บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

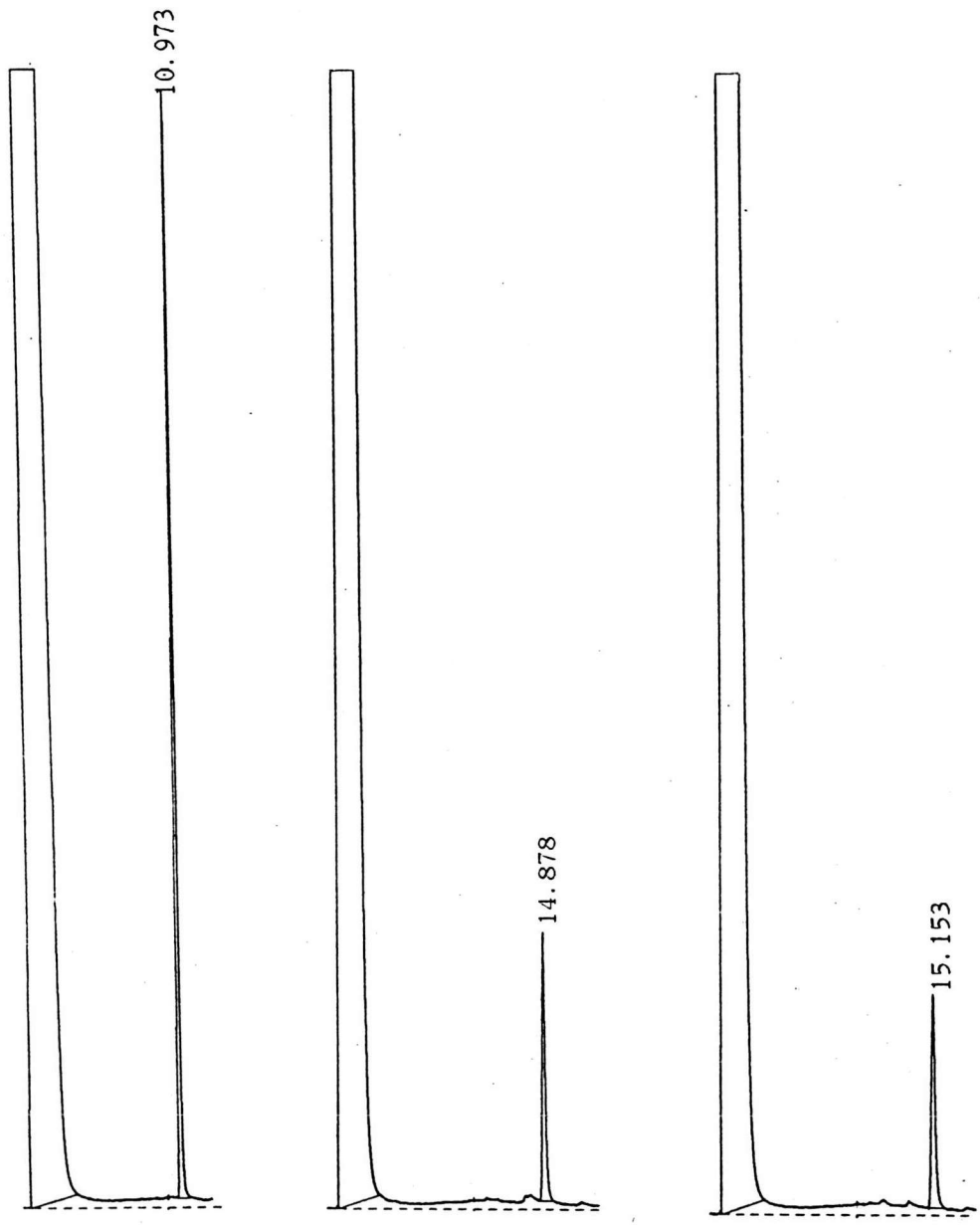
งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะนำน้ำมันปาล์ม ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่มีราคาถูกมาผ่านกระบวนการเพื่อเปลี่ยนเป็นเนยโกโก้ซึ่งมีมูลค่าสูงขึ้น โดยมุ่งเน้นการหากระบวนการที่เหมาะสม งานวิจัยได้ครอบคลุมถึงการวิเคราะห์หาองค์ประกอบและโครงสร้างทางเคมีของน้ำมันปาล์มซึ่งเป็นสารตั้งต้นและเนยโกโก้ซึ่งเป็นสารผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ การหาตัวเร่งปฏิกิริยาหรือคะตะลิสต์ที่เหมาะสม และการหาสภาวะในการทำปฏิกิริยาการเปลี่ยนน้ำมันปาล์มเป็นเนยโกโก้ที่ดีที่สุด

4.1 การวิเคราะห์กรดไขมันของน้ำมันปาล์ม และ เนยโกโก้ ด้วยวิธี GC

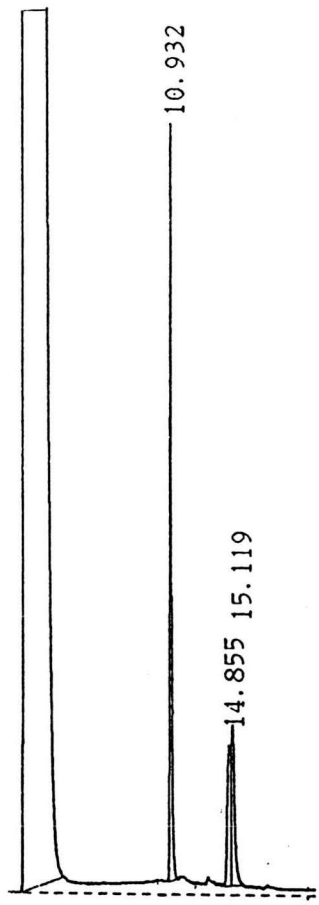
ดังกล่าวไว้ในบทที่ 2 แล้วว่า กรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันปาล์มคือ กรดปาล์มมิติก และกรดโอเลอิก ส่วนกรดสเตียริกและกรดลิโนเลอิกมีปริมาณเล็กน้อย เนยโกโก้มีกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบหลักคือ กรดปาล์มมิติก กรดโอเลอิก และกรดสเตียริก อย่างไรก็ตามปริมาณกรดไขมันชนิดต่างๆ ในน้ำมัน/ไขมันต่างๆ ขึ้นกับแหล่งวัตถุดิบและกระบวนการผลิตด้วย ดังนั้นงานวิจัยจึงจำเป็นต้องทำการวิเคราะห์หาปริมาณของกรดไขมันต่างๆ ในวัตถุดิบที่นำมาใช้ การวิเคราะห์กรดไขมันทั้งสามสามารถทำได้โดยวิธี GC ซึ่งจากการทดลองวิเคราะห์กรดไขมันด้วยคอลัมน์ DB- WAX ได้สภาวะที่เหมาะสมในการแยกกรดไขมัน แสดงในตารางที่ 4.1 โดยโครมาโทแกรมการแยกของกรดไขมันมาตรฐานแต่ละตัว คือ กรดปาล์มมิติก กรดโอเลอิก และกรดสเตียริก แสดงในรูปที่ 4.1 และ โครมาโทแกรมการแยกของกรดไขมันมาตรฐานผสม คือ กรดปาล์มมิติก กรดโอเลอิก และกรดสเตียริก แสดงในรูปที่ 4.2

ตารางที่ 4.1 สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการวิเคราะห์หากรดไขมันมาตรฐานโดยวิธี GC

สภาวะในการวิเคราะห์	
คอลัมน์	: DB-WAX (packed with polyethyleneglycol) ขนาด (ID) 0.324 มิลลิลิตร ยาว 30 เมตร
การตรวจวัด	: Flame Ionization Detector
อุณหภูมิคอลัมน์	: โปรแกรมเทมเพอร์เรเจอร์ อุณหภูมิเริ่มต้น = 80° ซ เป็นเวลา 1 นาที อัตราการเพิ่ม = 80-133°ซ อัตราเพิ่ม 5°ซ/นาที = 133-135°ซ อัตราเพิ่ม 0.2°ซ/นาที นาน 1 นาที = 135-150°ซ อัตราเพิ่ม 20°ซ/นาที อุณหภูมิสุดท้าย = 150°ซ
อุณหภูมิอินเจคเตอร์	: 250°ซ
อุณหภูมิดีเทคเตอร์	: 250°ซ
แก๊สไต้วพานโตรเจน	: ความดัน 1.0 กิโลกรัม / ลูกบาศก์เซนติเมตร
ความดันไฮโดรเจน	: 0.5 กิโลกรัม / ลูกบาศก์เซนติเมตร
ความดันอากาศ	: 0.5 กิโลกรัม / ลูกบาศก์เซนติเมตร
ปริมาตรในการวิเคราะห์	: 0.5 ไมโครลิตรในเฮกเซน
สารตัวอย่าง	: เตรียมเป็นเมธิลเอสเทอร์ เข้มข้น 1000 ppm.



รูปที่ 4.1 GC โครมาโทแกรมแสดงการแยกของสารมาตรฐานเมธิลเอสเทอร์ของกรดปาล์มมิติก กรดโอเลอิก และกรดสเตียริก ที่ความเข้มข้น 0.5 มก./มล. ในเฮกเซน ปริมาตรในการวิเคราะห์ 0.5 ไมโครลิตร(ใช้สภาวะในการวิเคราะห์ดังตาราง4.1)

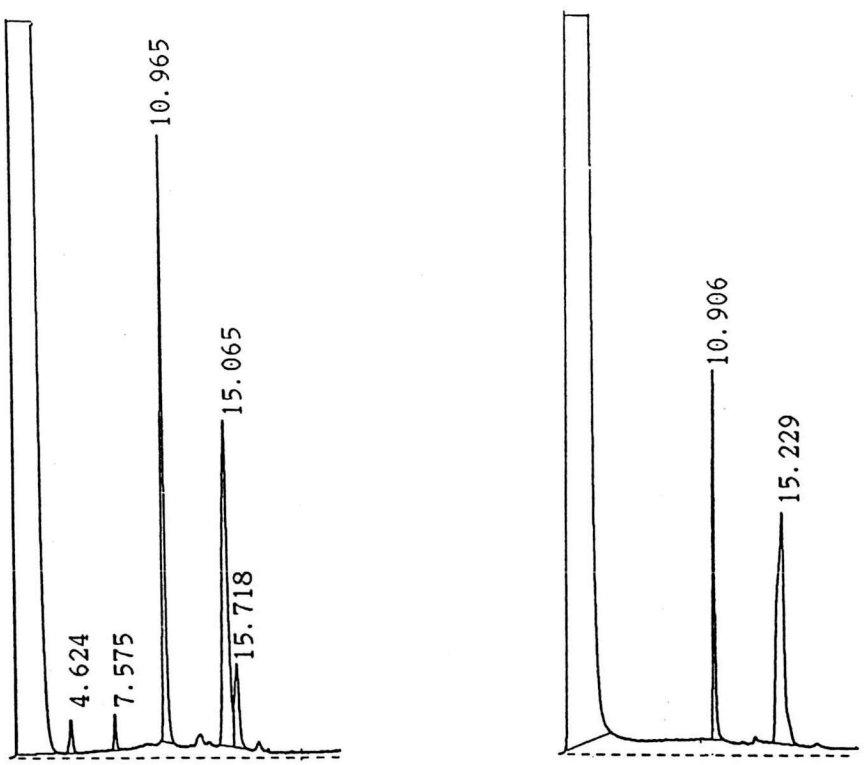


รูปที่ 4.2 GC โครมาโทแกรมแสดงการแยกของสารมาตรฐานเมธิลเอสเทอร์ของกรดปาล์มมิติก กรดโอเลอิก และกรดสเตียริกผสมที่ความเข้มข้น 0.5 มก./มล. ในเฮกเซน ปริมาตรในการวิเคราะห์ 0.5 ไมโครลิตร (ใช้สภาวะในการวิเคราะห์ดังตาราง 4.1)

การวิเคราะห์หาของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันปาล์ม และเนยโกโก้ ได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.3

ตารางที่ 4.2 ค่ารีเทนชันไทม์ของเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันมาตรฐาน

กรดไขมัน	รีเทนชันไทม์
ปาล์มมิติก	10.973
โอเลอิก	14.878
สเตียริก	15.153



รูปที่ 4.3 GC โครมาโทแกรมแสดงการแยกของกรดไขมันในน้ำมันปาล์มและเนยโกโก้ ที่ความเข้มข้น 1000 ppm. ในเฮกเซน ปริมาตรในการวิเคราะห์ 0.5 ไมโครลิตร ก) น้ำมันปาล์ม ข) เนยโกโก้ (ใช้สภาวะในการวิเคราะห์ดังตาราง 4.1)

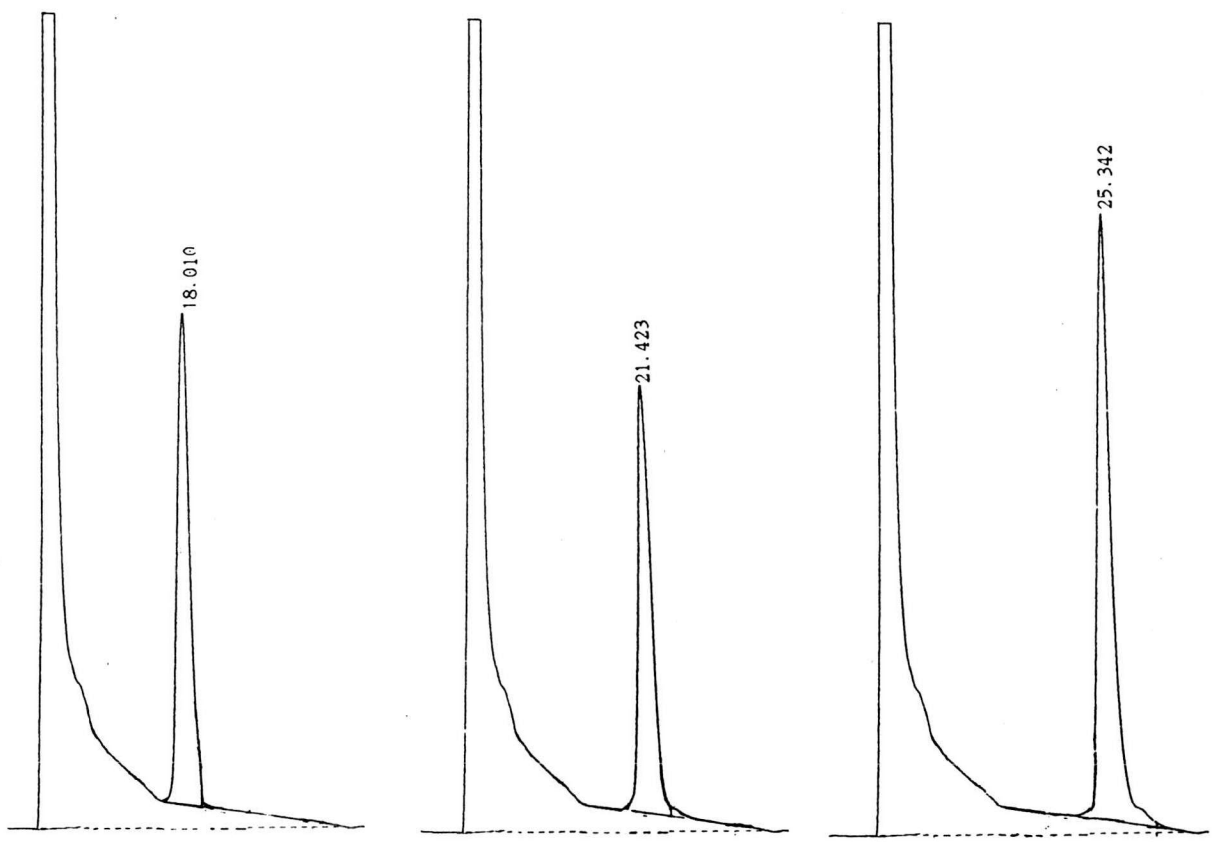
จากผลการทดลองในรูปที่ 4.1 และ 4.2 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการแยกกรดไขมันทั้งสามโดย GC สามารถแยกกรดโอเลอิกและกรดสเตียริกออกจากกันได้บ้างแม้จะไม่ดีนัก โดยกรดโอเลอิกจะออกมาก่อนกรดสเตียริก จากผลจะเห็นว่าค่ารีเทนชันไทม์ของกรดไขมันมาตรฐานทั้งสามที่ได้จากการวิเคราะห์เดี่ยวๆ (รูปที่ 4.1) และที่ได้จากการวิเคราะห์กรดไขมันมาตรฐานที่ผสมรวมกันมิได้แตกต่างกัน คือได้ผลสรุปไว้ในตารางที่ 4.2 น้ำมันปาล์มและเนยโกโก้มีองค์ประกอบของกรดปาล์มมิติก (รีเทนชันไทม์ 10.9 นาที) และกรดโอเลอิกกับกรดสเตียริก (รีเทนชันไทม์ 15 นาที) เป็นกรดไขมันหลัก

4.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันปาล์มและเนยโกโก้

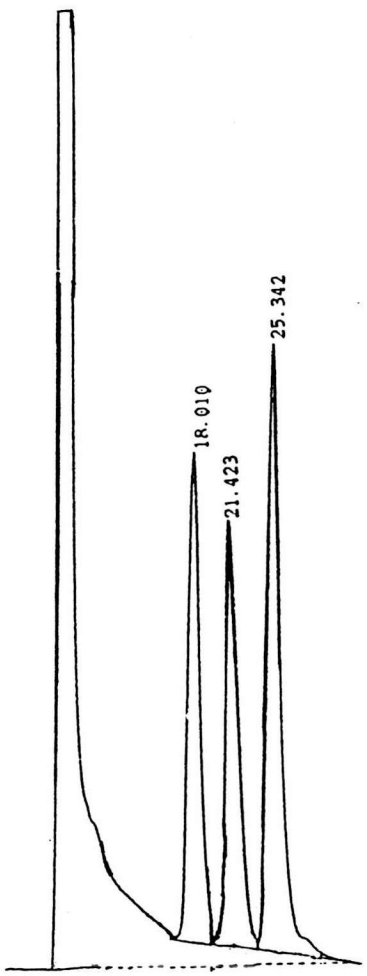
ดังกล่าวไว้ในบทที่ 2 องค์ประกอบหลักของน้ำมันและเนยโกโก้ คือ ไตรกลีเซอไรด์ POP POSt และ StOSt (โดยมีสัดส่วนของชนิดของไตรกลีเซอไรด์ที่แตกต่างกันระหว่างเนยโกโก้และน้ำมันปาล์ม) การวิเคราะห์ชนิดไตรกลีเซอไรด์สามารถทำได้โดยวิธี HPLC ซึ่งจากการทดลองวิเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์ทั้งสามด้วยคอลัมน์แบบ Reverse Phase (C-18) ได้สภาวะที่เหมาะสมที่สุดที่จะแยกไตรกลีเซอไรด์ทั้งสามออกจากกันดังแสดงในตารางที่ 4.3 โดยโครมาโทแกรมการแยกของไตรกลีเซอไรด์มาตรฐานแต่ละชนิดคือ POP POSt และ StOSt แสดงไว้ในรูปที่ 4.4 และโครมาโทแกรมการแยกของไตรกลีเซอไรด์มาตรฐานผสมแสดงไว้ในรูปที่ 4.5

ตารางที่ 4.3 สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์มาตรฐานโดยวิธี HPLC

สภาวะในการวิเคราะห์	
คอลัมน์	: Selectosil 5 C18 ขนาด (ID) 4.6 มิลลิเมตร ยาว 25 เซนติเมตร
การตรวจวัด	: Refractive Index
สารละลายตัวพา	: อะซิโตน:อะซิโตไนตริล ในอัตราส่วน 63.6:36.4 V/V
อัตราการไหล	: 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที
ความดัน	: 60 บาร์
ปริมาณสารตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์	: 20 ไมโครลิตรของสารละลายตัวอย่างเข้มข้น 100 มก./มล.ในเตตราไฮโดรฟูราน
เวลาในการวิเคราะห์	: 30 นาที



รูปที่ 4.4 HPLC โครมาโทแกรมแสดงการแยกของไตรกลีเซอไรด์มาตรฐาน POP POSt และ StOSt แต่ละชนิดที่ความเข้มข้น 100 มก./มล.. ในเตตราไฮโดรฟูรานโดยใช้ปริมาตรในการวิเคราะห์ 20 ไมโครลิตร (ใช้สภาวะในการวิเคราะห์ดังตาราง 4.3)



รูปที่ 4.5 HPLC โครมาโทแกรมแสดงการแยกของไตรกลีเซอไรด์มาตรฐานผสม POP POSt และ StOSt ที่ความเข้มข้นของไตรกลีเซอไรด์แต่ละตัวเป็น 100 มก./มล. ในเตตราไฮโดรฟูราน โดยใช้ปริมาตรในการวิเคราะห์ 20 ไมโครลิตร (ใช้สภาวะในการวิเคราะห์ดังตาราง 4.3)

จากโครมาโทแกรมที่ได้ในรูปที่ 4.5 จะเห็นว่าสามารถแยก POP POSt และ StOSt ออกจากกันได้อย่างชัดเจน ค่ารีเทนชันไทม์ของไตรกลีเซอไรด์ แต่ละชนิดแสดงในตารางที่ 4.4 ทั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าไตรกลีเซอไรด์ใดออกมาที่รีเทนชันไทม์เท่าใด โดยอาศัยข้อมูลจากการวิเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์แต่ละชนิดเดี่ยวๆ ซึ่งพบว่าค่ารีเทนชันไทม์ของไตรกลีเซอไรด์แต่ละชนิดที่ได้จากการวิเคราะห์ในรูปของผสม (รูปที่ 4.5) มีค่าใกล้เคียงกับค่ารีเทนชันไทม์ของไตรกลีเซอไรด์นั้นๆ ที่ได้จากการวิเคราะห์เดี่ยวๆ (รูปที่ 4.4)

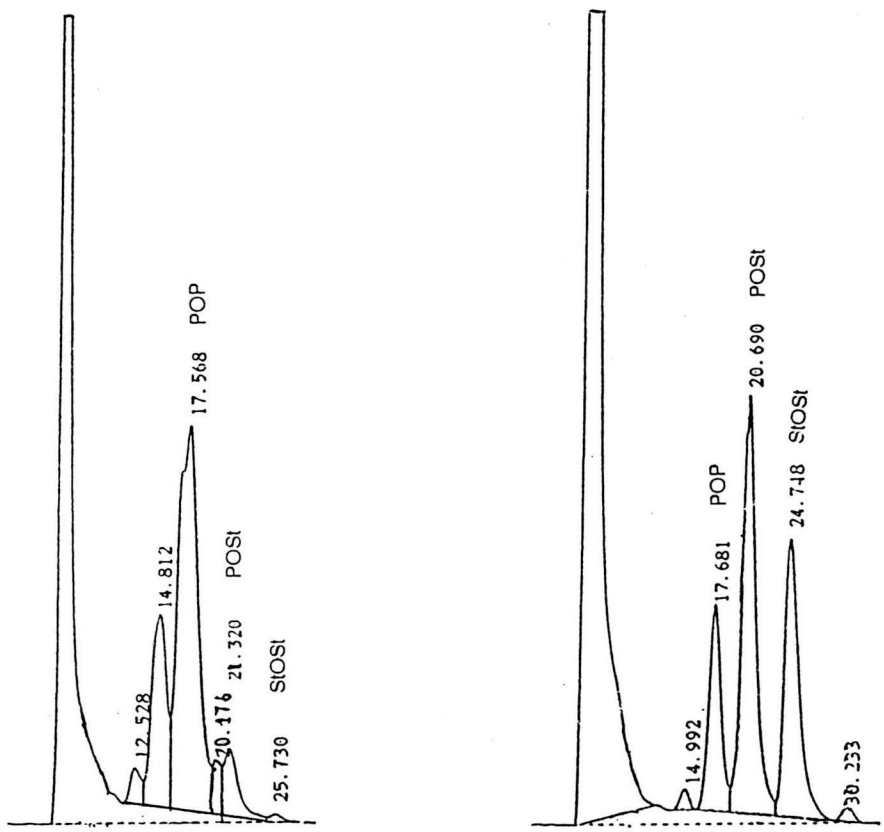
ตารางที่ 4.4 ค่ารีเทนชันไทม์ของไตรกลีเซอไรด์มาตรฐานที่วิเคราะห์โดยวิธี HPLC

ไตรกลีเซอไรด์	รีเทนชันไทม์ (นาที)
POP	18.010
POSt	21.423
StOSt	25.342

การวิเคราะห์หาชนิดของไตรกลีเซอไรด์ที่เป็นองค์ประกอบ ในน้ำมันปาล์มและเนยโกโก้ ด้วยสภาวะในการวิเคราะห์เช่นเดียวกับการวิเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์มาตรฐาน (ตารางที่ 4.3) ได้ผลการการทดลองดังรูปที่ 4.6 จากโครมาโทแกรมของน้ำมันปาล์ม (รูปที่ 4.6 ก.) จะเห็นได้ว่าองค์ประกอบหลักของน้ำมันปาล์มน่าจะเป็น POP และ POSt โดยมี StOSt เพียงเล็กน้อย

อย่างไรก็ตามค่ารีเทนชันไทม์มีการเปลี่ยนแปลงจากตารางที่ 4.4 เล็กน้อย ดังนั้นเพื่อเป็นการยืนยันว่าพีคที่รีเทนชันไทม์ 17.568 นาที ในโครมาโทแกรมของน้ำมันปาล์มเป็นพีคของ POP จริง จึงได้ทำการเติม POP มาตรฐานลงในน้ำมันปาล์ม แล้วทำการวิเคราะห์ด้วยวิธีเช่นเดิม โครมาโทแกรมของสารผสมของน้ำมันปาล์มและ POP (รูปที่ 4.7 ก.) ได้แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่า พีคที่รีเทนชันไทม์ 17.912 นาที เป็นพีคของ POP เพราะทำให้พีคของสารนี้สูงขึ้น การยืนยันว่าพีคที่รีเทนชันไทม์ 21.320 นาที และรีเทนชันไทม์ 25.730นาที เป็นพีคของ POSt และ StOSt โดยวิธีการทำนองเดียวกันคือเติมไตรกลีเซอไรด์มาตรฐาน POSt และ StOSt ลงในน้ำมันปาล์มแล้ววิเคราะห์สารผสมด้วยวิธี HPLC ก็ยืนยันอย่างชัดเจนว่าพีคทั้งสองแสดงชนิดของไตรกลีเซอไรด์ที่คาดหมาย (รูปที่ 4.7 ข. และ 4.7 ค.)

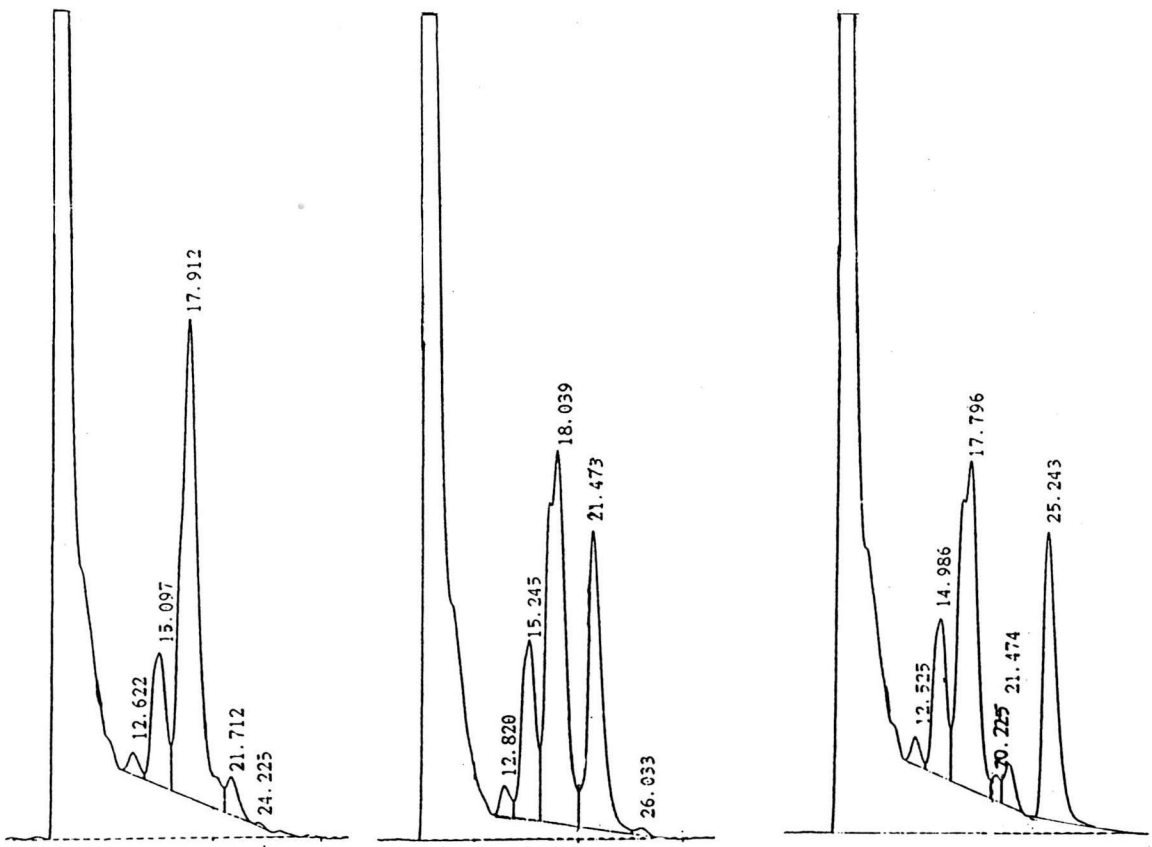
ในทำนองเดียวกันกรณีของการวิเคราะห์หาชนิดของไตรกลีเซอไรด์ที่เป็นองค์ประกอบของเนยโกโก้โดยวิธี HPLC ซึ่งให้โครมาโทแกรมดังรูปที่ 4.6 ข. และการยืนยันชนิดของไตรกลีเซอไรด์ในแต่ละพีคด้วยการเติมไตรกลีเซอไรด์มาตรฐานแต่ละชนิดลงในเนยโกโก้



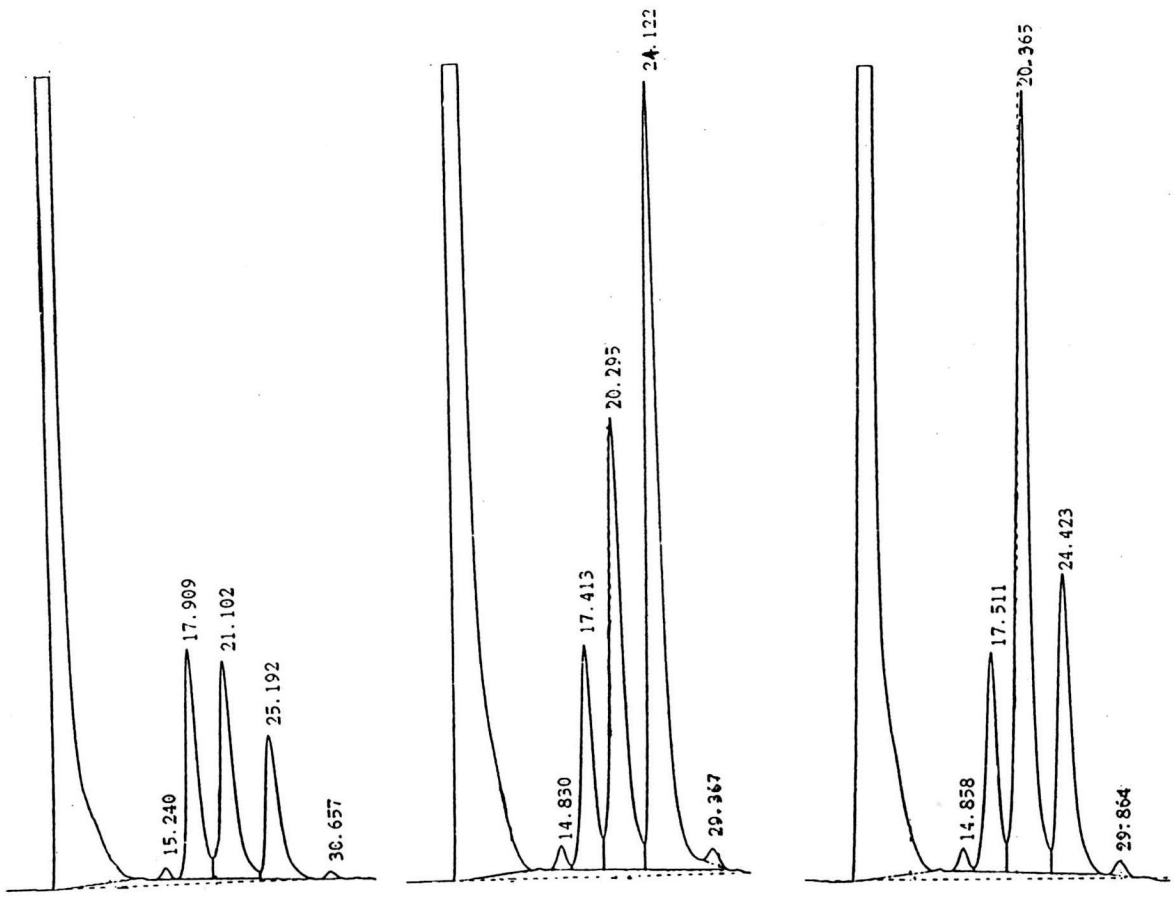
ก ข

รูปที่ 4.6 HPLC โครมาโทแกรมแสดงการแยกของไตรกลีเซอไรด์มาตรฐาน POP POSt และ StOSt ของน้ำมันปาล์ม และเนยโกโก้ ที่ความเข้มข้น 100 มก./มล. ในเตตราไฮโดรฟูราน โดยใช้ปริมาตรในการวิเคราะห์ 20 ไมโครลิตร (ใช้สภาวะในการวิเคราะห์ดังตาราง 4.3) ก) น้ำมันปาล์ม ข) เนยโกโก้

แล้ววิเคราะห์ด้วย HPLC (รูปที่ 4.8) ก็บ่งอย่างชัดเจนว่าพีคหลักที่รีเทนชันไทม์ 17.909 20..365 และ 24.122 นาที เป็นพีคของ POP POSt และ StOSt ตามลำดับ



รูปที่ 4.7 HPLC โครมาโทแกรมแสดงองค์ประกอบของน้ำมันปาล์มที่เติมไตรกลีเซอไรด์มาตรฐาน POP POSt และ StOSt อย่างละ 5 ไมโครลิตร ก) น้ำมันปาล์มที่เติมสารมาตรฐาน POP ข) น้ำมันปาล์มที่เติมสารมาตรฐาน POSt และ ค) น้ำมันปาล์มที่เติมสารมาตรฐาน StOSt (ใช้สภาวะในการวิเคราะห์ดังตาราง 4.3)



รูปที่ 4.8 HPLC โครมาโทแกรมแสดงองค์ประกอบของเนยโกโก้ที่เติมไตรกลีเซอไรด์มาตรฐาน POP POSt และ StOSt อย่างละ 5 ไมโครลิตร ก) เนยโกโก้ที่เติมสารมาตรฐาน POP ข) เนยโกโก้ที่เติมสารมาตรฐาน POSt และ ค) เนยโกโก้ที่เติมสารมาตรฐาน StOSt (ใช้สภาวะในการวิเคราะห์ดังตารางที่ 4.3)

เมื่อทราบชนิดไตรกลีเซอไรด์หลักที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันปาล์มและเนยโกโก้แล้ว การวิเคราะห์หาสัดส่วนไตรกลีเซอไรด์แต่ละชนิดด้วยวิธี HPLC ก็สามารถทำต่อไป โดยใช้พื้นที่ใต้พีคมาคำนวณหาสัดส่วนของไตรกลีเซอไรด์ POP POSt และ StOSt โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของไตรกลีเซอไรด์ POP POSt และ StOSt (ภาคผนวก ข ภาคผนวก ค และภาคผนวก ง ตามลำดับ) ซึ่งได้สัดส่วนของ POP POSt และ StOSt ดังแสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 สัดส่วนของ POP POSt และ StOSt ในน้ำมันปาล์มและเนยโกโก้
(คำนวณได้จากพื้นที่ใต้พีคในโครมาโทแกรมจาก HPLC)

ชนิดของไขมัน	สัดส่วนไตรกลีเซอไรด์แต่ละชนิดโดยน้ำหนัก(%)			ปริมาณ (มก.) ไตรกลีเซอไรด์แต่ละชนิดในน้ำมัน 1 กรัม		
	POP	POSt	StOSt	POP	POSt	StOSt
น้ำมันปาล์ม	90.5	7.9	1.7	0.4762	0.0417	0.0067
เนยโกโก้	20.0	45.3	34.6	0.1863	0.4190	0.3198

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.5 จะเห็นได้ว่า เนยโกโก้มีสัดส่วนของ POSt และ StOSt ในปริมาณสูง (45.3% และ 34.6 % ตามลำดับ) ในขณะที่น้ำมันปาล์มจะมีปริมาณ POP สูง(90.5%) การวิจัยนี้ซึ่งมุ่งจะเปลี่ยนองค์ประกอบของไตรกลีเซอไรด์ในน้ำมันปาล์มให้ใกล้เคียงกับของเนยโกโก้จึงมีวัตถุประสงค์ในการเปลี่ยน POP ในน้ำมันปาล์มให้เป็น POSt และ StOSt โดยใช้เอนไซม์ไลเปสที่มีความจำเพาะในการเร่งปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนกรดไขมันบนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์เฉพาะที่ตำแหน่งที่ 1 และ 3 ของโครงสร้างไตรกลีเซอไรด์เท่านั้น ทั้งนี้เนื่องจากต้องการคงให้กรดโอเลอิกอยู่ที่ตำแหน่งที่สองในโมเลกุลเช่นเดิม แต่เปลี่ยนเฉพาะกรดปาล์มมิติกให้เป็นกรดสเตียริกที่ตำแหน่ง 1 และ/หรือ 3

ในงานวิจัยนี้ได้ใช้เอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ Mucor miehei ซึ่งมีแอคติวิตี 10,000 LU/กรัม (LU คือ หนึ่งหน่วยไลเปส*) ซึ่งเป็นเอนไซม์เกรดอุตสาหกรรม มีราคาไม่แพงและหาได้ง่ายในประเทศ อย่างไรก็ตามวิธีการหาแอคติวิตีของเอนไซม์ไลเปสทั่วไป เป็นการหาไฮโดรไลซีสแอคติวิตี (ไฮโดรไลซีส คือ การหาความสามารถที่ไลเปสจะเร่งปฏิกิริยาการไฮโดรไลซีสพันธะเอสเทอร์ในน้ำมัน/ไขมัน) ซึ่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสนี้ไม่ใช่ปฏิกิริยาที่จะใช้

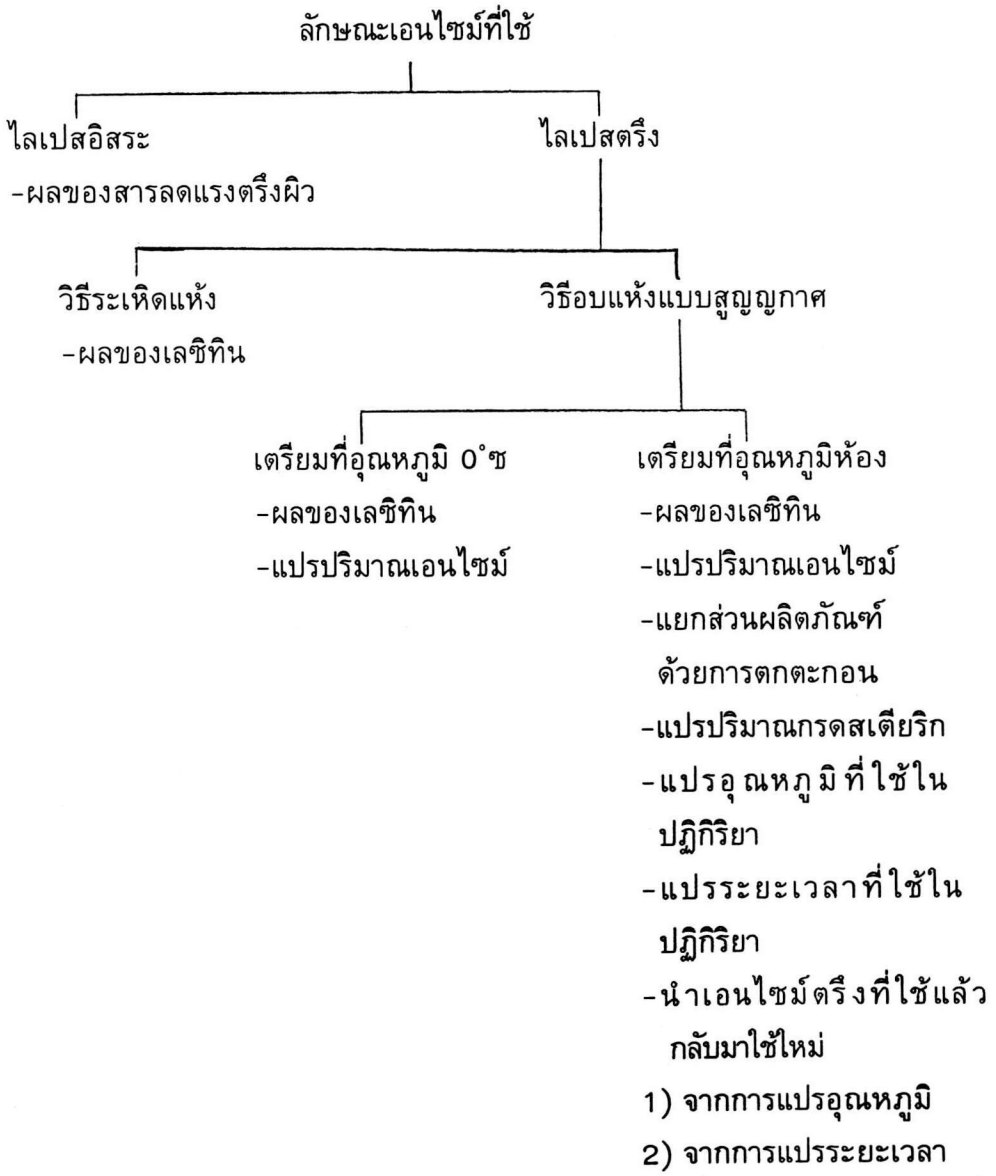
---

* 1 LU (หน่วยไลเปส) คือ เอนไซม์ทั้งหมดปริมาณ 1 µl ซึ่งได้จากการไตเตรทด้วยกรดบิวไทริกใน 1 นาทีในสภาวะที่กำหนด

ซึ่งหมายความถึงปฏิกิริยาการต่อเชื่อมของพันธะเอสเทอร์ในน้ำมัน/ไขมัน ร่วมกับการไฮโดรไลซีสพันธะดังกล่าว (การแลกเปลี่ยนชนิดของกรดไขมันบนไตรกลีเซอไรด์) ดังนั้นการหาแอคติวิตีของเอนไซม์ไลเปสในหน้าที่ดังกล่าว จึงต้องทำด้วยการวัดปริมาณและชนิดของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชัน

การทดลองแปรรูปน้ำมันปาล์มเป็นเนยโกโก้ในงานวิจัยนี้ได้ทดลองทำหลาย ๆ วิธีด้วยกัน ดังสรุปไว้ในแผนภาพ

ปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชัน



4.3 ทรานเอสเทอริฟิเคชันโดยใช้ไลเปสอิสระ

ดังกล่าวมาแล้วข้างต้นว่าปฏิกิริยาการสังเคราะห์(สร้างพันธะเอสเทอร์) ของไลเปสจะเกิดได้ในสภาวะที่มีตัวทำละลายอินทรีย์ ในสภาวะเช่นนี้เอนไซม์จะรักษาประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยาในตัวกลางที่เป็นของเหลวที่ไม่ใช่น้ำได้เมื่อมีโมเลกุลของน้ำปริมาณเพียงเล็กน้อยที่จับกับโมเลกุลของเอนไซม์ (ทั้งนี้เพื่อรักษาโครงรูปของเอนไซม์ให้สามารถเร่งปฏิกิริยาได้) การทดลองนี้จึงเลือกใช้เฮกเซนที่อิ่มตัวด้วยน้ำ เนื่องจากมีงานวิจัยยืนยันว่าตัวทำละลายนี้จะไม่ทำให้เอนไซม์เสียสภาพ (Mojovic และคณะ, 1993)

4.3.1 การใช้ไลเปสอิสระเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาโดยไม่มีการใช้สารลดแรงตึงผิวช่วย

การทดลองนี้ใช้น้ำมันปาล์ม 1 กรัม รวมกับกรดสเตียริก 0.7 กรัม และทำการแปรปริมาณเอนไซม์อิสระที่ใช้ในปฏิกิริยา สารทั้งหมดนี้ละลายในเฮกเซนที่อิ่มตัวด้วยน้ำ 4 มิลลิลิตร ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 30° ซ เขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 20 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาด้วยความร้อน (ความร้อนประมาณ 70°ซ นาน 5 นาที) ทำการตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นโดย วิธี HPLC ได้ผลการทดลองเป็นสัดส่วนของไตรกลีเซอไรด์ POP POSt และ StOSt ดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 สัดส่วนไตรกลีเซอไรด์ POP POSt และ StOSt ของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นโดยใช้ไลเปสอิสระเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 30°ซ เขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 ชม. (คำนวณจากพื้นที่ใต้พีคในโครมาโทแกรมจาก HPLC)

ปริมาณเอนไซม์	สัดส่วนไตรกลีเซอไรด์แต่ละชนิดโดยน้ำหนัก(%)			ปริมาณ (มก.) ไตรกลีเซอไรด์แต่ละชนิดในน้ำมัน 1 กรัม		
% (w/w)*	POP	POSt	StOSt	POP	POSt	StOSt
0	91.7	8.1	-	0.1809	0.0063	-
10	95.9	2.5	-	0.1390	0.0024	-
30	95.1	4.9	-	0.0778	0.0036	-
50	85.0	15.0	-	0.0676	0.0056	-
70	79.4	20.6	-	0.0504	0.0116	-
100	86.3	13.7	-	0.0227	0.0114	-

* %(w/w) น้ำหนักเอนไซม์ต่อน้ำหนักน้ำมันปาล์ม

- ไม่มีพีคปรากฏ

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.6 จะเห็นได้ว่าในน้ำมันปาล์ม มีปริมาณไตรกลีเซอไรด์ POSt เริ่มต้นเพียง 8.1% เมื่อทำปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชันโดยการเติมไลเปสในปริมาณต่างๆ กัน พบว่าปริมาณเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้นสามารถเร่งปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนกรดไขมันบนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันปาล์มได้เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามปริมาณ POSt และ StOSt ที่เกิดขึ้นนั้นยังไม่สูงเพียงพอ คือให้ % POSt เพียง 20.6% เท่านั้น แม้ว่าจะมีการใช้เอนไซม์มากถึง 70 ส่วนเอนไซม์ต่อ 100 ส่วนน้ำมันปาล์มแล้วก็ตาม

4.3.2 การใช้สารลดแรงตึงผิวช่วยในปฏิกิริยา

จากการทดลองที่ผ่านมาคาดว่าการสัมผัสระหว่างสารตั้งต้นซึ่งละลายอยู่ในเฮกเซนกับเอนไซม์ซึ่งอยู่ในน้ำอาจมีน้อยเกินไป ทำให้เอนไซม์เร่งปฏิกิริยาได้เพียงเล็กน้อย การทดลองนี้จึงใช้สารลดแรงตึงผิวช่วยให้วัฏภาคน้ำและน้ำมันสัมผัสกันได้มากขึ้น การทดลองทำโดยเติมสารละลายทวีน 80 ในน้ำที่ความเข้มข้น 2% (v/v) ลงในปฏิกิริยาด้วย เมื่อทำการตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นโดย นำไปวิเคราะห์หาสัดส่วนไตรกลีเซอไรด์ชนิดต่าง ๆ ด้วยวิธี HPLC เมื่อนำพื้นที่ใต้พีคมาคำนวณหาสัดส่วนของไตรกลีเซอไรด์ POP POSt และ StOSt ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 สัดส่วนไตรกลีเซอไรด์ POP POSt และ StOSt ของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นโดยใช้ไลเปสอิสระเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา โดยเติมสารละลายทวีน 80 ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 30°ซ เขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 ชม. (คำนวณจากพื้นที่ใต้พีคในโครมาโทแกรมจาก HPLC)

ปริมาณเอนไซม์	สัดส่วนไตรกลีเซอไรด์แต่ละชนิดโดยน้ำหนัก(%)			ปริมาณ (มก.) ไตรกลีเซอไรด์แต่ละชนิดในน้ำมัน 1 กรัม		
% (w/w)*	POP	POSt	StOSt	POP	POSt	StOSt
0	88.5	11.5	-	0.1460	0.0186	-
10	88.0	12.0	-	0.1764	0.0240	-
30	88.6	11.4	-	0.1404	0.0182	-
50	90.1	9.9	-	0.1625	0.0183	-
70	89.7	10.3	-	0.1400	0.0156	-
100	92.9	7.1	-	0.1184	0.0890	-

* %(w/w) น้ำหนักเอนไซม์ต่อน้ำหนักน้ำมันปาล์ม

- ไม่มีพีคปรากฏ

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.7 จะเห็นได้ว่าปริมาณเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้นไม่สามารถเร่งปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนกรดไขมันบนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันปาล์มได้ โดยสังเกตได้จากไตรกลีเซอไรด์ POSt ในสารผลิตภัณฑ์ที่มิได้เพิ่มขึ้นมาเลย ยังคงใกล้เคียงกับสัดส่วนของ POSt ในสารตั้งต้น นอกจากนี้ยังไม่มีไตรกลีเซอไรด์ StOSt เกิดขึ้น

จากผลการทดลองใช้ไลเปสอิสระเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา พบว่าไลเปสสามารถเร่งปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนกรดไขมันบนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันปาล์มได้เพียงเล็กน้อย (สังเกตจากสัดส่วนของไตรกลีเซอไรด์ POSt ที่เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย) และเมื่อทำการปรับปรุงการทดลองโดยเติมสารลดแรงตึงผิว (ทวีน 80) เพื่อช่วยให้วัฏภาคน้ำและน้ำมันในตัวทำละลายอินทรีย์สัมผัสกันได้มากขึ้น พบว่าทวีน 80 ไม่ได้มีส่วนช่วยให้วัฏภาคน้ำและน้ำมันสัมผัสกันได้มากขึ้น (สังเกตจากสัดส่วนไตรกลีเซอไรด์ POSt ที่ยังคงใกล้เคียงกับน้ำมันปาล์ม)

4.4 ทรานเอสเทอริฟิเคชันโดยใช้ไลเปสตรึง

จากผลการทดลองที่กล่าวข้างต้นจะเห็นได้ว่าไลเปสอิสระแทบจะไม่สามารถเร่งปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชันได้ดีตามต้องการ ไม่ว่าจะมีการพยายามปรับปรุงสภาวะในการทำปฏิกิริยาด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิวที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แล้วก็ตาม จากการค้นคว้าข้อมูลพบว่าการใช้เอนไซม์ในลักษณะของเอนไซม์ที่ตรึงอยู่บนพาหะตรึงอาจให้ผลการเร่งปฏิกิริยาที่ดีขึ้น เนื่องจากการตรึงเอนไซม์ทำให้เอนไซม์กระจายบนพื้นที่ผิวกว้าง ๆ ได้ ทำให้สามารถสัมผัสกับสารตั้งต้นความเข้มข้นสูงขึ้นได้ แรงปฏิกิริยาทางฟิสิกส์ระหว่างพาหะตรึงและเอนไซม์สามารถทำให้เอนไซม์เสถียรขึ้นได้และสามารถแยกออกไปใช้ใหม่ได้ (Yokozeki และคณะ, 1981) นอกจากนี้การสัมผัสกันระหว่างโมเลกุลน้ำและเอนไซม์ ซึ่งจำเป็นต่อการรักษาสภาพของเอนไซม์ ก็น่าที่จะเป็นไปได้ดีขึ้น เนื่องจากน้ำสามารถแทรกตัวอยู่ในพาหะตรึงได้ด้วย

จากการค้นคว้าของ Mojovic และคณะ (1993) พบว่าภายใต้สภาวะที่เหมาะสมทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนกรดไขมันระหว่างหมู่ปาล์มมิโตอิลของน้ำมันปาล์มและหมู่สเตียริอิลจากกรดสเตียริก การเติมเลซิทินสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนดังกล่าว ซึ่งมีไลเปสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาได้ ด้วยเหตุนี้งานวิจัยนี้จึงทำการทดลองศึกษาผลของเลซิทินต่อกระบวนการเปลี่ยนน้ำมันปาล์มเป็นเนยโกโก้โดยใช้ไลเปสตรึงเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาด้วย

4.4.1 การตรึงเอนไซม์โดยวิธีระเหิดแห้ง

เมื่อนำไลเปสซึ่งละลายในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ผสมกับซีไลท์ แล้วนำไปทำให้แห้งโดยวิธีระเหิดแห้ง (3.3.2.1.1) ก็จะได้เอนไซม์ตรึงที่มีลักษณะเป็นผงสีน้ำตาลอ่อน นำเอนไซม์ตรึงที่ได้มาทดลองทำปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชัน โดยใช้ปริมาณสารต่างๆ และสภาวะในการทดลองดังเช่นที่ใช้ในการทำการทดลองด้วยเอนไซม์อิสระ โดยมีการเติมเลซิทิน จากนั้นกรองเอนไซม์ตรึงออก เมื่อนำสารผลิตภัณฑ์ที่ได้ทำการวิเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์ชนิดต่าง ๆ ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.8

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.8 จะเห็นว่าปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนกรดไขมันชนิดปาล์มมิติกที่ตำแหน่ง 1 และ 3 บนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันปาล์มกับกรดสเตียริก (เป็นการเปลี่ยน POP ให้เป็น POSt หรือ StOSt) โดยใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงบนซีไลท์แบบระเหิดแห้งเป็นตัวเร่งปฏิกิริยามิได้ถูกกระทบโดยการเติมหรือไม่เติมเลซิทิน ทั้งนี้สังเกตได้จากไตรกลีเซอไรด์ POSt และ StOSt ในสารผลิตภัณฑ์ทั้งสองกรณีมิได้มีความแตกต่างกันอย่างเด่นชัด

4.4.2 การตรึงเอนไซม์ที่เตรียมที่ 0 °ซ และอบแห้งแบบสูญญากาศ

เมื่อนำไลเปสผสมกับซีไลท์ที่ 0 °ซ และเติมอะซิโตนที่แช่เย็นลงไปเพื่อตกตะกอนเอนไซม์ตรึง จะพบว่ามีตะกอนสีน้ำตาลอ่อนตกออกมา เมื่อกรองตะกอนแล้วนำไปอบโดยใช้เครื่องอบแห้งแบบสูญญากาศที่ 25 °ซ จะได้ไลเปสตรึงเป็นผงแห้งมีลักษณะเป็นก้อนเล็กๆ นำเอนไซม์ไลเปสตรึงที่ได้มาทำปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชัน โดยใช้ปริมาณสารต่างๆ และสภาวะในการทดลองดังเช่นที่ใช้ในการทำการทดลองด้วยเอนไซม์อิสระ และสภาวะในการทดลองดังเช่น 4.3 โดยมีการเติมเลซิทิน เมื่อนำสารผลิตภัณฑ์ที่ได้ทำการวิเคราะห์ไตรกลีเซอไรดชนิดต่างๆ ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.9

4.4.3 การตรึงเอนไซม์ที่เตรียมที่อุณหภูมิห้องและอบแห้งแบบสูญญากาศ

เมื่อนำไลเปสผสมกับซีไลท์ที่อุณหภูมิห้อง และเติมอะซิโตนที่แช่เย็นลงไปเพื่อตกตะกอนเอนไซม์ตรึง จะพบว่าตะกอนสีน้ำตาลอ่อนตกออก กรองตะกอนออกแล้วนำไปอบโดยใช้เครื่องอบแห้งแบบสูญญากาศที่ 25 °ซ จะได้ไลเปสตรึงซึ่งมีลักษณะเป็นผงสีน้ำตาลอ่อน นำเอนไซม์ตรึงที่ได้มาทำปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชันเช่นเดียวกับการทำปฏิกิริยา โดยใช้เอนไซม์ตรึงที่เตรียมที่ 0 °ซ ดังกล่าวไปแล้วข้างต้น ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.8 สัดส่วนไตรกลีเซอไรด์ POP POSt และ StOSt ของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นโดยใช้เอนไซม์ตรึงแบบระเหิดแห้งเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 30°ซ เขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 ชม. (คำนวณจากพื้นที่ใต้พีคในโครมาโทแกรมจาก HPLC)

ชุดการทดลอง	สัดส่วนไตรกลีเซอไรด์ แต่ละชนิดโดยน้ำหนัก(%)			ปริมาณ (มก.) ไตรกลีเซอไรด์ แต่ละชนิดในน้ำมัน 1 กรัม		
	POP	POSt	StOSt	POP	POSt	StOSt
ไม่เติมเลซิทิน ไม่เติมเอนไซม์	93.8	6.2	-	0.2586	0.0174	-
ไม่เติมเลซิทิน เติมเอนไซม์	93.8	6.3	-	0.3000	0.0199	-
เติมเลซิทิน ไม่เติมเอนไซม์	92.2	5.3	2.5	0.2603	0.0151	0.0067
เติมเลซิทิน เติมเอนไซม์	94.2	5.8	-	0.2595	0.0165	-

-ไม่มีพีคปรากฏ

ตารางที่ 4.9 สัดส่วนไตรกลีเซอไรด์ POP POSt และ StOSt ของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นโดยใช้เอนไซม์ตรึงที่เตรียมที่ 0 °ซ และอบแห้งแบบสูญญากาศ เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 30°ซ เขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 ชม.
(คำนวณได้จากพื้นที่ใต้พีคในโครมาโทแกรมจาก HPLC)

ชุดการทดลอง	สัดส่วนไตรกลีเซอไรด์ แต่ละชนิดโดยน้ำหนัก(%)			ปริมาณ (มก.) ไตรกลีเซอไรด์ แต่ละชนิดในน้ำมัน 1 กรัม		
	POP	POSt	StOSt	POP	POSt	StOSt
ไม่เติมเลซิทิน ไม่เติมเอนไซม์	89.3	9.4	1.3	0.2745	0.0294	0.0040
ไม่เติมเลซิทิน เติมเอนไซม์	81.6	16.3	2.1	0.1549	0.0309	0.0043
เติมเลซิทิน ไม่เติมเอนไซม์	91.5	8.5	-	0.2569	0.0235	-
เติมเลซิทิน เติมเอนไซม์	88.7	10.2	1.1	0.2518	0.0285	0.0025

-ไม่มีพีคปรากฏ

ตารางที่ 4.10 สัดส่วนไตรกลีเซอไรด์ POP POSt และ StOSt ของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นโดยใช้เอนไซม์ตรึงที่เตรียมที่อุณหภูมิห้อง และอบแห้งแบบสูญญากาศเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 30°ซ เขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 ชม. (คำนวณได้จากพื้นที่ใต้พีคในโครมาโทแกรมจาก HPLC)

ชุดการทดลอง		สัดส่วนไตรกลีเซอไรด์ แต่ละชนิดโดยน้ำหนัก(%)			ปริมาณ (มก.) ไตรกลีเซอไรด์ แต่ละชนิดในน้ำมัน 1 กรัม		
		POP	POSt	StOSt	POP	POSt	StOSt
ไม่เติมเลซิทิน	ไม่เติมเอนไซม์	91.5	8.6	-	0.3213	0.0296	-
ไม่เติมเลซิทิน	เติมเอนไซม์	83.5	13.8	2.6	0.1571	0.0260	0.0046
เติมเลซิทิน	ไม่เติมเอนไซม์	91.1	8.8	0.9	0.4311	0.0377	0.0037
เติมเลซิทิน	เติมเอนไซม์	92.1	7.9	-	0.3865	0.0329	-

-ไม่มีพีคปรากฏ

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.9 และ 4.10 จะเห็นว่าปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนกรดไขมันชนิดปาล์มมิติกที่ตำแหน่ง 1 และ 3 บนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันปาล์มกับกรดสเตียริก (เป็นการเปลี่ยน POP ให้เป็น POSt และ StOSt) โดยใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงบนซีไลท์ที่เตรียมที่ 0 °ซ และเตรียมที่อุณหภูมิห้องอบแห้งแบบสูญญากาศเป็นตัวเร่งปฏิกิริยามิได้เพิ่มขึ้นโดยการเติมเลซิทินแต่มีแนวโน้มที่จะลดลง ทั้งนี้สังเกตได้จากสัดส่วนของไตรกลีเซอไรด์ POSt และ StOSt ในสารผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกรณีที่มีการเติมเลซิทินจะต่ำกว่าที่ได้จากในกรณีที่ไม่เติมเลซิทินนั้นมิได้มีความแตกต่างกันเลย

เมื่อเปรียบเทียบวิธีการเตรียมเอนไซม์ตรึงทั้งสามวิธี คือวิธีระเหิดแห้ง วิธีเตรียมที่ 0°ซ อบแห้งแบบสูญญากาศ และวิธีเตรียมที่อุณหภูมิห้องอบแห้งแบบสูญญากาศ จะเห็นได้ว่าเอนไซม์ที่ตรึงแบบระเหิดแห้งไม่สามารถเร่งปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนกรดไขมันบนโมเลกุลกลีเซอไรด์ของน้ำมันปาล์มได้ โดยสังเกตได้จากสัดส่วนไตรกลีเซอไรด์ POSt และ StOSt ในสารผลิตภัณฑ์ที่ยังคงไม่แตกต่างไปจากในสารตั้งต้นคือน้ำมันปาล์ม ส่วนการตรึงเอนไซม์โดยการอบแห้งแบบสูญญากาศทั้ง 2 วิธี คือเตรียมที่ 0°ซ และเตรียมที่อุณหภูมิห้อง เอนไซม์ที่ได้สามารถเร่งปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนกรดไขมันได้บ้าง โดยเฉพาะในกรณีที่ไม่มีการเติมเลซิทิน โดยสังเกตจากปริมาณไตรกลีเซอไรด์ POSt ในสารผลิตภัณฑ์ที่เพิ่มขึ้น

4.5 ทรานเอสเทอริฟิเคชันโดยการแปรผันปริมาณเอนไซม์ตรึงที่เตรียมที่ 0 °ซ และที่เตรียมที่อุณหภูมิห้องโดยการอบแห้งแบบสูญญากาศ

จากการทดลองที่ผ่านมาพบว่าเอนไซม์ที่ตรึงโดยการอบแห้งแบบสูญญากาศทั้งสองวิธี สามารถเร่งปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนกรดไขมันบนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันปาล์มได้บ้างแม้จะยังไม่สูงเท่าที่ต้องการ การทดลองนี้จึงทำการแปรผันปริมาณเอนไซม์ตรึง ที่เตรียมโดยวิธีดังกล่าวทั้งสองอุณหภูมิ ในปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชันระหว่างน้ำมันปาล์มและกรดสเตียริก เพื่อหาปริมาณเอนไซม์ตรึงที่สามารถเร่งปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชันได้ดีที่สุด เมื่อทำการทดลองโดยการแปรผันปริมาณเอนไซม์ตรึงที่ 0 10 30 40 50 และ 80 % ของน้ำหนักเอนไซม์ตรึงต่อน้ำหนักน้ำมันปาล์ม โดยปริมาณสารต่างๆ และสภาวะในการทดลองอื่นๆ คงเดิม (เหมือนข้อ 4.3) เมื่อนำสารผลิตภัณฑ์ที่ได้มาทำการวิเคราะห์ปริมาณไตรกลีเซอไรด์ชนิดต่างๆ ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.11

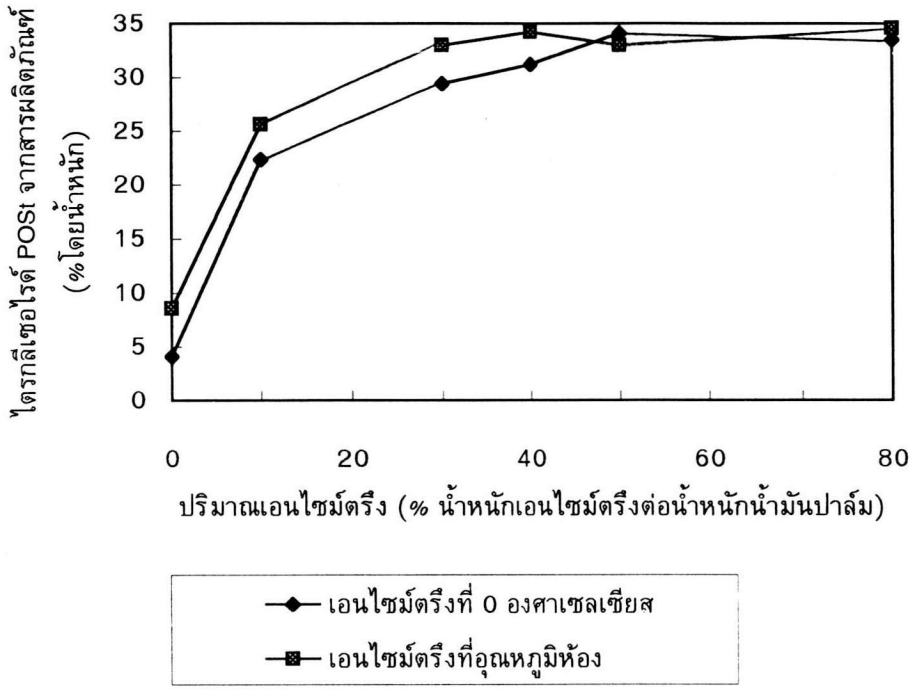
ตารางที่ 4.11 สัดส่วนไตรกลีเซอไรด์ POP POSt และ StOSt ของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นโดย การแปรผันปริมาณเอนไซม์ตรึงที่อบแห้งแบบสูญญากาศเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 30°ซ เขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 ชม. (คำนวณได้จากพื้นที่ใต้พีคในโครมาโทแกรมจาก HPLC)

ปริมาณเอนไซม์	สัดส่วนไตรกลีเซอไรด์แต่ละชนิดโดยน้ำหนัก(%)						ปริมาณ (มก.) ไตรกลีเซอไรด์แต่ละชนิดในน้ำมัน 1 กรัม					
	เอนไซม์ตรึงที่เตรียมที่ 0°ซ			เอนไซม์ตรึงที่เตรียมที่อุณหภูมิห้อง			เอนไซม์ตรึงที่เตรียมที่ 0°ซ			เอนไซม์ตรึงที่เตรียมที่อุณหภูมิห้อง		
%(w/w)*	POP	POSt	StOSt	POP	POSt	StOSt	POP	POSt	StOSt	POP	POSt	StOSt
0	94.9	4.1	0.9	91.4	8.6	-	0.2464	0.0228	-	0.1325	0.0456	0.0102
10	76.2	22.3	4.0	69.9	25.6	4.5	0.0932	0.0343	0.0062	0.0961	0.0277	0.0047
30	58.8	29.4	5.9	61.2	33.0	5.8	0.0633	0.0342	0.0059	0.0863	0.0677	0.0124
40	61.0	31.2	7.8	59.5	34.2	6.3	0.0663	0.0376	0.0068	0.1298	0.0443	0.0106
50	59.8	34.1	6.1	58.9	33.0	8.8	0.0659	0.0376	0.0091	0.1065	0.0605	0.0105
80	59.9	33.5	6.6	60.7	34.6	4.7	0.0648	0.0366	0.0052	0.1000	0.0557	0.0105

* (w/w) น้ำหนักเอนไซม์ตรึงต่อน้ำหนักน้ำมันปาล์ม

-ไม่มีพีคปรากฏ

เมื่อนำสัดส่วนของไตรกลีเซอไรด์ POSt ในสารผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทดลอง ณ ที่ปริมาณเอนไซม์ต่าง ๆ กันมาเปรียบเทียบกันโดยการสร้างกราฟระหว่างปริมาณไตรกลีเซอไรด์ POSt ในสารผลิตภัณฑ์ และ ปริมาณเอนไซม์ตรึงที่ใช้ในปฏิกิริยา จะได้กราฟดังรูปที่ 4.9



รูปที่ 4.9 สัดส่วนไตรกลีเซอไรด์ POSt ในสารผลิตภัณฑ์ กับปริมาณเอนไซม์ตรึงที่ใช้ในปฏิกิริยา

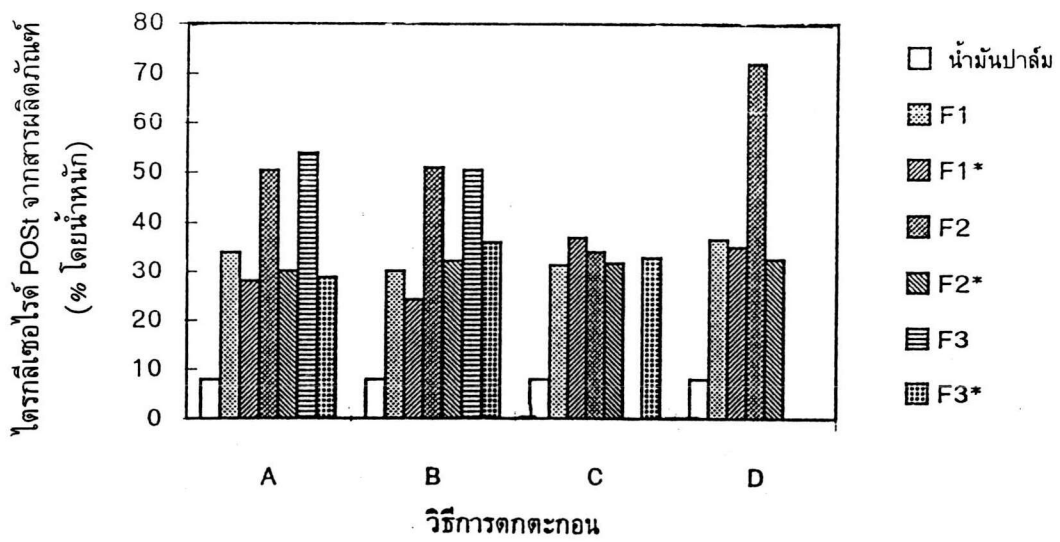
จากตารางผลการทดลองที่ 4.11 จะเห็นว่าเอนไซม์ตรึงที่เตรียมทั้งสองวิธีสามารถเร่งปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนกรดไขมันบนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันปาล์มได้ โดยสังเกตจากสัดส่วนไตรกลีเซอไรด์ POSt ในสารผลิตภัณฑ์ที่เพิ่มสูงขึ้น เมื่อพิจารณาจากกราฟในรูปที่ 4.9 จะเห็นได้ว่าเมื่อปริมาณเอนไซม์ตรึงเพิ่มขึ้น สัดส่วนของไตรกลีเซอไรด์ POSt ในสารผลิตภัณฑ์ก็เพิ่มขึ้น จนกระทั่งถึงจุดที่ใช้ปริมาณเอนไซม์ตรึง 30 % ก็จะพบว่าการใช้ปริมาณเอนไซม์ตรึงเพิ่มมากกว่านี้มิได้ช่วยให้มี POSt เกิดมากขึ้นอีกมากนัก เมื่อพิจารณาปฏิกิริยาที่ใช้เอนไซม์ตรึงที่เตรียมที่อุณหภูมิห้องปริมาณ 30% (น้ำหนักเอนไซม์ต่อน้ำหนักน้ำมันปาล์ม) พบว่าสัดส่วนของไตรกลีเซอไรด์ POSt เพิ่มขึ้นเป็น 33%

จากผลการทดลองนี้จะเห็นได้ว่าสภาวะที่ปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชันระหว่างน้ำมันปาล์มและกรดสเตียริกเกิดได้ดีคือ การใช้เอนไซม์ตรึงที่เตรียมที่อุณหภูมิห้องปริมาณ 30 % (น้ำหนักเอนไซม์ต่อน้ำหนักน้ำมันปาล์ม) ขึ้นไปโดยจะได้สัดส่วนของไตรกลีเซอไรด์ POSt ในสารผลิตภัณฑ์ 33 % (ถึงจะเพิ่มปริมาณเอนไซม์ให้มากกว่านี้ก็มิได้ทำให้สัดส่วน

ไตรกลีเซอไรด์ POSt เพิ่มขึ้นมากนัก) ในการทดลองต่อไปได้เลือกใช้วิธีการเตรียมเอนไซม์ตรึงที่อุณหภูมิห้องโดยอบแห้งแบบสูญญากาศ เพราะสะดวกในการเตรียมมากกว่าการเตรียมที่ 0°ซ และใช้ปริมาณเอนไซม์ตรึงเป็น 30 % ของน้ำหนักเอนไซม์ตรึงต่อน้ำหนักน้ำมันปาล์ม

4.6 การแยกส่วนผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาด้วยการตกตะกอน

การทดลองนี้ได้นำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากหัวข้อ 4.5 เมื่อใช้เอนไซม์ตรึงที่เตรียมที่อุณหภูมิห้องและอบแห้งแบบสูญญากาศปริมาณ 30 % (น้ำหนักเอนไซม์ต่อน้ำหนักน้ำมันปาล์ม) มาทำการตกตะกอนด้วยตัวทำละลายอินทรีย์คือ เฮกเซน และอะซิโตน เพื่อแยกส่วนไขมันชนิดต่างๆ (แผนภาพการตกตะกอนในหัวข้อ 3.4 หน้าที่ 39) เมื่อนำตะกอนที่ได้ไปวิเคราะห์หาสัดส่วนไตรกลีเซอไรด์ชนิดต่างๆ ด้วยวิธี HPLC ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.12 และเมื่อนำปริมาณไตรกลีเซอไรด์ POSt และวิธีตกตะกอนต่างๆมาเขียนกราฟได้ดังรูปที่ 4.10



F= การทดลองครั้งที่ 1 F*= การทดลองครั้งที่ 2

รูปที่ 4.10 สัดส่วนของไตรกลีเซอไรด์ POSt กับวิธีการตกตะกอนด้วยสารละลาย

ตารางที่ 4.12 สัดส่วนไตรกลีเซอไรด์ POP POSt และ StOSt ของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการตกตะกอนด้วยสารละลาย (คำนวณได้จากพื้นที่ใต้พีคในโครมาโทแกรม จาก HPLC)

ตะกอนจากวิธี	สัดส่วนไตรกลีเซอไรด์แต่ละชนิดโดยน้ำหนัก(%)						ปริมาณ (มก.) ไตรกลีเซอไรด์แต่ละชนิดในน้ำมัน 1 กรัม					
	การทดลองครั้งที่ 1			การทดลองครั้งที่ 2			การทดลองครั้งที่ 1			การทดลองครั้งที่ 2		
	POP	POSt	StOSt	POP	POSt	StOSt	POP	POSt	StOSt	POP	POSt	StOSt
น้ำมันปาล์ม	90.5	7.9	1.7	90.5	7.9	1.7	0.5655	0.0481	0.0035	0.5655	0.0481	0.0035
F1A	62.5	33.9	3.6	67.4	28.1	4.5	0.0704	0.0383	0.0035	0.0604	0.0254	0.0043
F2A	33.9	50.4	15.6	64.9	30.2	4.9	0.1535	0.2291	0.0709	0.1457	0.0677	0.0108
F3A	21.6	53.8	24.6	66.6	28.9	4.4	0.1930	0.0754	0.0105	0.2577	0.1116	0.0173
F1B	64.2	30.2	5.7	67.0	24.3	8.7	0.0677	0.0318	0.0058	0.0690	0.0254	0.0085
F2B	25.5	51.0	23.5	61.6	32.2	6.2	0.1020	0.0938	0.0051	0.1894	0.0987	0.0195
F3B	18.9	50.5	30.6	52.8	36.0	11.2	0.3526	0.1839	0.0325	0.2513	0.1709	0.0525
F1C	57.6	31.4	11.0	58.2	37.0	4.8	0.1104	0.0597	0.0109	0.2063	0.1314	0.0170
F2C	60.8	34.1	5.1	62.1	31.7	6.3	0.1069	0.0592	0.0085	0.1487	0.0835	0.0145
F3C	-	-	-	61.5	32.9	5.9	-	-	-	0.1441	0.0766	0.0128
F1D	51.0	36.5	12.5	59.5	35.0	5.5	0.1465	0.1551	0.0142	0.2039	0.1198	0.0194
F2D	19.4	71.9	8.6	62.6	32.5	4.9	0.4733	0.2605	0.0536	0.1659	0.0863	0.0134

- มีความผิดพลาดในการทดลอง

F1A = ตะกอนที่เกิดจากการเติมเฮกเซน 10 เท่าของไขมันที่ 4 °ซ 24 ชม.
F2A = ตะกอนที่เกิดจากการเติมอะซิโตน 10 เท่าของไขมันที่ 4 °ซ 24 ชม.
F3A = ตะกอนที่ได้จากการระเหยอะซิโตน
F1B = ตะกอนที่เกิดจากการเติมเฮกเซน 5 เท่าของไขมันที่ 4 °ซ 24 ชม.
F2B = ตะกอนที่เกิดจากการเติมอะซิโตน 5 เท่าของไขมันที่ 4 °ซ 24 ชม.
F3B = ตะกอนที่ได้จากการระเหยอะซิโตน
F1C = ตะกอนที่เกิดจากการเติมอะซิโตน 10 เท่าของไขมันที่อุณหภูมิห้อง 24 ชม.
F2C = ตะกอนที่เกิดจากการเก็บที่4 °ซ 24 ชม.
F3C = ตะกอนที่ได้จากการระเหยอะซิโตน
F1D = ตะกอนที่เกิดจากการเติมอะซิโตน 10 เท่าของไขมันที่อุณหภูมิห้อง24 ชม.
F2D = ตะกอนที่เกิดจากการเก็บที่4 °ซ 4 ชม.

จากตารางผลการทดลองที่ 4.12 และกราฟรูปที่ 4.10 จะเห็นว่าตะกอน F2D ซึ่งคือตะกอนที่ตกออกมาเมื่อใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลายมีสัดส่วนของไตรกลีเซอไรด์ POSt สูงที่สุด คือ 71.9% ซึ่งเพิ่มจากน้ำมันปาล์มเริ่มต้นที่มีสัดส่วนของไตรกลีเซอไรด์ POSt เพียง 7.9% จากผลการทดลองครั้งที่ 2 จะเห็นว่าตะกอน F3B ซึ่งคือตะกอนที่ได้จากการระเหยอะซิโตน และ F1C ซึ่งคือตะกอนที่ตกออกมาเมื่อใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลาย มีสัดส่วนของไตรกลีเซอไรด์ POSt ใกล้เคียงกันคือ 36.0% และ 37.0 % ตามลำดับ อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองทั้งสองครั้ง จะเห็นว่าการตกตะกอนด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่อุณหภูมิต่ำในแต่ละครั้งให้สัดส่วนของไตรกลีเซอไรด์ POSt ไม่คงที่ ทำให้ไม่สามารถสรุปได้ว่าวิธีการตกตะกอนด้วยตัวทำละลายใดและด้วยกรรมวิธีแบบใดจะให้ปริมาณไตรกลีเซอไรด์ POSt สูงสุด ความแปรปรวนของผลการทดลองนี้คาดว่าเกิดจากการไม่สามารถควบคุมการกรองตะกอนซึ่งมีสภาพคล้ายสารแขวนลอยข้นๆ ได้ดี ด้วยความยุ่งยากนี้ ทำให้ไม่นำวิธีนี้มาใช้ในการทดลองต่อไปอีก

อย่างไรก็ตามผลการทดลองนี้บ่งให้ทราบว่า หากสามารถหากรรมวิธีที่เหมาะสมในการแยกไตรกลีเซอไรด์ ทำให้สามารถผลิตเนยโกโก้ได้ ทั้งนี้เพราะผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยามีปริมาณ POSt เพิ่มขึ้นแล้วมากพอสมควร การแยก POSt ออกมาแล้วนำส่วนไขมันที่เหลือไปทำปฏิกิริยาซ้ำอีกก็จะเป็นหนทางหนึ่งที่สามารถผลิตเนยโกโก้ขึ้นได้ อย่างไรก็ตาม กรรมวิธีในการแยกไตรกลีเซอไรด์นั้นยังต้องมีการศึกษาต่อไปอีก การใช้วิธีการตกตะกอนด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ซึ่งได้ทำการศึกษาในที่นี้ ก็เป็นหนทางหนึ่งหากแต่ยังต้องการการพัฒนาต่อไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งในขั้นตอนการกรองตะกอนซึ่งจะอยู่ในรูปสารแขวนลอยข้นๆ นั้นควร

จะมีอุปกรณ์ที่สามารถควบคุมความดันในการกรองได้อย่างละเอียด รวมทั้งถ้าเป็นไปได้วิธีนี้น่าจะให้ผลดีหากสามารถทำการตกตะกอนและกรองตะกอนที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0°ซ

4.7 ทรานเอสเทอริฟิเคชันโดยการแปรผันปริมาณกรดสเตียริก

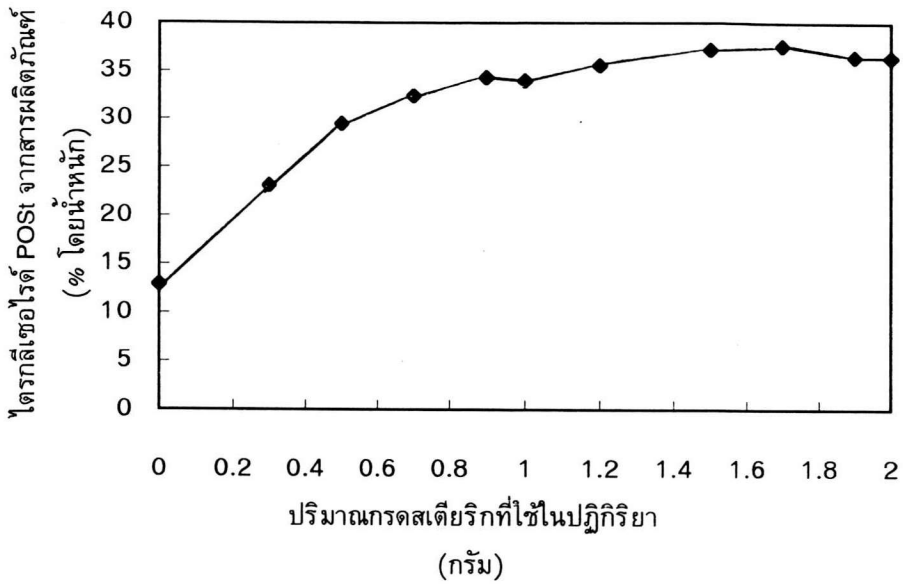
จากการทดลองที่ 4.5 ทำให้ได้สภาวะที่ปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชันระหว่างน้ำมันปาล์มและกรดสเตียริกเกิดได้ดีที่สุด คือได้สัดส่วนของไตรกลีเซอไรด์ POSt ในสารผลิตภัณฑ์สูงสุด คือ ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 30° ซ เป็นเวลา 20 ชั่วโมง และปริมาณเอนไซม์ตรึงจากการเตรียมที่อุณหภูมิห้องและอบแห้งแบบสูญญากาศ 30% (น้ำหนักเอนไซม์ตรึงต่อน้ำหนักน้ำมันปาล์ม) โดยใช้น้ำมันปาล์ม 1 กรัม รวมกับกรดสเตียริก 0.7 กรัม ละลายในเฮกเซนที่อิ่มตัวด้วยน้ำ 4 มิลลิลิตร โดยเอนไซม์ตรึงสามารถเร่งปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนกรดไขมันบนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันปาล์มได้ดี โดยสังเกตจากสัดส่วนไตรกลีเซอไรค์ POSt ในสารผลิตภัณฑ์ที่สูงถึง 33% (สารตั้งต้นมีสัดส่วนไตรกลีเซอไรด์ POSt เพียง 7.9 %)

การทดลองนี้จึงทำการแปรผันปริมาณกรดสเตียริกซึ่งเป็นสารตั้งต้นชนิดหนึ่งในการทดลอง โดยนำน้ำมันปาล์ม 1 กรัม รวมกับกรดสเตียริกที่ 0 0.3 0.5 0.7 0.9 1.0 1.2 1.5 1.7 1.9 และ 2.0 กรัม ละลายในเฮกเซนที่อิ่มตัวด้วยน้ำ 4 มิลลิลิตร ใช้ปริมาณเอนไซม์ตรึง 30 % (น้ำหนักเอนไซม์ตรึงต่อน้ำหนักน้ำมันปาล์ม) ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 30° ซ เป็นเวลา 20 ชั่วโมง เขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที จากนั้นกรองเอนไซม์ตรึงออก เมื่อนำสารผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปทำการวิเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์ชนิดต่างๆ ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.13

เมื่อนำสัดส่วนของไตรกลีเซอไรด์ POSt ในสารผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทดลองและกรดสเตียริกปริมาณต่างๆ กันมาเปรียบเทียบกัน โดยการสร้างกราฟระหว่างไตรกลีเซอไรด์ POSt และปริมาณกรดสเตียริก จะได้กราฟดังรูปที่ 4.11

ตารางที่ 4.13 สัดส่วนไตรกลีเซอไรด์ POP POSt และ StOSt ของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการแปรผันกรดสเตียริก ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 30° ซ เป็นเวลา 20 ชั่วโมง เขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที (คำนวณได้จากพื้นที่ใต้พีคในโครมาโตแกรมจาก HPLC)

ปริมาณกรดสเตียริก (กรัม)	สัดส่วนไตรกลีเซอไรด์แต่ละชนิดโดยน้ำหนัก (%)			ปริมาณ (มก.) ไตรกลีเซอไรด์แต่ละชนิดในน้ำมัน 1 กรัม		
	POP	POSt	StOSt	POP	POSt	StOSt
0	86.0	12.9	1.0	0.3108	0.0397	0.0032
0.3	73.9	23.1	3.0	0.1835	0.0465	0.0074
0.5	65.8	29.5	4.6	0.1666	0.0738	0.0111
0.7	59.7	32.4	7.9	0.1304	0.0875	0.0216
0.9	56.9	34.3	8.8	0.1474	0.0895	0.0238
1.0	57.3	34.0	8.7	0.1578	0.0982	0.0248
1.2	54.3	35.6	10.1	0.1391	0.0946	0.0249
1.5	55.2	37.2	7.6	0.1837	0.1296	0.0249
1.7	54.9	37.6	7.5	0.1889	0.1361	0.0265
1.9	56.7	36.5	6.8	0.1653	0.1160	0.0224
2.0	56.3	36.4	7.3	0.1736	0.1216	0.0241



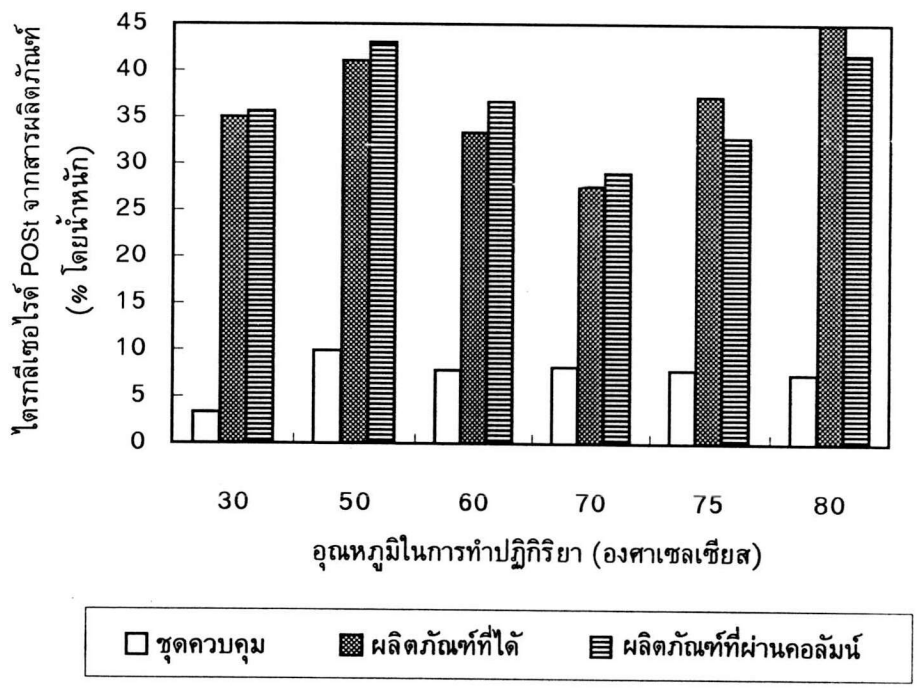
รูปที่ 4.11 สัดส่วนไตรกลีเซอไรด์ POSt ในสารผลิตภัณฑ์กับปริมาณกรดสเตียริก

จากผลการทดลองในและตารางที่ 4.13 และรูปที่ 4.11 พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณกรดสเตียริก ประสิทธิภาพการเกิดปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนกรดไขมันบนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันปาล์มได้เพิ่มขึ้น โดยสังเกตได้จากสัดส่วนไตรกลีเซอไรด์ POSt ในสารผลิตภัณฑ์ที่เพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์สารผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาที่ใช้กรดสเตียริกที่ปริมาณ 1.5 กรัม พบว่าสัดส่วนของไตรกลีเซอไรด์ POSt ในสารผลิตภัณฑ์เพิ่มเป็น 37% และเมื่อใช้ปริมาณกรดสเตียริกในปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น ก็มิได้ทำให้มีการแลกเปลี่ยนกรดไขมันบนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันปาล์มเพิ่มขึ้นมากนัก โดยสังเกตได้จากสัดส่วนไตรกลีเซอไรด์ POSt ในสารผลิตภัณฑ์ที่ใกล้เคียงกัน จากการทดลองนี้จึงสรุปว่าการใช้กรดสเตียริกปริมาณ 1.5 กรัม ในการทำปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชันนั้นเหมาะสมที่สุด

4.8 ทรานเอสเทอริฟิเคชันเมื่อมีการแปรผันอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา

การทดลองนี้ทำการแปรผันอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชันระหว่างน้ำมันปาล์มและกรดสเตียริก โดยทำการทดลองที่อุณหภูมิ 30 50 60 70 75 และ 80° ซ. สภาวะและปริมาณสารตั้งต้นต่าง ๆ ยังคงเดิมตามหัวข้อที่ 4.5 และใช้สัดส่วนของกรดสเตียริกเป็น 1.5 กรัม

เนื่องจากในการทดลองมีการเติมกรดสเตียริกถึง 1.5 กรัม ในการทำปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชันเพื่อแลกเปลี่ยนกรดไขมันบนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันปาล์ม ดังนั้นอาจมีกรดไขมันอิสระเหลืออยู่ในสารผลิตภัณฑ์ค่อนข้างมาก การทดลองนี้จึงนำสารผลิตภัณฑ์มาผ่านคอลัมน์ซิลิกาเจล เพื่อแยกกรดไขมันอิสระออกด้วย เมื่อนำสารผลิตภัณฑ์ที่ผ่านคอลัมน์ซิลิกาเจลแล้ว คือส่วนไตรกลีเซอไรด์(ชะด้วยเบนซีน)ไปวิเคราะห์หาสัดส่วนของไตรกลีเซอไรด์ชนิดต่างๆ ด้วยวิธี HPLC เทียบกับผลิตภัณฑ์ที่ได้ซึ่งมิได้ผ่านคอลัมน์ซิลิกาเจล ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.14 และรูปที่ 4.12



รูปที่ 4.12 สัดส่วนของไตรกลีเซอไรด์ POSt ในสารผลิตภัณฑ์กับอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาทั้งผ่านและไม่ผ่านคอลัมน์ซิลิกาเจล

ตารางที่ 4.14 สัดส่วนไตรกลีเซอไรด์ POP POSt และ StOSt ของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการแปรผันอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 ชั่วโมง (คำนวณได้จากพื้นที่ใต้พีคในโครมาโทแกรมจาก HPLC)

อุณหภูมิ (°ซ)	สัดส่วนไตรกลีเซอไรด์แต่ละชนิดโดยน้ำหนัก(%)								
	ชุดควบคุม (ไม่ใส่เอนไซม์)			ผลิตภัณฑ์ที่ได้ ก่อนผ่านคอลัมน์ซิลิกาเจล			ผลิตภัณฑ์ที่ผ่าน คอลัมน์ซิลิกาเจล		
	POP	POSt	StOSt	POP	POSt	StOSt	POP	POSt	StOSt
30	91.9	6.1	-	59.5	35.0	5.5	60.1	35.6	4.3
50	89.3	9.9	0.8	59.0	41.0	-	51.8	43.0	5.2
60	92.2	7.8	-	57.7	33.3	8.9	53.4	36.6	10.0
70	91.2	8.2	0.5	55.9	37.3	6.8	61.4	32.2	6.4
75	92.3	7.8	-	58.2	37.2	12.1	59.7	32.8	7.6
80	92.6	7.4	-	41.0	45.0	14.0	45.8	41.7	12.5

- ไม่มีพีคปรากฏ

ตารางที่ 4.14 (ต่อ)

อุณหภูมิ (°ซ)	ปริมาณ (มก.)ไตรกลีเซอไรด์แต่ละชนิดในน้ำมัน 1 กรัม								
	ชุดควบคุม (ไม่ใส่เอนไซม์)			ผลิตภัณฑ์ที่ได้ก่อนผ่านคอลัมน์ซิลิกาเจล			ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านคอลัมน์ซิลิกาเจล		
	POP	POSt	StOSt	POP	POSt	StOSt	POP	POSt	StOSt
30	0.3271	0.0285	-	0.6015	0.2740	0.0455	0.3480	0.2058	0.0251
50	0.3498	0.0388	0.0036	0.2745	0.2045	0.0345	0.1772	0.1468	0.0424
60	0.3434	0.0293	-	0.2745	0.2370	0.0375	0.1011	0.0856	0.0134
70	0.4983	0.0453	0.0030	0.1865	0.1783	0.0210	0.1145	0.0764	0.0063
75	0.4678	0.0388	-	0.1302	0.1232	0.0237	0.1467	0.1173	0.0213
80	0.1339	0.0345	-	0.1580	0.1555	0.0240	0.1102	0.1028	0.0117

- ไม่มีพีคปรากฏ

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.14 สัดส่วนของไตรกลีเซอไรด์ POSt เริ่มต้นในน้ำมันปาล์มมีประมาณ 7.8 % เมื่อทดลองทำปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชันที่อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาต่าง ๆ พบว่าเอนไซม์ตรึงสามารถเร่งปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนกรดไขมันบนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันปาล์มได้เพิ่มขึ้นที่อุณหภูมิสูงขึ้น โดยสังเกตจากไตรกลีเซอไรด์ POSt ที่เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่อุณหภูมิเดียวกัน

เนยโกโก้มีลักษณะที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัวคือ การหลอมเหลวที่แคบและอยู่ในช่วงใกล้เคียงกับอุณหภูมิร่างกายของมนุษย์ การทดลองนี้จึงมุ่งหวังที่จะผลิตสารผลิตภัณฑ์เพื่อมาทดแทนเนยโกโก้จากธรรมชาติ โดยเฉพาะสมบัติในการหลอมเหลว การทดลองนี้ได้นำสารผลิตภัณฑ์ที่เตรียมได้จากปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 60 70 75 และ 80 °ซ ที่ได้มาแยกกรดไขมันอิสระออกโดยการผ่านคอลัมน์ซิลิกาเจลแล้วมาวิเคราะห์ดูสมบัติการหลอมเหลวด้วยเครื่อง DSC และเปรียบเทียบกับเนยโกโก้ในธรรมชาติ ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.15

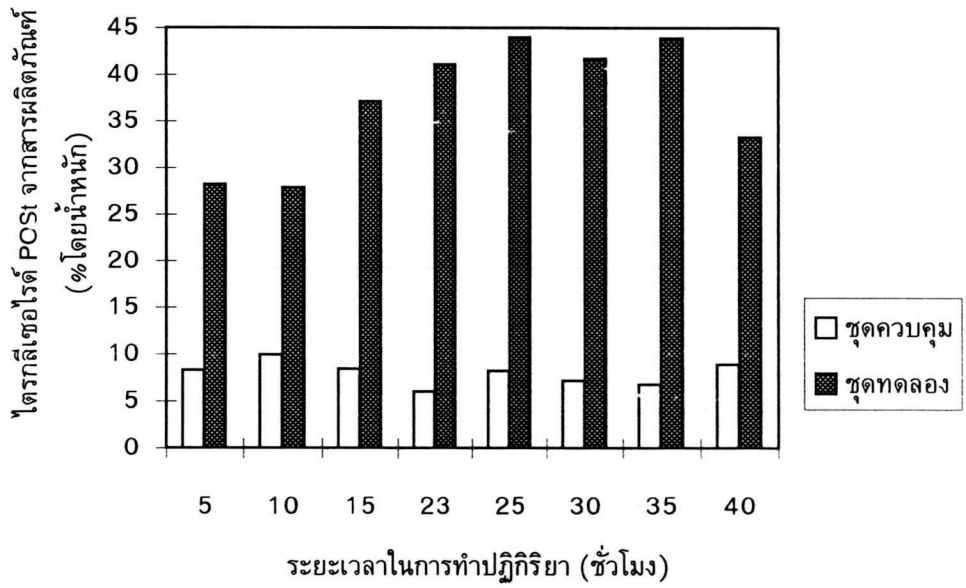
ตารางที่ 4.15 จุดหลอมเหลวของสารผลิตภัณฑ์ที่เตรียมได้จากปฏิกิริยาที่อุณหภูมิต่าง ๆ เมื่อผ่านคอลัมน์ซิลิกาเจล โดยวิเคราะห์ด้วยเครื่อง DSC (รูปแสดงในภาคผนวก ฉ)

ผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ (° ซ)	ช่วงอุณหภูมิที่หลอมเหลว (°ซ)	จุดหลอมเหลว (° ซ)
60	20-34	31.4
70	25-44	38.7
75	28-45	42.3
80	20-43	41.0
เนยโกโก้	32-44	39.5

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.15 เนยโกโก้จากธรรมชาติให้จุดหลอมเหลวที่ 39.5° ซ. และผลิตภัณฑ์จากการทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 70 °ซ ให้จุดหลอมเหลวใกล้เคียงกับของเนยโกโก้มากที่สุด อย่างไรก็ตามช่วงการหลอมเหลวของสารผลิตภัณฑ์ทั้งสี่ล้วนเริ่มที่อุณหภูมิต่ำกว่าของเนยโกโก้ค่อนข้างมาก ซึ่งส่งผลให้สารมีลักษณะค่อนข้างนิ่มที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งสาเหตุนี้อธิบายได้จากการที่มีปริมาณ POP อยู่ในสารผลิตภัณฑ์ที่ค่อนข้างสูงหากเทียบกับเนยโกโก้

4.9 ทรานเอสเทอริฟิเคชันเมื่อมีการแปรผันระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา

การทดลองนี้ได้ทำการแปรผันระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาตั้งแต่ 5 ถึง 40 ชั่วโมง โดยมีการเก็บตัวอย่างทุก 5 ชั่วโมง การทดลองทำโดยใช้น้ำมันปาล์ม 1 กรัมรวมกับกรดสเตียริก 1.5 กรัม ในเฮกเซนที่อิ่มตัวด้วยน้ำ 4 มิลลิลิตร เอนไซม์ตรึง 30 % (น้ำหนักเอนไซม์ตรึงต่อน้ำหนักน้ำมันปาล์ม) ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 70° ซ เขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เมื่อนำสารผลิตภัณฑ์ไปวิเคราะห์หาสัดส่วนของไตรกลีเซอไรด์ชนิดต่าง ๆ ด้วยวิธี HPLC ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.16 และรูปที่ 4.13



รูปที่ 4.13 สัดส่วนไตรกลีเซอไรด์ POSt ในสารผลิตภัณฑ์จากการแปรผันระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา

ตารางที่ 4.16 สัดส่วนไตรกลีเซอไรด์ POP POSt และ StOSt ของสารผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการแปรผันระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 70°ซ เขย่าที่ 150 รอบตต่อนาที (คำนวณได้จากพื้นที่ใต้พีคในโครมาโทแกรมจาก HPLC)

ระยะเวลา (ชม.)	สัดส่วนไตรกลีเซอไรด์แต่ละชนิดโดยน้ำหนัก(%)						ปริมาณ (มก.)ไตรกลีเซอไรด์แต่ละชนิดในน้ำมัน 1 กรัม					
	ชุดควบคุม (ไม่ใส่เอนไซม์)			ชุดทดลอง			ชุดควบคุม (ไม่ใส่เอนไซม์)			ชุดทดลอง		
	POP	POSt	StOSt	POP	POSt	StOSt	POP	POSt	StOSt	POP	POSt	StOSt
5	91.0	8.3	0.7	65.7	28.2	5.8	0.5363	0.0785	0.0638	0.3369	0.1439	0.0288
10	89.0	9.9	1.1	56.2	37.2	6.4	0.9239	0.1032	0.010	0.2464	0.1885	0.0345
15	91.0	8.4	0.5	52.2	37.1	10.8	0.4359	0.0795	0.0428	0.1658	0.1151	0.0169
23*	91.8	6.0	0.6	45.4	41.1	13.6	0.6759	0.0601	0.0516	0.0997	0.0862	0.0113
25	91.8	8.2	0.6	43.5	41.0	15.5	0.8019	0.0738	0.0532	0.1453	0.1317	0.0176
30	92.8	7.2	0.7	43.3	41.7	15.1	0.1893	0.0645	0.0638	0.2900	0.0794	0.0111
35	93.2	6.8	0.7	41.9	43.9	14.3	0.2504	0.0642	0.0855	0.1054	0.0719	0.0121
40	90.7	8.9	0.8	51.3	42.3	15.5	0.1974	0.0782	0.0911	0.1248	0.1257	0.0138

*มีความผิดพลาดในการเก็บตัวอย่างจึงเก็บตัวอย่างที่ 23 ชม. แทน 20 ชม.

จากตารางผลการทดลองที่ 4.16 และรูปที่ 4.13 จะเห็นว่าในขณะที่สัดส่วนของไตรกลีเซอไรด์ POSt เริ่มต้นในน้ำมันปาล์มมีเพียงประมาณ 8.3% แต่เมื่อทำปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชัน โดยทำการแปรผันระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาตั้งแต่ 5 ถึง 40 ชั่วโมง สัดส่วนไตรกลีเซอไรด์ POSt ในสารผลิตภัณฑ์ได้เพิ่มขึ้นมาถึงประมาณ 41 % เมื่อทำปฏิกิริยาไปเป็นเวลา 23 ชั่วโมง เป็นต้นไป นอกจากนี้ไตรกลีเซอไรด์ StOSt ก็เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน คือ เพิ่มจาก 0% เป็น13.5% เมื่อทำปฏิกิริยาไปเป็นเวลา 23 ชั่วโมง เป็นต้นไป

เมื่อนำสารผลิตภัณฑ์ที่ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาที่ 23 ชั่วโมง ไปผ่านคอลัมน์ซิลิกาเจลเพื่อแยกกรดไขมันอิสระออกแล้วนำไปวิเคราะห์ดูสมบัติการหลอมเหลวด้วยเครื่อง DSC ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.17

ตารางที่ 4.17 จุดหลอมเหลวของสารผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการใช้ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาเป็น 23 ชม. (วิเคราะห์ด้วยเครื่อง DSC รูปแสดงในภาคผนวก ฉ)

สาร	ช่วงอุณหภูมิในการหลอมเหลว (°ซ)	จุดหลอมเหลว (°ซ)
ผลิตภัณฑ์	32-46	42.7
เนยโกโก้	32-44	39.5

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.17 จะเห็นว่าสารผลิตภัณฑ์ที่ใช้ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา 23 ชั่วโมง ให้ช่วงการหลอมเหลว 32-46 °ซ เมื่อเปรียบเทียบกับเนยโกโก้จริง พบว่าสารผลิตภัณฑ์จากการทำปฏิกิริยาที่ระยะเวลา 23 ชั่วโมง ให้ช่วงการหลอมเหลวใกล้เคียงกับเนยโกโก้จากธรรมชาติมากที่เดียว ดังนั้นระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาที่ 23 ชั่วโมง จึงเหมาะสมที่สุดในการทำปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชันเพื่อเปลี่ยนน้ำมันปาล์มเป็นเนยโกโก้

จากผลการทดลองทำปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชัน โดยใช้เอนไซม์ไลเปสที่ตรึงบนซีไลท์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนกรดไขมันบนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันปาล์มที่ทำมาทั้งหมด เมื่อพิจารณาแล้วจึงได้สภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาคือ น้ำมันปาล์ม 1 กรัม รวมกับกรดสเตียริก 1.5 กรัม ละลายในเฮกเซนที่อิ่มตัวด้วยน้ำ 4 มิลลิลิตร เติมเอนไซม์ตรึงที่เตรียมที่อุณหภูมิห้องด้วยวิธีอบแห้งแบบสูญญากาศปริมาณ 0.3 กรัม (30 % น้ำหนักเอนไซม์ตรึงต่อน้ำหนักน้ำมันปาล์ม) ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 70°ซ เป็นเวลา 23 ชั่วโมง เขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที หากเทียบผลการทดลองนี้กับงานวิจัยที่มีผู้เคยทำมาแล้ว (Chang, Abraham และ John, 1990; Sridhar, Lakshminarayana และ Kaimai, 1991 ; Chong, Hoh และ Wang, 1992 ; Mojovic และ

คณะ, 1993) จะพบว่าข้อแตกต่างของผลการทดลองนี้กับงานวิจัยอื่นๆ ที่เด่นชัดก็คือ ไตรกลีเซอไรด์ทั้งหมดจากการทดลองนี้ให้สมบัติของเนยโกโก้ ในขณะที่งานวิจัยอื่นจะต้องมีการแยกส่วนผลิตภัณฑ์และมีเพียงส่วนเดียว (ซึ่งต่ำกว่า 50 %) ที่มีสมบัติของเนยโกโก้

4.10 ค่าคงที่ต่าง ๆ ของน้ำมัน/ไขมัน

ดังกล่าวไว้ในบทที่ 2 แล้วว่าค่าคงที่ของน้ำมันจะบอกลักษณะและคุณสมบัติต่าง ๆ ของไขมันและน้ำมัน เช่นบอกถึงความเก่าใหม่ของน้ำมัน บอกถึงความอิ่มตัวของกรดไขมันในโมเลกุลหรือความสะอาดของน้ำมัน เป็นต้น การทดลองนี้จึงได้นำน้ำมันปาล์ม เนยโกโก้ สารผลิตภัณฑ์ สารผลิตภัณฑ์ที่ผ่านคอลัมน์ และสารผลิตภัณฑ์ที่กลั่นด้วยไอน้ำ มาหาค่าคงที่ต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 4.18

ตารางที่ 4.18 ค่าคงที่ต่าง ๆ ของน้ำมัน/ไขมัน

น้ำมัน/ไขมัน	ค่าความเป็นกรด	ค่าไอโอดีน	ค่าเปอร์ออกไซด์	ค่าสารที่สปอนนิไฟน์	ค่าสารที่อันสปอนนิไฟน์
น้ำมันปาล์ม	2.96	63.94	16.66	54.06	1.49
เนยโกโก้	7.92	50.18	4.72	53.2	0.5
A	120.78	29.99	2	123.2	*
B	140	30.14	2	48.51	*
C	84	32.36	2	126.27	*
D	94	38.07	13.64	109.2	*

A น้ำมันปาล์มรวมกับกรดสเตียริก (ในอัตราส่วนเท่ากับที่ใช้ในปฏิกิริยาการผลิต B)เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 70 °ซ เขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 23 ชม. เช่นเดียวกับการผลิต B แต่ไม่มีการเติมตัวเร่งปฏิกิริยาคือ ไลเปสที่ตรึงอยู่บนซีไลท์

B สารผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 70 °ซ เขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 23 ชม.

C สารผลิตภัณฑ์ B นำมาผ่านคอลัมน์ซิลิกาเจล

D สารผลิตภัณฑ์ B นำมากลั่นด้วยไอน้ำ

* ไม่ได้ทำการทดลองเนื่องจากตัวอย่างมีปริมาณจำกัด

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.18 สารผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้ซึ่งยังไม่ได้ผ่านกระบวนการกำจัดกรดไขมันอิสระ มีค่าความเป็นกรดสูงถึง 140 ซึ่งใกล้เคียงกับค่าที่หาได้เมื่อนำไปน้ำมันปาล์มรวมกับกรดสเตียริกโดยไม่มีการเติมตัวเร่งปฏิกิริยา (มีค่าความเป็นกรดเท่า

กับ 127.78) ค่าความเป็นกรดที่สูงนี้บ่งว่ามีกรดไขมันอิสระอยู่ในสารผลิตภัณฑ์เป็นจำนวนมาก เนื่องจากมีการเติมกรดสเตียริกลงไปในปฏิกิริยา และในปฏิกิริยาก็น่าจะต้องมีการปลดปล่อยกรดปาล์มมิติกออกมา เมื่อนำสารผลิตภัณฑ์ที่ได้มากำจัดกรดไขมันอิสระออก โดยการผ่านคอลัมน์ซิลิกาเจลและการกลั่นด้วยไอน้ำ พบว่าค่าความเป็นกรดของผลิตภัณฑ์ทั้งสองลดลงเป็น 84 และ 94 ตามลำดับ ค่าความเป็นกรดที่ยังคงสูงอยู่นี้บ่งให้ทราบว่า ยังคงมีกรดไขมันอิสระเหลืออยู่ในสารผลิตภัณฑ์ หากต้องการให้ผลิตภัณฑ์มีกรดไขมันอิสระลดลงก็น่าจะต้องมีการหาวิธีกำจัดกรดไขมันอิสระนี้ออกไปให้ได้ ซึ่งอาจทำได้โดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำด้วยอุปกรณ์ที่สามารถปรับความดันเหนือขวดกลั่นได้

โดยทั่วไปค่าไอโอดีนบอกถึงความไม่อิ่มตัวในน้ำมัน จากผลการทดลองพบว่าน้ำมันปาล์มและเนยโกโก้มีความไม่อิ่มตัวสูง อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาค่าไอโอดีนในกรณี A คือ น้ำมันปาล์มรวมกับกรดสเตียริก สารผลิตภัณฑ์ที่ได้ซึ่งยังไม่ได้ผ่านคอลัมน์ซิลิกาเจล (B) ที่ผ่านคอลัมน์แล้ว (C)และสารผลิตภัณฑ์ที่นำมากลั่นด้วยไอน้ำ (D) จะเห็นว่าทั้งสี่กรณีมีค่าไอโอดีนใกล้เคียงกันและต่ำกว่าค่าของจากเนยโกโก้เล็กน้อย ซึ่งก็สอดคล้องกับการที่ใช้เอนไซม์ไลเปสที่มีความจำเพาะต่อตำแหน่งที่ 1 และ 3 ของไตรกลีเซอไรด์ ในการทำปฏิกิริยาซึ่งจะไม่มีการรบกวนกรดโอเลอิกซึ่งอยู่ที่ตำแหน่งที่ 2 ของโมเลกุล แต่มีการเติมกรดไขมันอิ่มตัวคือกรดสเตียริกลงไป ซึ่งทำให้สัดส่วนของกรดไขมันไม่อิ่มตัวลดลง ค่าไอโอดีนจึงลดลงทั้งนี้หากสามารถกำจัดกรดไขมันอิสระออกไป (ซึ่งคาดว่าจะเป็นกรดปาล์มมิติกในกรณีของ B, C และ D และยังคงเป็นกรดสเตียริกในกรณีของ A) ก็น่าจะให้ค่าไอโอดีนที่สูงขึ้น

ค่าเปอร์ออกไซด์บ่งให้ทราบถึง ปริมาณของออกซิเจนที่ว่องไวต่อปฏิกิริยาเคมีซึ่งมีอยู่ในน้ำมัน จากผลการทดลองพบว่าน้ำมันปาล์มและสารผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการกลั่นด้วยไอน้ำมีปริมาณออกซิเจนที่ว่องไวในการทำปฏิกิริยาเคมีอยู่ในน้ำมันสูง คาดว่าการกลั่นด้วนไอน้ำอาจทำให้เกิดการออกซิเดชันของผลิตภัณฑ์ได้ ทั้งนี้เพราะมีการพ่นไอน้ำ (ซึ่งมีอากาศปนอยู่) ลงในน้ำมันที่อุณหภูมิสูง อย่างไรก็ตามสารผลิตภัณฑ์ทั้งที่ผ่านคอลัมน์ซิลิกาเจลและไม่ผ่านมีค่าเปอร์ออกไซด์ต่ำเป็นที่น่าพอใจมาก

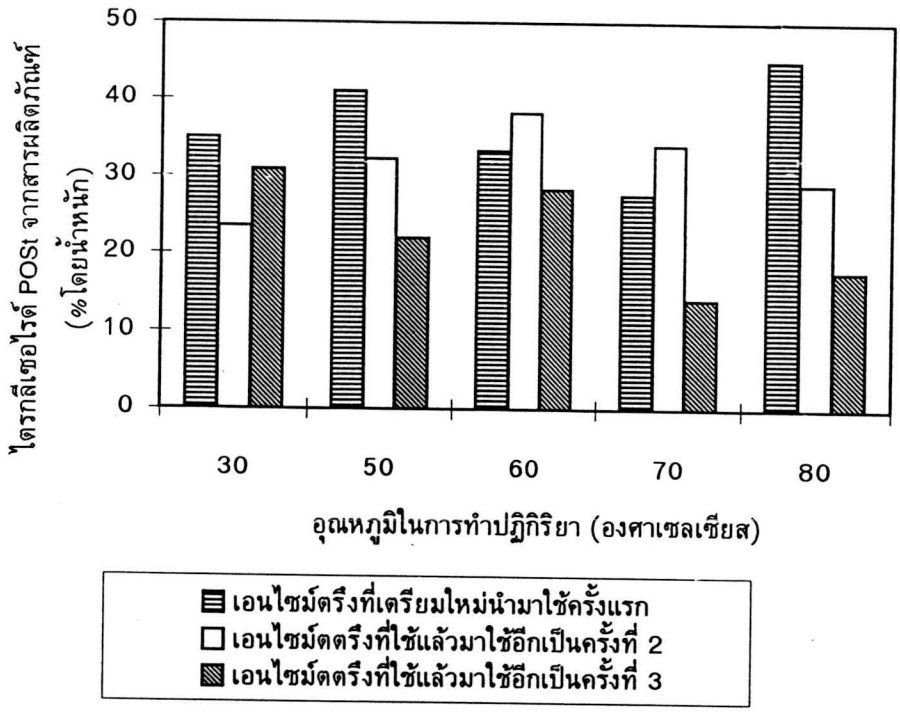
ค่าสปอนนิไฟน์ของ A คือน้ำมันปาล์มที่รวมกับกรดสเตียริกมีค่าสูง แสดงว่าตรวจพบเฉพาะกรดไขมันและไตรกลีเซอไรด์ และเมื่อนำสารผลิตภัณฑ์ไปทำการผ่านคอลัมน์ซิลิกาเจลหรือผ่านการกลั่นด้วยไอน้ำ จะทำให้ค่าสปอนนิไฟน์สูงขึ้น ซึ่งอธิบายได้ว่ากระบวนการทั้งสองช่วยกำจัดสิ่งปนเปื้อนต่างๆ ที่ไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาสปอนนิฟิเคชันได้ออกไป ทำให้เหลือแต่สารประเภทกรดไขมันและไตรกลีเซอไรด์ ซึ่งเป็นสารที่เกิดปฏิกิริยาสปอนนิฟิเคชันได้ ซึ่งก็สอดคล้องกับการที่มีค่าสารที่อันสปอนนิไฟน์ต่ำมากๆ จนตรวจไม่พบนั่นเอง

4.11 การนำเอนไซม์ตรึงที่ใช้แล้วกลับมาใช้ใหม่

ดังกล่าวไว้ในบทที่ 2 แล้วว่า เอนไซม์ตรึงมีข้อดีคือ สามารถนำกลับมาใช้ได้อีกจึงทำการทดลองเพื่อดูความสามารถของเอนไซม์ที่ใช้แล้วว่ายังมีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาในการแลกเปลี่ยนกรดไขมันบนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันปาล์มกับกรดสเตียริกได้มากน้อยอย่างไร

4.11.1 เอนไซม์ตรึงที่ใช้แล้วจากการแปรผันอุณหภูมิในการบ่ม

การทดลองนี้ได้นำเอนไซม์ที่ใช้แล้วจากหัวข้อที่ 4.8 ทำปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชันระหว่างน้ำมันปาล์มและกรดสเตียริก โดยทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 30 50 60 70 และ 80°ซ สภาวะและปริมาณสารตั้งต้นต่าง ๆ ยังคงเดิมตามหัวข้อที่ 4.8 คือระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาตั้งแต่ 5 ถึง 40 ชม. นำสารผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปวิเคราะห์หาสัดส่วนไตรกลีเซอไรด์ชนิดต่าง ๆ ด้วยเครื่อง HPLC ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.19



รูปที่ 4.14 สัดส่วนไตรกลีเซอไรด์ POSt จากสารผลิตภัณฑ์ เปรียบเทียบระหว่างเอนไซม์ตรึงและเอนไซม์ตรึงที่ใช้แล้วในการแปรผันอุณหภูมิ

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.19 และกราฟรูปที่ 4.14 พบว่าเอนไซม์ตรึงที่ใช้แล้วยังสามารถเร่งปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนกรดไขมันบนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันปาล์มได้ โดยสังเกตจากไตรกลีเซอไรด์ POSt ที่เกิดขึ้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเอนไซม์ตรึงและ

เอนไซม์ตรึงที่ใช้แล้ว พบว่าไตรกลีเซอไรด์ POSt จากผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาที่ใช้เอนไซม์ตรึงที่ใช้แล้วกลับมาใช้อีกเป็นครั้งที่ 2 พบว่าหากทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิไม่สูงเกิน 70°ซ เอนไซม์ตรึงยังคงทำหน้าที่ได้ด้วยประสิทธิภาพใกล้เคียงกับครั้งแรก ยกเว้นในกรณีที่อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาเป็น 80 °ซ ซึ่งจะเห็นได้อย่างชัดเจนว่าเอนไซม์ตรึงมีการเสียสภาพไป อย่างไรก็ตามในการทดลองนำเอนไซม์ตรึงกลับมาใช้อีกเป็นครั้งที่ 3 พบว่าเอนไซม์ตรึงมีประสิทธิภาพลดลงไปอย่างชัดเจนสำหรับทุกๆ อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา ยกเว้นการทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 30 °ซ เท่านั้นที่เอนไซม์ตรึงยังคงสภาพดีอยู่

ตารางที่ 4.19 สัดส่วนไตรกลีเซอไรด์ POP POSt และ StOSt จากสารผลิตภัณฑ์ เปรียบเทียบระหว่างเอนไซม์ตรึงและเอนไซม์ที่ใช้แล้ว ในการแปรผันอุณหภูมิ (คำนวณได้จากพื้นที่ใต้พีคในโครมาโทแกรมจาก HPLC)

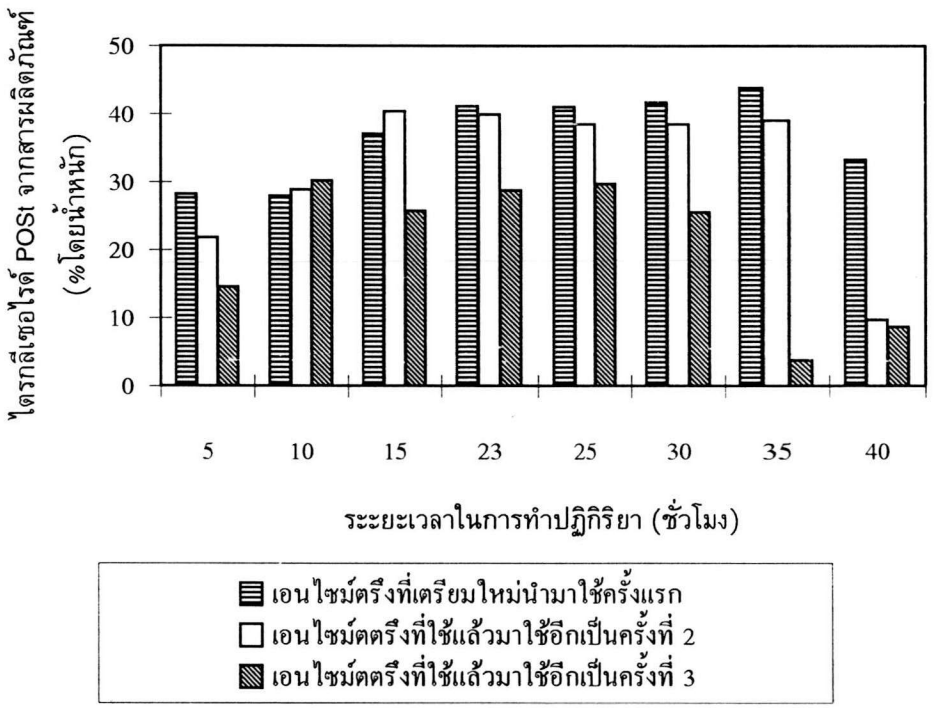
อุณหภูมิ (°ซ)	สัดส่วนไตรกลีเซอไรด์แต่ละชนิดโดยน้ำหนัก(%)								
	การใช้เอนไซม์ตรึงครั้งที่ 1			การใช้เอนไซม์ตรึงครั้งที่ 2			การใช้เอนไซม์ตรึงครั้งที่ 3		
	POP	POSt	StOSt	POP	POSt	StOSt	POP	POSt	StOSt
30	59.5	35.0	5.5	73.4	23.5	3.1	65.3	30.9	3.8
50	59.0	41.0	6.5	64.1	32.2	3.7	74.5	22.0	3.5
60	57.7	33.3	8.9	58.1	38.2	3.6	67.2	28.3	4.5
70	57.5	27.6	14.9	60.8	34.0	5.2	83.4	14.0	2.6
80	41.0	45.0	14.0	68.2	29.0	2.8	80.3	17.7	2.0

ตารางที่ 4.19 (ต่อ)

อุณหภูมิ (°ซ)	ปริมาณ (มก.)ไตรกลีเซอไรด์แต่ละชนิดในน้ำมัน 1 กรัม								
	การใช้เอนไซม์ตรึง ครั้งที่ 1			การใช้เอนไซม์ตรึง ครั้งที่ 2			การใช้เอนไซม์ตรึง ครั้งที่ 3		
	POP	POSt	StOSt	POP	POSt	StOSt	POP	POSt	StOSt
30	0.6015	0.2740	0.0455	0.2974	0.0888	0.0127	0.3802	0.1777	0.0218
50	0.2745	0.2045	0.0345	0.2641	0.1679	0.0171	0.3152	0.0787	0.0151
60	0.2745	0.2370	0.0375	0.2582	0.1955	0.0198	0.3459	0.1488	0.0233
70	0.1865	0.1783	0.0210	0.3775	0.1795	0.0191	0.3461	0.1006	0.0204
80	0.1580	0.1555	0.0240	0.4228	0.1444	0.0137	0.5410	0.1304	0.0085

4.11.2 เอนไซม์ตรึงที่ใช้แล้วจากการแปรผันระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา

การทดลองนี้ได้นำเอนไซม์ที่ใช้แล้วจากหัวข้อที่ 4.9 ทำปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชันระหว่างน้ำมันปาล์มและกรดสเตียริก โดยทำการแปรระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาตั้งแต่ 5 ถึง 40 ชั่วโมง โดยมีการเก็บตัวอย่างทุก 5 ชั่วโมง สภาวะและปริมาณสารตั้งต้นต่าง ๆ ยังคงเดิมตามหัวข้อที่ 4.9 คือใช้อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาที่ 70°ซ เมื่อนำสารผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปวิเคราะห์หาสัดส่วนไตรกลีเซอไรด์ชนิดต่าง ๆ ด้วยเครื่อง HPLC ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.20



รูปที่ 4.15 สัดส่วนไตรกลีเซอไรด์ POSt จากสารผลิตภัณฑ์ เปรียบเทียบระหว่างเอนไซม์ตรึงและเอนไซม์ตรึงที่ใช้แล้ว ในการแปรผันระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา

ตารางที่ 4.20 สัดส่วนไตรกลีเซอไรด์ POP POSt และ StOSt จากสารผลิตภัณฑ์ เปรียบเทียบระหว่างเอนไซม์ตรึง และเอนไซม์ตรึงที่ใช้แล้ว ในการแปรผันระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (คำนวณได้จากพื้นที่ใต้พีคในโครมาโทแกรมจาก HPLC)

ระยะเวลา (ชม.)	สัดส่วนไตรกลีเซอไรด์แต่ละชนิดโดยน้ำหนัก(%)								
	การใช้เอนไซม์ตรึงครั้งที่ 1			การใช้เอนไซม์ตรึงครั้งที่ 2			การใช้เอนไซม์ตรึงครั้งที่ 3		
	POP	POSt	StOSt	POP	POSt	StOSt	POP	POSt	StOSt
5	65.9	28.2	5.8	76.7	21.8	1.5	84.6	14.5	0.9
10	56.2	27.9	6.4	67.1	28.9	4.0	66.9	30.2	2.8
15	52.2	37.1	10.8	51.8	40.4	7.8	67.4	25.8	6.8
23*	45.5	41.1	13.6	52.1	39.9	8.0	69.5	28.8	1.7
25	43.5	41.0	15.5	51.3	38.5	10.2	63.9	29.7	6.4
30	42.3	41.7	15.1	51.9	38.5	9.6	71.6	25.6	2.8
35	41.9	43.9	14.3	49.0	39.1	11.9	94.4	3.8	1.8
40	51.3	33.3	15.5	89.4	9.7	0.9	90.6	8.7	0.7

***มีความผิดพลาดในการเก็บตัวอย่างจึงเก็บตัวอย่างที่ 23 ชม. แทน 20 ชม.**

ตารางที่ 4.20 (ต่อ)

ระยะเวลา (ชม.)	ปริมาณ (มก.)ไตรกลีเซอไรด์แต่ละชนิดในน้ำมัน 1 กรัม								
	การใช้เอนไซม์ตรึงครั้งที่ 1			การใช้เอนไซม์ตรึงครั้งที่ 2			การใช้เอนไซม์ตรึงครั้งที่ 3		
	POP	POSt	StOSt	POP	POSt	StOSt	POP	POSt	StOSt
5	0.3369	0.1439	0.0288	0.4738	0.0813	0.0138	0.4076	0.1157	0.0163
10	0.2464	0.1885	0.0345	0.4416	0.0996	0.0301	0.3354	0.1441	0.0249
15	0.1658	0.1151	0.0169	0.1956	0.0991	0.0126	0.2586	0.2017	0.0246
23*	0.0997	0.0862	0.0113	0.2462	0.1019	0.0139	0.2649	0.2029	0.0271
25	0.1453	0.1317	0.0176	0.1680	0.0776	0.0137	0.2947	0.2215	0.0278
30	0.2900	0.0794	0.0111	0.1787	0.0639	0.0069	0.2532	0.1882	0.0240
35	0.1054	0.0719	0.0121	0.4202	0.0577	0.0064	0.1640	0.1309	0.0172
40	0.1248	0.1257	0.0138	0.5511	0.0527	0.0041	0.5815	0.0630	0.0062

*มีความผิดพลาดในการเก็บตัวอย่างจึงเก็บตัวอย่างที่ 23 ชม. แทน 20 ชม.

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.20 และกราฟรูปที่ 4.15 พบว่าเอนไซม์ตรึงที่ใช้แล้วยังสามารถเร่งปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนกรดไขมันบนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันปาล์มได้ค่อนข้างดี หากนำกลับมาใช้เป็นครั้งที่ 2 โดยที่ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาจะต้องไม่เกิน 35 ชม. ซึ่งในความเป็นจริงจากผลการทดลองที่กล่าวถึงไปแล้ว ก็ทราบแล้วว่าระยะเวลาที่เหมาะสมคือ 23 ชม. หากทำปฏิกิริยานานเป็น 40 ชม. ประสิทธิภาพของเอนไซม์จะลดลงอย่างรวดเร็ว การนำเอนไซม์กลับมาใช้ใหม่อีกเป็นครั้งที่ 3 นั้น จะพบว่าประสิทธิภาพของเอนไซม์จะลดลงเรื่อยๆ ตามระยะเวลาของการทำปฏิกิริยาที่เพิ่มขึ้น ดังนั้นในการทำปฏิกิริยาแลกเปลี่ยนกรดไขมันบนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันปาล์ม โดยใช้เอนไซม์ตรึงที่เคยใช้แล้ว จะต้องมีการเพิ่มปริมาณเอนไซม์เข้าไปให้เหมาะสมเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะคงเดิม