่ส่วนแข็งที่ 25°C 1 วัน ให้ค่า SFC สูงที่สุดนั้นเป็นเพราะมีไตรกลีเซอไรด์ชนิดที่มีจุดหลอมเหลวสูงคือ SOS และ SLS ในปริมาณมาก แต่มีไตรกลีเซอไรด์ชนิดที่มีจุดหลอมเหลวต่ำ เช่น OOO ในปริมาณต่ำนั่นเอง การเพิ่มขึ้นของค่า SFC ในน้ำมันส่วนแข็งเมื่อเทียบกับน้ำมันตั้งต้นและน้ำมันส่วนเหลวนั้นสอดคล้องกับที่มีรายงานไว้โดย Jin และคณะ (2017) ซึ่งได้ทำการตกผลึกแยกส่วนน้ำมันเมล็ดมะม่วงสายพันธุ์จินโดยใช้ไอโซเฮกเซนเป็นตัวทำละลายแล้วพบการเพิ่มขึ้นของค่า SFC ในน้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนแข็ง

ค่า SFC ของน้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนเหลวได้ให้ไว้ในภาพที่ 7 ซึ่งจะเห็นได้ว่าค่า SFC ของส่วนเหลวเกือบทุกส่วนมีค่าใกล้เคียงกับของน้ำมันเมล็ดมะม่วงตั้งต้นยกเว้นส่วนเหลวที่ได้จากการตกผลึกที่ 21°C 1 วัน ที่ให้ค่า SFC ต่ำกว่า ทั้งนี้อาจเป็นเพราะตัวอย่างนี้มีปริมาณของไตรกลีเซอไรด์ที่มีความไม่อิ่มตัวสูงเช่น OOO OLO และ OOP ในปริมาณมากนั่นเอง



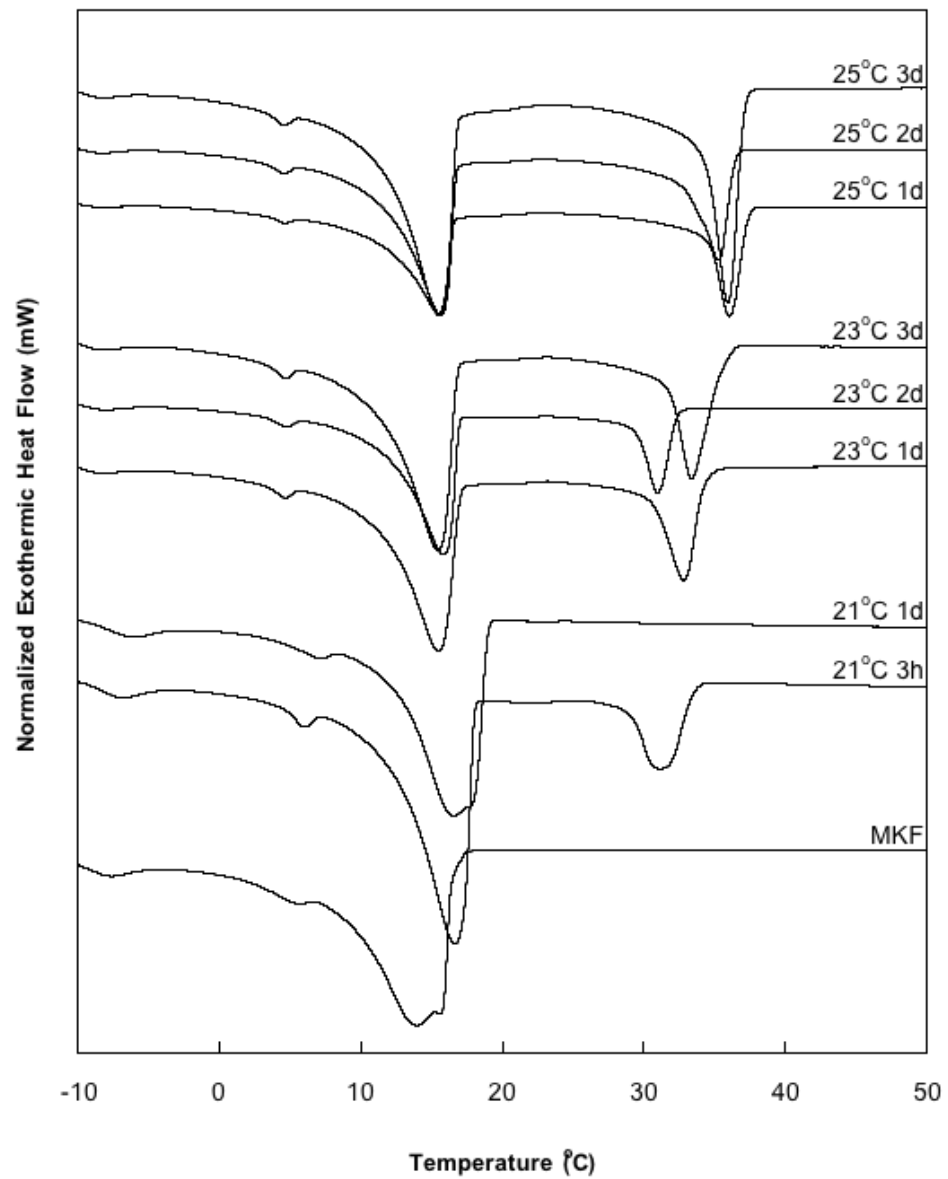
ภาพที่ 6 ค่าเปอร์เซ็นต์การเป็นของแข็งในรูปผลึกของน้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนแข็งที่ได้จากการตกผลึกแยกส่วนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ



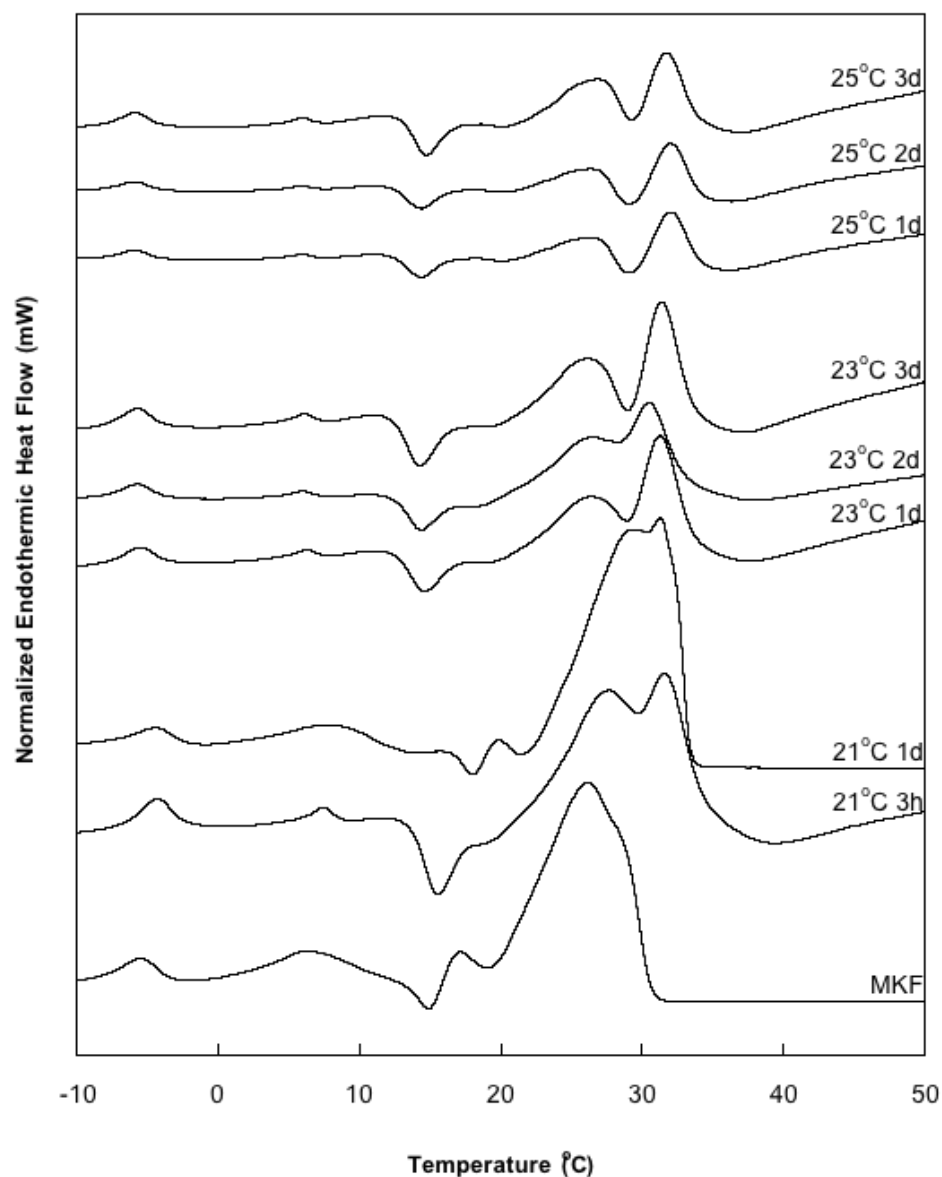
ภาพที่ 7 ค่าเปอร์เซ็นต์การเป็นของแข็งในรูปผลึกของน้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนเหลวที่ได้จากการตกผลึกแยกส่วนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

4.2.4 การศึกษาพฤติกรรมการตกผลึกและการหลอมเหลว

Crystallization thermogram และ melting thermogram ของน้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนแห้งที่ได้จากการตกผลึกแยกส่วนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ ได้แสดงไว้ในภาพที่ 8 และ 9 ตามลำดับ จากภาพจะเห็นว่าน้ำมันเมล็ดมะม่วงตั้งต้นมีพีคของการตกผลึก 1 พีคหลักที่ประมาณ 12°C แต่ส่วนแห้งทุกอย่าง ยกเว้นที่ได้จากการตกผลึกที่ 21°C 1 วัน มีพีคของการตกผลึกหลัก 2 พีค คือพีคที่อุณหภูมิสูง $30-40^{\circ}\text{C}$ และพีคที่อุณหภูมิต่ำกว่าที่ $15-18^{\circ}\text{C}$ โดยพีคที่ $30-40^{\circ}\text{C}$ นั้นน่าจะแสดงการตกผลึกของไตรกลีเซอไรด์ในกลุ่มที่มีจุดหลอมเหลวสูงหรือมีกรดสเตียริกเป็นองค์ประกอบอยู่ในปริมาณมาก เช่น SOS และ SLS เป็นต้น ส่วนพีคที่อุณหภูมิ $15-18^{\circ}\text{C}$ น่าจะแสดงการตกผลึกของไตรกลีเซอไรด์ในกลุ่มที่มีจุดหลอมเหลวดำลงไป เช่น OOO และ OLO เป็นต้น ซึ่งเมื่อดูที่องค์ประกอบกรดไขมันในส่วนแห้ง (ตารางที่ 4) แล้วจะเห็นว่าปริมาณกรดสเตียริกเพิ่มสูงขึ้นมาจากน้ำมันเมล็ดมะม่วงตั้งต้น ในขณะที่ส่วนแห้งที่ 21°C 1 วัน นั้นมีปริมาณกรดสเตียริกลดลงมาจากน้ำมันเมล็ดมะม่วงตั้งต้น ส่งผลให้ไม่มีพีคการตกผลึกของไตรกลีเซอไรด์ในกลุ่มที่มีจุดหลอมเหลวสูงที่ $30-40^{\circ}\text{C}$ เหมือนส่วนแห้งอื่นๆ ส่วน melting thermogram นั้นจะเห็นว่าตัวอย่างที่มีพีคการตกผลึกมากกว่า 1 พีคหลักก็จะแสดงพีคการหลอมเหลวมากกว่า 1 พีคหลักที่สอดคล้องกันด้วย ดังแสดงในภาพที่ 9 จากภาพจะเห็นว่าน้ำมันส่วนแห้งทุกอย่างมีช่วงการหลอมเหลวที่กว้างและมีช่วงการเปลี่ยนโครงสร้างผลึกที่อุณหภูมิประมาณ 15°C ในระหว่างการหลอมเหลวอีกด้วย โดยมีอุณหภูมิที่การหลอมเหลวสิ้นสุดอยู่ที่ $55-60^{\circ}\text{C}$ ยกเว้นส่วนแห้งที่ 21°C 1 วัน ที่มีอุณหภูมิการหลอมเหลวสิ้นสุดอยู่ใกล้เคียงกับของน้ำมันเมล็ดมะม่วงตั้งต้น



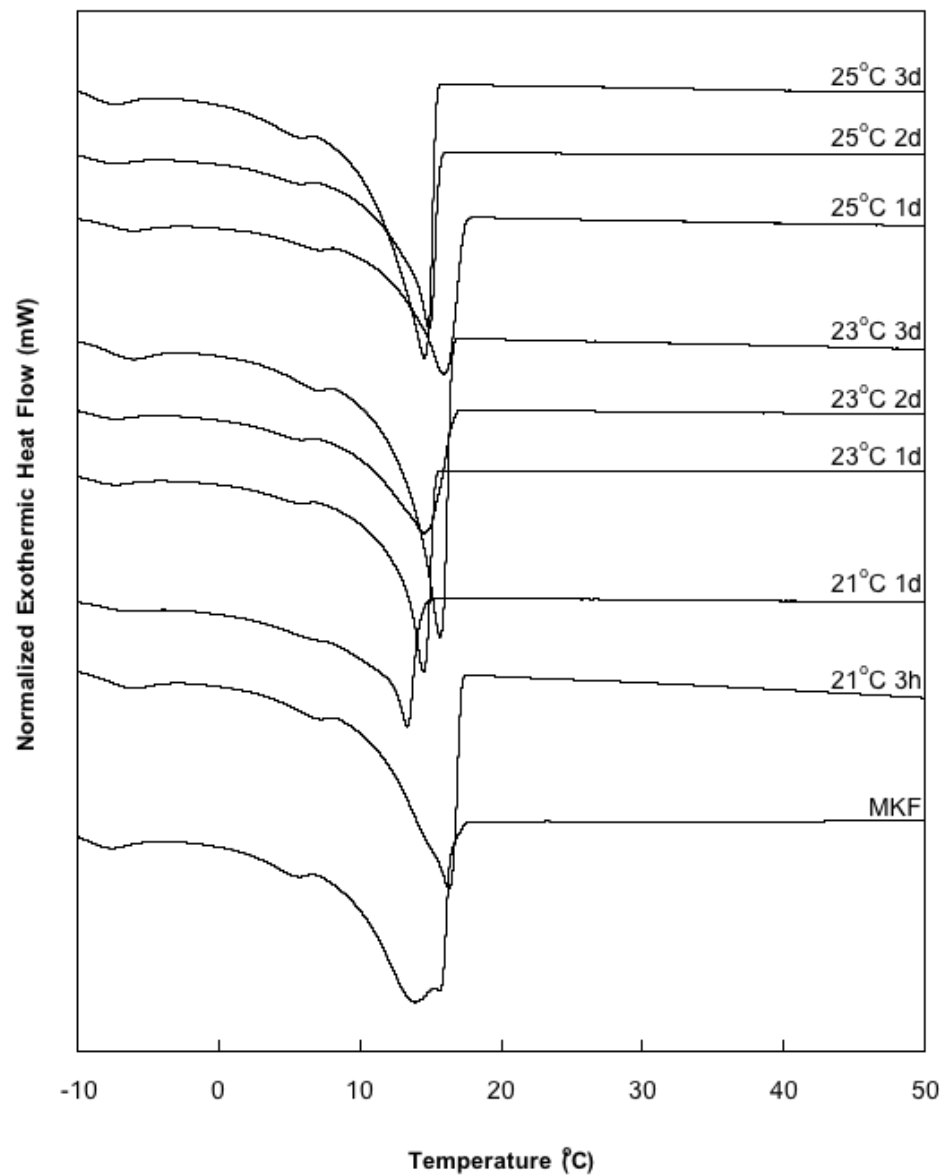
ภาพที่ 8 Crystallization thermogram ของน้ำมันเมล็ดมะม่วงหาวส่วนแข็งที่ได้จากการตกผลึกแยกส่วนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ



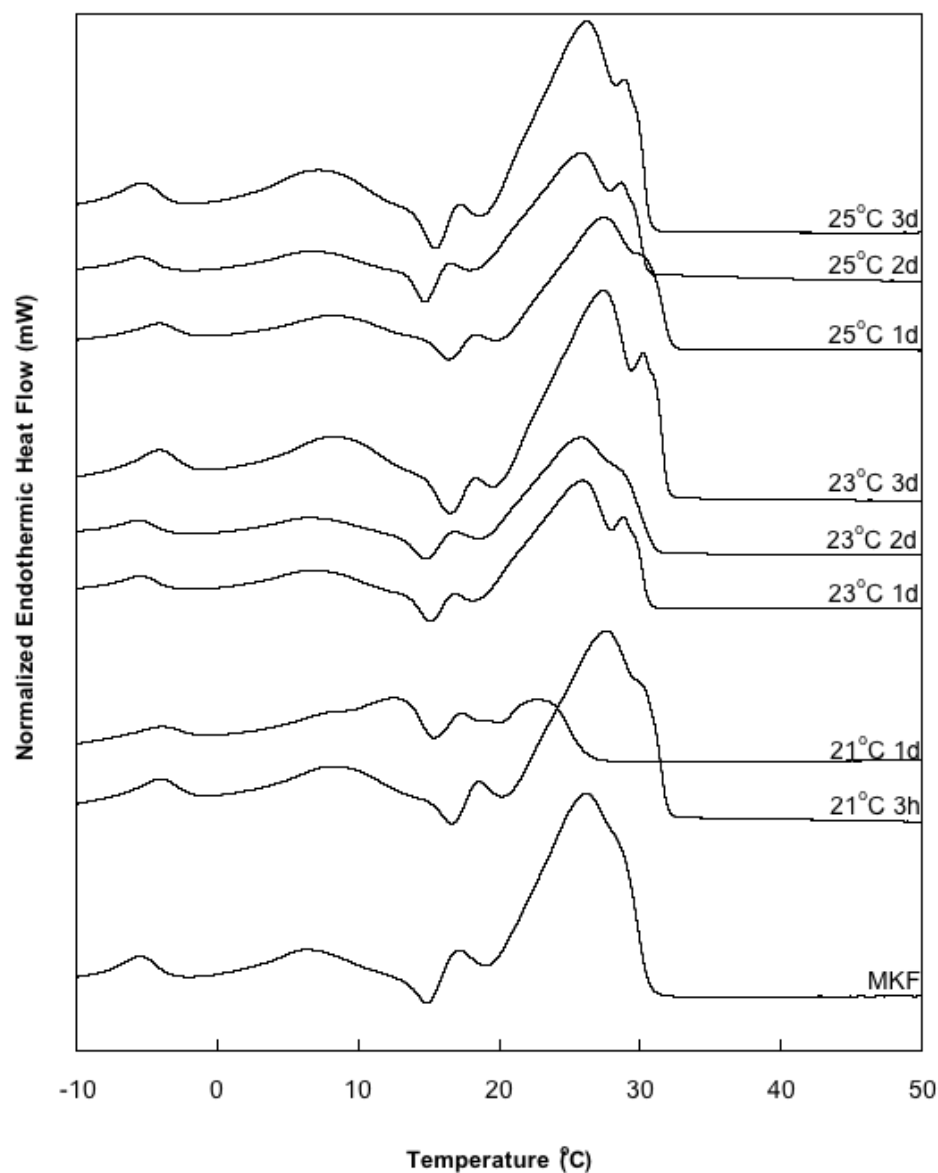
ภาพที่ 9 Melting thermogram ของน้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนแข็งที่ได้จากการตกผลึกแยกส่วนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

Crystallization thermogram และ melting thermogram ของน้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนเหลวที่ได้จากการตกผลึกแยกส่วนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ แสดงไว้ในภาพที่ 10 และ 11 ตามลำดับ ทั้งนี้จะเห็นว่าตัวอย่างส่วนเหลวทุกตัวอย่างมีลักษณะของ crystallization thermogram และ melting thermogram ที่ไม่แตกต่างกันมาก และไม่แตกต่างไปจากของน้ำมันเมล็ดมะม่วงตั้งต้น โดย melting thermogram ของน้ำมันส่วนเหลวทั้งหมดยังคงมีลักษณะเป็นช่วงกว้างเหมือนกับ melting thermogram ของน้ำมันส่วนแข็ง แต่อย่างไรก็ตามอุณหภูมิ

สุดท้ายของการหลอมเหลวของน้ำมันส่วนเหลวทั้งหมด (32-33°C) มีค่าต่ำกว่าของน้ำมันส่วนแข็งทั้งหมด (55-60°C) อยู่มาก ทั้งนี้จะเป็นเพราะว่าส่วนแข็งมีปริมาณกรดสเตียริกมากกว่าส่วนเหลวนั่นเอง



ภาพที่ 10 Crystallization thermogram ของน้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนเหลวที่ได้จากการตกผลึกแยกส่วนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

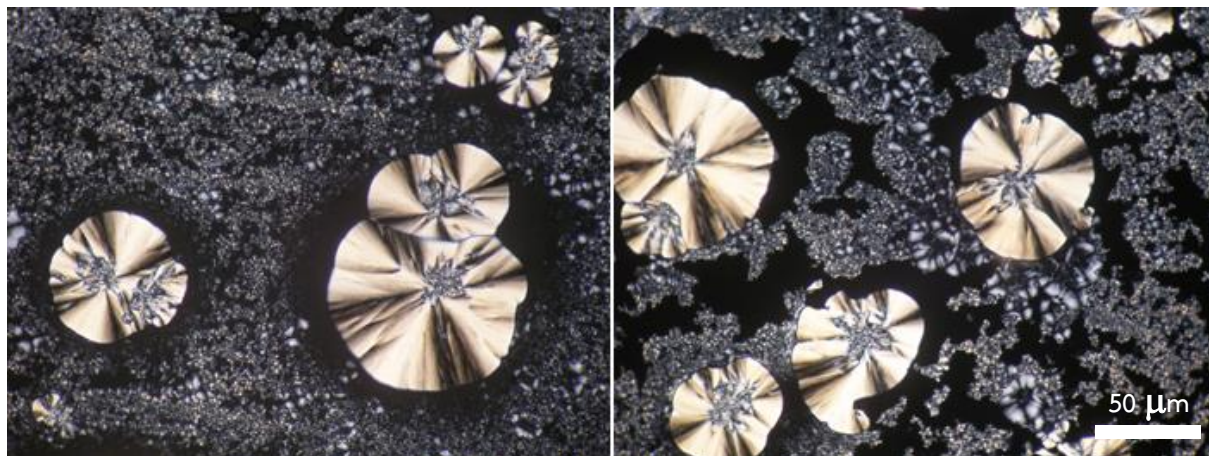


ภาพที่ 11 Melting thermogram ของน้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนเหลวที่ได้จากการตกผลึกแยกส่วนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

4.2.5 การศึกษาลักษณะปรากฏของผลึก

ภาพถ่ายผลึกของน้ำมันเมล็ดมะม่วงได้ให้ไว้ในภาพที่ 12 จากภาพจะเห็นได้ว่าน้ำมันเมล็ดมะม่วงประกอบไปด้วยผลึกที่มีลักษณะเป็นทรงกลมขนาดใหญ่กระจายอยู่ในแบคกราวด์ที่เป็นผลึกแบบเม็ด (granular) ขนาดเล็ก เป็นไปได้สูงที่ผลึกทั้งสองแบบมีองค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์และกรดไขมันที่ไม่เหมือนกัน (Chen และคณะ, 2015)

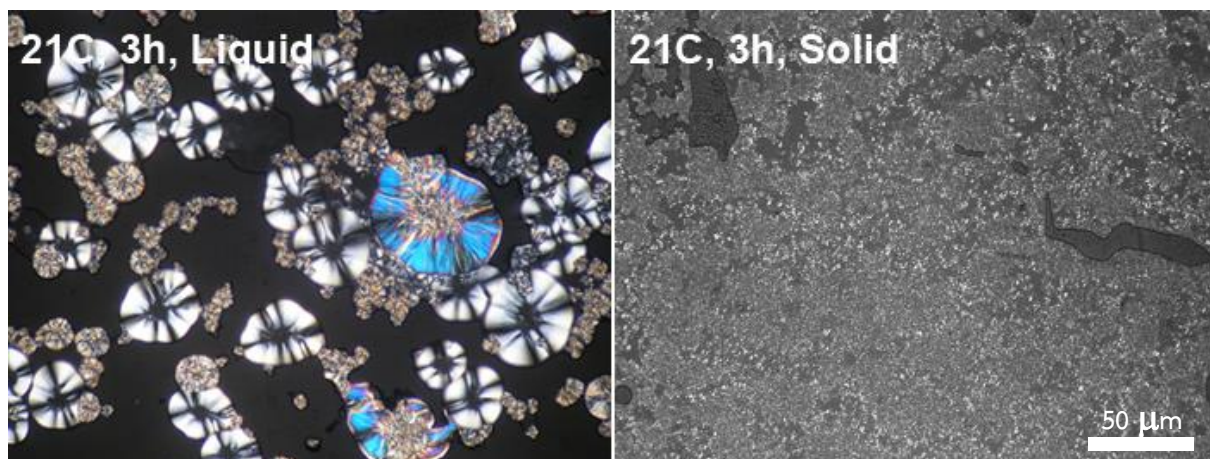
โดยผลึกแบบเม็ดขนาดเล็กน่าจะเป็นผลึกของไตรกลีเซอไรด์ที่มีกรดไขมันอิ่มตัว เช่น กรดสเตียริกและกรดปาล์มตริก เป็นองค์ประกอบอยู่ มากกว่าเมื่อเทียบกับไตรกลีเซอไรด์ของผลึกแบบทรงกลมขนาดใหญ่



ภาพที่ 12 ภาพถ่ายผลึกของน้ำมันเมล็ดมะม่วงงัดตั้งต้น

ภาพถ่ายผลึกของน้ำมันเมล็ดมะม่วงงัดที่อุณหภูมิ 21°C 3 ชั่วโมงได้ให้ไว้ในภาพที่ 13 จากภาพจะเห็น ได้ว่า น้ำมันเมล็ดมะม่วงงัดส่วนเหลวประกอบไปด้วยผลึกที่มีลักษณะเป็นทรงกลมขนาดเล็กไปจนถึงขนาดกลาง ผลึกทรงกลมทั้งสองขนาดประกอบไปด้วยผลึกรูปเข็มที่มาโตออกไปจากจุดศูนย์กลางในแนวรัศมีในทุกทิศทาง ทำให้มีรูปร่างเป็นทรงกลม ทั้งนี้ผลึกรูปเข็มที่เป็นองค์ประกอบของผลึกทรงกลมขนาดกลางมีความเล็กละเอียดมากกว่ามาก เป็นไปได้สูงที่ผลึกทั้งสองแบบมีองค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์และกรดไขมันที่ไม่เหมือนกัน ในทางกลับกัน ผลึกน้ำมันเมล็ดมะม่วงงัดส่วนแข็งประกอบไปด้วยผลึกแบบเม็ดกระจายกันอยู่ ขนาดของผลึกเล็กกว่ามากและมีจำนวนผลึกมากกว่ามากเมื่อเทียบกับผลึกของน้ำมันเมล็ดมะม่วงงัดส่วนเหลว การเพิ่มขึ้นของจำนวนผลึกและการลดลงของขนาดผลึกของน้ำมันเมล็ดมะม่วงงัดส่วนแข็งเมื่อเทียบกับน้ำมันตั้งต้นและน้ำมันส่วนเหลวนั้นได้มีการรายงานไว้ก่อนหน้านี้จากการศึกษาการตกผลึกแยกส่วนของน้ำมันมะพร้าวโดย Sonwai และคณะ (2017)

ภาพถ่ายผลึกของน้ำมันเมล็ดมะม่วงงัดทั้งส่วนแข็งและเหลวที่อุณหภูมิ 21°C 1 วันมีลักษณะเหมือนกับของที่ระยะเวลา 3 ชั่วโมง (ไม่ได้แสดงผล)

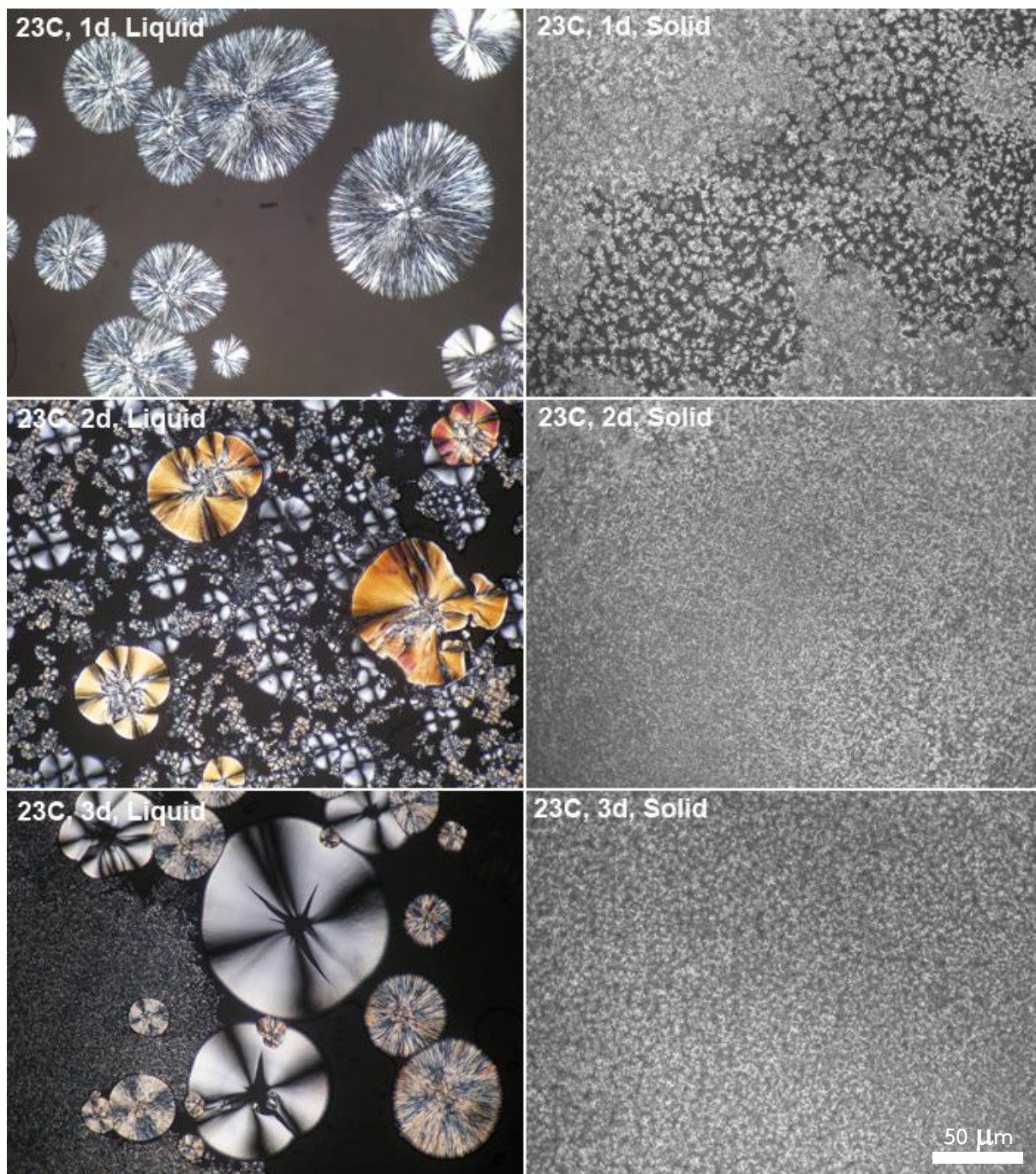


ภาพที่ 13 ภาพถ่ายผลึกของน้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนแข็งและส่วนเหลวที่ได้จากการตกผลึกแยกส่วนที่อุณหภูมิ 21°C

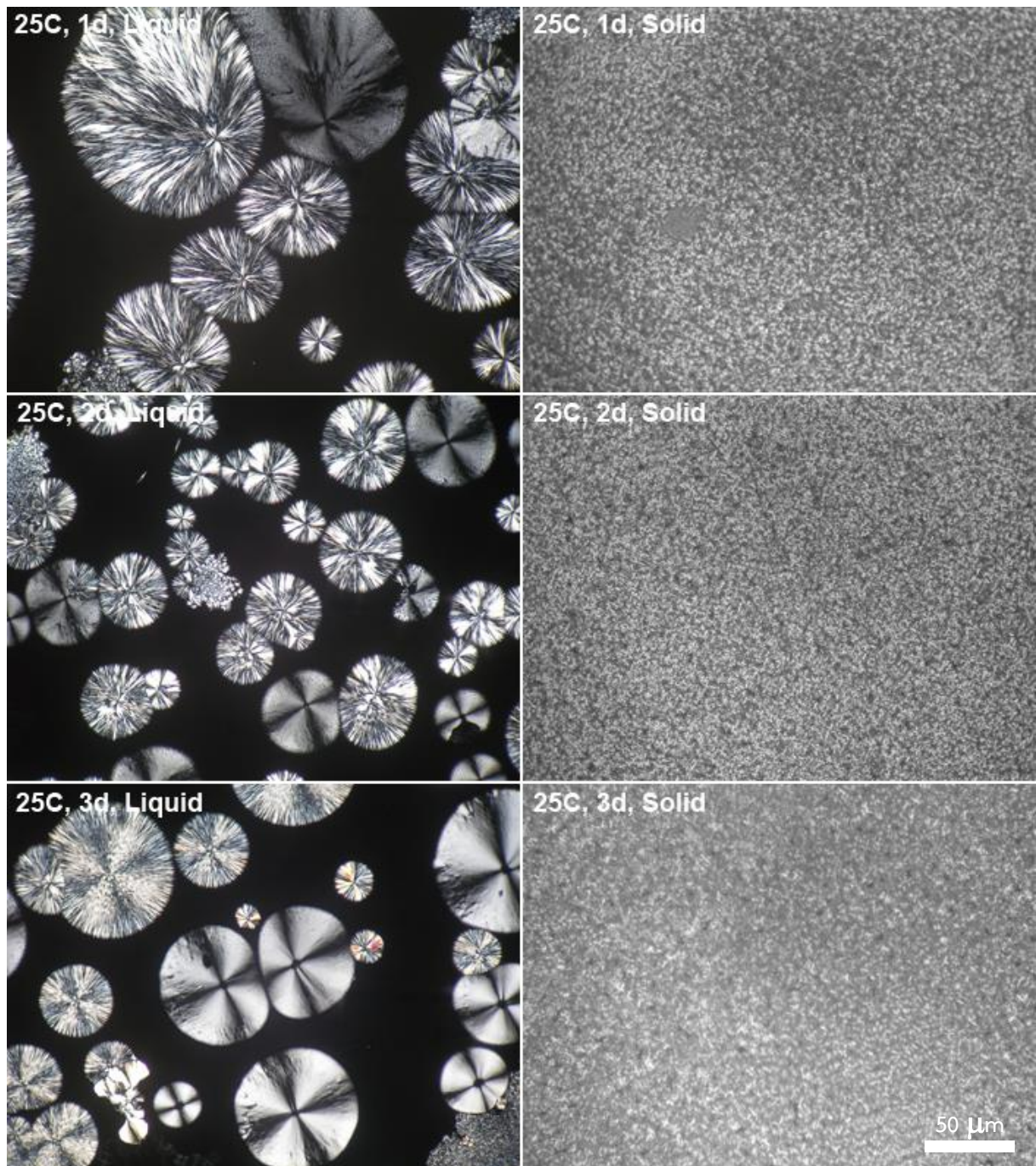
ภาพถ่ายผลึกของน้ำมันเมล็ดมะม่วงที่อุณหภูมิ 23°C 1, 2 และ 3 วัน ได้ให้ไว้ในภาพที่ 14 จากภาพจะเห็นได้ว่าน้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนเหลวที่ 1 วัน ประกอบไปด้วยผลึกที่มีลักษณะเป็นทรงกลมจากผลึกรูปเข็มขนาดเล็กไปจนถึงขนาดใหญ่ ส่วนผลึกของส่วนเหลวที่ 2 วันมีลักษณะเป็นทรงกลมที่มีความหลากหลายของขนาดและรูปร่างสูง และส่วนเหลวที่ 3 วันนั้นมีผลึกที่เป็นทั้งทรงกลมและผลึกที่เป็นเม็ดปะปนกัน โดยผลึกทรงกลมมีลักษณะที่แตกต่างกัน ส่วนผลึกน้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนแข็งทั้งที่ 1, 2 และ 3 วันประกอบไปด้วยผลึกแบบเม็ดกระจัดกระจายกันอยู่ ขนาดของผลึกเล็กกว่ามากและมีจำนวนผลึกมากกว่ามากเมื่อเทียบกับผลึกของน้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนเหลว

ภาพถ่ายผลึกของน้ำมันเมล็ดมะม่วงที่อุณหภูมิ 25°C 1, 2 และ 3 วัน ได้ให้ไว้ในภาพที่ 15 ซึ่งลักษณะรูปร่างของผลึกของทั้งส่วนเหลวและส่วนแข็งนั้นใกล้เคียงกับผลึกของส่วนเหลวและส่วนแข็งที่ตกผลึกแยกส่วนที่อุณหภูมิ 23°C เป็นเวลา 1, 2 และ 3 วัน ตามลำดับ

การที่ผลึกของน้ำมันส่วนแข็งมีขนาดเล็กกว่าและมีจำนวนมากกว่านั้นเป็นน้ำมันส่วนแข็งมีกรดไขมันและไตรกลีเซอไรด์ที่มีความอึดตัวมากกว่าและมีจุดหลอมเหลวสูงกว่า ทำให้มีแรงขับในการตกผลึกคือ supercooling สูงกว่าจึงเกิดการสร้างนิวคลีไออย่างรวดเร็วในจำนวนมากส่งผลให้ได้ผลึกที่มีขนาดเล็ก (Deman และ Beers, 1987)



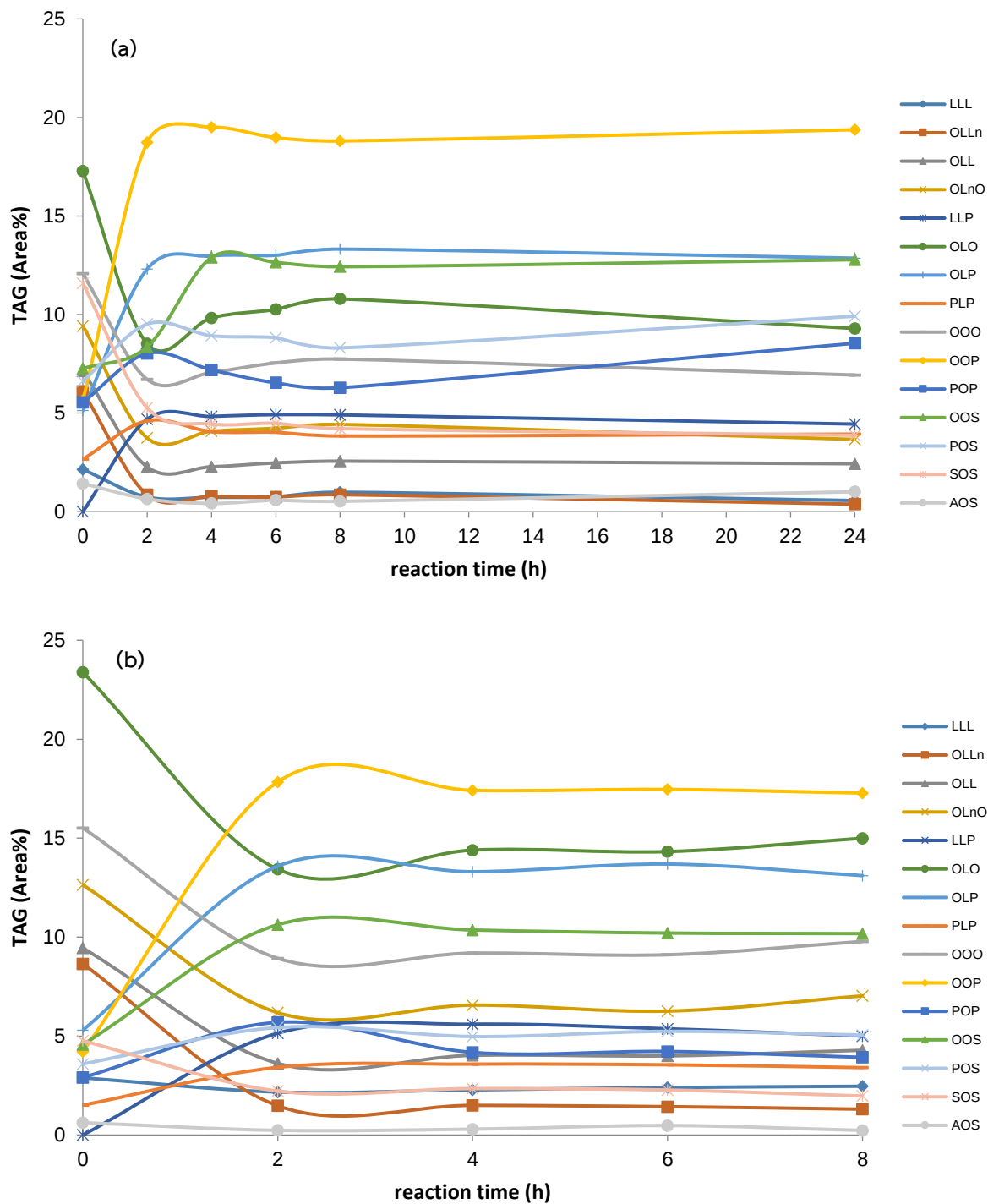
ภาพที่ 14 ภาพถ่ายผลึกของน้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนแข็งและส่วนเหลวที่ได้จากการตกผลึกแยกส่วนที่อุณหภูมิ 23°C



ภาพที่ 15 ภาพถ่ายผลึกของน้ำมันเมสตีตมะม่วงส่วนแข็งและส่วนเหลวที่ได้จากการตกผลึกแยกส่วนที่อุณหภูมิ 25 °C

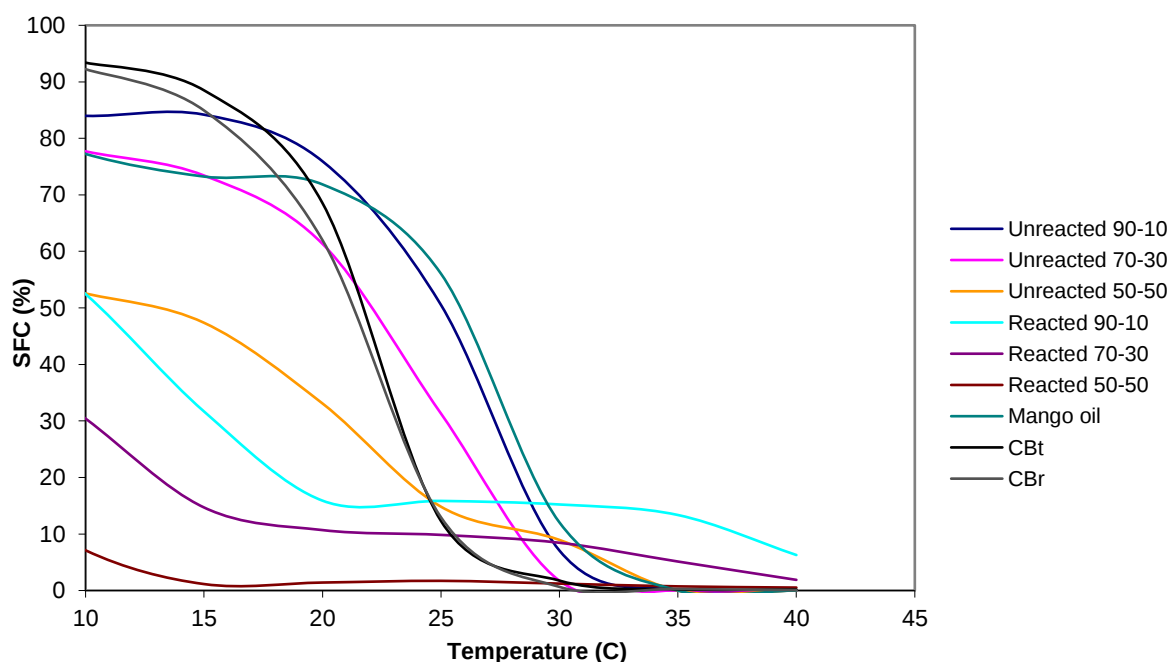
4.3 การศึกษาการทำปฏิกิริยาเอนอินเตอร์เอสเตอร์ิฟิเคชันด้วยเอนไซม์ของน้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนแข็งผสมกับน้ำมันคาโนล่า

จากการศึกษาในหัวข้อที่ 4.2 นั้นทำให้ทราบว่าน้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนแข็งที่ได้จากการตกผลึกแยกส่วนที่ 21°C 1 วัน เป็นส่วนที่เหมาะสมสำหรับการนำมาทำปฏิกิริยาเอนอินเตอร์เอสเตอร์ิฟิเคชันด้วยเอนไซม์ร่วมกับน้ำมันคาโนล่าเพื่อผลิตไขมันที่มี SOS ในปริมาณสูง โดยมีอัตราส่วนที่ผสมกันคือ 90-10, 70-30 และ 50-50 ของน้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนแข็ง-น้ำมันคาโนล่า (โดยน้ำหนัก) นำมาทำปฏิกิริยาที่ 65°C เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง อุณหภูมิ 65°C ถูกเลือกเพราะเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์มากที่สุด (จากข้อมูลใน specification ของเอนไซม์ที่ได้มาจากผู้ผลิต) และทำการวัดปริมาณของไตรกลีเซอไรด์ชนิดต่างๆ ทุกๆ 1 ชั่วโมง ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของไตรกลีเซอไรด์ชนิดต่างๆ ตามเวลาการเกิดปฏิกิริยาของน้ำมันผสมอัตราส่วน 70-30 และ 50-50 ได้แสดงไว้ในภาพที่ 16(a) และ 16(b) ตามลำดับ จากภาพจะเห็นว่าไตรกลีเซอไรด์ชนิด OLP, PLP, OOP, OOS และ POS มีค่าเพิ่มขึ้นตามเวลาในช่วง 4 ชั่วโมงแรกของการทำปฏิกิริยาแล้วมีค่าคงที่หลังจากนั้น ในทางกลับกันไตรกลีเซอไรด์ชนิด PLO, OOO, SOS, OL_nO, OLL และ OLL_n มีค่าลดลงตามเวลาในช่วง 4 ชั่วโมงแรกของการทำปฏิกิริยาแล้วมีค่าคงที่หลังจากนั้น จากภาพแสดงว่าระยะเวลาที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาของทุกอัตราส่วนน้ำมันผสมคืออย่างน้อย 4 ชั่วโมง และที่น่าสนใจคือปริมาณของ SOS นั้นไม่ได้เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการทำปฏิกิริยา แต่กลับลดลง



ภาพที่ 16 ปริมาณของไตรกลีเซอไรด์ชนิดต่างๆ ที่มีการเปลี่ยนแปลงตามเวลาในระหว่างการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันด้วยเอนไซม์ของน้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนแข็งผสมกับน้ำมันคาโนล่าในอัตราส่วน (a) 70-30 และ (b) 50-50

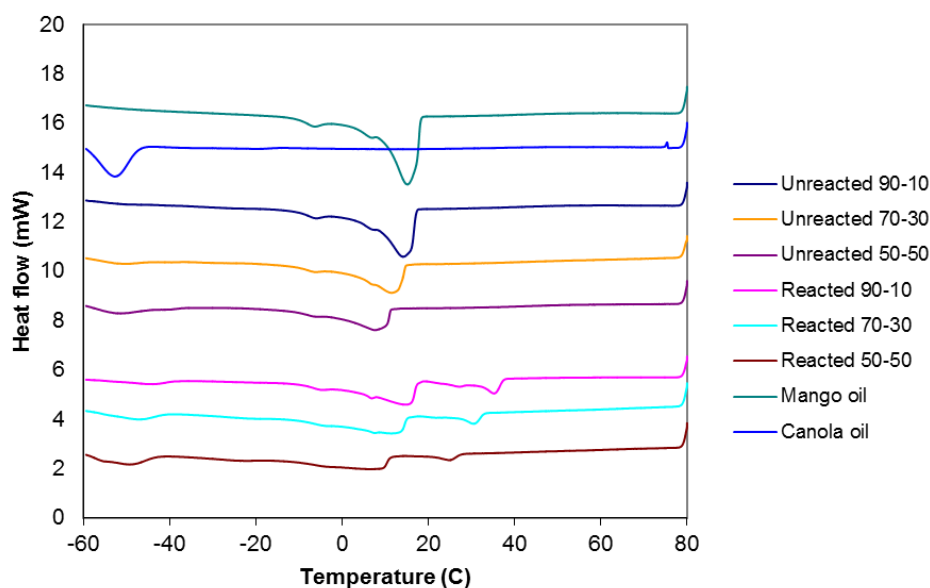
จากนั้นทำการทดลองซ้ำที่ 65°C โดยใช้ระยะเวลาของการทำปฏิกิริยา 6 ชั่วโมง แล้วนำน้ำมันที่ผ่านการดัดแปลงโครงสร้างและที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์แล้วไปทำการวัดค่า SFC ของไขมันก่อนและหลังการทำปฏิกิริยาเปรียบเทียบกับเนยโกโก้ ได้ผลดังแสดงในภาพที่ 17 จากภาพจะพบว่าค่า SFC หลังทำปฏิกิริยามีค่าต่ำกว่าก่อนทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิต่ำกว่า $\sim 30^{\circ}\text{C}$ ส่วนที่อุณหภูมิสูงกว่า $\sim 30^{\circ}\text{C}$ นั้น ค่า SFC มีค่าสูงกว่าก่อนการทำปฏิกิริยา แสดงให้เห็นว่าการทำปฏิกิริยาเอนอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันด้วยเอนไซม์กับน้ำมันคาโนล่าทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของค่า SFC ซึ่งน่าจะเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงไปขององค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันหลังการทำปฏิกิริยา นอกจากนี้ค่า SFC ของน้ำมันหลังการทำปฏิกิริยายังมีค่าที่แตกต่างคือต่ำกว่าของเนยโกโก้ (CBt)



ภาพที่ 17 ค่าเปอร์เซ็นต์การเป็นของแข็งในรูปผลึกของน้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนแข็งผสมกับน้ำมันคาโนล่า ก่อน (unreacted) และหลัง (reacted) การทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันด้วยเอนไซม์

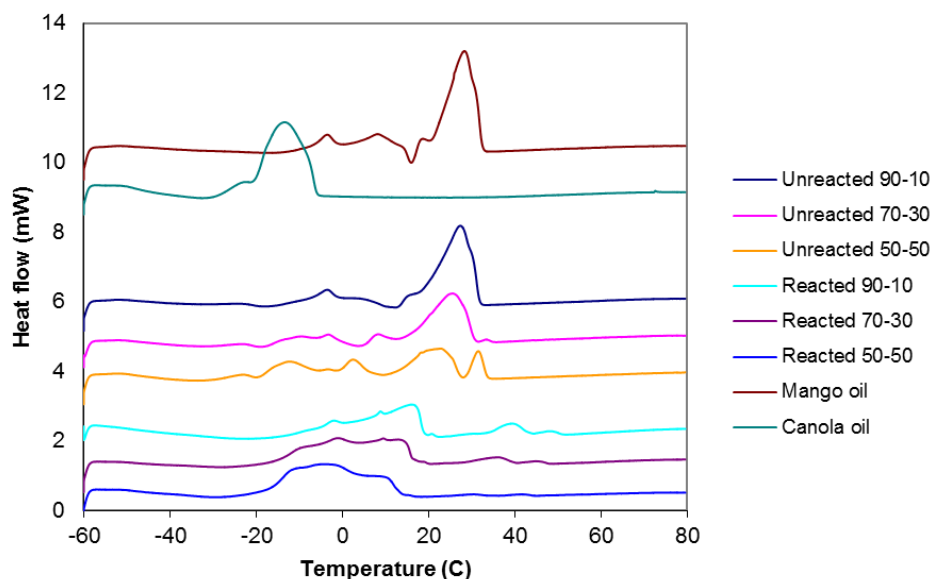
จากนั้นนำน้ำมันผสมก่อน (unreacted) และหลัง (reacted) ทำปฏิกิริยาไปศึกษาพฤติกรรมการตกผลึกและการหลอมเหลว (crystallization and melting thermograms) ด้วยเทคนิค DSC ได้ผลดังแสดงในภาพที่ 18 และ 19 จากภาพที่ 18 จะเห็นได้ว่าน้ำมันผสมหลังทำปฏิกิริยาทั้งสามอัตราส่วนมีช่วงอุณหภูมิของการตกผลึกที่กว้างกว่า

น้ำมันผสมก่อนทำปฏิกิริยา โดยมีการเริ่มตกผลึกที่อุณหภูมิสูงขึ้นมาที่ 28, 26 และ 24 °C สำหรับน้ำมันผสมในอัตราส่วน 90-10, 70-30 และ 50-50 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับน้ำมันผสมหลังทำปฏิกิริยาทั้งสามอัตราส่วนที่เริ่มตกผลึกที่ 16-20 °C



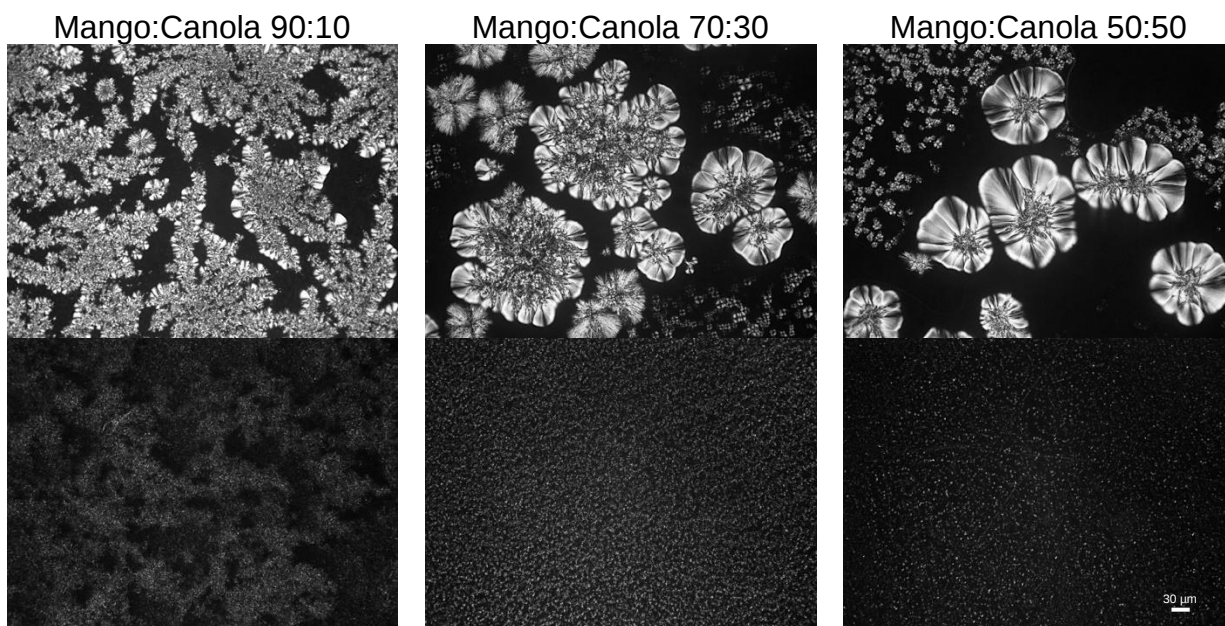
ภาพที่ 18 Crystallization thermogram ของน้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนครึ่งผสมกับน้ำมันคาโนล่า ก่อน (unreacted) และหลัง (reacted) การทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอร์ฟิเคชันด้วยเอนไซม์

ภาพที่ 19 แสดง melting thermogram ของน้ำมันผสมก่อนและหลังทำปฏิกิริยา จะเห็นได้ว่าน้ำมันผสมหลังทำปฏิกิริยามีช่วงของการหลอมเหลวที่กว้างขึ้นและมีอุณหภูมิที่การหลอมเหลวสิ้นสุดสูงขึ้นจนเกิน 40 °C ซึ่งสอดคล้องกับค่า SFC ของตัวอย่างในภาพที่ 17 ที่ตัวอย่างน้ำมันผสมหลังการทำปฏิกิริยาแสดงค่า SFC ลดลงเป็นศูนย์ที่อุณหภูมิสูงกว่า 40 °C หรือเกิดการละลายหมดที่อุณหภูมิสูงกว่า 40 °C



ภาพที่ 19 Melting thermogram ของน้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนแข็งผสมกับน้ำมันคาโนล่า ก่อน (unreacted) และ หลัง (reacted) การทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันด้วยเอนไซม์

จากนั้นได้ทำการศึกษาลักษณะปรากฏของผลึก (crystal morphology) ของน้ำมันมะม่วงส่วนแข็งที่ผสมกับน้ำมันคาโนล่า ก่อนและหลังการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันด้วยเอนไซม์ ได้ผลดังแสดงในภาพที่ 20 จากภาพจะเห็นว่าผลึกของตัวอย่างก่อนทำปฏิกิริยามีลักษณะเป็นทรงกลม (spherulites) ที่มีขนาดเล็กและใหญ่ปะปนกัน ส่วนผลึกของตัวอย่างหลังทำปฏิกิริยามีลักษณะเป็นเม็ดเล็กๆ (granular crystals) ที่มีการจัดเรียงตัวอย่างแน่นหนา การเปลี่ยนแปลงของผลึกจากผลึกขนาดใหญ่มีจำนวนน้อยในน้ำมันก่อนการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันด้วยเอนไซม์ไปเป็นผลึกขนาดเล็กที่มีจำนวนมากในน้ำมันหลังการเกิดปฏิกิริยานั้นได้มีการรายงานไว้ในหลายงานวิจัย เช่น Adhikari และคณะ 2012, Jerayani และคณะ (2010) และ Kim และคณะ (2008) ซึ่งลักษณะที่แตกต่างกันของผลึกก่อนและหลังการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันด้วยเอนไซม์นี้จะส่งผลต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ นั่นคือผลึกแบบเป็นเม็ดขนาดเล็กของน้ำมันผสมหลังปฏิกิริยาจะให้เนื้อสัมผัสที่เนียนละเอียด ในขณะที่ผลึกแบบทรงกลมขนาดใหญ่ของน้ำมันผสมก่อนปฏิกิริยาจะให้เนื้อสัมผัสที่เป็นเม็ดทรายสากลิ้น (Kim และคณะ, 2008)



ภาพที่ 20 ผลึกของน้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนแข็งผสมกับน้ำมันคาโนล่า ก่อน (แถวบน) และหลัง (แถวล่าง) การทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันด้วยเอนไซม์

จากการศึกษาในหัวข้อที่ 4.2 ทำให้ทราบว่าน้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนแข็งที่ได้จากการตกผลึกแยกส่วนที่ 21°C 1 วัน เป็นส่วนที่เหมาะสมสำหรับการนำมาทำปฏิกิริยาเอนอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันด้วยเอนไซม์ร่วมกับน้ำมันคาโนล่า เพื่อผลิตไขมันที่มี SOS ในปริมาณสูง แต่อย่างไรก็ตามการที่จะผลิตน้ำมันส่วนแข็งดังกล่าวให้ได้ในปริมาณที่มากพอจากน้ำมันเมล็ดมะม่วงตั้งต้นที่ได้จากการสกัดในห้องปฏิบัติการนั้นเป็นไปได้ยากเพราะเครื่องสกัดที่ใช้มีขนาดเล็ก นอกจากนี้ยังมีปัญหาในเรื่อง supply ของเมล็ดมะม่วงสุก จากการศึกษที่ผ่านมาพบว่าปริมาณของน้ำมันที่สกัดได้จากเมล็ดมะม่วงขึ้นอยู่กับระดับความสุกของมะม่วง กล่าวคือยิ่งสุกมากยิ่งมีปริมาณน้ำมันมาก (Solís-Fuentes และคณะ, 2004) แต่การรับซื้อเมล็ดมะม่วงจากโรงงานแปรรูปมะม่วงนั้น เมล็ดที่ได้มาทั้งหมดมีระดับการสุกแค่ห้าม โดยโรงงานแปรรูปส่วนใหญ่ไม่มีการแปรรูปมะม่วงสุกแต่ใช้มะม่วงห้าม ทำให้ได้ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ไม่เพียงพอกับความต้องการ ผู้วิจัยจึงได้สั่งซื้อน้ำมันเมล็ดมะม่วงมาจากต่างประเทศ (อินเดีย) เมื่อได้รับน้ำมันแล้วจึงนำไปศึกษาคุณสมบัติเบื้องต้นพบว่ามีความ SFC และอุณหภูมิที่ตกผลึกและหลอมเหลวต่ำกว่าน้ำมันเมล็ดมะม่วงที่ผลิตได้ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งเป็นไปได้ว่าเพราะเป็นน้ำมันที่สกัดจากเมล็ดมะม่วงจากสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน (Jin และคณะ, 2017) นอกจากนี้การทดลองในหัวข้อ 4.3 พบว่าแม้ใช้น้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนแข็งเป็นน้ำมันตั้งต้นในการทำ

ปฏิกิริยาเอนอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันด้วยเอนไซม์ก็ยังทำให้ได้น้ำมันที่มีปริมาณ SOS ลดลง และมีค่า SFC ต่ำกว่าของเนยโกโก้ ดังนั้นเพื่อเป็นการเพิ่มความแข็งให้กับน้ำมันผสมก่อนและหลังการทำปฏิกิริยาเอนอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันด้วยเอนไซม์รวมถึงเพิ่มการใช้ประโยชน์จากน้ำมันเมล็ดมะม่วงให้ได้มากที่สุด การศึกษาในหัวข้อต่อไปจึงมุ่งไปที่การทำปฏิกิริยาเอนอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันด้วยเอนไซม์ของน้ำมันเมล็ดมะม่วงผสมกับน้ำมันคาโนล่าและมีการเติมน้ำมันปาล์มสเตียรีน (palm stearin) หรือน้ำมันปาล์มสเตียรีนที่ผ่านการทำไฮโดรจิเนชันโดยสมบูรณ์ (fully hydrogenated palm stearin) เพื่อเพิ่มความแข็ง

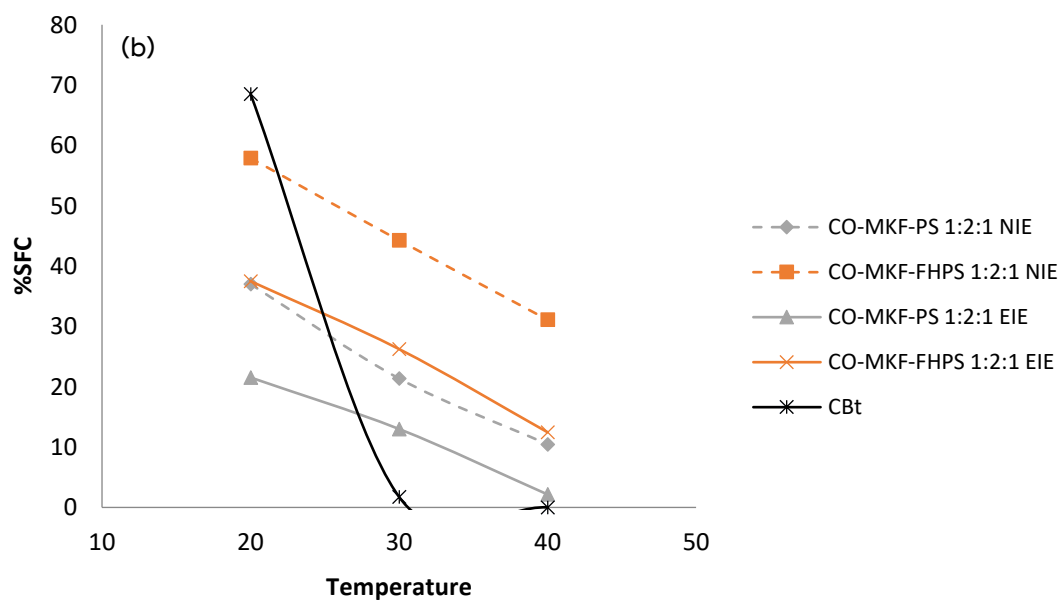
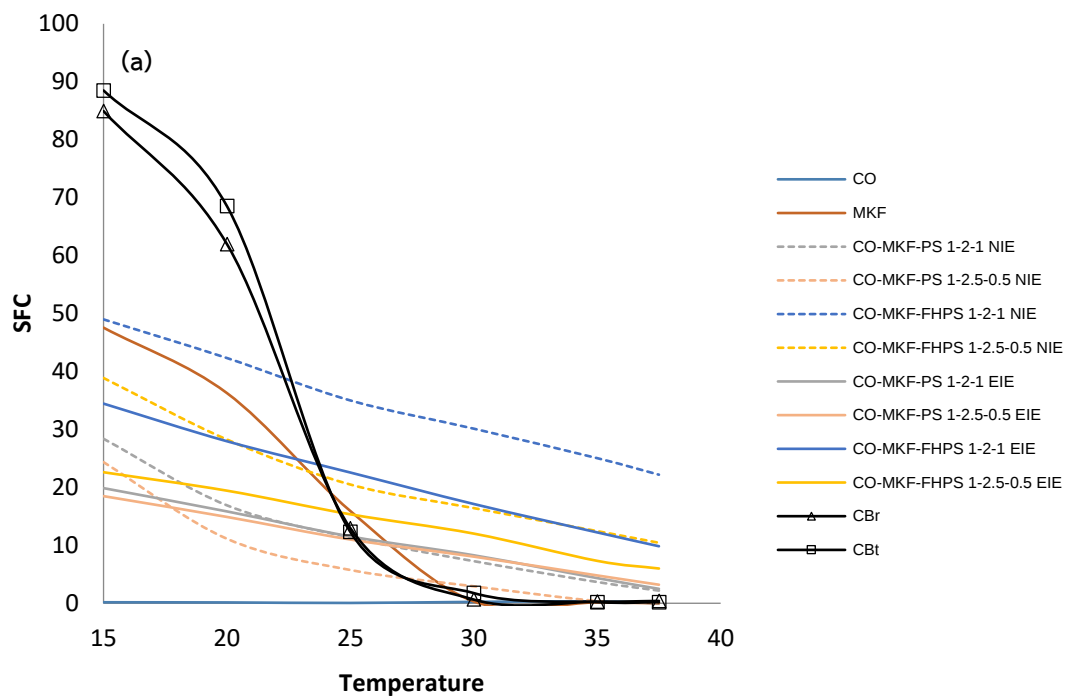
4.4 การศึกษาการทำปฏิกิริยาเอนอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันด้วยเอนไซม์ของน้ำมันเมล็ดมะม่วงผสมน้ำมันคาโนล่าและน้ำมันปาล์มสเตียรีนหรือน้ำมันปาล์มสเตียรีนที่ผ่านการทำไฮโดรจิเนชันโดยสมบูรณ์

การศึกษาการทำปฏิกิริยาเอนอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันด้วยเอนไซม์ของน้ำมันคาโนล่า (CO) ผสมกับน้ำมันเมล็ดมะม่วง (MKF) และน้ำมันปาล์มสเตียรีน (PS) หรือน้ำมันปาล์มสเตียรีนที่ผ่านการทำไฮโดรจิเนชันโดยสมบูรณ์ (FHPS) ในอัตราส่วน 1-2-1 และ 1-2.5-0.5 โดยน้ำหนัก ทำปฏิกิริยาที่ 65°C เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง ได้ผลการศึกษาดังแสดงในภาพที่ 21

ภาพที่ 21 แสดงการเปลี่ยนแปลงค่า SFC ตามอุณหภูมิของน้ำมันผสมก่อน (NIE-เส้นประ) และหลังการทำปฏิกิริยา (EIE-เส้นทึบ) จากภาพจะเห็นว่าค่า SFC ของน้ำมันผสมทั้งสองกลุ่มทุกอัตราส่วนก่อนทำปฏิกิริยามีการลดลงอย่างช้าๆ หลังทำปฏิกิริยาแล้วน้ำมันผสมระหว่าง CO-MKF-PS อัตราส่วน 1-2-1 มีค่า SFC ที่อุณหภูมิต่างๆ ไม่แตกต่างไปจากน้ำมันผสมก่อนการทำปฏิกิริยา (ภาพที่ 21a) น้ำมันผสมระหว่าง CO-MKF-PS อัตราส่วน 1-2.5-0.5 มีค่า SFC ต่ำกว่าน้ำมันผสมก่อนการทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิต่ำกว่า 17.5°C และมีค่าสูงกว่าที่อุณหภูมิสูงกว่า 17.5°C น้ำมันผสมระหว่าง CO-MKF-FHPS อัตราส่วน 1-2-1 มีค่า SFC ต่ำกว่าน้ำมันผสมก่อนการทำปฏิกิริยาที่ทุกอุณหภูมิ และน้ำมันผสมระหว่าง CO-MKF-FHPS อัตราส่วน 1-2.5-0.5 มีค่า SFC สูงกว่าน้ำมันผสมก่อนการทำปฏิกิริยาที่ทุกอุณหภูมิ

เมื่อเปรียบเทียบค่า SFC และลักษณะการลดลงของค่า SFC ของน้ำมันผสมก่อนและหลังทำปฏิกิริยากับเนยโกโก้ทางการค้าจะเห็นว่าน้ำมันผสมก่อนและหลังทำปฏิกิริยาทุกตัวอย่างมีค่า SFC ต่ำเกินไปที่อุณหภูมิต่ำกว่า 25°C และมีค่า SFC สูงเกินไปที่อุณหภูมิสูงกว่า 25°C นอกจากนี้ยังมีการการลดลงของค่า SFC ที่ช้าจนเกินไปโดยเฉพาะในช่วงอุณหภูมิ 20-40°C (ภาพที่ 21b) ซึ่งจะทำให้เกิดการละลายซ้ำในปากเมื่อรับประทาน (Beckett, 2000) เพื่อ

เป็นการแก้ปัญหาค่า SFC ต่ำเกินไปที่อุณหภูมิต่ำกว่า 25°C ในหัวข้อถัดไปจึงได้มีการเปลี่ยน acyl donor จากน้ำมัน
ปาล์มสเตอรินและน้ำมันปาล์มสเตอรินที่ผ่านการทำไฮโดรจิเนชันโดยสมบูรณ์ไปเป็นกรดสเตียริกทางการค้า โดย
คาดหวังว่าจะทำให้ได้น้ำมันที่มีปริมาณไตรกลีเซอไรด์ชนิด SOS เพิ่มขึ้นและมีความแข็งมากขึ้น



ภาพที่ 21 (a) การเปลี่ยนแปลงของค่า SFC ตามอุณหภูมิของไขมันผสมระหว่างน้ำมันคาโนล่า (CO), น้ำมันเมล็ดมะม่วง (MKF) และน้ำมันปาล์มสเตียรีน (PS) หรือน้ำมันปาล์มสเตียรีนที่ผ่านการทำไฮโดรจิเนชันโดยสมบูรณ์, (b) เป็นส่วนขยายของ (a) ที่อุณหภูมิ 20-40°C

4.5 การศึกษาการทำปฏิกิริยาเอนอินเตอร์เอสเทอริฟิเคชันด้วยเอนไซม์ของน้ำมันเมล็ดมะม่วงผสมน้ำมันคาโนล่าและกรดสเตียริก

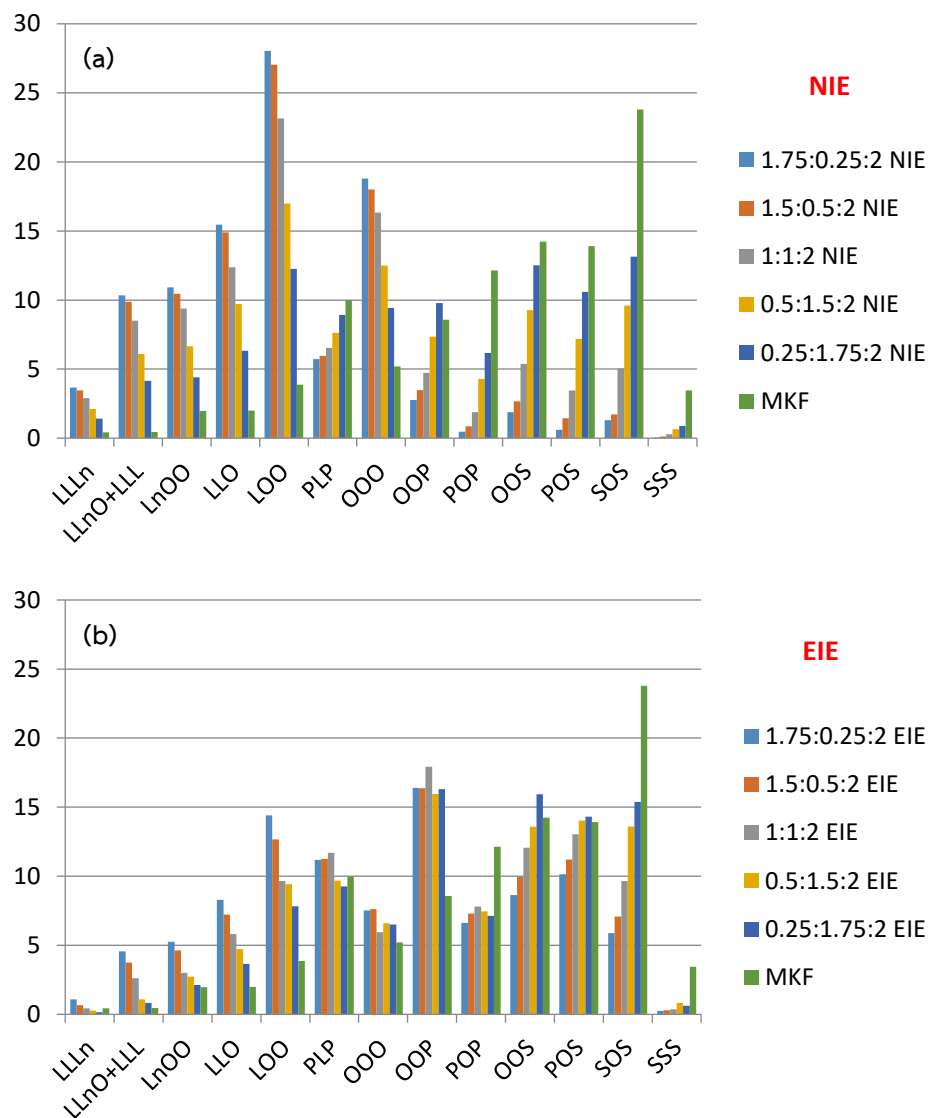
การศึกษาการทำปฏิกิริยาเอนอินเตอร์เอสเทอริฟิเคชันด้วยเอนไซม์ของน้ำมันคาโนล่าผสมกับน้ำมันเมล็ดมะม่วงและกรดสเตียริก (St) ในอัตราส่วน 1.75-0.25-2, 1.5-0.5-2, 1-1-2, 0.5-1.5-2 และ 0.25-1.75-2 โดยน้ำหนัก ในขั้นตอนเป็นการทดลองเพื่อหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาที่ 65°C จึงได้เลือกทำปฏิกิริยากับน้ำมันผสมในอัตราส่วน 1-1-2 เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ได้ผลการศึกษาดังแสดงในภาพที่ 22-25

ภาพที่ 22 แสดงปริมาณของไตรกลีเซอไรด์ชนิดต่างๆ ที่มีการเปลี่ยนแปลงตามเวลาในระหว่างการทำปฏิกิริยาเอนอินเตอร์เอสเทอริฟิเคชันด้วยเอนไซม์ของน้ำมันคาโนล่าผสมกับน้ำมันเมล็ดมะม่วงและกรดสเตียริกในอัตราส่วน 1-1-2 จากภาพจะเห็นว่าไตรกลีเซอไรด์ชนิด OOP, PLP, และ OOS มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วตามเวลาในช่วง 2 ชั่วโมงแรกของการทำปฏิกิริยาแล้วมีค่าลดลงหลังจากนั้น (ภาพที่ 22a) ไตรกลีเซอไรด์ชนิด LLP มีค่าเพิ่มขึ้นตามเวลาในช่วง 2 ชั่วโมงแรกของการทำปฏิกิริยาแล้วมีค่าคงที่หลังจากนั้น ไตรกลีเซอไรด์ชนิด POP, POS, และ SOS มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วตามเวลาในช่วง 4 ชั่วโมงแรกของการทำปฏิกิริยาแล้วมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ หลังจากนั้น จนเริ่มคงที่ที่ 8 ชั่วโมง ในทางกลับกันไตรกลีเซอไรด์ชนิด LLO, OOO, L_nOO, LLO, LLL_n และ LLL+LL_nO มีค่าลดลงอย่างรวดเร็วตามเวลาในช่วง 4 ชั่วโมงแรกของการทำปฏิกิริยาแล้วมีค่าคงที่หลังจากนั้น จากกราฟแสดงว่าระยะเวลาที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาของทุกอัตราส่วนน้ำมันผสมคือ 8 ชั่วโมง เพราะให้ปริมาณของ SOS สูงที่สุดและยังให้ปริมาณ POP และ POS ที่สูงที่สุดอีกด้วย (ภาพที่ 22b)

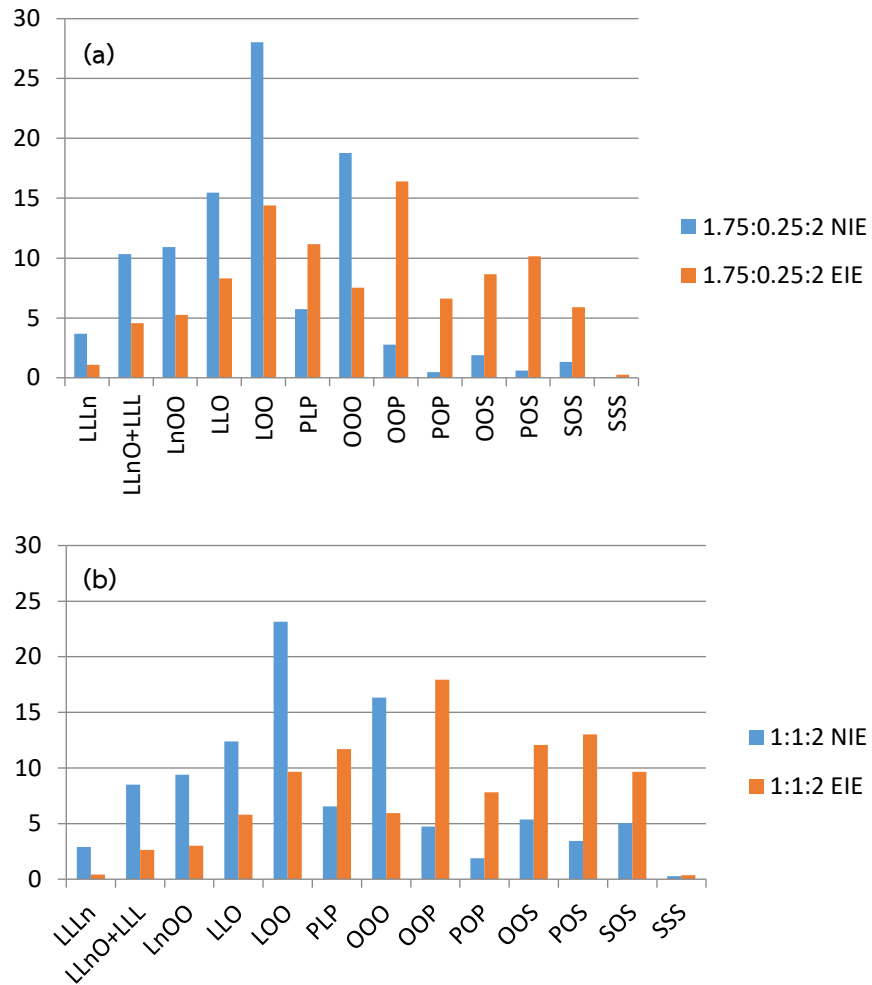
ปฏิกิริยาแตกต่างไปจากก่อนการทำปฏิกิริยา ซึ่งเป็นการยืนยันว่าเอนไซม์เกิดการทำงานในกระบวนการอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนกรดไขมันระหว่างโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ ส่งผลให้เกิดการเพิ่มขึ้นและลดลงของไตรกลีเซอไรด์ชนิดต่างๆ ที่เป็นองค์ประกอบ (Kim และคณะ, 2008; Adhikari และ Hu, 2012; Alim และคณะ, 2008)

ภาพที่ 24 แสดงองค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันผสมในอัตราส่วน 1.75-0.25-2 และ 1-1-2 ก่อนและหลังการทำปฏิกิริยา (ไม่ได้แสดงผลของอัตราส่วนที่เหลือเพราะมีแนวโน้มไปทางเดียวกัน) จากภาพจะเห็นได้ว่าไตรกลีเซอไรด์ชนิด POP, POS, SOS, OOS, OOP และ PLP เพิ่มขึ้นหลังทำปฏิกิริยา ในทางกลับกันไตรกลีเซอไรด์ชนิด LLO, LOO, OOO, L_nOO, LLL_n และ LL_nO+LLL ลดลงหลังทำปฏิกิริยา

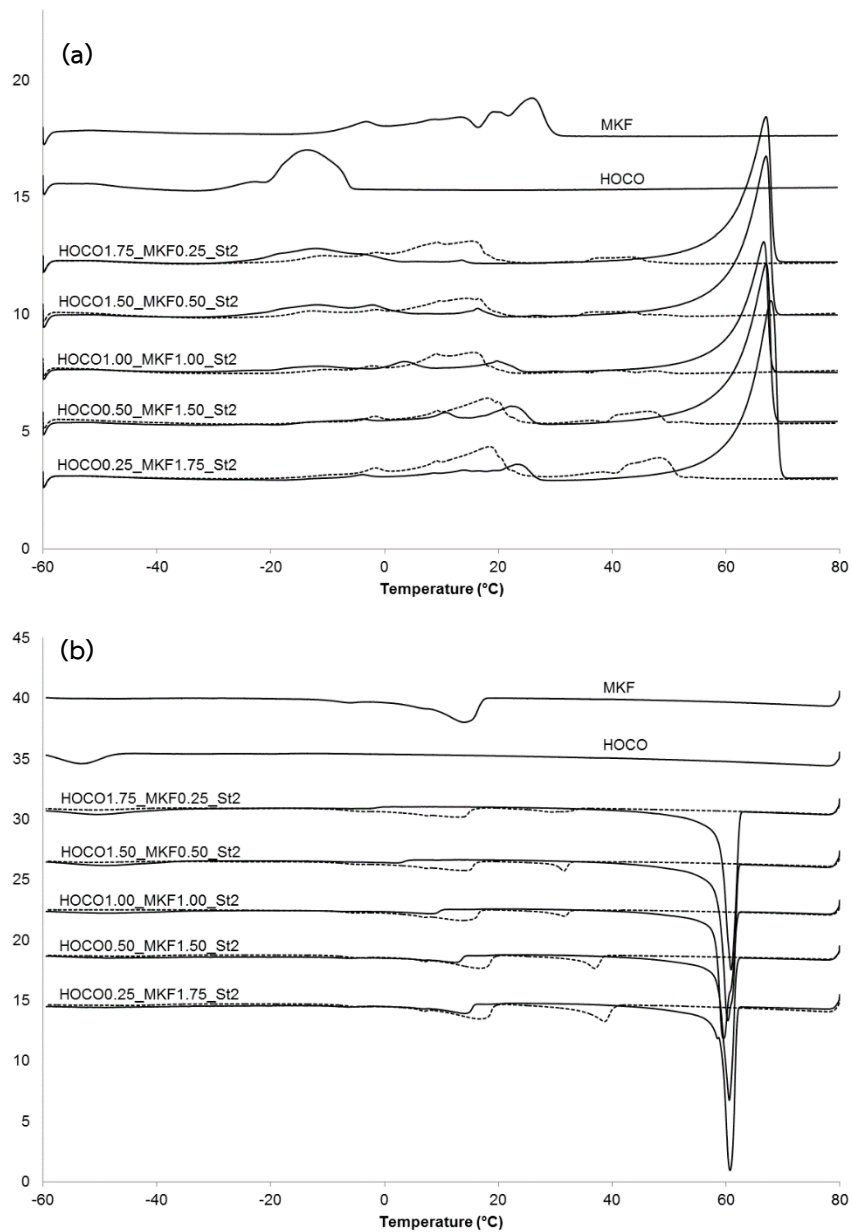
ภาพที่ 25 แสดง thermograms ของการหลอมเหลวและการตกผลึกของน้ำมันผสมก่อนและหลังการทำปฏิกิริยา น้ำมันผสมก่อนทำปฏิกิริยาทุกอัตราส่วนมีพิคของการหลอมเหลวหลายช่วง (ภาพที่ 25a) โดยช่วงของพิคที่แสดงการหลอมเหลวมากที่สุดอยู่ที่ประมาณ 63°C ซึ่งน่าจะเป็นพิคการหลอมเหลวของกรดสเตียริก และมีพิคการหลอมเหลวขนาดเล็กอยู่ที่ ประมาณ 20°C และ -15°C ซึ่งน่าจะเป็นช่วงการหลอมเหลวของน้ำมันเมลิตมะม่วงและน้ำมันคาโนล่าตามลำดับ โดยเมื่อปริมาณของน้ำมันเมลิตมะม่วงเพิ่มขึ้นในน้ำมันผสม (พร้อมกับการลดลงของปริมาณน้ำมันคาโนล่า) พิคที่อุณหภูมิ 20°C มีขนาดใหญ่ขึ้นแต่พิคที่อุณหภูมิ -15°C มีขนาดเล็กลง ส่วนการตกผลึกของน้ำมันผสมก่อนทำปฏิกิริยาทุกอัตราส่วนนั้นมีพฤติกรรมคล้ายๆ กับการหลอมเหลว นั่นคือมีช่วงพิคของการตกผลึก 3 ช่วง แบ่งเป็นช่วงการตกผลึกของกรดสเตียริก ของน้ำมันเมลิตมะม่วง และของน้ำมันคาโนล่า ที่ประมาณ 60°C (พิคแหลมสูง), 18°C (พิคกว้างเตี้ย) และ -50°C (พิคเตี้ยมาก) ตามลำดับ (ภาพที่ 25b) หลังทำปฏิกิริยาแล้ว thermograms ของทั้งการหลอมเหลวและการตกผลึกมีลักษณะเปลี่ยนแปลงไป พิคการหลอมเหลวลดลงเหลือ 2 ช่วง โดยช่วงที่มีอุณหภูมิสูงที่สุดอยู่ที่ประมาณ 45°C และอีกช่วงหนึ่งอยู่ที่ประมาณ 18°C ส่วนการตกผลึกก็พิคของการตกผลึกอยู่ 2 ช่วงที่ 39 และ 18°C การเปลี่ยนแปลงของช่วงอุณหภูมิของการหลอมเหลวและการตกผลึกหลังการเกิดปฏิกิริยาไปจากก่อนการเกิดปฏิกิริยาแสดงให้เห็นว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงของชนิดและปริมาณของไตรกลีเซอไรด์ในน้ำมันผสมเนื่องมาจากปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันด้วยเอนไซม์ สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณไตรกลีเซอไรด์ด้วยเทคนิค HPLC ดังแสดงในภาพที่ 23-24



ภาพที่ 23 องค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมัน (a) ก่อนและ (b) หลังการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชัน ด้วยเอนไซม์ของน้ำมันคาโนล่าผสมกับน้ำมันเมล็ดมะม่วงและกรดสเตียริกในอัตราส่วนต่างๆ ที่อุณหภูมิ 65°C เป็นระยะเวลา 8 ชั่วโมง

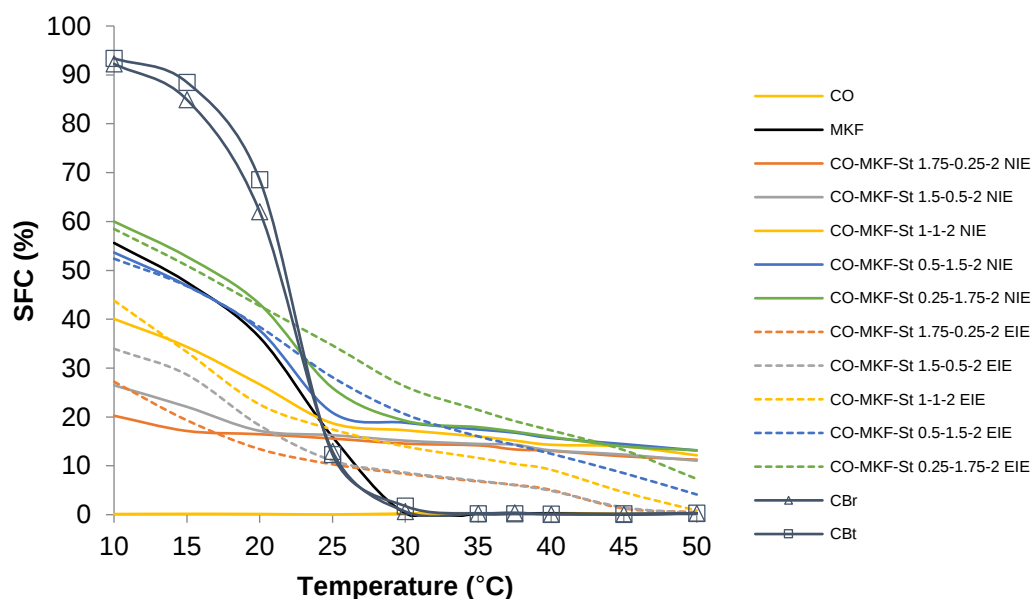


ภาพที่ 24 องค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ ก่อน (NIE) และหลัง (EIE) การทำปฏิกิริยาอินเทอร์เอสเตอริฟิเคชันด้วย เอนไซม์ที่อุณหภูมิ 65°C เป็นระยะเวลา 8 ชั่วโมงของน้ำมันคาโนล่าผสมกับน้ำมันเมล็ดมะม่วงและกรดสเตียริกใน อัตราส่วน (a) 1.75-0.25-2 และ (b) 1-1-2



ภาพที่ 25 DSC Thermogram ของ (a) การหลอมเหลว และ (b) การตกผลึกของ น้ำมันคาโนล่าผสมกับน้ำมันเมล็ดมะม่วงและกรดสเตียริกในอัตราส่วนต่างๆ ก่อนและหลังการทำปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันด้วยเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 65°C เป็นระยะเวลา 8 ชั่วโมง

จากนั้นทำการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของค่า SFC ของตัวอย่างทั้งหมดตามอุณหภูมิ ได้ผลดังแสดงในภาพที่ 26 จากภาพจะเห็นว่าค่า SFC ของทุกตัวอย่างลดลงตามอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นเนื่องจากเกิดการละลายของไขมันที่อุณหภูมิสูงขึ้น ตัวอย่างก่อนการทำปฏิกิริยาอัตราส่วน 0.5-1.5-2 และ 0.25-1.75-2 ให้ค่า SFC สูงกว่าอีก 3 ตัวอย่าง เพราะมีน้ำมันเมล็ดมะม่วงในปริมาณสูงกว่าทำให้มีไตรกลีเซอไรด์อิ่มตัวชนิด POP, POS และ SOS ในปริมาณที่สูงกว่า หลังการทำปฏิกิริยาน้ำมันผสมทั้งสองอัตราส่วนนี้มีค่า SFC เพิ่มขึ้น (แสดงว่าตัวอย่างแข็งขึ้นหลังการทำปฏิกิริยา) เพราะมีการเพิ่มขึ้นของไตรกลีเซอไรด์ชนิด POP, POS และ SOS และมีการลดลงของไตรกลีเซอไรด์แบบไม่อิ่มตัวหรืออิ่มตัวน้อยกว่า เช่น OOO, LOO, LLO และ L_nOO ส่วนตัวอย่างอัตราส่วน 1.75-0.25-2, 1.5-0.5-2 และ 1-1-2 นั้นเกิดการลดลงของค่า SFC หลังการทำปฏิกิริยาเมื่อเทียบกับก่อนทำปฏิกิริยา ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเกิดการเพิ่มขึ้นของไตรกลีเซอไรด์แบบไม่อิ่มตัวหรืออิ่มตัวน้อยคือ OOS และ OOP อย่างไรก็ตามค่า SFC หลังการทำปฏิกิริยาของทุกตัวอย่างยังคงแตกต่างจากของเนยโกโก้ (CBt) และมีค่าต่ำเกินไปที่อุณหภูมิต่ำกว่า 25°C ทำให้ละลายได้ง่ายระหว่างการเก็บรักษา และมีค่าสูงเกินไปที่อุณหภูมิสูงกว่า 25°C ทำให้ไม่ละลายที่อุณหภูมิร่างกายหรือเกิดความรู้สึกเป็นไขเมื่อรับประทาน ทำให้ต้องทำการทดลองใหม่โดยอาจเปลี่ยน acyl donor หรือเปลี่ยนชนิดเอนไซม์ในการทำปฏิกิริยา อย่างไรก็ตามเป็นไปได้ยากมากในการซื้อเอนไซม์ในปริมาณเล็กน้อยสำหรับการทดลอง ผู้ผลิตส่วนใหญ่ต้องขายเอนไซม์ในปริมาณมากต่อครั้ง เช่น 5-10 กิโลกรัม ซึ่งทำให้มีราคาสูงมาก และนี่เป็นปัญหาหนึ่งที่มีประสปในงานวิจัยนี้ ทำให้ไม่สามารถจัดหาเอนไซม์ได้มากกว่า 1 ชนิดมาใช้ในการทดลอง



ภาพที่ 26 การเปลี่ยนแปลงของค่า SFC ตามอุณหภูมิของน้ำมันผสมระหว่างน้ำมันคาโนล่า (CO), น้ำมันเมล็ดมะม่วง (MKF) และกรดสเตียริก

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

ผลึกของน้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนแข็งและส่วนเหลวที่ได้จากการตกผลึกแยกส่วนที่อุณหภูมิและเวลาแตกต่างกันมีความแตกต่างกันทั้งในด้านองค์ประกอบกรดไขมัน องค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ คุณสมบัติด้านการตกผลึก รวมไปถึงจนถึงลักษณะปรากฏของผลึก ขนาดและจำนวนผลึก จากการศึกษาพบว่าส่วนแข็งของน้ำมันเมล็ดมะม่วงที่ได้จากการตกผลึกที่ 21°C เป็นเวลา 1 วันมีกรดสเตียริกเป็นองค์ประกอบในปริมาณที่สูงและให้ yield ในปริมาณสูงถึง 30% จึงเลือกไปใช้ในการทำปฏิกิริยาเออนินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันด้วยเอนไซม์กับน้ำมันคาโนล่าเพื่อผลิตน้ำมันที่มี SOS ในปริมาณสูง และเมื่อนำไปทำปฏิกิริยาเออนินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันให้ได้น้ำมันที่มีคุณสมบัติเปลี่ยนไป ซึ่งคาดว่าจะเป็นการเกิดการเปลี่ยนแปลงไปขององค์ประกอบไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันหลังการทำปฏิกิริยา แต่มีปริมาณของไตรกลีเซอไรด์ชนิด SOS ลดลงและมีลักษณะอ่อนลง นอกจากนี้การที่จะผลิตน้ำมันส่วนแข็งดังกล่าวให้ได้ในปริมาณที่มากพอจากน้ำมันเมล็ดมะม่วงตั้งต้นที่ได้จากการสกัดในห้องปฏิบัติการนั้นเป็นไปได้ยากเพราะเครื่องสกัดที่ใช้มีขนาดเล็ก นอกจากนี้ยังมีปัญหาในเรื่องการจัดหาเมล็ดมะม่วงสุก จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าปริมาณของน้ำมันที่สกัดได้จากเมล็ดมะม่วงขึ้นอยู่กับระดับความสุกของมะม่วง กล่าวคือยิ่งสุกมากยิ่งมีปริมาณน้ำมันมาก แต่การรับซื้อเมล็ดมะม่วงจากโรงงานแปรรูปมะม่วงนั้น เมล็ดที่ได้มาทั้งหมดมีระดับการสุกแค่ห้าม ทำให้ได้ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ไม่เพียงพอกับความต้องการ ผู้วิจัยจึงได้สั่งซื้อน้ำมันเมล็ดมะม่วงมาจากต่างประเทศ เมื่อได้รับน้ำมันแล้วจึงนำไปศึกษาคุณสมบัติเบื้องต้นพบว่ามีค่า SFC และอุณหภูมิที่ตกผลึกและหลอมเหลวต่ำกว่าน้ำมันเมล็ดมะม่วงที่ผลิตได้ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งเป็นไปได้ว่าเพราะเป็นน้ำมันที่สกัดจากเมล็ดมะม่วงจากสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน นอกจากนี้การทดลองพบว่าแม้ใช้น้ำมันเมล็ดมะม่วงส่วนแข็งเป็นน้ำมันตั้งต้นในการทำปฏิกิริยาเออนินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันด้วยเอนไซม์ก็ยังทำให้ได้ไขมันที่มีค่า SFC ต่ำกว่าของเนยโกโก้ ดังนั้นเพื่อเป็นการเพิ่มความแข็งให้กับน้ำมันผสมก่อนและหลังการทำปฏิกิริยาเออนินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันด้วยเอนไซม์รวมถึงเพิ่มการใช้ประโยชน์จากน้ำมันเมล็ดมะม่วงให้ได้มากที่สุด จึงได้เปลี่ยนน้ำมันตั้งต้นในการทำปฏิกิริยาเออนินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันด้วยเอนไซม์ไปเป็นน้ำมันเมล็ดมะม่วงผสมกับน้ำมันคาโนล่าและน้ำมันปาล์มสเตียรินหรือน้ำมันปาล์มสเตียรินที่ผ่านการทำไฮโดรจิเนชันโดยสมบูรณ์ก็พบว่ายังให้ค่า SFC ที่ต่างจากเนยโกโก้จึงได้มีการเปลี่ยน acyl donor จากน้ำมันปาล์มสเตียรินและน้ำมันปาล์มสเตียรินที่ผ่านการทำไฮโดรจิเนชันโดยสมบูรณ์ไปเป็นกรดสเตียริกสำหรับการทำปฏิกิริยา ซึ่งพบว่า

แม้ว่าจะทำให้ปริมาณของไตรกลีเซอไรด์อิ่มตัวชนิด SOS เพิ่มขึ้นแต่ก็เกิดการเพิ่มขึ้นของไตรกลีเซอไรด์ไม่อิ่มตัว OOS และ OOP ทำให้ยังมีปัญหาเรื่องค่า SFC คือมีค่าต่ำเกินไปที่อุณหภูมิต่ำกว่า 25°C และมีค่าสูงเกินไปที่อุณหภูมิสูงกว่า 25°C ทำให้ต้องทำการทดลองใหม่ในอนาคต (future work) โดยอาจเปลี่ยน acyl donor หรือเปลี่ยนชนิด เอนไซม์ในการทำปฏิกิริยา

เอกสารอ้างอิง

- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2545 ผลผลิตผลไม้ของประเทศไทย .[ออนไลน์]. เข้าถึงเมื่อ 21 มิถุนายน 2550.
Website:http://www2.doae.go.th/baseinfor/MIS/kpp/rpt3_1.htm
- ณัฐยาวรรณ. 2547. การใช้เนยโกโก้เทียมทดแทนเนยโกโก้สำหรับผลิตภัณฑ์เลียนแบบช็อกโกแลต. วิทยานิพนธ์
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต เทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่
- วิจิตร. 2529. มะม่วง. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร.
- สมศักดิ์ วรรณศิริ .ทวีศักดิ์ นवलพลับ และปฐพีชล วายุอัคคี ,2530กองบรรณาธิการเฉพาะกิจ .โกโก้ . “ฐาน
เกษตรกรรม” ฐานเกษตรกรรม เฉพาะกิจที่19โรงพิมพ์มิตร .(สยาม กรุงเทพมหานคร.
- สำนักบริหารการนำเข้าส่งออกสินค้าทั่วไป กลุ่มวิเคราะห์สินค้า 2. 2549. สถานการณ์สินค้ามะม่วง [ออนไลน์]. เข้าถึง
เมื่อ 24 พฤษภาคม 2550.
- สุวรรณ สุภิमारส. 2543กรรม .วิธีการผลิต เทคนิค และอุปกรณ์ในการผลิตการผลิตผลิตภัณฑ์จากโกโก้และ
ช็อกโกแลต.ใน เทคโนโลยีการผลิตลูกกวาดและช็อกโกแลต . สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย
237-296.
- Adhikari, P., Hu, P. 2012. Enzymatic and chemical interesterification of rice bran oil, sheaolein, and
palm stearin and comparative study of their physicochemical properties. Journal of Food
Science. 77(12): C1285-1292.
- Alim, M. A., Lee, J. H., Akoh, C. C., Choi, M. S., Jeon, M. S., Shin, J. A., Lee, K. T. 2008. Enzymatic
transesterification of fractionated rice bran oil with conjugated linoleic acid: Optimization by
response surface methodology. LWT - Food Science and Technology. 41(5): 764-770.
- AOAC. 1997. Official Method Fatty Acids in Oils and Fats, Preparation of methyl esters, boron
trifluoride method, Method 969.33.
- AOCS. 1997. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society.
American Oil Chemists' Society. USA: Champaign.

- Barros, M., Fleuri, L. F., Macedo, G. A. 2010. Seed Lipases: Sources, Applications and properties-A Review. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. 27(1): 15-29.
- Beckett, S.T., 2000. *The Science of Chocolate*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- Bernard W. Minific, 1989. *Chocolate, cocoa, and Confectionery*. 3rd edition, Science and Technology. New York.
- Brown, P. H., Carvalho, F. D., Dinwoodie, R. C., Dueber, M. T., Hayashi, D. K., Krishnamurthy, R. G., Merchant, Z. M., Myrick, J. J., Silver, R. S., Thomas, C.; Kraft General Foods, Inc., assignee. 1994. Enzymatic method for preparing transesterified oils. USA.
- Chen, C., Zhang, H., Bi, Y., & Cheong, L. 2015. Effects of Sucrose Esters on Isothermal Crystallization of Palm Oil-based Blend. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 92(2), 277-286.
- Fiebig, H.-J., Lüttke, J. 2003. Solid fat content in fats and oils - determination by pulsed nuclear magnetic resonance spectroscopy [C-IV 3g (2003)]. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 105(7): 377-380.
- From nature with love, 2550. *Mango butter product* [ออนไลน์]. เข้าถึงเมื่อ 25 มิถุนายน 2550. Website:<http://www.fromnaturewithlove.com/soap/product.asp?productid=butmango>.
- Gordon, M.H. and Rahman, I.A., 1991. Effects of Minor Component on the Crystallization of Coconut Oil, *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 68(8): 577-579.
- Jeyarani, T., Reddy, S. Y. 2010. Effect of enzymatic interesterification on physicochemical properties of mahua oil and kokum fat blend. *Food Chemistry*. 123(2): 249-253.
- Jin, J., Zheng, L., Mwinyi Pembe, W., Zhang, J., Xie, D., Wang, X., Huang, J., Jin, Q., Wang, X. Production of sn-1,3-distearoyl-2-oleoyl-glycerol-rich fats from mango kernel fat by selective fractionation using 2-methylpentane based isohexane (2017) *Food Chemistry*, 234, 46-54.
- Kaneko, F., 2001. Polymorphism and Phase Transitions of Fatty Acids and Acylglycerols, in *Crystallization Processes in Fats and Lipid Systems*, edited by N. Garti, and K. Sato, Marcel Dekker Inc., New York, pp. 53-98.

- Kang, K.K.; Kim, S.; Kim, I.H.; Lee, C.; Kim, B.H. Selective enrichment of symmetric monounsaturated triacylglycerols from palm stearin by double solvent fractionation. *LWT-Food Sci. Technol.* 51, 242-252 (2013).
- Khatoon, S., Khan, M. I., Jeyarani, T. 2012. Enzymatic interesterification of palm and coconut stearin blends. *International Journal of Food Science & Technology.* 47(11): 2259-2265.
- Kim BH, Lumor SE, Akoh CC. Trans-free margarines prepared with canola oil/palm stearin/palm kernel oil-based structured lipids. *J. Agr. Food Chem.* 56:8195-8205 (2008).
- Kurashige, J., Matsuzaki, N., Takahashi, H. 1993. Enzymatic modification of canola/palm oil mixtures: Effects on the fluidity of the mixture. *Journal of the American Oil Chemists' Society.* 70(9): 849-852.
- Lipp, M. and Anklem, E., 1998. Review of cocoa butter and alternative fats for use in chocolate. Part A. Compositional data. *Food Chemistry.* 62: 73 – 97.
- Liu, Y., Meng, Z., Zhang, F., Shan, L., Wang, X. 2010. Influence of lipid composition, crystallization behavior and microstructure on hardness of palm oil-based margarines. *European Food Research and Technology.* 230(5): 759-767.
- Marikkar, J.M.N.; Saraf, D.; Dzulkifly, M.H. Effect of fractional crystallization on composition and thermal behavior of coconut oil. *Int. J. Food Prop.* 16, 1284-1292, 2013
- Mullin, J.W., 1993. *Crystallization*, 3rd edition, Butterworth-Heinemann Ltd., Oxford.
- Myerson, A.S., 2002. *Handbook of Industrial Crystallization*, 2nd edition, Butterworth-Heinemann Ltd., Oxford.
- Pande, G., Akoh, C. C. 2013. Enzymatic modification of lipids for trans-free margarine. *Lipid Technology.* 25(2): 31-33.
- PORIM, 1995. *Palm oil Research Institute of Malaysia (PORIM) Test Method*, Selangor, Bangi, Kuala Lumpur.

- Sato, K., 1999. Solidification and Phase Transformation Behavior of Food Fats – a Review, *Fett/Lipid*, 101 (12), 467-474.
- Sato K., Molecular Aspects in Fat Polymorphism, in *Crystallization and Solidification Properties of Lipids*, edited by N. Widlak, R. Hartel, and S. Narine, AOCS Press, Illinois, 2001, pp. 1-16.
- Solis-Fuentes, J.A. and Duran-de-Bazua, M.C., 2004. Mango seed uses: thermal behaviour of mango seed almond fat and its mixtures with cocoa butter, *Bioresource Technology*. 92: 71–78.
- Sonwai, S., Rungpraserthol, P., Nantipipat, N., Tungvongcharoan, S., Laiyangkoon, N. Characterization of coconut oil fractions obtained from solvent fractionation using acetone (2017) *Journal of Oleo Science*, 66 (9), 951-961.
- Stewart, I. and Kristott, J., 2004. European Union Chocolate Directive Defines Vegetable Fats for Chocolate, *Lipid Technology*. 16, 11-14.
- Talbot, G., 1999. Vegetable Fats, in *Industrial Chocolate Manufacture and Use*, 3rd Edition by S.T. Beckett, Blackie Academic & Professional, Oxford, pp. 307-322.
- Timms, R.E., 1994. Physical Chemistry of Fats, in *Fats in Food Products*, edited by D.P.J. Moran, and K.K. Rajah, Blackie Academic & Professional, London, pp. 1-28.
- Timms, R.E., 1995. Crystallization of Fats, in *Developments in Oils and Fats*, edited by R.J. Hamilton, Blackie Academic & Professional, London, pp. 204-223.
- Yazdi, Z. K., Alemzadeh, I. 2011. Improvement of palm oil and sunflower oil blends by enzymatic interestrification. *International Journal of Food Science & Technology*. 46(5): 1093-1099.
- Yella Reddy, S. Improving plasticity of milk fat for use in baking by fractionation. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 87, 493-497, 2010.
- Zaliha, O.; Chong, C.L., Cheow, C.S.; Norizzah, A.R.; Kellens, M.J. Crystallization properties of palm oil by dry fractionation. *Food Chem.* 86, 245-250, 2004.