บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

โกโก้จัดเป็นพืชยืนต้นชนิดพุ่ม มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า Theobroma cacao ซึ่งคำว่า Theobroma หมายถึง food of the gods ต้นโกโก้มีแหล่งกำเนิดในป่าทึบแถบลุ่มแม่น้ำอเมซอน ต่อมาได้มีการนำพืชนี้เข้าไปปลูกในหลายประเทศในยุโรป แต่ไม่ได้ผลดีนักในเชิงการค้า กลุ่มประเทศต่างๆในทวีปอเมริกาใต้จึงเป็นผู้ครองตลาดสินค้าจากพืชนี้เรื่อยมา จนถึงปี ค.ศ 1890 ได้มีผู้นำพืชนี้เข้าสู่ประเทศกานา (Ghana) ในทวีปแอฟริกา ซึ่งสามารถปลูกได้ดีมาก ให้ผลผลิตสูง จึงเป็นผลให้กลุ่มประเทศแอฟริกาเป็นผู้ครองตลาดส่งออกโกโก้รายใหญ่ของโลกมาจนถึงปัจจุบัน นอกจากนี้ประเทศอื่นที่มีการปลูกต้นโกโก้ได้ดีได้แก่ เวเนซูเอลา ทรินิแดด จาไมกา อินโดนีเซีย และมาเลเซีย เป็นต้น

ในปัจจุบันประเทศไทย ได้มีการปลูกต้นโกโก้ในบริเวณอำเภอถนอม จังหวัดนครศรีธรรมราช อำเภอเมืองคีรีรัฐนิคมจังหวัดสุราษฎร์ธานี และสามารถพบต้นโกโก้อีกในแถบจังหวัดกระบี่ ภูเก็ต พังงา และชุมพร

ต้นโกโก้ที่นิยมปลูกในเชิงการค้า (Minific, 1989)

โกโก้เป็นพืชที่อยู่ในตระกูล Sterculiaceae และมีประมาณ 20 ชนิดด้วยกันชนิดที่มีคุณค่าในเชิงการค้าแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มคือ Criollo และ Forastero กลุ่มที่ 3 ซึ่งเรียกว่า Trinitario ซึ่งเกิดจากการผสมกันระหว่าง 2 กลุ่มแรกก็มีความสำคัญเชิงการค้าลำดับถัดไป สำหรับโกโก้ในกลุ่ม Forastero เป็นพันธุ์ที่ปลูกในเชิงการค้าในแบบทั่ว ๆ ไป ไม่เน้นการนำไปใช้ประโยชน์โดยเฉพาะ ซึ่งภาษาทางการค้านิยมเรียกว่า " Bulk Cocao " แต่ถ้าจะนำไปใช้ในแง่ของการให้กลิ่นจะนิยมโกโก้ในกลุ่ม Criollo และ Trinitario มากกว่า และนิยมเรียกในภาษาทางการค้าว่า "Fine" หรือ "Flavour Cacao" กลุ่มประเทศผู้ผลิตโกโก้ชนิดหลังนี้ได้แก่ เวเนซูเอลา ทรินิแดด จาไมกา และ อินโดนีเซีย แต่การที่จะทำให้โกโก้มีกลิ่นดี ตามคุณภาพที่ต้องการจะขึ้นกับเทคโนโลยี หลังการเก็บเกี่ยว

เทคโนโลยีขั้นหลังการเก็บเกี่ยวผลโกโก้

ผลโกโก้จะมีลักษณะทางพฤกษศาสตร์เรียกว่า Drupe ผลยาวประมาณ 6-10 นิ้ว มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3-4 นิ้ว ภายในจะมีเมล็ดประมาณ 20-40 เมล็ด งานในขั้นหลัง

การเก็บเกี่ยวจะมีผลกระทบโดยตรงกับคุณภาพของผลิตผลจากพืชโกโก้ จึงต้องให้ความสนใจเข้มงวดในการควบคุมอย่างจริงจังกับงานในช่วงนี้ทุกขั้นตอน

เมื่อเก็บเกี่ยวผลโกโก้ที่แก่จัดมาแล้วจะต้องผ่าออกแล้วควักเอาส่วนที่เป็นเมล็ดที่มีส่วนเนื้อติดมาด้วย นำมากองรวมกันไว้หรือจะบรรจุกล่องหรือตะกร้าเพื่อทิ้งให้เกิดการหมักขึ้น การหมักนี้เป็นการเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่ไม่เกี่ยวกับจุลินทรีย์เลย วิธีดั้งเดิมมักจะทำโดยการนำเอาเมล็ดโกโก้มาวางกองสุมกันบนใบตองประมาณ 250-300 กิโลกรัม แล้วคลุมด้วยใบตองอีกครั้งหนึ่ง ช่วงการหมักนี้จะใช้เวลาประมาณ 5-6 วัน โดยทั่วไปโกโก้ชนิด Ferastero ต้องการเวลาในการหมักนานกว่า Criollo

ในระยะแรกของการหมัก ส่วนเนื้อที่ติดไปกับเมล็ดโกโก้จะสลายตัวเป็นของเหลวไหลออกมา ขณะเดียวกันอุณหภูมิภายในกองเมล็ดโกโก้จะเพิ่มขึ้นถึง 50°ซ และคงอยู่ที่อุณหภูมินี้จนกว่าการหมักจะสิ้นสุดลง ขณะหมักควรจะมีการกลับเอาเมล็ดที่อยู่ด้านนอก เข้าไปอยู่ด้านในของกองบ้าง เพื่อเป็นการช่วยให้ได้รับอุณหภูมิสูงขึ้นและเพิ่มอากาศด้วย

สำหรับการหมักในกล่องหมักสามารถจะทำรูปกล่องเป็นแบบต่างๆกันไป แต่ที่นิยมใช้จะเป็นกล่องสี่เหลี่ยมที่มีขนาดกว้างยาว 1.2 x 1.2 เมตร และมีความลึก 0.9 เมตร ด้านล่างของกล่องจะมีรูเปิดไว้ให้ของเหลวที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของเนื้อที่ติดเมล็ดไปไหลออกไปได้ วิธีหมักโดยใช้กล่องหมักนี้ จะให้ผลดีกว่าแบบแรก เพราะการหมักจะดำเนินไปอย่างทั่วถึง การวางกล่องหมักจะวางซ้อนๆกัน ส่วนการกลับเมล็ดโกโก้ทำโดยการเปลี่ยนที่วางของกล่องให้เป็นไปอย่างเหมาะสม ขนาดกล่องหมักที่ใช้ และขนาดกองเมล็ดโกโก้จะต้องมีขนาดเหมาะสมและเพียงพอที่จะป้องกันไม่ให้ความร้อนที่เกิดจากการหมักสูญเสียไปได้ เพราะถ้าอุณหภูมิขณะหมักลดลงจะมีผลเสียคือทำให้เมล็ดโกโก้เปลี่ยนเป็นสีม่วง แทนที่จะเป็นสีน้ำตาล และกลิ่นช็อกโกแลตก็จะไม่เกิดขึ้นด้วย ลักษณะสีของเมล็ดโกโก้ก็จะบอกให้ทราบถึงคุณภาพของเมล็ดโกโก้ว่าผ่านการหมักดีเพียงใด ซึ่งสีของเมล็ดโกโก้นี้ สามารถนำมาใช้เป็นเครื่องชี้ในการบอกระดับคุณภาพของเมล็ดโกโก้ได้อีกด้วย สำหรับกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่แท้จริงในขั้นการหมักนี้ ยังไม่สามารถอธิบายได้อย่างกระจ่าง แม้งานวิจัยในด้านนี้ได้กระทำกันไปมากแล้วก็ตาม

เมล็ดโกโก้ที่ผ่านการหมักแล้ว จะถูกนำมาทำให้แห้งโดยใช้พลังความร้อนจากแสงแดดเป็นหลัก โดยการนำเอาเมล็ดโกโก้ที่ผ่านการหมักได้ที่แล้ว มาเกลี่ยลงในถาดก้นตื้น แล้วผึ่งแดดไว้ให้แห้ง วิธีการนี้ยังใช้ได้ดีถ้าไม่มีฝนตกชุก ถ้ามีฝนตกจำเป็นต้องใช้วิธีการทำให้แห้งแบบอื่นเข้าช่วยจึงจะช่วยให้คุณภาพของเมล็ดโกโก้ดีได้ การทำแห้งจะต้องไล่ความชื้นในเมล็ดโกโก้ออกไปจนเหลืออยู่เพียง 6.0-6.5% จึงจะเหมาะสมและปลอดภัยในการป้องกันเชื้อราได้ในขั้นการเก็บรักษา ถ้าหากมีความชื้นสูงกว่าระดับดังกล่าว นอกจากจะทำให้ราเจริญได้แล้วยังมีผลกระทบในทางลบต่อกลิ่นของเมล็ดโกโก้ เมล็ดโกโก้ที่ผ่านการหมักและการทำแห้งแล้วนี้

จะเรียกว่า Cocoa Nibs ซึ่งสามารถนำไปจำหน่ายต่อไป การเก็บรักษาระหว่างนี้ ควรจะบรรจุในถุงที่ทำด้วยวัสดุเหมาะสม เพื่อป้องกันความชื้นจากอากาศซึมผ่านเข้าไป นอกจากนี้มักจะต้องคำนึงถึงการทำลายของแมลงด้วย

เนยโกโก้

เนยโกโก้เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากเมล็ดโกโก้รูปหนึ่ง ซึ่งตามมาตรฐาน FDA (Food and Drug Administration ประเทศสหรัฐอเมริกา) ได้ระบุไว้ว่าเนยโกโก้คือไขมันธรรมชาติที่ได้จากเมล็ดโกโก้ที่มีคุณภาพดี ซึ่งจะผ่านการคั่วหรือไม่คั่วมาแล้วก็ได้ สำหรับมาตรฐานของเนยโกโก้ในแนวคิดของกลุ่มประเทศเศรษฐกิจยุโรป จะระบุไว้แตกต่างกันไป โดยมีการแบ่งชนิดของเนยโกโก้ตามกระบวนการแปรรูป หรือวิธีการสกัดน้ำมัน เป็น 3 ประเภทคือ

1. เนยโกโก้ที่ได้จากการบีบอัดด้วยแรง (Prime Pressed Cocoa Butter) หมายถึงเนยโกโก้ที่ได้จากการนำเมล็ดโกโก้ที่คุณภาพดี ไม่มีเปลือกติด มาทำการบีบอัดด้วยเครื่องไฮดรอลิก ที่ใช้แรงกดไม่สูงนัก โดยเนยโกโก้นี้ไม่ต้องผ่านการทำให้บริสุทธิ์ เพียงผ่านการกรองเท่านั้น

2. เนยโกโก้ที่ได้จากการบีบอัดโดยเครื่องไฮโดรริกที่ใช้แรงบีบอัดสูงกว่า (Expeller Pressed Cocoa Butter) หมายถึงเนยโกโก้ที่ได้จากเมล็ดโกโก้ที่มีคุณภาพรอง ซึ่งมักจะเป็นพวกที่แก่ไม่เต็มที่ ผ่านการหมักไม่ดี และมีน้ำหนักเบา ซึ่งแยกออกมาได้จากกระบวนการแยกโดยใช้ลมเป่า (Wind Blowing) นำมาผ่านการนึ่งด้วยไอน้ำ เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัด แล้วจึงเข้าเครื่องบีบที่ใช้แรงกดสูง เช่น เครื่องอัดแบบเกลียว (Screw Press หรือ Extruder) เนยโกโก้ที่ได้นี้ ต้องนำไปผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ก่อนนำมาใช้

3. เนยโกโก้ที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent Extracted Cocoa Butter) หมายถึงเนยโกโก้ที่ได้จากการนำกากที่เหลือจากการบีบอัดโดยการใช้แรงบีบอัดที่สูง ซึ่งยังมีน้ำมันติดอยู่มากพอสมควร มาสกัดต่อด้วยตัวทำละลายชนิดพิเศษที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์มาอย่างดีมาก เนยโกโก้ที่ได้จากวิธีนี้จะไม่มีกลิ่นช็อกโกแลต และนิยมเรียกว่า “Less Snap”

ปริมาณเนยโกโก้ในส่วนต่างๆของเมล็ด

เมล็ดโกโก้จะประกอบด้วย 2 ส่วน คือส่วนเนื้อ (Nib) ซึ่งมีอยู่ประมาณ 88 % (โดยน้ำหนัก) และส่วนที่เป็นเปลือกหุ้มซึ่งคิดเป็นสัดส่วนประมาณ 12 % (โดยน้ำหนัก) ในส่วนที่เป็นเนื้อจะมีส่วนที่เป็นไขมันอยู่ 55 %(โดยน้ำหนัก) ส่วนที่เป็นเปลือกจะมีไขมัน 3 % (โดยน้ำหนัก) อย่างไรก็ตามปริมาณไขมันที่สกัดออกมาได้จากส่วนเนื้อจะอยู่ในช่วง 48.40 % (โดยน้ำหนัก) และที่สกัดได้จากส่วนเปลือกจะอยู่ในช่วง 0.36 %(โดยน้ำหนัก)

องค์ประกอบของเนยโกโก้

ดังกล่าวไปข้างต้นแล้วว่าเนยโกโก้ซึ่งคือส่วนไขมันที่ได้จากเมล็ดโกโก้ประกอบขึ้นด้วยกลีเซอไรด์ของกรดปาล์มมิติก กรดสเตียริก และกรดโอเลอิกเป็นหลัก โดยมีกลีเซอไรด์ของกรดลิโนเลอิกปนบ้างเล็กน้อย ลักษณะเฉพาะของเนยโกโก้คือมากกว่า75% ของไตรกลีเซอไรด์จะมีกรดโอเลอิกอยู่ที่ตำแหน่งที่ 2 ของโครงสร้างไตรกลีเซอไรด์โดยที่ตำแหน่งที่ 1 และ 3 เป็นกรดไขมันอิ่มตัวคือกรดปาล์มมิติก และ/หรือ กรดสเตียริก (สายสนม ประดิษฐ์ดวง, 2527) รายละเอียดปริมาณกรดไขมันชนิดต่าง ๆ และชนิดของไตรกลีเซอไรด์ในเนยโกโก้แสดงไว้ในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันประเภทต่าง ๆ และไตรกลีเซอไรด์ประเภทต่าง ๆ ในเนยโกโก้ (Minific, 1989, p.88)

กรดไขมัน	% (โดยน้ำหนัก)
C 14 : 0	0.1
C 16 : 0	24.4
C 18 : 0	33.6
C 18 : 1	37.0
C 18 : 2	3.4
C 18 : 3	0.1
C 20 : 0	0.1
ไตรกลีเซอไรด์	% (โดยโมล)
Trisaturated	เล็กน้อย
Diunsaturated	
Stearo-diolein	3.1
Palmio-diolein	2.0
Monounsaturated	
Oleo-distearin	37.2
Oleo-palmitostearin	45.3
Oleo-dipalmitin	12.5

ลักษณะและสมบัติของเนยโกโก้

เนยโกโก้ที่ได้จากแรงบีบจะมีลักษณะเป็นไขสีเหลือง และจับตัวเป็นไขแข็งเปราะที่อุณหภูมิต่ำกว่า 26°ซ เนยนี้จะเริ่มหลอมตัวที่อุณหภูมิ 30-32°ซ และจะหลอมตัวเป็นของเหลวโดยสมบูรณ์ที่อุณหภูมิ 35°ซ จะเห็นว่าช่วงอุณหภูมิของการหลอมเหลวของเนยโกโก้ค่อนข้างแคบมาก สำหรับสมบัติอื่นๆ ของเนยโกโก้แสดงไว้ในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 สมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของเนยโกโก้ (Minific, 1989, p.90)

คุณลักษณะ	ค่าเฉลี่ย
ค่าความถ่วงจำเพาะ (Specific gravity) ที่ 25°ซ	0.950-0.975
ดรรชนีหักเหของแสง (Refractive index)	1.456-1.458 (40°ซ)
ค่าไอโอดีน (Iodine value)	35-40
ค่าสปอนนิไฟน์ (Saponification value)	188-195
ค่าที่ไม่สปอนนิไฟน์ (Unsaponification value)	1.5 %
จุดหลอมเหลว (Melting point)	31-34°ซ
ค่าความเป็นกรด (Acid value)	1.1-2.8
จุดไตเตอร์ (Titer point)	18-51°ซ

สมบัติการหลอมเหลวที่แคบและอยู่ในช่วงใกล้เคียงอุณหภูมิร่างกายของมนุษย์พอดี ทำให้เนยโกโก้เหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นสารเคลือบผิวหน้าของผลิตภัณฑ์ลูกกวาด ลูกอมทั้งหลาย (Confectionary) ซึ่งยากที่จะหาไขมันธรรมชาติอื่นมาทดแทนได้

น้ำมันปาล์ม (Palm Oil)

ปาล์มน้ำมันเป็นพืชในตระกูล Palmae มีชื่อทางพฤษศาสตร์ว่า Elaeis guineensis มีถิ่นกำเนิดในแอฟริกาและได้กระจายพันธุ์ไปยังลาตินอเมริกาและเอเชียตอนใต้ การผลิตน้ำมันปาล์มทำได้ 2 ส่วน คือจากเนื้อที่หุ้มเมล็ดเรียกว่าน้ำมันปาล์ม (Palm Oil) และจากเนื้อเมล็ดในเรียกว่าน้ำมันเนื้อเมล็ดปาล์ม (Palm Kernel Oil) ซึ่งน้ำมันทั้งสองชนิดมีสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์และองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2.3 และ 2.4 (Hamilton, 1994, p.161) น้ำมันจากเนื้อเมล็ดปาล์มจะมีสมบัติคล้ายน้ำมันมะพร้าว และมีกรดลอริกใน

ปริมาณสูง นิยมนำไปใช้ทำเนยเทียมหรือเนยขาว นมผงและเครื่องสำอาง ส่วนน้ำมันจากเนื้อปาล์มมีองค์ประกอบของไขมันอิ่มตัวน้อยกว่าโดยกรดไขมันอิ่มตัวที่พบจะเป็นกรดปาล์มมิติกเป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้ถ้านำน้ำมันปาล์มมาแยกส่วนจะสามารถแยกได้เป็น 2 ส่วน คือ 1) ปาล์มโอเลอิน (Palm Olein) ซึ่งน้ำมันปาล์มโอเลอินนี้ใช้บริโภคทั่วไปในท้องตลาด และ 2) ปาล์มสเตียริน (Palm Stearin) ซึ่งมีลักษณะเป็นไข นิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมสบู่ (ไพจิตร จันทรวงศ์, 2530; อรพิน อินทร์แก้ว, 2532)

ตารางที่ 2.3 ชนิดของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบของน้ำมันจากเนื้อหุ้มเมล็ด(Palm Oil) และน้ำมันจากเมล็ดปาล์ม (Palm Kernel Oil)

กรดไขมัน	% Methyl Ester	
	น้ำมันปาล์มจากเมล็ดปาล์ม (Palm Kernel Oil)	น้ำมันปาล์มจากเนื้อหุ้มเมล็ด (Palm Oil)
C 6 : 0	0.20	-
C 8 : 0	4.15	-
C 10 : 0	3.34	-
C 12 : 0	42.45	-
C 14 : 0	17.28	1.60
C 16 : 0	9.27	42.55
C 18 : 0	1.93	3.90
C 18 : 1	18.27	38.18
C 18 : 2	2.91	12.77
C 20 : 0	0.20	-

ตารางที่ 2.4 สมบัติทางเคมี ฟิสิกส์ของน้ำมันจากเนื้อหุ้มเมล็ด (Palm Oil) และน้ำมันจากเมล็ดปาล์ม (Palm Kernel Oil)

คุณลักษณะ	น้ำมันปาล์มจากเมล็ดปาล์ม (Palm Kernel Oil)	น้ำมันปาล์มจากเนื้อหุ้มเมล็ด (Palm Oil)
ค่าไอโอดีน (Iodine value)	14-20	43-59
ค่าความเป็นกรด(Acid value)	20	15
ค่าสปอนนิไฟน์ (Saponification value)	240-257	195-210
ค่าที่ไม่สปอนนิไฟน์ (Unsaponificable matter)	1%	1%
ค่าความถ่วงจำเพาะ(Specific gravity)25/25°ซ	0.999-0.913	0.893-0.905
ดรรชนีหักเหของแสง (Refractive index)25° ซ	1.449-1.452	1.449-1.455

โดยทั่วไปน้ำมันปาล์มดิบประกอบด้วยสิ่งเจือปนที่ไม่พึงประสงค์หลายชนิด เช่น กรดไขมันอิสระ ความชื้น เศษผง ยางเหนียว เม็ดสีหรือพิคเมนท์และโลหะต่าง ๆ เป็นต้น ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการกำจัดสิ่งปนเปื้อนเหล่านี้ออกก่อนนำไปบริโภค การผลิตน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์แบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน ดังนี้ (กรมวิชาการเกษตร, 2534; Young, 1981)

1. การผลิตน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์

โดยทั่วไปนิยมทำน้ำมันปาล์มดิบให้บริสุทธิ์ก่อนการแยกส่วนน้ำมัน และโรงงานบางแห่งมีการผลิตเพียงน้ำมันบริสุทธิ์เท่านั้นโดยไม่มีการแยกส่วน กรรมวิธีการผลิตน้ำมันบริสุทธิ์ มี 2 วิธี คือ (ดูรูปที่ 2.1ประกอบ)

1.1 วิธีทางเคมี (Chemical Refining)

เป็นกระบวนการทำน้ำมันให้บริสุทธิ์โดยใช้สารเคมีเป็นหลัก ดังนั้นต้นทุนการผลิตต่อหน่วยจึงค่อนข้างสูงและยังมีการสูญเสียน้ำมันในระหว่างการผลิตมาก กระบวนการผลิตเริ่มด้วยการกำจัดสารเจือปนจำพวกฟอสโฟลิปิดหรือฟอสฟาไทด์ออกไปก่อน โดยใช้กรดฟอสฟอริก (H_3PO_4) ตามด้วยกระบวนการกำจัดกรดไขมันอิสระ เรียกว่ากระบวนการทำให้เป็นกลาง (Neutralization) โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) โดยโซเดียมไฮดรอกไซด์จะทำปฏิกิริยากับกรดไขมันอิสระกลายเป็นไขสบู่ ซึ่งเป็นสารแขวนลอยและละลายน้ำได้ เมื่อผ่านการล้างด้วยน้ำร้อนหลาย ๆ ครั้ง ก็จะได้น้ำมันที่มีกรดไขมันอิสระไม่เกิน 0.3%

ออกมา จากนั้นน้ำมันจะถูกนำไปไล่ความชื้นออกแล้วนำไปฟอกกำจัดกลิ่น (Deodorization) ด้วยวิธีการพ่นไอน้ำเข้าไปภายในน้ำมันซึ่งอยู่ในถังสูญญากาศเพื่อแยกเอากรดไขมันที่หลงเหลืออยู่พร้อมทั้งอัลดีไฮด์ (Aldehydes) และคีโตน (Ketones) ซึ่งเป็นสารที่ให้กลิ่นในน้ำมันจะถูกปั๊มดูดอากาศดึงออกไปพร้อมไอน้ำ กระบวนการพ่นไอน้ำนี้จะฟอกสีน้ำมันได้ด้วย เนื่องจากสารให้สีหลายๆ ประเภทจะถูกน้ำพาออกไป น้ำมันที่ผ่านกระบวนการนี้แล้วเรียกว่าน้ำมันอาร์บีดี (Refined, Bleached and Deodorised : RBD Palm Oil) ซึ่งพร้อมที่จะนำไปใช้ในอุตสาหกรรมขั้นต่อไปได้

1.2 วิธีทางกายภาพ (Physical Refining)

เป็นกระบวนการต่อเนื่องซึ่งประกอบขึ้นด้วย 3 ขั้นตอนใหญ่ คือ

(1)การกำจัดสิ่งเจือปนจำพวกฟอสฟาไทด์และโปรตีนด้วยกรดฟอสฟอริก (เช่นเดียวกับวิธีทางเคมี) โดยสารเจือปนจะรวมตัวกันเป็นก้อน (Coagulation) และตกตะกอนออกไป

(2) ทำการฟอกสีน้ำมันด้วยดินฟอก (Aluminosilicate Clay) ประมาณ 12 % โดยน้ำหนักน้ำมัน จากนั้นก็ผ่านเข้าเครื่องกรองเพื่อแยกเอาดินฟอกที่ดูดซับสิ่งเจือปนต่าง ๆ ตลอดจนตะกอนของฟอสฟาไทด์และโปรตีนที่ตกค้างอยู่ออกจากน้ำมัน

(3) การจำกัดกรด (Deacidification) พร้อมๆ กับการกำจัดกลิ่น (Deodorization) เพื่อแยกเอากรดไขมันอิสระและสารที่ทำให้เกิดการออกซิเดชัน เม็ดสี อัลดีไฮด์ และคีโตนออกจากน้ำมัน กระบวนการนี้ทำโดยพ่นไอน้ำที่อุณหภูมิ 240-260°ซ เข้าสู่น้ำมันที่อยู่ในถังซึ่งควบคุมความดันไว้ที่ 1-4 มม. ปรอท เป็นเวลาประมาณ 1-2 ชั่วโมง ไอน้ำจะเอาสิ่งเจือปนออกจากน้ำมัน น้ำมันที่ได้นี้เรียกว่าน้ำมันอาร์บีดี เช่นเดียวกัน

กระบวนการทางกายภาพมีข้อดีหลายประการคือต้นทุนการผลิตต่อหน่วยจะต่ำกว่าวิธีทางเคมี เพราะใช้สารเคมีน้อย และมีการสูญเสียน้ำมันไม่มาก กระบวนการแบบนี้สามารถแยกเอากรดไขมันอิสระออกได้ดี ให้น้ำมันที่มีความบริสุทธิ์สูงถึง 95% น้ำมันที่ได้นี้สามารถนำไปแยกส่วนแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ได้มากมายหลายชนิด และประการสุดท้ายวิธีทางกายภาพนี้จะไม่มีน้ำเสียที่เกิดจากการล้างไขสบู่ดังเช่น กระบวนการแบบเคมี

2. การแยกส่วนน้ำมันปาล์ม

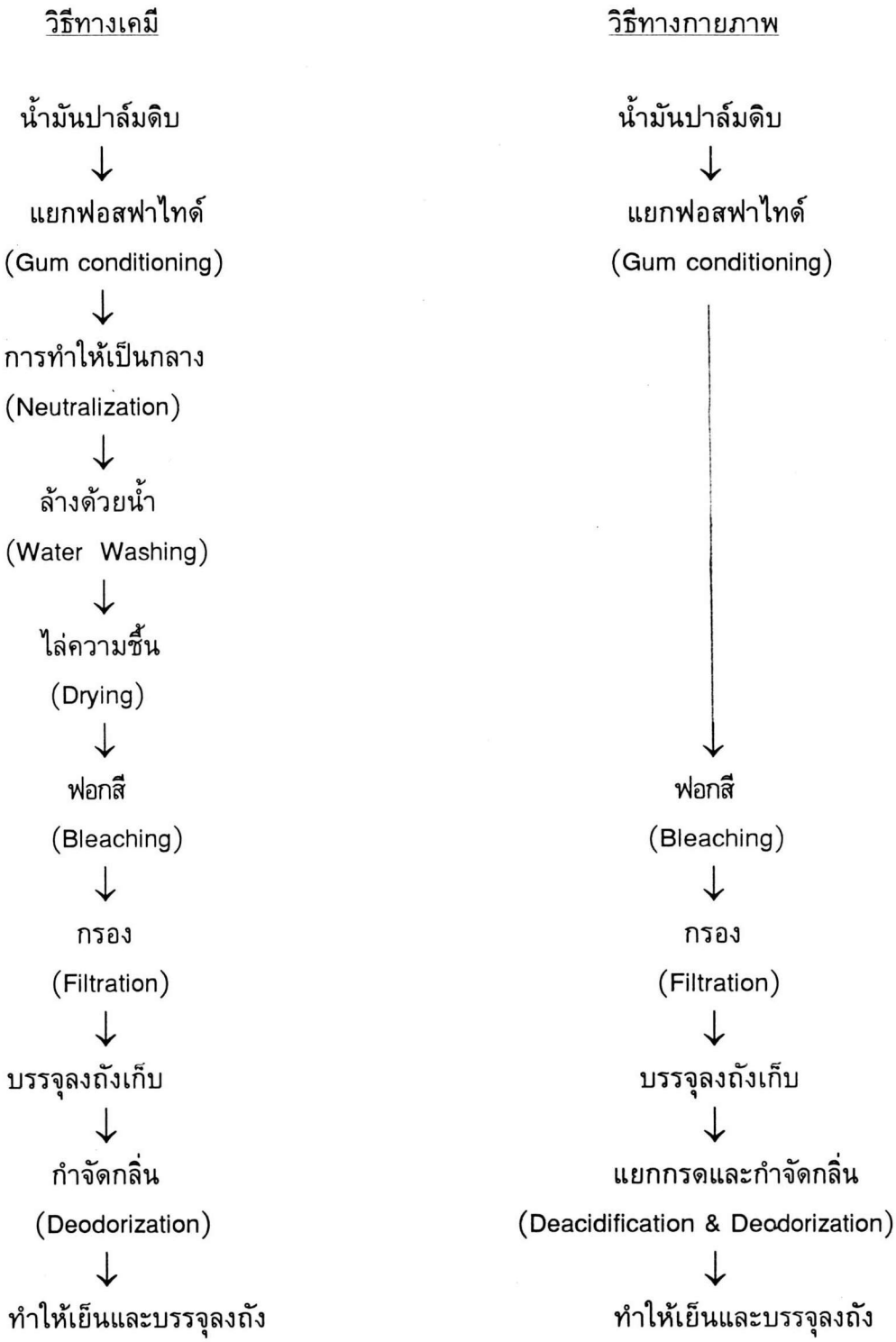
ที่อุณหภูมิต่ำ ๆ น้ำมันปาล์มมีคุณสมบัติเป็นของเหลวผสมกับของแข็ง การใช้งานจึงมีขีดจำกัด การแยกส่วนน้ำมันปาล์มออกเป็นของเหลวซึ่งเรียกว่า ปาล์มโอเลอิน และของแข็งเรียกว่า ปาล์มสเตียริน ทำให้ได้น้ำมันที่เหมาะสมกับการใช้ประโยชน์มากขึ้น

เทคโนโลยีการแยกส่วนน้ำมันปาล์มแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มดังนี้

2.1 Dry Fractionation เป็นการตกตะกอนแยกส่วนโดยไม่ใช้สารเคมีช่วยเพียงแต่ความคุมอุณหภูมิให้เย็นลงและกรองทันที การผลิตน้ำมันปาล์มโอเลอิน ด้วยวิธีนี้ให้ผลผลิตเฉลี่ย 60-65 % (โดยน้ำหนักน้ำมัน) ของน้ำมันปาล์ม

2.2 Detergent Fractionation เป็นการตกตะกอนแยกส่วน โดยใช้สารเคมีพวกสารลดแรงตึงผิว (Surfactant) เช่น Sodium lauryl sulphate และ Magnesium sulphate ช่วยให้การตกตะกอนและการแยกส่วนเร็วขึ้น หลังจากเติมสารลดแรงตึงผิวลงไปแล้ว น้ำมันปาล์มจะถูกทำให้เย็นลงและแยกส่วนโดยการเหวี่ยง วิธีนี้ให้ผลผลิตเฉลี่ยของน้ำมันปาล์มโอเลอิน 70-80 %(โดยน้ำหนักน้ำมัน)

2.3 Solvent Fractionation เป็นการตกตะกอนและแยกส่วนโดยการควบคุมอุณหภูมิและใช้ตัวทำละลายช่วย ตัวทำละลายที่นิยมใช้คือ อะซิโตน หรือ เฮกเซน จากนั้นแยกส่วนด้วยการกรอง วิธีนี้ให้ผลผลิตเฉลี่ยของน้ำมันปาล์มโอเลอิน 70-80 %(โดยน้ำหนักน้ำมัน)



รูปที่ 2.1 แผนภาพแสดงขั้นตอนต่าง ๆ ในกระบวนการทำน้ำมันให้บริสุทธิ์ โดยวิธีทางเคมี และวิธีทางกายภาพ

องค์ประกอบของน้ำมันปาล์ม

น้ำมันปาล์มที่ผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ จะมีองค์ประกอบของกรดไขมัน องค์ประกอบของไตรกลีเซอไรด์ และคาร์บอนนัมเบอร์ในน้ำมันปาล์ม ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2.5 2.6 และ 2.7 ตามลำดับ (สุมาลัย ศรีกำไลทอง,2526)

ตารางที่ 2.5 องค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันปาล์ม

กรดไขมัน	% ในองค์ประกอบทั้งหมด
C 12 : 0	0.2
C 14 : 0	1.1
C 16 : 0	44.0
C 16 : 1	0.1
C 18 : 0	4.5
C 18 : 1	39.2
C 18 : 2	10.1
C 18 : 3	0.4
C 20 : 0	0.4

ตารางที่ 2.6 องค์ประกอบของไตรกลีเซอไรด์ ในน้ำมันปาล์ม

ชนิดของไตรกลีเซอไรด์	องค์ประกอบเป็น %
Trisaturated	10.2
Disaturated	48.0
Monosaturated	34.6
Triunsaturated	6.8

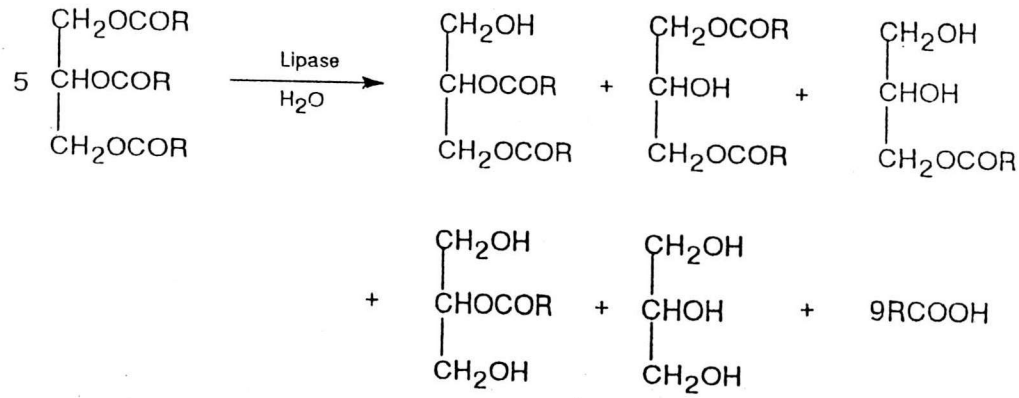
ตารางที่ 2.7 คาร์บอนนัมเบอร์ในน้ำมันปาล์ม

คาร์บอนนัมเบอร์	เฉลี่ย
C 46	0.8
C 48	7.4
C 50	42.6
C 52	40.5
C 54	8.8

ชนิดของไตรกลีเซอไรด์ที่เป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันปาล์มที่พบคือ 1,3-dipalmitoyl-2-monoolein (POP), 1(3)-palmitoyl-3(1)-stearoyl-2-monoolein (POSt) และ 1,3-distearoyl-2-monoolein (StOSt) โดยทั่วไป POP จะมีอยู่ในสัดส่วนสูงที่สุด

เอนไซม์ไลเปส

ไลเปส (Lipase)หรือเรียกตามการเรียกชื่อเอนไซม์สากล (Enzyme Nomenclature) ว่า Glycerol Ester Hydrolase (E.C.3.1.1.3) เป็นเอนไซมที่เร่งปฏิกิริยาการไฮโดรไลซ์พันธะเอสเทอร์ (Ester Bond) ของไตรกลีเซอไรด์ ซึ่งมีกรดไขมันสายยาวเป็นส่วนประกอบ ได้ผลิตภัณฑ์เป็นไขมันอิสระ ไดกลีเซอไรด์ โมโนกลีเซอไรด์ และกลีเซอรอล (รูปที่ 2.2)

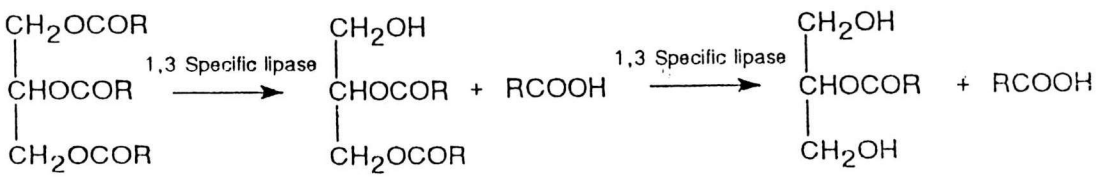


รูปที่ 2.2 ปฏิกิริยาการไฮโดรไลซ์กรดไขมันออกจากโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์

ไลเปสแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มคือ (Macrae,1983)

1. ไลเปสที่มีความจำเพาะที่ตำแหน่ง 1 และ 3 บนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ (1,3-Specific Lipase)

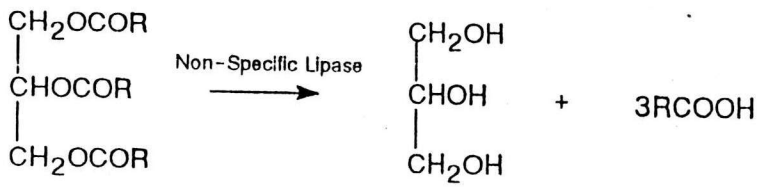
ไลเปสในกลุ่มนี้จะไฮโดรไลซ์พันธะเอสเทอร์ เฉพาะตำแหน่งที่อยู่ด้านนอกของโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์นั่นคือที่ตำแหน่ง 1 และ 3 เท่านั้น ผลิตภัณฑ์จากการไฮโดรไลซ์จึงเป็นกรดไขมันอิสระ 1,2 (2,3)- ไดกลีเซอไรด์ และ 2-โมโนกลีเซอไรด์ เอนไซม์ไลเปสในกลุ่มนี้ได้แก่ ไลเปสจากตับอ่อน ไลเปสจากเชื้อราสายพันธุ์ต่าง ๆ เช่น Aspergillus niger Mucor javanicus และ Rhizopus sp. ปฏิกิริยาของเอนไซม์ไลเปสกลุ่มนี้แสดงไว้ดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 ปฏิกิริยาการไฮโดรไลซ์กรดไขมันออกจากโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ โดยเอนไซม์ไลเปสที่มีความจำเพาะต่อตำแหน่งที่ 1 และ 3 ของโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์

2. ไลเปสที่ไม่มีความจำเพาะที่ตำแหน่งบนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ (Non-Specific Lipase)

เอนไซม์ในกลุ่มนี้สามารถไฮโดรไลซ์กรดไขมันบนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ทั้งสามตำแหน่งโดยไม่มีความจำเพาะต่อตำแหน่งที่กรดไขมันเกาะอยู่กับกลีเซอรอล ดังนั้นเมื่อมีการการไฮโดรไลซ์อย่างสมบูรณ์จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอล (รูปที่ 2.4) แต่ถ้าปฏิกิริยาเกิดไม่สมบูรณ์อาจจะพบไดกลีเซอไรด์และโมโนกลีเซอไรด์ในปฏิกิริยาได้ ไลเปสในกลุ่มนี้ได้แก่ ไลเปสจาก Candida cylindracea Pseudomonas cyclopium และ Staphylococcus aureus เป็นต้น



รูปที่ 2.4 ปฏิกิริยาการไฮโดรไลซ์กรดไขมันออกจากโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ โดยเอนไซม์ไลเปสที่ไม่มีความจำเพาะต่อตำแหน่งของกรดไขมันบนกลีเซอรอล

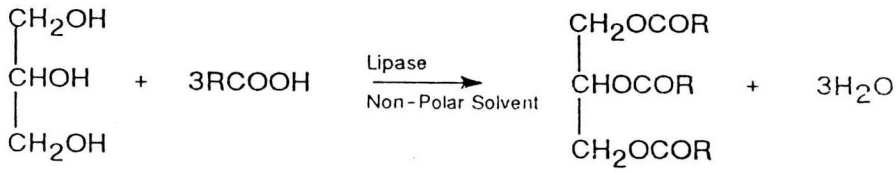
จากรายละเอียดที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นได้ว่าไลเปสเป็นเอนไซม์ที่มีอยู่ในธรรมชาติ ทำหน้าที่ไฮโดรไลซ์พันธะเอสเทอร์ในโมเลกุลไขมันหรือน้ำมัน โดยทั่วไปไลเปสจะทำหน้าที่ดังกล่าวในสภาวะที่มีน้ำเป็นตัวทำละลาย ซึ่งเป็นสภาวะตามธรรมชาติของสิ่งมีชีวิตทั้งหลาย ดังรูปที่ 2.5

รูปที่ 2.5 ปฏิกิริยาการไฮโดรไลซ์ไตรกลีเซอไรด์ของไลเปสในธรรมชาติ

อย่างไรก็ตาม เมื่อนำไลเปสไปเร่งปฏิกิริยาในสภาวะที่มีตัวทำละลายไม่มีขั้วเป็นตัวทำละลาย พบว่าไลเปสสามารถเร่งปฏิกิริยาต่าง ๆ ในลักษณะของการสร้างพันธะเอสเทอร์ได้ นั่นคือเป็นปฏิกิริยาที่มีทิศทางย้อนกลับจากปฏิกิริยาที่ไลเปสเร่งในสภาวะธรรมชาติ ปฏิกิริยาประเภทต่าง ๆ ที่มีไลเปสเป็นตัวเร่งในสภาวะของตัวทำละลายไม่มีขั้วได้แก่

1. ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน (Esterification Reaction)

เป็นปฏิกิริยาย้อนกลับของปฏิกิริยาการไฮโดรไลซีสพันธะเอสเทอร์ (รูปที่ 2.6) ปฏิกิริยานี้แม้จะเกิดในตัวทำละลายไม่มีขั้วแต่ก็ต้องการน้ำปริมาณน้อย ๆ เพื่อช่วยให้ไลเปสทำงานได้



รูปที่ 2.6 ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน

2. ปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชัน (Tranesterification Reaction)

เป็นปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนหมู่จากสารชนิดหนึ่งไปยังสารอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นสารเคมีประเภทเดียวกัน ในที่นี้หมายถึงการแลกเปลี่ยนกรดไขมันของโมโนเอสเทอร์หรือโพลีเอสเทอร์ ปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชันแบ่งออกเป็นปฏิกิริยาย่อย ๆ ได้อีก 4 ปฏิกิริยา คือ

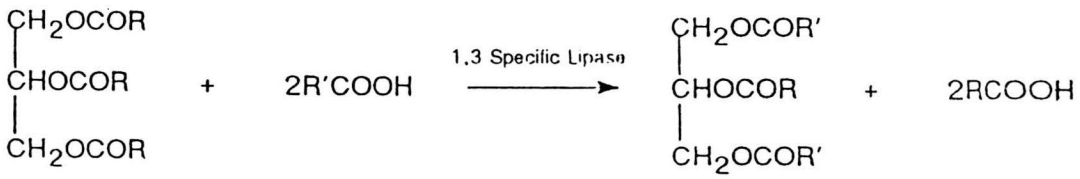
2.1 ปฏิกิริยาแอลกอฮอล์ไลซีส (Alcoholysis)

เป็นปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนหมู่อัลคิล (R) ของกรดไขมันในโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์กับหมู่อัลคิลในแอลกอฮอล์โมเลกุลใหญ่ ๆ (Long Chain Alcohol) (รูปที่ 2.7)

รูปที่ 2.7 ปฏิกิริยาแอลกอฮอล์ไลซีสระหว่างไตรกลีเซอไรด์กับแอลกอฮอล์โมเลกุลใหญ่

2.2 ปฏิกิริยาอะซิโดไลซีส (Acidolysis)

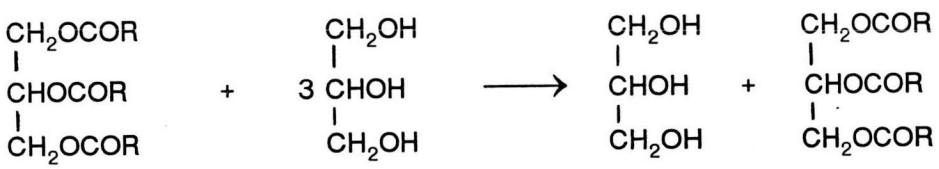
เป็นปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนกรดไขมันระหว่างไตรกลีเซอไรด์กับกรดไขมันอิสระ (รูปที่ 2.8)



รูปที่ 2.8 ไดอะแกรมของปฏิกิริยาอะซิโดไลซีส

2.3 ปฏิกิริยากลีเซอโรไลซีส (Glycerolysis)

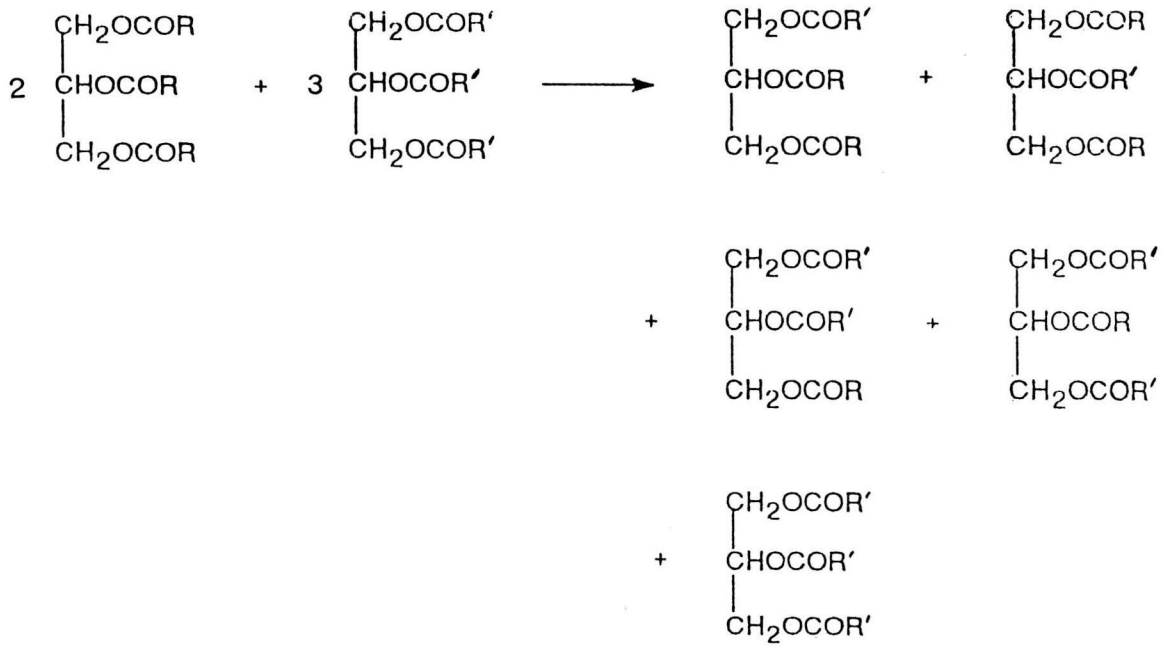
เป็นปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนกรดไขมันระหว่างไตรกลีเซอไรด์กับกลีเซอรอล (รูปที่ 2.9)



รูปที่ 2.9 ไดอะแกรมของปฏิกิริยากลีเซอโรไลซีส

2.4 ปฏิกิริยาอินเทอร์เอสเทอริฟิเคชัน (Interesterification)

เป็นปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนกรดไขมันระหว่างโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์มากกว่า 1 โมเลกุล (รูปที่ 2.10)



รูปที่ 2.10 ไดอะแกรมของปฏิกิริยาอินเทอร์เอสเทอริฟิเคชัน

ประโยชน์และการประยุกต์ใช้เอนไซม์ในตัวทำละลายอินทรีย์ (Reslow,Adlercrentz, and Mattiasson, 1987)

ดังกล่าวมาแล้วข้างต้นว่าปฏิกิริยาการสังเคราะห์ (สร้างพันธะเอสเทอร์)ของไลเปสจะเกิดได้ในสภาวะที่มีตัวทำละลายไม่มีขั้ว (Nonaqueous System) ในสภาวะเช่นนี้เอนไซม์จะรักษาประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยาในตัวกลางที่เป็นของเหลวที่ไม่ใช่น้ำได้เมื่อมีโมเลกุลของน้ำปริมาณเล็กน้อยจับกับโมเลกุลของเอนไซม์ ทั้งนี้เพื่อรักษาโครงรูปของเอนไซม์ให้สามารถเร่งปฏิกิริยาได้ ข้อดีของการใช้เอนไซม์ในตัวทำละลายอินทรีย์ ในสภาพที่มีปริมาณน้ำต่ำมีอยู่หลายประการคือ

-การใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ทำให้สารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์ที่ไม่ละลายน้ำละลายได้มากขึ้น สามารถทำปฏิกิริยาได้ในความเข้มข้นที่สูงขึ้น

-สำหรับการตรึงเอนไซม์บนพาหะใช้การตรึงเอนไซม์แบบง่ายก็เพียงพอไม่จำเป็นต้องตรึงแบบโควาเลนต์ เนื่องจากตัวเอนไซม์เองละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ได้น้อยมากอยู่แล้ว โอกาสที่เอนไซม์จะหลุดออกมาอยู่ในตัวทำละลายอินทรีย์จึงต่ำ

-การแยกเก็บผลิตภัณฑ์และเอนไซม์ทำได้ง่าย

-มีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนเนื่องจากการเจริญของจุลินทรีย์น้อยกว่าการใช้เอนไซม์ในสารละลายบัฟเฟอร์

- ความเสถียรของเอนไซม์ดีขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งต่อความร้อน

ข้อดีทั้งหมดของการใช้เอนไซม์ในตัวทำละลายอินทรีย์ที่กล่าวข้างต้นนั้นไม่ใช่ของปฏิกิริยาใดปฏิกิริยาหนึ่งเพียงปฏิกิริยาเดียว อย่างไรก็ตามข้อเสียของการใช้ก็มีอยู่บ้าง เช่น ตัวทำละลายอินทรีย์อาจจะทำให้เอนไซม์เสียสภาพการเร่งปฏิกิริยา ทำให้ระบบปฏิกิริยาซับซ้อนขึ้น และต้องเพิ่มค่าใช้จ่ายสำหรับตัวทำละลายอินทรีย์ เป็นต้น

ลักษณะทั่วไปของปฏิกิริยาที่เร่งด้วยเอนไซม์ (Goto และคณะ,1995)

ดังกล่าวข้างต้นแล้วว่าปฏิกิริยาที่เร่งด้วยเอนไซม์ ในตัวทำละลายอินทรีย์ ประกอบด้วยระบบของเหลวสองวัฏภาค ที่ประกอบด้วยน้ำปริมาณเล็กน้อยที่มีเอนไซม์ละลายอยู่ และตัวทำละลายอินทรีย์ที่ไม่รวมตัวกับน้ำที่มีสารตั้งต้นหรือผลิตภัณฑ์ละลายอยู่ ในระบบนี้จะมีสารตั้งต้นปริมาณน้อยๆ ที่ละลายในส่วนที่เป็นน้ำซึ่งเป็นที่ๆ สารตั้งต้นจะจับกับเอนไซม์เพื่อให้เกิดปฏิกิริยากลายเป็นสารผลิตภัณฑ์ จากนั้นผลิตภัณฑ์ก็จะละลายกลับเข้าสู่วัฏภาคตัวทำละลายอินทรีย์ สารตั้งต้นที่อยู่ในตัวทำละลายอินทรีย์ จะค่อยๆ ทยอยกันละลายลงสู่วัฏภาคน้ำและเกิดปฏิกิริยา โดยทั่วไปตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ได้ดี มักจะมีความมีขั้วต่ำๆ เช่น เฮกเซน ไอโซออกเทน เป็นต้น โดยส่วนใหญ่แล้วเอนไซม์ส่วนมากจะไวต่อการเสียสภาพธรรมชาติโดยแรงระหว่างชั้นของของเหลว (Interfacial Forces) ขั้นตอนการทำปฏิกิริยาจึงต้องระมัดระวังไม่ให้เอนไซม์เข้าไปอยู่ระหว่างชั้นของของเหลวทั้งสอง อย่างไรก็ตามในกรณีของเอนไซม์ไลเปส การเร่งปฏิกิริยาการสังเคราะห์เกิดที่ระหว่างชั้นของเหลว และเอนไซม์ไม่เสียสภาพธรรมชาติเมื่ออยู่ระหว่างชั้นทั้งสอง และพบว่าในกรณีนี้ประสิทธิภาพการดำเนินไปของปฏิกิริยาขึ้นอยู่กับความมากน้อยของเนื้อที่ระหว่างชั้นของเหลวด้วย

การควบคุมปริมาณน้ำในระบบตัวทำละลายอินทรีย์อาจทำโดยวิธีการดูดซับเอนไซม์ไว้บนพาหะของแข็งที่มีรูพรุนแล้วระเหยน้ำออกไปส่วนหนึ่ง จากนั้นจึงใส่เอนไซม์ที่ตรึงอยู่บนของแข็งที่มีรูพรุนและมีน้ำอยู่นี้ลงไปในตัวทำละลายอินทรีย์ ในกรณีเช่นนี้จะมีน้ำเพียงเล็กน้อยอยู่ในพาหะที่ใช้ตรึงเอนไซม์ เอนไซม์ที่เตรียมโดยวิธีนี้ สามารถใช้ในปฏิกิริยาแบบแบทช์ (Batch) และแบบต่อเนื่อง (Continuous) ได้ การมีวัสดุตรึงยังช่วยแก้ปัญหาการเกาะกันเป็นก้อนของเอนไซม์ด้วย น้ำที่มีอยู่ในระบบนี้มักจะพบอยู่อย่างใกล้ชิดกับเอนไซม์ในพาหะตรึง

ปัจจัยที่มีผลต่อแอคติวิตีของเอนไซม์ในตัวละลายอินทรีย์ (Stark และ Holmberg,1989)

เอนไซม์เป็นโมเลกุลที่ซับซ้อนซึ่งยังไม่เป็นที่เข้าใจกันอย่างแจ่มแจ้งทุกแง่มุม ในระบบปฏิกิริยาที่ใช้เอนไซม์ในตัวทำละลายอินทรีย์ ซึ่งมีปริมาณน้ำน้อย สภาวะการดำรงอยู่ของเอนไซม์ประกอบด้วยองค์ประกอบหลายชนิด เช่น แรงไอออนิกซึ่งดึงดูดเอนไซม์ไว้ด้วยกัน หรือพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลของน้ำ แรงไฮโดรโฟบิกที่มีอยู่ในตัวทำละลายอินทรีย์ เป็นต้น แต่ละองค์ประกอบสามารถเกิดแรงปฏิกิริยากับองค์ประกอบอื่นๆ เช่น น้ำเกิดพันธะไฮโดรเจนกับเอนไซม์ เป็นต้น การหาสภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา และการอธิบายจึงเป็นเรื่องที่ต้องพิจารณาให้ละเอียดรอบคอบ โดยทั่วไปพบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ในตัวทำละลายอินทรีย์ได้แก่

- ปริมาณและการกระจายของน้ำในระบบปฏิกิริยา
- วิธีตรึงเอนไซม์
- ชนิดของพาหะตรึง
- ปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ตรึง และการกระจายของเอนไซม์บนพาหะตรึง
- ความบริสุทธิ์ของเอนไซม์ที่เตรียมได้
- การเลือกตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในระบบปฏิกิริยา
- อุณหภูมิที่ทำปฏิกิริยา
- โครงสร้างทางเคมีของสารตั้งต้น
- ปริมาณของเอนไซม์ที่ใช้ในปฏิกิริยา
- ขนาดและรูปร่างของภาชนะทำปฏิกิริยา

ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเร่งปฏิกิริยาโดยเอนไซม์ในตัวทำละลายอินทรีย์ สามารถอธิบายในรายละเอียดได้ดังนี้

1.น้ำ (Goderis และคณะ,1987)

ดังกล่าวไปแล้วข้างต้นว่าน้ำจำเป็นสำหรับแอคติวิตีของเอนไซม์ในการเร่งปฏิกิริยา การรักษาปริมาณน้ำที่พอเหมาะในระบบปฏิกิริยาในตัวทำละลายอินทรีย์เป็นสิ่งสำคัญ เพราะถ้ามีปริมาณน้ำมากเกินไปในปฏิกิริยาการสังเคราะห์ อาจจะทำให้เกิดปฏิกิริยาข้างเคียงที่ไม่ต้องการ (ปฏิกิริยาดั้งเดิมของเอนไซม์ที่ไม่ใช่ปฏิกิริยาย้อนกลับที่ต้องการ) และถ้าปริมาณน้ำน้อยเกินไป จะทำให้เอนไซม์สูญเสียประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยา ปริมาณน้ำที่พอเหมาะสำหรับแต่ละปฏิกิริยาย่อมแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น เอนไซม์ที่ใช้ พาหะที่ใช้ตรึง ตัวทำละลายอินทรีย์ และสารตั้งต้น ทั้งในแง่ปริมาณและความมีขั้วของสารเหล่านี้

2.พาหะตรึงและวิธีการตรึงเอนไซม์ (Yokozeki,1982)

เมื่อนำเอนไซม์มาใส่ในสิ่งแวดล้อมที่ไม่ใช่น้ำเช่นตัวทำละลายไม่มีขั้วแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลเอนไซม์ด้วยกันจะแข็งแรงกว่าแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลเอนไซม์กับโมเลกุลของ

ตัวทำละลายไม่มีขั้ว ทำให้เอนไซม์ไม่ละลายและเกาะกันเป็นก้อน เป็นผลให้การกระจายของเอนไซม์ไม่สม่ำเสมอ โมเลกุลของเอนไซม์ที่ผิวนอกของอนุภาคเอนไซม์ที่เกาะกันอยู่จะสัมผัสกับสารตั้งต้นและมีแอคติวิตีสูง อย่างไรก็ตามการถ่ายเทของสารตั้งต้นเข้าไปภายในอนุภาคของกลุ่มเอนไซม์จะมีข้อจำกัดที่ความเข้มข้นของสารตั้งต้น โดยทั่วไปเอนไซม์ที่อยู่ภายในอนุภาคดังกล่าวจะสัมผัสกับสารตั้งต้นความเข้มข้นต่ำ ๆ จึงไม่สามารถทำหน้าที่ได้เต็มที่ ปัญหานี้สามารถแก้ไขได้โดยการตรึงเอนไซม์ไว้บนพาหะตรึง (Support) ที่มีพื้นที่ผิวมาก เพื่อกระจายโมเลกุลเอนไซม์ให้สัมผัสกับตัวทำละลายได้ในพื้นที่กว้าง การตรึงเอนไซม์มีประโยชน์หลายประการคือ

-การตรึงทำให้เอนไซม์กระจายบนพื้นที่ผิวกว้าง ๆ ทำให้สามารถสัมผัสกับสารตั้งต้นความเข้มข้นสูง ๆ ได้

-โดยทั่วไปแรงปฏิกิริยาทางฟิสิกส์ระหว่างพาหะตรึงและเอนไซม์ช่วยทำให้เอนไซม์เสถียรได้

-สามารถเลือกสารที่ใช้เป็นพาหะตรึงให้สามารถอุ้มน้ำในระบบปฏิกิริยาได้ จึงเท่ากับเป็นการทำให้โมเลกุลน้ำซึ่งจำเป็นต่อการทำงานของเอนไซม์ได้เข้ามาอยู่ใกล้ ๆ เอนไซม์

-สามารถแยกเอนไซม์ที่ตรึงออกจากปฏิกิริยาได้ง่ายเพื่อประโยชน์ในการนำกลับมาใช้ใหม่

-สามารถใช้ในปฏิกรณ์แบบต่อเนื่องได้

การตรึงเอนไซม์เพื่อใช้ในตัวทำละลายอินทรีย์สามารถทำได้หลายวิธี วิธีที่นิยมใช้มากคือการดูดซับเอนไซม์ไว้บนพาหะตรึง ซึ่งสามารถเตรียมได้โดยการผสมสารละลายเอนไซม์ลงไปในพาหะตรึง (จะได้สารแขวนลอยข้น ๆ) แล้วดึงน้ำออกโดยการระเหยให้แห้งภายใต้การลดความดัน ทำให้เอนไซม์เกาะติดอยู่บนพาหะตรึง และเนื่องจากเอนไซม์ซึ่งมักจะเป็นโปรตีนมักจะไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ เอนไซม์ที่เตรียมได้เหล่านี้จึงสามารถใช้ได้โดยตรง ไม่ต้องกังวลเรื่องการหลุดของเอนไซม์จากพาหะตรึง

โดยทั่วไปแล้วพบว่าอัตราเร็วของการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่กระจายอยู่บนพาหะตรึงมักจะสูงกว่าเมื่อใช้ผงเอนไซม์โดยตรง การเลือกพาหะตรึงสำคัญสำหรับกำหนดแอคติวิตีของเอนไซม์ ปริมาณของเอนไซม์ที่จะถูกดูดซับขึ้นกับปัจจัยต่าง ๆ เช่น พื้นที่ผิวและขนาดของรูพรุนที่ใหญ่พอสำหรับการเกาะของเอนไซม์ที่นำมาตรึง การเลือกพาหะตรึงที่เหมาะสมจะทำให้การใช้เอนไซม์ตรึงที่เตรียมได้ในตัวทำละลายอินทรีย์มีประสิทธิภาพสูงสุด ลักษณะของพาหะตรึงที่ดี เช่น มีรูพรุนใหญ่ เพื่อว่าเอนไซม์จะถูกตรึงได้ลึกเข้าไปในอนุภาค และสารตั้งต้นสามารถแพร่เข้าไปหาเอนไซม์ได้ง่าย มีความเสถียรทางเคมี และฟิสิกส์ ใช้งานได้ยาวนาน มีความจุในการบรรจุเอนไซม์และราคาต่ำ เป็นต้น

ปริมาณเอนไซม์ที่ใส่ลงไปในพาหะตรึงก็มีผลต่อแอคติวิตีของเอนไซม์ด้วย ถ้าเอนไซม์ที่ใส่มีปริมาณต่ำจะให้เอนไซม์ตรึงที่เตรียมได้มีแอคติวิตี และความเสถียรต่ำ การสูญเสียแอคติวิตีอาจจะเกิดขึ้นระหว่างขั้นตอนการระเหยน้ำ มีการศึกษาพบว่าในบางครั้งการเติมสารตัวอื่น เช่น โปรตีน หรือ พอลิเอธิลีนไกคอลขนาดต่างๆ ลงไปในพาหะตรึงก่อนการตรึงเอนไซม์จะทำให้เอนไซม์มีแอคติวิตี เพิ่มขึ้น

3. ตัวทำละลายอินทรีย์

การเลือกตัวทำละลายที่ใช้ในปฏิกิริยามีความสำคัญมากต่อแอคติวิตีของเอนไซม์ ทั้งนี้เพราะตัวทำละลายมีผลต่อโครงสร้างสุทธิของเอนไซม์ เอนไซม์มักจะมีแอคติวิตี (สำหรับปฏิกิริยาย้อนกลับของปฏิกิริยาดั้งเดิม) และความเสถียรสูงในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วมากกว่าตัวทำละลายที่มีขั้ว เป็นการยากที่จะเปรียบเทียบแอคติวิตีของเอนไซม์ในตัวทำละลายอินทรีย์กับตัวกลางที่เป็นน้ำ เนื่องจากปฏิกิริยาที่เร่งไม่ใช่ปฏิกิริยาเดียวกัน ปฏิกิริยาที่เร่งโดยเอนไซม์ไลเปส (และไฮโดรเลสอื่นๆ) เช่นเอสเทอริฟิเคชัน และทรานเอสเทอริฟิเคชัน ศึกษาได้ยากมากในตัวกลางที่เป็นน้ำ เนื่องจากน้ำทำหน้าที่เป็นตัวทำปฏิกิริยาด้วย ที่สำคัญในสภาวะเช่นนี้ไลเปสจะเร่งการเกิดไฮโดรไลซีสมากกว่าการเกิดเอสเทอริฟิเคชัน สิ่งหนึ่งที่ต้องคำนึงถึงเมื่อใช้เอนไซม์ในตัวทำละลายอินทรีย์ ก็คือรูปร่างโมเลกุลของเอนไซม์จะต้องคงสภาพที่จะเร่งปฏิกิริยาได้ แอคติวิตีในการเร่งปฏิกิริยาย้อนกลับของเอนไซม์จะสูงในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว ในขณะที่แอคติวิตีของเอนไซม์สำหรับปฏิกิริยาดังกล่าวจะต่ำหรือไม่มีเลยในตัวทำละลายอินทรีย์ที่ชอบน้ำและรวมตัวกับน้ำ ตัวทำละลายอินทรีย์ที่เป็นไฮโดรโฟบิคมากๆ เช่น ไอโซออกเทนและเฮกเซนจะทำให้แอคติวิตีของเอนไซม์ไลเปสสูง

การแปรรูปน้ำมันปาล์มไปเป็นเนยโกโก้

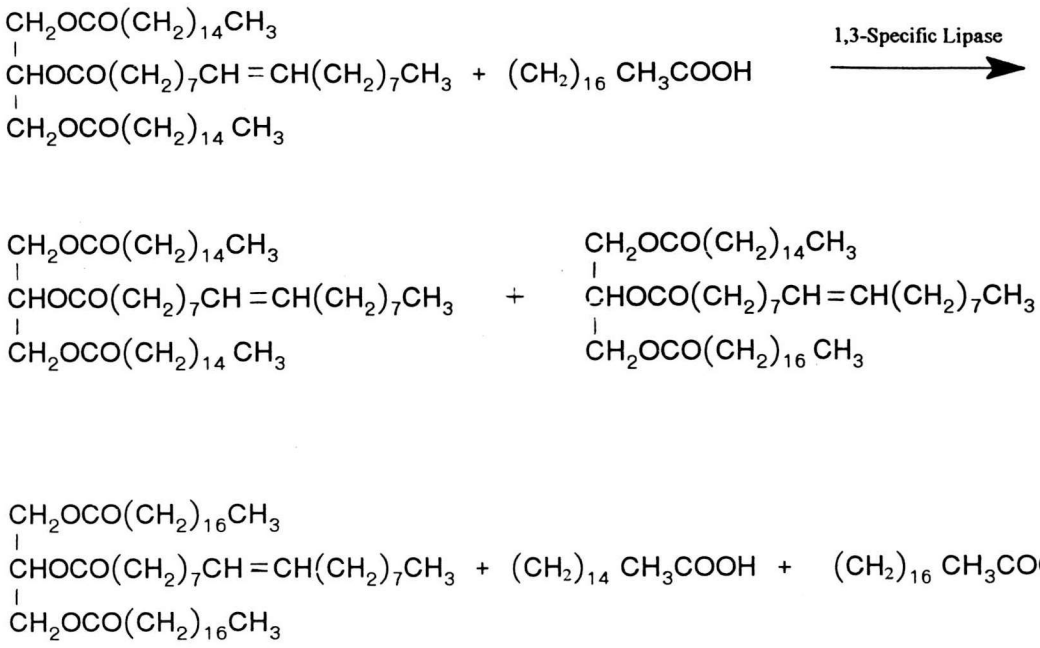
ถ้าพิจารณาสมบัติทางกายภาพของน้ำมัน จะพบว่าสมบัติทางกายภาพของน้ำมันมีความสัมพันธ์กับโครงสร้างทางเคมี เช่น ความยาวของสายกรดไขมันในโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์และจำนวนพันธะคู่ของกรดไขมัน ถ้าโครงสร้างเหล่านี้เกิดการเปลี่ยนแปลง สมบัติทางกายภาพของน้ำมันจะมีการเปลี่ยนแปลงไปด้วย การทำให้โครงสร้างโมเลกุลของน้ำมันเปลี่ยนไปจึงอาจทำได้โดยใช้วิธีทางเคมี เช่น ปฏิกิริยาไฮโดรจิเนชัน (Hydrogenation) ซึ่งเป็นการเติมไฮโดรเจนให้เข้าทำปฏิกิริยากับพันธะคู่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ได้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นไขมันที่มีความอิ่มตัวเพิ่มขึ้น ซึ่งให้สมบัติทางกายภาพที่เปลี่ยนแปลงไปคือมีจุดหลอมเหลวสูงขึ้น เป็นต้น

ดังได้กล่าวไปแล้วว่าเอนไซม์ไลเปสที่มีในธรรมชาติทำหน้าที่ไฮโดรไลซ์พันธะเอสเทอร์ในโมเลกุลไขมันหรือน้ำมัน แต่เอนไซม์ไลเปสก็ยังสามารถเร่งปฏิกิริยาแบบย้อนกลับ (ทรานเอสเทอริฟิเคชันแบบต่างๆ) ในตัวทำละลายอินทรีย์ โดยเอนไซม์ต้องการน้ำเพียงเล็กน้อยเพื่อรักษาโครงสร้างของเอนไซม์ไว้ ด้วยความสามารถในการชักนำให้มีการสร้างพันธะเอสเทอร์ในไขมันนี้เอง

ทำให้มีการนำไลเปสมาประยุกต์ใช้ในเชิงพาณิชย์เพื่อเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของน้ำมันหรือไขมัน

เนยโกโก้ มีช่วงอุณหภูมิของการหลอมเหลวค่อนข้างแคบก็เพราะโครงสร้างของไตรกลีเซอไรด์ ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของเนยโกโก้มีลักษณะเฉพาะคือ ที่ตำแหน่งที่ 1 และ 3 เป็นกรดไขมันอิ่มตัว เช่น กรดปาล์มมิติก และกรดสเตียริก ส่วนตำแหน่งที่ 2 เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัว เช่น กรดโอลิอิก ลักษณะพิเศษนี้เองส่งผลให้เนยโกโก้มีสมบัติทางกายภาพ ในด้านช่วงการหลอมเหลวเฉพาะตัว คือ หลอมเหลวที่อุณหภูมิร่างกายมนุษย์พอดีและมีช่วงการหลอมเหลวที่แคบทำให้เมื่อเข้าปากมันจะหลอมได้อย่างรวดเร็ว

เนื่องจากเนยโกโก้มีราคาแพงเมื่อเทียบกับไขมันชนิดอื่น จึงได้มีความพยายามแปรรูปน้ำมันพืชประเภทอื่นมาใช้แทนเนยโกโก้ ตัวอย่างเช่น การพยายามแปรรูปน้ำมันปาล์มให้เป็นเนยโกโก้ ไตรกลีเซอไรด์ในน้ำมันปาล์มส่วนใหญ่จะเป็นไตรกลีเซอไรด์ที่มีกรดปาล์มมิติก ที่ตำแหน่งที่ 1 และ 3 และกรดโอเลอิก ที่ตำแหน่งที่ 2 ของโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ การดัดแปลงน้ำมันปาล์มให้เป็นเนยโกโก้จึงอาจทำได้โดยใช้เอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนกรดไขมันบนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ ดังกล่าวมาแล้วว่าเอนไซม์นี้มีความจำเพาะในการเร่งปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชันที่ตำแหน่ง 1 และ 3 ของไตรกลีเซอไรด์ ดังนั้นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นโดยการใช้ไลเปสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาระหว่างสารตั้งต้น คือไตรกลีเซอไรด์ในน้ำมันปาล์ม (ซึ่งส่วนใหญ่คือ 1,3-Dipalmitoyl-2-Oleoyl Glycerol (POP)) กับกรดสเตียริก จะให้ผลิตภัณฑ์เป็น 1-Pamitoyl-2-Oleoyl-3-Stearoyl Glycerol (POSt) ซึ่งเป็นไตรกลีเซอไรด์หลักของเนยโกโก้ (รูปที่ 2.11)



รูปที่ 2.11 ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชัน ระหว่าง 1,3-Dipalmitoyl-2-Oleoyl Glycerol (POP) กับกรดสเตียริก (St) โดยใช้เอนไซม์1,3-Specific Lipase เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

การศึกษาที่เกี่ยวกับการแปรรูปน้ำมันไปเป็นเนยโกโก้

ปัจจุบันมีการศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับการผลิตเนยโกโก้เทียม (Cocoa Butter Substitutes) จากน้ำมันพืชต่างๆกันอย่างกว้างขวาง ในแถบประเทศยุโรป พบว่าเมื่อห้าปีก่อนการใช้เนยโกโก้เทียมจะมีประมาณ 10 % ของเนยโกโก้ (Sridhar และคณะ,1991) อย่างไรก็ตามตัวเลขปริมาณการใช้เนยโกโก้เทียมในปัจจุบันมีแนวโน้มสูงขึ้น

Chang, Abraham และJohn (1990) ได้เตรียมเนยโกโก้เทียมจากน้ำมันเมล็ดนุ่นไฮโดรจิเนท โดยใช้ไลเปสที่มีความจำเพาะต่อตำแหน่งที่1 และ3 ของโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ซึ่งก็คือไลเปส จากเชื้อ Mucor miehei ที่ตรึงบนไอออนเอ็กเชนเรซิน การทำปฏิกิริยาอินเทอร์เอสเทอริฟิเคชันที่อุณหภูมิ 70°ซ ซึ่งคณะผู้วิจัยกลุ่มนี้พบว่าระยะเวลาที่เหมาะสม ในการผลิตองค์ประกอบหลักของเนยโกโก้ (POSt) คือ 4 ชม. เนยโกโก้เทียมถูกแยกออกจากของผสมจากปฏิกิริยา โดยเติมอะซิโตนและกรองทันทีเพื่อนำเอนไซม์ตรึงออก นำของเหลวเก็บที่อุณหภูมิห้อง 1 คืน กรองตะกอนที่ได้ ด้วยกรรมวิธีนี้สามารถผลิตเนยโกโก้เทียมได้ 19 % ของน้ำหนักน้ำมันเริ่มต้น คณะวิจัยทำการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่ได้โดยวิธี HPLC ซึ่ง

สามารถแสดงให้เห็นว่า ไตรกลีเซอไรด์ที่ผลิตได้มีความคล้ายคลึงกับไตรกลีเซอไรด์ที่เป็นองค์ประกอบในเนยโกโก้ แต่มีปริมาณไดกลีเซอไรด์น้อยกว่า จุดหลอมเหลวของผลิตภัณฑ์ที่วัดโดยใช้เครื่อง DSC (Differential Scanning Calorimetry) ได้ 39° ซ ซึ่งใกล้เคียงกับจุดหลอมเหลวของเนยโกโก้ซึ่งวัดได้ 36° ซ

Sridhar, Lakshminarayana และ Kaimal (1991) ได้นำน้ำมันพืช 5 ชนิดของอินเดียมาทำปฏิกิริยาอินเทอร์เอสเทอริฟิเคชันกับกรดสเตียริกในสัดส่วนต่างๆ โดยผ่านสารตั้งต้นในคอลัมน์ที่มีเอนไซม์ไลเปสที่มีความจำเพาะต่อตำแหน่งที่ 1 และ 3 ของโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ จากเชื้อ Mucor miehei ตรึงบนเรซินแบบไอออนเอ็กเซน ผลิตภัณฑ์ที่ได้ทำให้บริสุทธิ์โดยเติม 95 % เอธานอล ทำการคนของผสม แล้วนำไปเก็บไว้ที่ 4° ซ เป็นเวลา 90 นาที จากนั้นกรองของผสมทันที นำตะกอนที่ได้มาผ่านคอลัมน์กรดซิลิซิก (Silicic Acid) เพื่อแยกไตรกลีเซอไรด์ ทำการวิเคราะห์กรดไขมันโดยใช้แก๊สลิควิดโครมาโทรกราฟี ตรวจวัดด้วย FID หาจุดหลอมเหลวโดยใช้เครื่อง DSC พบว่าสารตั้งต้นที่เป็นไขมันจากต้น Kokum ให้องค์ประกอบและจุดหลอมเหลวใกล้เคียงกับเนยโกโก้มากที่สุด

Chong, Hoh, และ Wang (1992) นำน้ำมันปาล์ม 1 กิโลกรัม รวมกับกรดสเตียริก 0.5 กิโลกรัม ทำปฏิกิริยาอินเทอร์เอสเทอริฟิเคชันโดยใช้เอนไซม์ไลเปสที่มีความจำเพาะต่อตำแหน่งที่ 1 และ 3 ของโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ซึ่งก็คือไลเปส จากเชื้อ Mucor miehei ซึ่งได้ตรึงไว้บนเรซินแบบแอนไอออนเอ็กเซน โดยใช้เอนไซม์ตรึง 10 % ต่อน้ำหนักน้ำมัน และน้ำ 1 % ต่อน้ำหนักน้ำมัน ทำการทดลองในถังปฏิกิริยาขนาด 5 ลิตร ควบคุมอุณหภูมิที่ 60° ซ กวนของผสมที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 ชม. จากนั้นทำการแยกกรดไขมันอิสระออกจากผลิตภัณฑ์ที่ได้โดยการกลั่นด้วยไอน้ำแบบลดความดัน นำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาทำการตกตะกอนโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซน และอะซิโตน จากการวิเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์โดยวิธี HPLC และการหาจุดหลอมเหลวโดยวิธี DSC (Differential Scanning Calorimetry) พบว่าได้ไตรกลีเซอไรด์ที่เป็นเนยโกโก้เทียมประมาณ 25 % ของน้ำหนักน้ำมันเริ่มต้น และจุดหลอมเหลวของเนยโกโก้เทียมที่ได้คือ 38°ซ ซึ่งใกล้เคียงกับเนยโกโก้จริง

Mojovic และคณะ (1993) นำน้ำมันปาล์ม 0.1 กรัม รวมกับกรดสเตียริก 0.7 กรัม ละลายในเฮกเซนที่อิ่มตัวด้วยน้ำ 4 มิลลิลิตร ทำปฏิกิริยาอินเทอร์เอสเทอริฟิเคชันโดยใช้เอนไซม์ไลเปสที่มีความจำเพาะต่อตำแหน่งที่ 1 และ 3 ของโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ซึ่งก็คือไลเปส จากเชื้อ Rhizopus arrhizus ที่ตรึงอยู่บนซีไลท์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ทำการแปรปริมาณเอนไซม์ตรึงและปริมาณเลซิทิน ทำปฏิกิริยาที่ 37° ซ เขย่าที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 ชม. พบว่าปริมาณเอนไซม์ตรึงที่ 120 IU และปริมาณเลซิทินที่ 5 % โดยน้ำหนักเอนไซม์ให้สัดส่วน POSt ในผลิตภัณฑ์สูงสุด

ค่าคงที่ต่าง ๆของน้ำมัน (Hamilton and. Hamilton1992)

ในอุตสาหกรรมไขมันและน้ำมัน จะมีค่าต่าง ๆ ซึ่งแสดงลักษณะเฉพาะในด้านต่าง ๆ ของไขมันและน้ำมัน ค่าต่าง ๆ ดังกล่าวจะเป็นดัชนีที่บอกลักษณะ และสมบัติต่าง ๆของไขมันและน้ำมัน เช่น บอกถึงความเก่าใหม่ของน้ำมัน บอกถึงความอิ่มตัวของกรดไขมันในโมเลกุล หรือบอกถึงความสะอาดของน้ำมัน เป็นต้น ดัชนีต่าง ๆเหล่านี้จึงเป็นมาตรฐานทั่วไป ที่ใช้ในการบ่งถึงสมบัติของน้ำมันในทางอุตสาหกรรมและทางการค้า ดัชนีต่าง ๆ ที่มีความสำคัญในทางอุตสาหกรรม จะกล่าวไว้โดยสังเขปดังนี้

1.ค่าความเป็นกรด (Acid Value, AV) คือดัชนีที่ใช้บอกปริมาณของกรดไขมันอิสระที่มีอยู่ในน้ำมัน โดยทั่วไปค่านี้รายงานในรูปของจำนวนมิลลิกรัมของโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ที่ทำปฏิกิริยาสปอนนิฟิเคชันพอดีกับกรดไขมันอิสระในน้ำมันหนัก 1 กรัม

2.ค่าไอโอดีน (Iodine Value, IV) คือค่าดัชนีที่ใช้บอกปริมาณของความไม่อิ่มตัวในน้ำมัน โดยทั่วไปค่านี้ รายงานในรูปของจำนวนกรัมของไอโอดีนที่ถูกดูดซับโดยน้ำมัน 100 กรัม วิธีการวิเคราะห์มีหลายวิธี แต่ที่นิยมใช้คือ วิธีของวิจส์ (Wijs) และฮานัส (Hanus) วิธีการของวิจส์อาศัยเทคนิคที่เติมไอโอดีนโมโนคลอไรด์ (Iodine monochloride) ในปริมาณที่มากเกินพอ แล้วอาศัยเทคนิคการไตเตรทแบบย้อนกลับ (Back Titration) ด้วยโซเดียมไธโอซัลเฟต (Sodium thiosulfate) วิธีการของฮานัสมีหลักการคล้ายคลึงกับวิธีการของวิจส์ แต่ใช้สารละลายโมโนโบรไมด์ (Monobromide solution) แทนไอโอดีนโมโนคลอไรด์

3. ค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide Value, PV) คือดัชนีที่ใช้บอกถึงปริมาณของออกซิเจนที่ว่องไวต่อปฏิกิริยาเคมีที่มีอยู่ในน้ำมัน และบอกถึงความเหม็นหืนของน้ำมัน โดยทั่วไปค่านี้รายงานในรูปของมิลลิกรัมสมมูลย์ (Milliequivalent) ของออกซิเจนที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากน้ำมัน 100 กรัม

4. ค่าสปอนนิฟิเคชัน (Saponification Value) คือดัชนีที่ใช้บอกปริมาณของกรดไขมันที่ต่ออยู่กับโมเลกุลของกลีเซอรอล (พันธะเอสเทอร์) เป็นสายไตรกลีเซอไรด์ และยังบ่งรวมไปถึงกรดไขมันอิสระในน้ำมันด้วย โดยทั่วไปค่านี้รายงานอยู่ในรูปของมิลลิกรัมของโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ที่ทำปฏิกิริยาสปอนนิฟิเคชันอย่างสมบูรณ์กับน้ำมัน 1 กรัม

5. ค่าอันสปอนนิไฟน์ (Unsponifiable Matter) คือดัชนีที่ใช้บอกถึงความสะอาดของน้ำมันในแง่ของสารที่ไม่ใช่กรดไขมันหรือสารที่ไม่ทำปฏิกิริยาสปอนนิฟิเคชันกับด่าง โดยทั่วไปค่านี้รายงานในรูปของเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักของสารที่ไม่เกิดปฏิกิริยาสปอนนิฟิเคชัน

การวิเคราะห์กรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบโดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี (Hamilton,1992)

แก๊สโครมาโทกราฟีเป็นที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์กรดไขมันและสารที่กลายเป็นไอได้ดี โดยจะต้องเปลี่ยนไขมันให้อยู่ในรูปของอนุพันธ์ที่ระเหยได้ง่าย เพื่อใช้สำหรับวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี คอลัมน์ที่นิยมใช้เป็นแคปปิลารี่(Capillary Column) เพราะมีความสามารถในการแยกสารผสมออกจากกันได้ดีกว่าแพคคอลัมน์ (Pack Column) คอลัมน์แคปปิลารี่ที่นิยมใช้แยกกรดไขมันจะเป็นคอลัมน์ที่มีวัฏภาคคงที่เป็นพอลิเอทธิลีนไกคอล โดยจะแยกกรดไขมันตามจำนวนคาร์บอน (Carbon Number) โดยคาร์บอนน้อยจะถูกแยกออกก่อน และแยกตามความไม่อิ่มตัวในหมู่อัลคิล (Degree of Unsaturation in the Alkyl Chain) ถ้าจำนวนคาร์บอนเท่ากันพวกอิ่มตัวจะถูกแยกออกก่อนพวกไม่อิ่มตัว เทคนิคนี้ใช้ได้ดีในการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารผสม โดยองค์ประกอบจะต้องกลายเป็นไอได้ดีที่อุณหภูมิต่ำกว่า 450° ซ โดยทั่วไปในการวิเคราะห์ชนิดของกรดไขมันโดยวิธีนี้จะต้องมีการทำปฏิกิริยาเคมีเพื่อเปลี่ยนให้กรดไขมันอยู่ในรูปของเมธิลเอสเทอร์เสียก่อน ทั้งนี้เพราะกรดไขมันเป็นสารที่มีขั้ว (ส่วนของหมู่คาร์บอกซิลิก) หรือไม่ก็มีน้ำหนักโมเลกุลสูงเกินกว่าจะทำการวิเคราะห์โดยวิธี GC ในงานวิจัยนี้เตรียมเมธิลเอสเทอร์โดยใช้เมทธานอลในโทลูอินเป็นตัวทำปฏิกิริยา เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี GC เมธิลเอสเทอร์จะถูกเปลี่ยนให้อยู่ในสภาวะแก๊สที่ส่วนนำเข้าสารตัวอย่าง (Injector) แล้ว สารเหล่านี้จะถูกพาไปยังคอลัมน์ที่บรรจุด้วยวัฏภาคคงที่ (Stationary Phase) โดยอาศัยการพาไปของวัฏภาคเคลื่อนที่ (Mobile Phase) สารผสมเหล่านี้จะถูกแยกออกจากกัน และถูกตรวจวัดด้วยเครื่องวัด (Detector) ในการทดลองนี้ใช้ FID (Flame Ionization Detector) เพราะเป็นเครื่องตรวจวัดที่นิยมใช้กับการแยกไขมัน มีความไว (Sensitivity) ในการตรวจวัดและใช้ได้กับเครื่องทุกรุ่น

การวิเคราะห์ไขมันที่เป็นองค์ประกอบโดยใช้เทคนิคไฮเพอร์ฟอร์มานซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี (Hamilton, 1992)

ไฮเพอร์ฟอร์มานซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี เป็นเทคนิคหนึ่งที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์ไขมัน โดยการวิเคราะห์ต้องเลือกวัฏภาคเคลื่อนที่ (Mobile Phase) ให้เหมาะสมกับสารที่จะวิเคราะห์ เพราะวัฏภาคเคลื่อนที่จะมีผลต่อการแยกสารเป็นอย่างมาก วัฏภาคเคลื่อนที่ที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์ไขมัน ได้แก่ เฮกเซน คลอโรฟอร์ม อีเธอร์ เมทธานอล โทลูอิน ในขณะที่คอลัมน์ที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์ไขมันคือ คอลัมน์ซิลิกา C-18 ไขมันที่นำมาวิเคราะห์ส่วนใหญ่ยังไม่บริสุทธ์ เมื่อจะนำมาฉีดเข้าคอลัมน์จึงควรมี "Guard" คอลัมน์ เพื่อกรองสิ่งสกปรกก่อนเข้าคอลัมน์ ไขมันจะเกิดการแยกตามโครงสร้างของไตรกลีเซอไรด์ ที่ต่างกันและถูกตรวจวัดด้วยเครื่องตรวจวัด ในการทดลองนี้ใช้เครื่องตรวจวัดแบบ Refractive Index

เพราะสามารถตอบสนองต่อโมเลกุลซึ่งมีความแตกต่างในการหักเหของแสงระหว่างสารละลายตัวพาและสารละลายตัวพาที่มีตัวอย่างละลายอยู่ RI จะนิยมใช้สำหรับวิเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันและไขมันของพืชและสัตว์