ว.วิทย. มข. 42(1) 53-70 (2557) KKU Sci. J. 42(1) 53-70 (2014)

น้ำมันไดเอซิลกลีเซอรอล: คุณสมบัติและการผลิต

Diacylglycerol Oil: Property and Production

ศศิกานต์ กู้พงษ์ศักดิ์[1*] *และ ปัทมา ฤาชาฤทธิ์*[1]

บทคัดย่อ

ปัจจุบันมีการศึกษาสมบัติทางโภชนาการและผลจากการบริโภคน้ำมันไดเอซิลกลีเซอรอล ที่มีปริมาณไดเอซิลกลีเซอรอล (DAG) อย่างน้อย 80% โดยน้ำหนัก พบว่า น้ำมันไดเอซิลกลีเซอรอลที่มี 1,3-DAG เป็นองค์ประกอบหลัก มีประโยชน์ต่อสุขภาพเมื่อเทียบกับน้ำมันบริโภคทั่วไป จากการศึกษาในสัตว์และคน เมื่อบริโภคน้ำมันไดเอซิลกลีเซอรอลแสดงให้เห็นถึงการลดการสะสมของไตรกลีเซอร์ไรด์ของไขมันในร่างกายและตับ การผลิตน้ำมันไดเอซิลกลีเซอรอล สามารถจำแนกตามการใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาและชนิดของปฏิกิริยา ซึ่งการใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาค่อนข้างเหมาะสมต่อการผลิตมากกว่าการใช้ด่างหรือสารอนินทรีย์ต่าง ๆ ที่อุณหภูมิสูง เนื่องจากใช้สภาวะที่ไม่รุนแรง ให้ปริมาณผลผลิตและความบริสุทธิ์ของผลิตภัณฑ์ตามที่ต้องการ ปฏิกิริยาสำคัญที่ใช้ในการผลิตน้ำมันไดเอซิลกลีเซอรอลส่วนใหญ่มี 3 ปฏิกิริยา ได้แก่ ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่น ปฏิกิริยากลีเซอโรไลซิสและการใช้ร่วมกันระหว่างปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสบางส่วนของไขมันและน้ำมันตามด้วยปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่น ทั้งนี้ขั้นตอนการแยกและการทำให้บริสุทธิ์ภายหลังสิ้นสุดปฏิกิริยาการสังเคราะห์ DAG เป็นขั้นตอนสำคัญในการที่จะช่วยเพิ่มปริมาณผลผลิตอีกด้วย

[1]ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 254 ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

*Corresponding Author, E-mail: Sasikan.K@chula.ac.th

ABSTRACT

Recent studies on the nutritional properties and dietary effects of DAG oils, which contain at least 80 wt% DAG, have demonstrated some beneficial effects. Studies on animal and human have revealed a decrease in accumulation of TAG in body fat and liver after intake of DAG oil. The production of DAG oils can be classified by using different catalyst and reaction types. Enzymatic-catalyzed reaction provides several advantages over chemical production using base or inorganic catalysts at high temperature. A mild condition can produce desired high-DAG yield and purity. The most important method for production of DAG involves three reactions: esterification, glycerolysis, and partial hydrolysis followed by esterification. In addition, the separation and purification processes can help to increase DAG yield after the DAG-synthesis reaction.

คำสำคัญ: น้ำมันไดเอซิลกลีเซอรอล การสังเคราะห์ไดเอซิลกลีเซอรอล 1,3 ไดเอซิลกลีเซอรอล

Keywords: Diacylglycerol oil, Diacylglycerol synthesis, 1,3 Diacylglycerol

บทนำ

จากแนวโน้มความสนใจในเรื่องสุขภาพและโภชนาการของคนในปัจจุบันที่เพิ่มขึ้น ทำให้อุตสาหกรรมน้ำมันมีการพัฒนาหรือดัดแปรผลิตภัณฑ์ไขมันหรือน้ำมันเพื่อสุขภาพเพิ่มขึ้นด้วย เนื่องจากไขมันและน้ำมันไม่เพียงเป็นแหล่งของสารอาหารที่สำคัญเท่านั้น ยังให้กลิ่นรสแก่อาหาร แต่ถ้าบริโภคไขมันหรือน้ำมันมากเกินความต้องการ ก็จะส่งผลเสียต่อสุขภาพได้ เช่น อาจทำให้เกิดโรคอ้วน เบาหวาน ความดันสูง ไขมันในเลือดสูง หลอดเลือดหัวใจตีบตัน เป็นต้น

เมื่อไม่นานนี้ มีงานวิจัยที่ศึกษาถึงสมบัติทางโภชนาการและผลจากการบริโภคน้ำมันไดเอซิลกลีเซอรอล (DAG) พบว่า น้ำมัน DAG ที่มี 1,3-DAG เป็นองค์ประกอบหลักนั้นมีประโยชน์ต่อสุขภาพเมื่อเทียบกับน้ำมันบริโภคทั่วไปในท้องตลาดที่มีไตรเอซิลกลีเซอรอล (TAG) เป็นองค์ประกอบหลัก เช่น ในประเทศญี่ปุ่นมีการใช้น้ำมัน DAG เป็นน้ำมันประกอบอาหารตั้งแต่ปี ค.ศ.1999 ในฐานะเป็น “Food for Specific Health Use” ซึ่งรับรองโดย Ministry of Health and Welfare โดยพบว่าสามารถลดระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดและช่วยลดการสะสมไขมันในร่างกายได้ โดยน้ำมัน DAG ที่ใช้ประกอบอาหารที่ขายในประเทศญี่ปุ่นใช้ชื่อว่า “Healthy Econa Cooking Oil” ส่วนในสหรัฐอเมริกาใช้ชื่อว่า “Enova Oil” (Lo et al., 2008) น้ำมันที่มี DAG สูงนี้ ต้องมีปริมาณ DAG อย่างน้อย 80% จึงจะถือว่าเป็นน้ำมันประกอบอาหารเพื่อสุขภาพ (functional cooking oil) ได้ (Lo et al., 2004)

ทั้งนี้งานวิจัยจำนวนมากที่ได้ศึกษาทั้งในคนและสัตว์ทดลองพบว่า การบริโภค DAG นั้นมีประโยชน์ต่อสุขภาพ เช่น ช่วยในการลดไขมันสะสมในร่างกาย ซึ่งผลดังกล่าว ไม่ได้เกิดเนื่องจาก DAG มีการดูดซึมในร่างกายที่ไม่ดี หรือมีปริมาณพลังงานน้อยกว่า TAG แต่จากการศึกษาค่าพลังงานและสัมประสิทธิ์การดูดซึมของน้ำมัน DAG เปรียบเทียบกับน้ำมัน TAG พบว่า ค่าการเผาไหม้ความร้อนของน้ำมันที่มี DAG 87% มีค่า

เท่ากับ 38.9 kJ/g (9.29 kcal/g) และน้ำมัน TAG เท่ากับ 39.6 kJ/g (9.46 kcal/g) เมื่อมีองค์ประกอบของกรดไขมันที่เหมือนกัน จะเห็นได้ว่าความแตกต่างของค่าพลังงานในการบริโภคของน้ำมันทั้งสองนั้นมีน้อยมาก ยิ่งกว่านั้นสัมประสิทธิ์การดูดซึมของน้ำมัน DAG และ TAG ที่ศึกษาในหนูยังมีค่าเท่ากัน (96.3%) อีกด้วย (Matsuo, 2004) ดังนั้นสมมติฐานต่าง ๆ ที่เกี่ยวกับผลของการบริโภคน้ำมัน DAG ที่มีต่อไขมันสะสมในร่างกายจึงมุ่งเน้นไปยังอิทธิพลของการใช้พลังงาน (energy expenditures) หรือการควบคุมอาหาร (regulation of food intake) หรือทั้งสองปัจจัยร่วมกัน โดยกลไกที่แท้จริงยังไม่ทราบแน่ชัด ซึ่งงานวิจัยในปัจจุบันพยายามค้นหาคำตอบเพื่ออธิบายของกลไกที่เกี่ยวข้องดังกล่าว

การศึกษาในคนและสัตว์ชี้ให้เห็นว่าการบริโภคน้ำมัน 1,3-DAG จะให้ผลดีด้านกายภาพของร่างกาย เช่น ลดการสะสมของไขมันในร่างกาย และลดระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดได้ ซึ่งเป็นผลจากการลดการสังเคราะห์ไคโลไมครอน แต่ไปเพิ่มการเติมออกซิเจนของไขมัน (Rudkowska et al., 2005)

ตัวอย่างเช่น งานวิจัยของ Tomonobu et al. (2006) ที่ศึกษาผลของการบริโภคน้ำมันที่มี DAG เป็นองค์ประกอบหลักในอาหารมื้อหลัก (typical meal) ต่อการเปลี่ยนแปลงคอเลสเตอรอลชนิด remnant-like particle cholesterol (RLP-C) เปรียบเทียบกับน้ำมัน TAG ทำการศึกษาในคนญี่ปุ่นที่มีสุขภาพดี โดยให้ผู้ทดสอบบริโภคน้ำมัน DAG หรือ TAG จำนวน 10 กรัม พบว่าหลังบริโภคอาหารที่มี DAG สูง สามารถลด RLP-C ลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับการบริโภคอาหารที่มี TAG สูง

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาในคนญี่ปุ่นที่ป่วยเป็นโรคเบาหวานแบบที่ 2 (type 2 diabetes) ที่มีค่า fasting serum TAG มากกว่า 150 mg/dL โดยให้ผู้ทดสอบบริโภคน้ำมัน DAG 10 กรัม/วัน เทียบกับน้ำมันบริโภคทั่วไป เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าสามารถลด fasting serum TAG ได้อย่างมีนัยสำคัญ และยังสามารถลดฮีโมโกลบินไกลโคซิลเลตในผู้ป่วยเบาหวานที่บริโภคน้ำมัน DAG ซึ่งช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้ด้วย (Flickinger and Matsuo, 2003) ทั้งนี้ยังมีงานวิจัยที่ได้ศึกษาผลของการบริโภค DAG ในระยะยาวที่มีต่อส่วนประกอบต่าง ๆ ของร่างกาย (Yanai et al., 2007) พบว่า การบริโภค DAG ช่วยลดไขมันในร่างกายโดยเฉพาะไขมันประเภท visceral fat และลดน้ำหนักในคนที่มีน้ำหนักตัวมากเกินไป (overweight or obese men and women) ตัวอย่างเช่น การทดลองในผู้ที่มีน้ำหนักตัวมากเกินไปจำนวน 131 ราย โดยผู้ชายต้องมีรอบเอวมากกว่าหรือเท่ากับ 90 เซนติเมตร ส่วนผู้หญิงมีรอบเอวมากกว่าหรือเท่ากับ 87 เซนติเมตร ให้บริโภคอาหารลดพลังงาน (2,100 - 3,350 กิโลจูลต่อวัน) นาน 24 สัปดาห์ อาหารดังกล่าว ได้แก่ คุกกี้ มัฟฟิน และแครกเกอร์ที่มีน้ำมัน DAG หรือน้ำมัน TAG เป็นองค์ประกอบโดยมีองค์ประกอบของกรดไขมันที่เหมือนกัน เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่า น้ำหนักตัวและไขมันสะสมของผู้บริโภคอาหารที่มี DAG ลดลงอย่างมีนัยสำคัญมากกว่าผู้บริโภคอาหารที่มี TAG โดยน้ำหนักตัวเฉลี่ยของผู้บริโภคอาหารที่มี DAG และ TAG ลดลง 3.6% และ 2.5% ตามลำดับ ทั้งนี้ผู้บริโภคอาหารที่มี DAG มีมวลไขมัน (fat mass) ลดลง 8.3% ในขณะที่ผู้บริโภคอาหารที่มี TAG มีมวลไขมันลดลง 5.6% โดยความแตกต่างของผลต่อสุขภาพระหว่าง DAG และ TAG เชื่อว่าเป็นผลมาจากความแตกต่างของกลไกเมทาบอลิซึม (metabolic pathway) หลังจากการดูดซึมของเซลล์เยื่อบุผิวที่กระเพาะอาหารและลำไส้ (Matsuo, 2004)

ด้านความปลอดภัย ได้มีงานวิจัยพบว่า DAG ไม่มีผลต่อความเป็นพิษของระบบร่างกาย ทำให้ไม่มี

ความเสี่ยงในการบริโภคอาหารที่มีน้ำมัน DAG สูงเป็นส่วนประกอบ (Yanai et al., 2007; Morita, 2008) นอกจากนี้ DAG ยังได้รับการรับรองให้เป็น GRAS โดย USFDA ด้วย (Matsuo, 2004)

สำหรับการผลิต DAG นั้น สามารถใช้วิธีทางเคมีที่เป็นแบบดั้งเดิม โดยใช้ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่นหรือปฏิกิริยากลีเซอโรไลซิสที่ต้องใช้อุณหภูมิสูง (ประมาณ 220-260°C) และใช้ด่างหรือสารอนินทรีย์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ในขณะที่การใช้เอนไซม์ในปฏิกิริยาเดียวกันนี้จะเหมาะสมกว่าเนื่องจากใช้สภาวะที่ไม่ค่อยรุนแรง วิธีในการสังเคราะห์ DAG โดยใช้เอนไซม์สามารถสังเคราะห์ได้จาก 3 ปฏิกิริยาหลักคือ 1) ปฏิกิริยาไฮโดไลซิสบางส่วนของ TAG กับน้ำ 2) ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่นของกลีเซอรอลกับกรดไขมันทั้งในระบบที่ใช้และไม่ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ และ 3) ปฏิกิริยากลีเซอโรไลซิสของน้ำมันหรือไขมันกับกลีเซอรอล เอนไซม์ไลเปสที่ใช้ยังสามารถใช้แบบที่มีและไม่มีความจำเพาะต่อตำแหน่ง 1,3 นอกจากนี้ยังมีวิธีการผลิตที่เกี่ยวข้องกับการใช้สองปฏิกิริยาร่วมกัน เช่นการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสบางส่วนแล้วตามด้วยปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่น หลังจากนั้นอาจทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี short path distillation ซึ่งเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการเพิ่มผลผลิตและความบริสุทธิ์ของ DAG

เนื้อความ

ไดเอซิลกลีเซอรอล (Diacylglycerol; DAG)

ไดเอซิลกลีเซอรอล (DAG) เป็นเอสเทอร์ของกลีเซอรอลที่มีหมู่ไฮดรอกซิล 2 กลุ่มที่ถูกเอสเทอริไฟด์ด้วยกรดไขมัน DAG เป็นองค์ประกอบที่พบได้น้อยในธรรมชาติของน้ำมันและไขมัน โดยทั่วไปไขมันหรือน้ำมันบริโภคชนิดต่าง ๆ มีปริมาณ DAG ต่ำกว่า 10% (Lo et al., 2008) โดยปริมาณ DAG ในน้ำมันบริโภคชนิดต่าง ๆ แสดงในตาราง 1

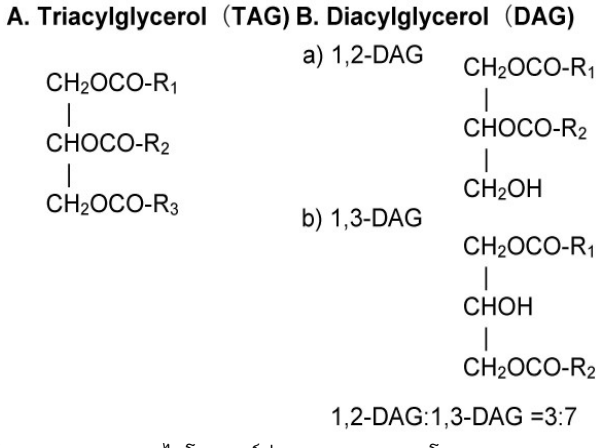
โครงสร้างของ DAG มี 2 ไอโซเมอร์ (isomer) คือ 1,2-DAG (หรือ 2,3) และ1,3–DAG ดังรูปที่ 1 ทั้งนี้ไอโซเมอร์ดังกล่าวจะเกิดการย้ายกลุ่มของกรดไขมันเพื่อให้เข้าสู่ภาวะสมดุลที่อัตราส่วนของ 1,2-DAG : 1,3–DAG เป็น 3:7 เมื่อมีกรด ด่าง หรือความร้อนเกิดขึ้นในระบบ (Lo et al., 2008) สำหรับน้ำมันที่ผ่านกระบวนการผลิตทางการค้า ถ้าเป็นน้ำมันใหม่มีสัดส่วนของ 1,2-DAG ต่อ DAG ทั้งหมดสูง ส่วนสัดส่วนของ 1,3–DAG จะเพิ่มขึ้นเมื่อวัตถุดิบผ่านการเก็บ (Watanabe et al., 2003) การแช่แข็งและการทำลายจากเชื้อราและแมลงเป็นต้น (Shimizu et al., 2008)

สมบัติทางเคมีกายภาพ เช่น จุดหลอมเหลว จุดเกิดควัน และรูปร่าง (polymorphic forms) ของ DAG นั้นจะต่างกับ TAG โดย 1,3–DAG มีความคงตัวต่อความร้อน (thermodynamic stable) ได้ดีกว่า 1,2-DAG เนื่องจากผลของการจัดเรียงของโมเลกุลที่ต่างกัน (steric effect) โดยทั่วไป 1,3–DAG มีจุดหลอมเหลวมากกว่า TAG ประมาณ 10 °C และ 1,2-DAG มีจุดหลอมเหลวน้อยกว่า TAG ประมาณ 10 °C เมื่อมีองค์ประกอบของกรดไขมันที่เหมือนกัน โดยความแตกต่างของจุดหลอมเหลวนี้มาจากความแข็งแรงของพันธะไฮโดรเจนของหมู่ไฮดรอกซิลและการจัดเรียงสายกรดไขมัน (fatty acid chain arrangement) ของ DAG ไอโซเมอร์ โดย1,3–DAG มีการจัดเรียงสายกรดไขมันแบบ V shape ในขณะที่ 1,2-DAG เป็นแบบ hairpin shape

ตารางที่ 1 ปริมาณไดเอซิลกลีเซอรอลในน้ำมันบริโภคชนิดต่าง ๆ

กลีเซอรอล	MAG	DAG	TAG	Other	กลีเซอรอล	MAG	DAG	TAG	Other
Soybean	-	1.0	97.9	1.1	Safflower	-	2.1	96.0	1.9
Cotton seed	0.2	9.5	87.0	3.3	Olive	0.2	5.5	93.3	2.3
Palm	-	5.8	93.1	1.1	Rapeseed	0.1	0.8	96.8	2.3
Corn	-	2.8	95.8	1.4	Lard	-	1.3	97.9	0.8

ที่มา: Flickinger and Matsuo (2003)

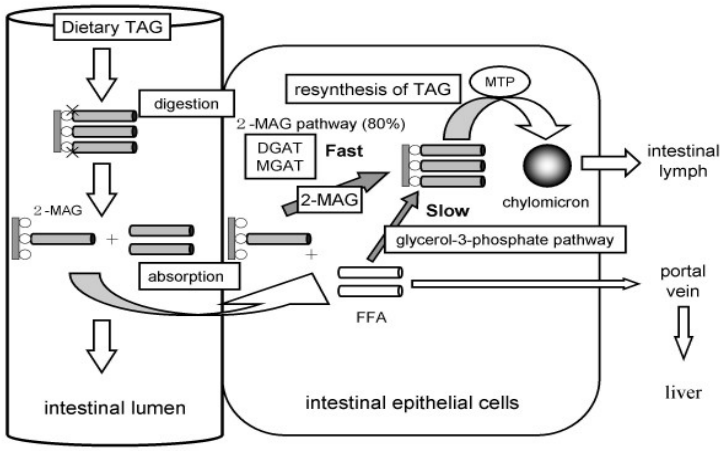


รูปที่ 1 โครงสร้างของ TAG และไอโซเมอร์ต่าง ๆ ของ DAG โดย R_1, R_2 และ R_3 คือกรดไขมัน

ที่มา: ดัดแปลงจาก Yanai et al. (2012)

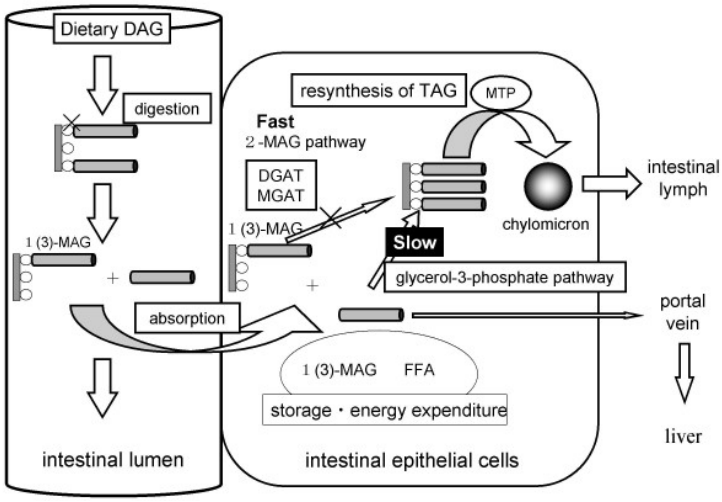
กลไกเมทาบอลิซึมของไดเอซิลกลีเซอรอล

ปกติน้ำมัน TAG จะถูกไฮโดรไลซ์โดยเอนไซม์ไลเปสในลำไส้เล็ก ได้เป็นกรดไขมันอิสระ (FFA) และ 2-monoacylglycerol (2-MAG) แล้วถูกดูดซึมโดยเซลล์ลำไส้ ซึ่งเซลล์ลำไส้จะมีการสังเคราะห์ TAG ขึ้นมาใหม่ได้ จาก 2-MAG กับ กรดไขมันอิสระ 2 ตัว (2 FFA) ผ่านทางกลไก 2-MAG (2-MAG pathway) โดยเอนไซม์ mono- aylglycerol acyltransferase (MGAT) และ diaylglycerolacyl transferase (DGAT) TAG ที่ได้จะรวมตัวกับไคโลไมครอนและถูกปล่อยในท่อน้ำเหลืองของลำไส้เข้าสู่กระแสเลือด ดังแสดงในรูปที่ 2 ส่วนกลไกเมทาบอลิซึมของน้ำมัน DAG ในเซลล์ลำไส้จะต่างจากน้ำมัน TAG โดย 1,3-DAG จะถูกไฮโดรไลซ์ขั้นต้นเป็น 1-MAG จากนั้นเปลี่ยนเป็นกลีเซอรอลและกรดไขมันอิสระที่สามารถถูกดูดซึมเข้าในเซลล์ลำไส้ โดยไม่สามารถสังเคราะห์ TAG ผ่านทางกลไก 2-MAG pathway ในเซลล์ลำไส้ได้ เนื่องจาก 1-MAG ไม่เป็นสับสเตรทของทั้ง DGAT และ MGAT แต่ TAG สามารถสังเคราะห์ผ่านทางกลไก glycerol-3-phosphate ได้ ซึ่งมีผลน้อยกว่ากลไก 2-MAG pathway ดังแสดงในรูปที่ 3 ส่วน 1,2-DAG นั้นสามารถถูกไฮโดรไลซ์ได้เป็น 2-MAG จึงทำให้ TAG สามารถสังเคราะห์ผ่านทางกลไก 2-MAG pathway ได้ (Yanai et al., 2007) ดังนั้นความแตกต่างของกลไกเมทาบอลิซึมนี้จึงส่งผลต่อสุขภาพที่แตกต่างกันของ DAG และ TAG ดังที่กล่าวไว้แล้ว



รูปที่ 2 กลไกเมทาบอลิซึมในการย่อยและการดูดซึมของ TAG

ที่มา: Yanai et al. (2007)



รูปที่ 3 กลไกเมทาบอลิซึมในการย่อยและการดูดซึมของ DAG

ที่มา: Yanai et al. (2007)

น้ำมันไดเอซิลกลีเซอรอล (Diacylglycerol oil; DAG oil)

หมายถึง น้ำมันบริโภคที่มีองค์ประกอบของ DAG มากกว่าหรือเท่ากับ 80% น้ำหนัก/น้ำหนัก โดยมีสมบัติด้านรสชาติและการใช้ประโยชน์ที่เหมือนกับน้ำมันบริโภคทั่วไปที่มีองค์ประกอบของ TAG สูง (Yanai et al., 2007)

สมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำมันไดเอซิลกลีเซอรอล

น้ำมัน DAG ควรมีลักษณะสีขาวขุ่น (opaque white) ถึงสีเหลืองซีด (pale yellow) เป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้อง ปราศจากสารอื่น ๆ โดยสามารถผลิตผ่านปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่นที่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่งของกรดไขมันที่ได้จากธรรมชาติ หรือจากน้ำมันบริโภคที่ได้จากพืช เช่น ถั่วเหลือง เรพสีด ข้าวโพด เมล็ดทานตะวัน เมล็ดฝ้าย เมล็ดดอกคำฝอย ถั่วลิสง ปาล์ม มะพร้าวหรือมะกอก เป็นต้น โดยมีส่วนประกอบหลักเป็น DAG ที่มีกรดโอเลอิก กรด

ลิโนเลอิก กรดลิโนเลนิก เป็นกรดไขมันหลัก น้ำมัน DAG ละลายได้ในเอทานอลไอโซโพรพานอล อะซิโตน และเฮกเซน

ข้อกำหนดของน้ำมันไดเอซิลกลีเซอรอล

น้ำมันไดเอซิลกลีเซอรอลต้องมี DAG ไม่น้อยกว่า 80% TAG ไม่เกิน 18% และ MAG ไม่เกิน 2% น้ำหนัก/น้ำหนัก โดยมีองค์ประกอบของกรดไขมันและค่ากำหนดมาตรฐานของน้ำมันดังแสดงในตารางที่ 2 และ 3 ตามลำดับ

ประโยชน์ของไดเอซิลกลีเซอรอล

เนื่องจากโมเลกุลของ MAG และ DAG มีหมู่ไฮดรอกซิลอิสระเหลืออยู่ ทำให้สามารถละลายในน้ำ (hydrophilic) ได้บางส่วน และมีส่วนไฮโดรคาร์บอนที่ละลายได้ในไขมัน (hydrophobic) เป็นผลให้ MAG และ DAG มีส่วนที่ละลายได้ทั้งในน้ำและในน้ำมัน จึงมีสมบัติเป็นอิมัลซิไฟเออร์ที่ดี ทำหน้าที่ช่วยในกระบวนการย่อยและดูดซึมไขมันและน้ำมันที่ลำไส้เล็ก และใช้เติมลงในเนยขาว (shortening) และผลิตภัณฑ์อาหารที่ต้องการให้เป็นอิมัลชั่นที่มีความคงตัว

MAG และ DAG ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมหลาย ๆ ด้าน เช่น ใช้เป็นสารเติมแต่งสำหรับน้ำมันและไขมันในอุตสาหกรรมอาหาร หรือนำ MAG และ DAG ของกรดไขมันชนิดต่าง ๆ ใช้เป็นอิมัลซิไฟเออร์และสารให้ความคงตัว (E.E.C. code: E471) ในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น ขนมปัง ไอศกรีม และมาการีน (Plou et al., 1996) หรือใช้เป็นวัตถุหลักในการผลิตเครื่องสำอางค์และยา (Lai et al., 2008)

การผลิตไดเอซิลกลีเซอรอล

การผลิต DAG สามารถแบ่งตามการใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา และปฏิกิริยาที่ใช้ในการผลิต โดยเมื่อแบ่งตามการใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา สามารถแบ่งได้ 2 วิธี คือ การใช้เอนไซม์ ในที่นี้หมายถึงการใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา และการใช้วิธีทางเคมี โดยการใช้ด่างหรือสารอนินทรีย์ต่าง ๆ เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

ตารางที่ 2 องค์ประกอบกรดไขมันของน้ำมันไดเอซิลกลีเซอรอล

กรดไขมัน	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:1
น้ำหนัก (%)	$\leq$10	$\leq$10	20-65	15-65	$\leq$15	$\leq$0.5

ที่มา: USP Food Chemicals Codex (2010)

ตารางที่ 3 ค่ากำหนดมาตรฐานของน้ำมันไดเอซิลกลีเซอรอล

ข้อกำหนด	**ค่ากำหนดมาตรฐานของน้ำมันไดเอซิลกลีเซอรอล**	**ข้อกำหนด**	**ค่ากำหนดมาตรฐานของน้ำมันไดเอซิลกลีเซอรอล**
Acid value	ไม่เกิน 0.5	Peroxide value	ไม่เกิน 2 meq/kg
Color (AOCS Wesson)	ไม่เกิน 5 yellow/ 0.7 red	Residue on Ignition	ไม่เกิน 0.1%
Free Fatty Acids (as oleic acid)	ไม่เกิน 0.2%	Saponification value	ระหว่าง 180-185
Free Glycerin	ไม่เกิน 0.5%	Unsaponifiable matter	ไม่เกิน 1.5%
Hydroxyl value	ระหว่าง 77-85	Water	ไม่เกิน 0.1%
Iodine value	ระหว่าง 120-142	การบรรจุและเก็บรักษา	เก็บในภาชนะปิดสนิท
Lead	ไม่เกิน 0.1 mg/kg		

ที่มา: USP Food Chemicals Codex (2010)

การผลิตน้ำมันไดเอซิลกลีเซอรอลโดยใช้เอนไซม์

ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสบางส่วน (selective/partial hydrolysis)

ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสบางส่วน (selective/partial hydrolysis) ในที่นี้หมายถึง ปฏิกิริยาการแยกสลายพันธะระหว่างโมเลกุลของไขมันหรือน้ำมัน (TAG) ด้วยน้ำ และมีเอนไซม์หรือสารอนินทรีย์เป็นตัวเร่ง

Lai et al. (2008) ศึกษาการผลิต DAG เพื่อให้ได้ความบริสุทธิ์ (purity) และผลผลิต (yield) สูงที่ใช้ระยะเวลาสั้น โดยใช้ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสบางส่วนระหว่างน้ำมัน (TAG) กับน้ำ และเอนไซม์ไลเปส เพื่อให้ได้ส่วนผสม (reaction mixture) ที่ประกอบด้วย DAG, MAG และ FFA จากนั้นกำจัดน้ำในส่วนผสมออก ตามด้วยการทำให้บริสุทธิ์ (purification) โดยแยก MAG FFA และ TAG ที่เหลือ (residuals) เพื่อให้ได้ DAG ที่บริสุทธิ์

ปัจจัย สภาวะ และขั้นตอนการผลิต DAG โดยใช้ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสบางส่วนของ Lai et al. (2008) คือการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสระหว่างน้ำมันปาล์มโอเลอิน หรือ น้ำมันถั่วเหลือง (ที่มี TAG เป็นองค์ประกอบหลัก) กับน้ำ โดยมีเอนไซม์ไลเปส Lipozyme RM IM (10% ของน้ำหนักน้ำมัน) เป็นตัวเร่ง ที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 10 ชั่วโมง โดยปริมาณน้ำที่ใช้อยู่ระหว่าง 20-180 ส่วนของน้ำหนักต่อ 100 ส่วนของน้ำหนักของ TAG โดยดำเนินปฏิกิริยาจนกระทั่งได้กรดไขมันอิสระอยู่ระหว่าง 5-50% จากนั้นกำจัดน้ำออกจากส่วนผสมที่ได้ โดยการปั่นเหวี่ยง แยก MAG, FFA และ TAG ที่เหลือออกมา จากนั้นนำน้ำมันที่ได้มากลั่นที่อุณหภูมิ 160 และ 210 °C ที่ความดัน 0.001 mbar ตามลำดับ เพื่อให้ได้ DAG ที่มีความบริสุทธิ์สูง ทั้งนี้เอนไซม์ที่ใช้ต้องมีสมบัติรวมตัวกับน้ำได้ อย่างเช่น เอนไซม์ไลเปส โดยส่วนมากจะทำการตรึง (immobilization) เอนไซม์บนพาหะ (carrier) ที่เหมาะสม เช่น ion exchange resin โดยสามารถใช้เอนไซม์ทั้งที่มีหรือไม่มีความจำเพาะต่อตำแหน่ง 1 และ 3 ก็ได้ ตัวอย่างจุลินทรีย์ที่เป็นพาหะของเอนไซม์เหล่านี้ได้แก่ *Rhizopus delemar, Rhizopus japonicas, Rhizopus niveus, Aspergillus niger, Mucor javanicus, Mucor miehei, Candida rugosa, Candida Antarctica, Pseudomonas cepacia* เป็นต้น (Lai et al., 2008) ตัวอย่างอุปกรณ์ที่นิยมใช้สำหรับการควบคุมปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่ใช้วิธีทางเอนไซม์ เช่น การใช้ถังกวนหรือถังฟลูอิไดซ์ เป็นต้น ในการดำเนินปฏิกิริยานี้สามารถทำได้ทั้งแบบกะ ต่อเนื่องหรือกึ่งต่อเนื่องก็ได้ เนื่องจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสนี้ใช้เอนไซม์ในการเร่งปฏิกิริยา ดังนั้นการควบคุมปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสจึงต้องควบคุมอุณหภูมิที่ใช้ในกระบวนการให้อยู่ภายใต้อุณหภูมิที่เหมาะสมของเอนไซม์ไลเปสด้วย โดยทั่วไปจะอยู่ที่ 20-90°C (Lai et al., 2008) การกำจัดน้ำ (dehydration) ออกจากปฏิกิริยานั้นอาจใช้วิธีการกำจัดน้ำออกแบบทั่วไป เช่น การปั่นเหวี่ยง การกลั่น การระเหยหรือการดูดซับ เป็นต้น โดยทั่วไปกระบวนการผลิต DAG นี้จะทำอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งได้ผลผลิตสุดท้ายที่มีความบริสุทธิ์ของ DAG อยู่ระหว่าง 10-96% ค่าความบริสุทธิ์ของ DAG (DAG purity) นี้หาได้จากอัตราส่วนระหว่างน้ำหนัก DAG (%) กับผลรวมของน้ำหนัก DAG (%) และ น้ำหนัก TAG (%) จากนั้นนำไปคูณด้วย 100 จากงานวิจัยนี้ DAG purity จะอยู่ระหว่าง 10-96% โดยผลิตภัณฑ์อาจจะมีสัดส่วนของ TAG ที่ไม่ถูกไฮโดรไลซ์อยู่บ้างเล็กน้อย

นอกจากนี้ Cheong et al. (2007) ได้ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตDAG เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มี DAG มากที่สุดและมี TAG น้อยที่สุด โดยใช้ response surface methodology (RSM) ติดตามค่า DAG (% โดยน้ำหนัก) และ TAG (% โดยน้ำหนัก)

ซึ่งใช้ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่มีเอนไซม์ Lipozyme RM IM และน้ำมัน TAG ที่ใช้คือน้ำมันปาล์มโอเลอิน โดยศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ดังนี้ ปริมาณน้ำที่ใช้ (30-70% ของน้ำหนักเอนไซม์) ปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ (5-15% ของน้ำหนักน้ำมัน) อุณหภูมิ (45-85°C) และเวลา (6-16 ชั่วโมง) พบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือ ปริมาณน้ำที่ใช้ 50% ของน้ำหนักเอนไซม์ ปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ 10% ของน้ำหนักน้ำมัน อุณหภูมิ 65°C เวลา 12 ชั่วโมง ซึ่งได้ปริมาณผลผลิต DAG 32% โดยน้ำหนัก เมื่อผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ ได้ DAG 60% โดยน้ำหนัก และ TAG 40% โดยน้ำหนัก

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างงานวิจัยของ Lai et al. (2008) กับ Cheong et al. (2007) พบว่า การผลิต DAG ด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสบางส่วน โดยใช้วิธีของ Lai et al. (2008) จะได้ DAG มากกว่า คือประมาณ 85% โดยน้ำหนักขึ้นไป และใช้เวลาและอุณหภูมิน้อยกว่า เมื่อใช้ปริมาณเอนไซม์ไลเปสเท่ากัน อาจเนื่องมาจาก Lai et al. (2008) มีการควบคุมเวลาที่ใช้ในปฏิกิริยาโดยควบคุมปริมาณของกรดไขมันอิสระให้อยู่ระหว่าง 5-50% จึงไม่ทำให้ปฏิกิริยาดำเนินไปนานจนทำให้มีปริมาณกรดไขมันอิสระมากกว่า DAG

ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่น (esterification)

ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่น (esterification) ในที่นี้หมายถึง ปฏิกิริยาการสร้างพันธะเอสเทอร์ระหว่างกรดไขมันหรือกรดไขมันอิสระกับกลีเซอรอล

Watanabe et al. (2003) กล่าวว่า การผลิต DAG โดยทั่วไปนิยมใช้ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่นของกรดไขมันกับกลีเซอรอลในระบบที่มีเอนไซม์ไลเปสที่ถูกตรึงที่มีความจำเพาะที่ตำแหน่ง 1 และ 3 (immobilized 1,3-specific lipase) ทำให้เกิดน้ำหรือแอลกอฮอล์ขึ้นเล็กน้อยในปฏิกิริยา จึงจำเป็นต้องกำจัดน้ำออกจากระบบโดยอาจใช้การลดความดัน เนื่องจากน้ำจะไปเปลี่ยนสมดุลของปฏิกิริยา (reaction equilibrium) เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยาจะได้ DAG และ TAG แต่ถ้าใช้เอนไซม์ที่มากเกินไป จะไปเพิ่มผลผลิตของปฏิกิริยาแต่จะลดความบริสุทธิ์ของ DAG เนื่องจากจะเกิดการผลิต TAG เพิ่มขึ้น ดังนั้นในการสังเคราะห์ DAG ด้วยปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่น ต้องคำนึงจุดสิ้นสุดปฏิกิริยาที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ DAG ที่เป็นผลผลิตของปฏิกิริยาสูง โดยขึ้นกับปัจจัยของอัตราส่วนสับสเตรทที่ใช้เป็นวัตถุดิบของกรดไขมันหรือเอสเทอร์กับกลีเซอรอล อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาและความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ใช้ โดยเมื่อเพิ่มอัตราส่วนของกรดไขมันต่อกลีเซอรอล จะทำให้อัตราการเกิดของปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น และเพิ่มผลผลิตของปฏิกิริยาเมื่อใช้เวลาที่นานขึ้น แต่จะไปลดปริมาณ DAG เนื่องจากจะเกิด TAG มากขึ้น

โดยกรดไขมันที่สามารถใช้ในปฏิกิริยานี้เหมือนกับงานวิจัย Lai et al. (2008) ดังที่กล่าวแล้ว ส่วนอัตราส่วนของกรดไขมันหรือต่อกลีเซอรอลส่วนมากนิยมใช้ที่อัตราส่วน 1.6-2.5 ปฏิกิริยานี้ควรกำจัดน้ำที่เกิดจากปฏิกิริยาออกจากระบบ โดยเฉพาะอย่างยิ่งควรควบคุมสภาวะของปฏิกิริยาให้ปราศจากน้ำ ยกเว้นน้ำที่มีจากการเตรียมเอนไซม์ วิธีในการกำจัดน้ำ เช่น ลดความดัน ใช้สารดูดซับ เช่น ซีโอไลท์ เป็นต้น

อุณหภูมิของปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่น ขึ้นกับจุดหลอมเหลวของวัตถุดิบหรือผลิตภัณฑ์ หรือความคงทนต่อความร้อนของเอนไซม์ที่ใช้ ส่วนมากนิยมใช้อุณหภูมิที่ 30-70°C โดยดูจากความสามารถในการทำกิจกรรม ส่วนเวลาในการทำปฏิกิริยาควรอยู่ภายใน 10 ชั่วโมง โดยคำนึงถึงความสามารถในการผลิตของโรงงานด้วย เป็นต้น

Lo et al. (2004) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการผลิต DAG เพื่อให้ได้ผลผลิตที่มี DAG มากที่สุดและมี TAG น้อยที่สุด โดยใช้ RSM ติดตามค่า DAG (% โดยน้ำหนัก) และ TAG (% โดยน้ำหนัก) ซึ่งใช้ปฏิกิริยา

เอสเทอริฟิเคชั่นที่มีเอนไซม์ Lipozyme RM IM ตรึงรูป (immobilized *Rhizomucor miehei* lipase) เป็นตัวเร่ง โดยปัจจัยที่ศึกษาคือ เวลาในการทำปฏิกิริยา (3-8 ชั่วโมง) ความเข้มข้นของเอนไซม์ (4-10% ของกรดไขมัน) อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา (55-75°C) และอัตราส่วนโมลาร์ของสับสเตรท (2-3 mol/mol ของกรดไขมันต่อกลีเซอรอล) เมื่อเปรียบเทียบอิทธิพลหลักของตัวแปรที่มีผลต่อค่า DAG และ TAG พบว่าปัจจัยของอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยานั้นมีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญมากที่สุดต่อผลผลิต DAG ตามด้วยอัตราส่วนโมลาร์ของสับสเตรท

การเพิ่มขึ้นของปริมาณเอนไซม์นั้น ไม่มีผลทำให้ผลผลิต DAG เพิ่มขึ้นมากนัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อระบบเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาที่ผันกลับได้ที่มีผลิตภัณฑ์เกิดขึ้นหลาย ๆ ตัวดังเช่นปฏิกิริยานี้ โดยปริมาณความเข้มข้นของเอนไซม์ไลเปสที่มากขึ้นในระบบของปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่นจะทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่นทุกส่วนเพิ่มขึ้น และอาจจะเปลี่ยนสมดุลโมเลกุลของปฏิกิริยาให้ไปข้างหน้ามากขึ้น จึงมีผลให้เกิด TAG มากขึ้น เช่นเดียวกับการเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ไลเปสและเวลาที่นานขึ้นมีผลให้เกิด TAG มากขึ้นด้วย

ดังนั้นการเพิ่มขึ้นของอัตราส่วนโมลาร์ของสับสเตรท ความเข้มข้นของเอนไซม์ และอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา มีผลให้ค่า DAG ลดลง และ TAG เพิ่มขึ้น ดังที่กล่าวไว้แล้วว่าระบบนี้เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาที่ผันกลับได้ ซึ่งองค์ประกอบที่ต้องการนั้นจะเกิดเป็นผลิตภัณฑ์ในปฏิกิริยาหนึ่งแล้วจะใช้ต่อเพื่อเป็นสับสเตรทให้อีกปฏิกิริยาหนึ่งในระบบ ดังเช่นในปฏิกิริยานี้ DAG เกิดจากปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่นของ MAG และกรดไขมันอิสระกับกลีเซอรอลและจะใช้เป็นสับสเตรทเพื่อสังเคราะห์ TAG ต่อ ทำให้ DAG ลดลง แต่จะเพิ่ม TAG ดังนั้นการทดลองเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิต DAG เพื่อให้มีประสิทธิภาพมากที่สุด ควรใช้ปริมาณเอนไซม์ไลเปสให้น้อยที่สุดและเพื่อให้ได้ DAG มากที่สุดและได้ TAG น้อยที่สุดในเวลาที่สั้นที่สุด พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการผลิต DAG นั้นได้ปริมาณ DAG 48% โดยน้ำหนัก และ TAG 14 % โดยน้ำหนัก ณ อุณหภูมิ 66.29°C ปริมาณเอนไซม์ 4% โดยน้ำหนัก สัดส่วนโมลาร์ของกรดไขมันต่อกลีเซรอล เป็น 2.14 โดยใช้เวลา 4.14 ชั่วโมง

ทั้งนี้หลักการผลิต DAG ของแต่ละปัจจัยคล้ายกับงานวิจัยของ Lo et al. (2004) ที่ศึกษาการสังเคราะห์ DAG โดยใช้เอนไซม์ไลเปสในการเร่งปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่นของกลีเซอรอลกับกรดไขมันที่ได้จาก palm oil deodoriser distillate (PODD) โดยศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อปฏิกิริยา คือ เวลาในการทำปฏิกิริยา (0.5-72 ชั่วโมง) ความเข้มข้นของเอนไซม์ (1-13% ของกรดไขมัน) อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา (50-70°C) อัตราส่วนโมลาร์ของสับสเตรท (ของกรดไขมันต่อกลีเซอรอล) (1-3:1) และ ปริมาณน้ำ (0-10%)

อิทธิพลของเวลานั้นสำคัญต่อการติดตามการเปลี่ยนแปลงสับสเตรทและผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยาที่ใช้เอนไซม์ เพื่อต้องการหาเวลาที่สั้นที่สุดที่ให้ได้ผลผลิตที่ดีและลดค่าใช้จ่ายในกระบวนการผลิต

อิทธิพลของอุณหภูมินั้นมีความสำคัญต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยาและกิจกรรมของเอนไซม์ โดยทั่วไปอุณหภูมิที่สูงขึ้นของปฏิกิริยาจะลดความหนืด (viscosity) ของส่วนผสมของปฏิกิริยาได้ ดังนั้นจึงเป็นการเพิ่มอัตราการเข้าทำปฏิกิริยา ระหว่างโมเลกุลของสับสเตรทกับเอนไซม์ สำหรับอุณหภูมิที่เหมาะสมของเอนไซม์ไลเปสที่ถูกตรึงในการทำปฏิกิริยาจะอยู่ในช่วง 30-62°C

อิทธิพลของปริมาณน้ำ น้ำมีผลต่อโครงสร้างของเอนไซม์โดยทำให้เกิดการยืดหยุ่น (flexibility) ในการเข้าทำปฏิกิริยาการสังเคราะห์ น้ำปริมาณเพียง

เล็กน้อยมีความจำเป็นต่อการเกิดกิจกรรมที่เหมาะสมของเอนไซม์ แต่ถ้ามีน้ำมากเกินจะทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ลดลง ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่นที่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่งนั้นจำเป็นต้องกำจัดน้ำที่เกิดขึ้นในระหว่างปฏิกิริยาให้มากที่สุดเท่าที่จะทำได้ เพื่อให้ปฏิกิริยาดำเนินต่อไปได้ดี

ปฏิกิริยากลีเซอโรไลซิส (glycerolysis)

ปฏิกิริยากลีเซอโรไลซิส (glycerolysis) ในที่นี้หมายถึง ปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนกรดไขมันระหว่างไขมันหรือน้ำมัน (TAG) กับกลีเซอรอล

Kristensen et al. (2005) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของปฏิกิริยากลีเซอโรไลซิสในการผลิต DAG เพื่อให้ได้ผลผลิต DAG ที่สูง และมีค่าใช้จ่ายน้อยที่สุด โดยใช้ RSM ศึกษา 5 ปัจจัยสำคัญ ได้แก่ เวลา ปริมาณเอนไซม์ อุณหภูมิ ปริมาณน้ำ และอัตราส่วนโมลาร์ของสับสเตรท (น้ำมันกับกลีเซอรอล) เนื่องจากปัจจัยที่มีผลต่อค่าใช้จ่ายในการผลิตมากที่สุดคือ ปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ นอกจากนั้นเวลาและอุณหภูมิก็มีผลเช่นกัน ส่วนการควบคุมปริมาณน้ำนั้นทำได้ยากในการผลิต โดยที่ถ้ามีปริมาณน้ำมากมักมีผลให้ปริมาณกรดไขมันอิสระในผลิตภัณฑ์สูง จึงจำเป็นที่ต้องมีน้ำอยู่น้อยที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้ ส่วนอัตราส่วนโมลาร์สับสเตรทโดยเฉพาะกลีเซอรอล ถ้ามีมากจะทำให้มีความหนืดสูง ดังนั้นจึงมักใช้กลีเซอรอลในปริมาณน้อย โดยมีปัจจัยที่ศึกษาและระดับ ได้แก่ เวลา (3-14 ชั่วโมง) ปริมาณเอนไซม์ (3-15% ของน้ำหนักน้ำมัน) อุณหภูมิ (40-75°C) ปริมาณน้ำ (0-6% ของน้ำหนักกลีเซอรอล) และอัตราส่วนโมลาร์ของสับสเตรท (น้ำมันต่อกลีเซรอล) (0.25-2.00) โดยนำน้ำมันเรพสีดหรือน้ำมันเมล็ดทานตะวันจำนวน 30 กรัมใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 200 มิลลิลิตร เติมกลีเซอรอล จากนั้นเขย่าด้วยความเร็วประมาณ 250 รอบต่อนาที ให้ความร้อนให้ถึงอุณหภูมิตามที่ต้องการ จากนั้นเติมเอนไซม์ Novozym 435 (*Candida Antarctica* lipase ที่ถูกตรึงบนเรซินอะคริลิคที่มีรูพรุน) เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยา นำตัวอย่างไปวิเคราะห์องค์ประกอบเอซิลกลีเซอรอล พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อผลผลิต DAG มากที่สุดคือ อุณหภูมิ โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมที่ทำให้เอนไซม์มีการผลิตที่เหมาะสม ซึ่งขึ้นอยู่กับการถูกยับยั้งด้วยความร้อนของเอนไซม์ อิทธิพลของอุณหภูมิมีผลต่อการเพิ่ม โดยการเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นมีข้อดีคือ จะช่วยลดความหนืดและเพิ่มความสามารถในการละลายของกลีเซอรอลในวัฏภาคน้ำมันได้ และเวลาก็มีผลทางบวกต่อผลผลิต DAG ด้วยทั้งนี้อิทธิพลของอัตราส่วนโมลาร์ของสับเสตรทก็มีผลทางบวกต่อผลผลิต DAG แต่การเติมกลีเซอรอลที่มากเกินไม่เป็นที่นิยม ดังนั้นปริมาณกลีเซอรอลที่น้อยเท่าที่จะใช้ได้ประมาณ 5% ของน้ำหนักน้ำมัน (ซึ่งเท่ากับอัตราส่วนโมลาร์เป็น 2) ซึ่งเป็นผลดีสำหรับการผลิตในระดับที่ใหญ่ขึ้น (เพราะอาจมีปัญหาจากความหนืดของกลีเซอรอลที่สูง) สำหรับปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ การเพิ่มปริมาณเอนไซม์ไม่ได้ทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น แต่อาจไปเพิ่มอัตราของปฏิกิริยา อธิบายได้โดยเกิดจากการผสมที่ไม่เหมาะสมของปฏิกิริยาจึงไปจำกัดการถ่ายโอนมวล ดังนั้นในระบบที่มีความหนืดสูงปัจจัยสำคัญที่ควรคำนึงคือ การผสมให้เข้ากันและมีการถ่ายโอนมวลที่ดี ฉะนั้นจึงควรใช้ปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสม เพื่อเป็นการเพิ่มผลผลิตให้สูงขึ้นและช่วยลดค่าใช้จ่ายได้ สำหรับปัจจัยเรื่องปริมาณน้ำไม่มีความจำเป็นต้องเติมน้ำเพิ่มในส่วนผสมของปฏิกิริยา เพราะมีน้ำอยู่ 1-2% โดยน้ำหนักในปฏิกิริยาอยู่แล้ว ซึ่งปริมาณน้ำเท่านี้ก็เพียงพอที่จะทำให้เกิดกิจกรรมของเอนไซม์ที่ดีได้ ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมในการผลิต DAG ให้ได้ปริมาณที่ยอมรับได้ (DAG 60% โดยน้ำหนัก) คือ ไม่มีการเติมน้ำ ปริมาณกลีเซอรอลน้อย (อัตราส่วนโมลาร์เป็น 2) อุณหภูมิ 60-65°C เวลา 4-5 ชั่วโมง และใช้ไลเปสเพียง 5% โดยน้ำหนัก ซึ่ง

สภาวะนี้เป็นที่น่าพอใจเนื่องจากสามารถทำได้ง่ายและมีค่าใช้จ่ายที่ไม่สูง ในการเพิ่มระดับการผลิต (scale-up) เป็น 20 กิโลกรัม พบว่าผลที่ได้คล้ายกับการผลิตในระดับห้องปฏิบัติการ หลังจากทำให้บริสุทธิ์โดยใช้วิธีการกลั่นแล้ว มีความบริสุทธิ์ของ DAG เป็น 93% โดยน้ำหนัก

ทั้งนี้การศึกษาดังกล่าวสอดคล้องกับ Fregolente et al. (2008) ที่ศึกษาเรื่องปัจจัยของน้ำที่จะเติมหรือไม่เติมเพิ่มในปฏิกิริยา โดยได้คัดเลือกเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ทั้งในรูปสารละลายและตรึงรูป ที่มีความสามารถในการผลิต DAG และ MAG ผ่านปฏิกิริยากลีเซอโรไลซิสของน้ำมันถั่วเหลือง พบว่าเอนไซม์ไลเปส *Candida antartica* มีความสามารถมากที่สุด ดังนั้นจึงใช้เอนไซม์นี้ศึกษาปัจจัยต่าง ๆ (ค่าที่ดีที่สุด) ได้แก่ ปริมาณเอนไซม์ (10% ของน้ำหนักน้ำมัน) อัตราส่วนโมลาร์ของกลีเซอรอล/น้ำมัน (8:1) และปริมาณน้ำ (1% ของกลีเซอรอล) ที่อุณหภูมิ 50°C ติดตามเวลาตั้งแต่ 0-24 ชั่วโมง พบว่าได้ DAG และ MAG ที่ดีที่สุด อยู่ในช่วง 45-48% และ 28-30% (น้ำหนัก/น้ำหนักของน้ำมันทั้งหมด) ตามลำดับ และการใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูป ทำให้มีปริมาณกรดไขมันอิสระเกิดประมาณ 5% แต่เมื่อใช้เอนไซม์ไลเปสอิสระที่มีการเติมน้ำเพิ่ม (extra water) 3.5% ในระบบ ทำให้มีปริมาณกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้นและมี MAG ประมาณ 23% เนื่องจากปริมาณน้ำที่เติมเพิ่มเข้าไปในระบบจะทำให้เกิดการแข่งขันระหว่างปฏิกริยาไฮโดรไลซิสและกลีเซอโรไลซิส ทำให้มีกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้น

ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสบางส่วนแล้วตามด้วยปฏิกริยาเอสเทอริฟิเคชั่น

ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสบางส่วนแล้วตามด้วยปฏิกริยาเอสเทอริฟิเคชั่น ในที่นี้หมายถึง การผลิต DAG โดยใช้ 2 ปฏิกิริยาร่วมกันระหว่างปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสบางส่วน (partial hydrolysis) ของไขมันหรือน้ำมัน เพื่อให้ได้กรดไขมันอิสระแล้วตามด้วยปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่นของกรดไขมันอิสระกับกลีเซอรอล

Yamada et al. (2001) กล่าวว่า การผลิต DAG ด้วยปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่นแบบปฏิกิริยาขั้นเดียว ทำให้มีค่าใช้จ่ายด้านวัตถุดิบแพงเนื่องจากต้องใช้กรดไขมันที่บริสุทธิ์ ส่วนปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสสามารถใช้น้ำมันได้โดย ตรง โดยใช้วิธีแยกองค์ประกอบด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิสูง 250-260°C ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีสีที่ไม่ต้องการ จึงจำเป็นต้องทำการกลั่นต่อ จนอาจทำให้ผลผลิตลดลงได้ประมาณ 10% รวมทั้งอาจสูญเสียไฟโตสเตอรอลที่สำคัญ ส่วนปฏิกิริยากลีเซอโรไลซิสส่วนมากจะใช้เวลานานประมาณ 10 ชั่วโมงขึ้นไป ซึ่งไม่เหมาะในการผลิตในระดับอุตสาหกรรม

ดังนั้นจึงมีการศึกษาการผลิตDAG ที่ประกอบด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสบางส่วนของไขมันหรือน้ำมันซึ่งใช้การแยกองค์ประกอบด้วยไอน้ำ (ที่อุณหภูมิ 190-240°C) และเติมน้ำ 20-180 ส่วนโดยน้ำหนักต่อ 100 ส่วนโดยน้ำหนักของไขมันหรือน้ำมัน ตามด้วยปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่นกับกลีเซอรอล เพื่อให้ได้ความบริสุทธิ์ของ DAG ที่สูง โดยมีค่าใช้จ่ายไม่สูง (จากการใช้ไขมันหรือน้ำมันที่ไม่แพงเป็นวัตถุดิบ) ให้มีประสิทธิภาพมากกว่าการผลิตที่ใช้ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่นและกลีเซอโรไลซิสแบบเดิม และไม่มีผลต่อคุณภาพของน้ำมัน เช่น การเปลี่ยนสีและลดการสูญเสียสารสำคัญที่มีประโยชน์ในไขมันหรือน้ำมัน

ขั้นตอนแรกของการผลิต คือการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสบางส่วนของไขมันหรือน้ำมัน ซึ่งอาจใช้วิธีแยกองค์ประกอบด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 190-240°C ส่วนมากจะทำที่อุณหภูมิ 200-230°C หรือวิธีทางเอนไซม์ ที่อุณหภูมิ 20-70°C เนื่องจากต้องการผลิต DAG ดังนั้นจึงไม่จำเป็น ต้องทำการแยกองค์ประกอบด้วยไอน้ำให้ได้ 100% ในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของ

ไขมันหรือน้ำมันในขั้นตอนแรก จึงอาจทำให้ได้กลีเซอร์ไรด์บางส่วน (partial glyceride) และมี TAG อยู่ โดยมากจะควบคุมให้มีปริมาณของกรดไขมันประมาณ 67-96% โดยน้ำหนัก ที่นิยมคือ 75-93% โดยน้ำหนัก ซึ่งช่วยให้เวลาในการทำปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่นในขั้นที่สองสั้นลง เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการแยกองค์ประกอบด้วยไอน้ำมีกลีเซอไรด์อยู่บ้างแล้วบางส่วน หลังจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสบางส่วน จะแยกวัฏภาคน้ำมันออกจากวัฏภาคน้ำโดยการปั่นเหวี่ยง กลีเซอรอลที่กระจายในส่วนวัฏภาคน้ำ สามารถนำมาใช้ต่อได้ในปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่นหลังจากกำจัดน้ำออก หรืออีกทางเลือกหนึ่งคือ ส่วนผสมดังกล่าวสามารถนำมาใช้ในขั้นที่สองได้โดยไม่ต้องแยกส่วนวัฏภาคน้ำมันออกก่อน โดยมากผลิตภัณฑ์ที่ได้จากวิธีแยกองค์ประกอบด้วยไอน้ำบางส่วนนี้มักไม่ต้องผ่านกระบวนการกลั่น ทำให้มีข้อดีคือ เมื่อใช้น้ำมันพืชเป็นวัตถุดิบก็ยังคงไฟโตสเตอรอลที่เป็นสารที่มีประโยชน์ไว้ได้ในผลิตภัณฑ์ DAG ได้

ขั้นที่สองของปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่น ปัจจัยที่เกี่ยวข้องจะคล้ายกับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่นทั่วไป คือ อัตราส่วนโมลาร์ของกรดไขมันที่ได้จากการแยกองค์ประกอบด้วยไอน้ำกับกลีเซอรอล ส่วนมากใช้อัตราส่วน 0.8-2.5 ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่นจะดำเนินไปได้เมื่อระบบไม่มีน้ำ (หรือมีน้อยที่สุด) หรือไม่มีการเติมน้ำนอกจากน้ำที่มาจากการเตรียมเอนไซม์ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการแยกองค์ประกอบได้แก่ กลีเซอรอล เป็นต้น โดยการกำจัดน้ำที่มีหรือที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาสามารถทำได้ เช่น ใช้วัสดุดูดซับน้ำหรือการทำแห้งด้วยสุญญากาศ โดยนิยมใช้การทำแห้งด้วยสุญญากาศ เนื่องจากช่วยหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนในระบบของปฏิกิริยา จากนั้นแยกเอนไซม์ออกจากผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยาที่ได้จากขั้นตอนที่สอง ส่วนกรดไขมันที่ไม่ได้เข้าทำปฏิกิริยาและ MAG จะแยกโดยการกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ทั่ว ๆ ไป

งานวิจัยส่วนมากจะทำในระดับห้องปฏิบัติการ ส่วนในระดับ pilot plant ยังมีน้อย ดังนั้นจะขอยกตัวอย่างงานวิจัยที่เพิ่มระดับการผลิต (scale up) โดยมีการผลิตโดยใช้ packed bed bioreactor ดังนี้

Lo et al. (2008) เพิ่มกำลังการผลิต DAG ใน pilot plant โดยใช้ pilot packed-bed enzyme reactor ขนาด 6 ลิตร บรรจุกรดไขมัน 9 กิโลกรัม และกลีเซอรอล 1.44 กิโลกรัม สภาวะที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่นตามค่าที่เหมาะสมคือ เวลาในการทำปฏิกิริยา 4.14 ชั่วโมง ปริมาณเอนไซม์ Lipozyme RM IM 4% ของกรดไขมัน อุณหภูมิ 66.29 °C ภายใต้สุญญากาศที่ความดัน 133 mbar เพื่อกำจัดน้ำส่วนเกินออกจากระบบ โดยกรดไขมันและกลีเซอรอล จะถูกผสมในถังป้อนที่ความเร็วประมาณ 500 รอบต่อนาที ใช้อุณหภูมิที่ 65°C โดยสับสเตรทมีอัตราการไหลประมาณ 3.5 ลิตรต่อนาที สัมผัสกับ enzyme bed ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 16.2 เซนติเมตร สูง 5.5 เซนติเมตร จากนั้นทดสอบความสามารถในการนำกลับมาใช้ใหม่ (reusability) ของ Lipozyme RM IM (เป็นเอนไซม์ไลเปสทางการค้า) ใน Pilot Plant โดยทดสอบการผลิต DAG ในสภาวะที่เหมาะสมที่ต่อเนื่องกัน 10 ครั้ง โดยหาค่า DAG % โดยน้ำหนัก พบว่าแม้จะทำการทดลองถึง 10 ครั้ง เอนไซม์ Lipozyme RM IM ก็ยังไม่มีการสูญเสียกิจกรรมของเอนไซม์อย่างมีนัยสำคัญ ณ ที่สภาวะในการทำปฏิกิริยานี้ ทั้งนี้เพื่อตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงในองค์ประกอบของ DAG ซึ่งอาจจะเกิดการเปลี่ยนแปลงของความจำเพาะต่อกรดไขมันของเอนไซม์ Lipozyme RM IM ที่ถูกนำมาใช้ซ้ำ พบว่าไม่

มีการเปลี่ยนแปลงของความจำเพาะต่อกรดไขมันของเอนไซม์ไลเปสในการผลิตนี้

นอกจากนี้ Kristensen et al. (2005) เพิ่มระดับการผลิต (scale up) DAG เป็น 20 กิโลกรัม ใน pilot plant batch reactor ของปฏิกิริยากลีเซอโร-ไลซิสใช้สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเดียวดับในระดับห้องปฏิบัติการ คือ ไม่มีการเติมน้ำ ปริมาณกลีเซอรอลน้อย (อัตราส่วนโมลาร์เป็น 2) อุณหภูมิ 60-65°C เวลา 4-5 ชั่วโมง และใช้ไลเปสเพียง 5% โดยน้ำหนัก พบว่าผลที่ได้คล้ายกับการผลิตในระดับห้องปฏิบัติการ หลังจากการแยกและการทำให้บริสุทธิ์ได้ผลผลิต DAG เป็น 93% โดยน้ำหนัก

การผลิตน้ำมันไดเอซิลกลีเซอรอลโดยใช้วิธีทางเคมี

การผลิต DAG สามารถใช้วิธีทางเคมีเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาต่าง ๆ ดังที่กล่าวแล้วได้เช่นกัน ในที่นี้ขอยกตัวอย่างงานวิจัยดังต่อไปนี้

Jacobs et al. (2003) กล่าวว่า ข้อดีของวิธีทางเคมีเมื่อเทียบกับการใช้เอนไซม์ คือ ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์น้ำมัน DAG ที่หลากหลายที่มีสมบัติทางกายภาพที่แตกต่างกัน เนื่องจากการใช้เอนไซม์มีข้อจำกัดของความสามารถในการทนความร้อนของเอนไซม์ และการเคลื่อนย้ายหมู่เอซิล เมื่อใช้อุณหภูมิที่สูงขึ้นในการทำปฏิกิริยา ตลอดจนข้อจำกัดการใช้ในไขมันที่มีจุดหลอมเหลวสูง ดังนั้นงานวิจัยนี้ จึงเป็นทางเลือกในการผลิตน้ำมัน DAG ที่ไม่สามารถเตรียมได้จากวิธีทางเอนไซม์ โดย Jacobs et al. (2003) ได้ศึกษาการผลิตน้ำมัน 1,3-DAG ด้วยวิธีทางเคมี โดยใช้ปฏิกิริยากลีเซอโรไลซิสของน้ำมัน (TAG) ทำปฏิกิริยากับตัวเร่ง (catalyst) ที่คำนึงถึงการเปลี่ยนแปลงด้านสีและปริมาณตัวเร่งให้น้อยที่สุด เพื่อให้ได้ DAG ที่มากที่สุด

ตัวอย่างวิธีการทำปฏิกิริยาคือ นำน้ำมัน 400 กรัม ใส่ในขวดก้นกลมขนาด 1 ลิตร ทำให้แห้ง (ต้องกำจัดความชื้นออกก่อนที่จะเติมตัวเร่งเพื่อให้ตัวเร่งทำปฏิกิริยาได้มากที่สุด) โดยให้ความร้อนน้ำมันที่ 90°C ภายใต้สุญญากาศ เป็นเวลา 30 นาที แล้วเติมกลีเซอรอล 80 กรัม อัตราส่วนโมลาร์ของน้ำมัน (TAG) ต่อกลีเซอรอล ที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 1.5:1 ถึง 2.5:1 และเติมโปแตสเซียมอะซิเตท 1 กรัม (ทำให้เกิดการเปลี่ยนสีน้อยที่สุด และปริมาณตัวเร่งที่ใช้อยู่ในช่วง 0.01-1.0% ของตัวเร่งต่อน้ำหนักของน้ำมัน ซึ่งตัวเร่งควรใช้ในปริมาณที่น้อยที่สุดเพื่อไม่ให้น้ำมันมีสีเข้มขึ้นในปฏิกิริยาที่ใช้เวลานานขึ้นและช่วยลดค่าใช้จ่ายได้) ในน้ำมันที่ทำให้แห้ง เขย่าทำปฏิกิริยาที่ 200°C เป็นเวลา 2.75 ชั่วโมง (ถ้าต้องการให้มีการเปลี่ยนแปลงสีน้อยที่สุด โดยเวลาอาจจะใช้ที่ 10 นาที-8 ชั่วโมง แต่ส่วนมาก 20 นาที-4 ชั่วโมง อุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 190-240°C) จากนั้นทำให้เย็นลงแล้วปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกวัฏภาคน้ำมันออกจากกลีเซอรอลที่เหลือ เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยาต้องกำจัดตัวเร่งออก เพื่อไม่ให้เกิดปฏิกิริยาย้อนกลับ ซึ่งจะได้ TAG กลับมา จนเป็นผลให้ DAG ลดลง แต่มี TAG เพิ่มขึ้น และหลังจากการทำปฏิกิริยากลีเซฮโรไลซิสแล้ว สามารถกำจัดโปแตสเซียมอะซิเตทโดยการทำให้เป็นกลางด้วยกรดฟอสฟอริก และนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปกรองและปั่นเหวี่ยงแยกเกลือออกมา

ทั้งนี้องค์ประกอบกรดไขมันและองค์ประกอบ DAG ของน้ำมัน DAG ที่ได้จากวิธีทางเคมีคล้ายกับองค์ประกอบของน้ำมัน DAG ที่ได้จากวิธีทางเอนไซม์และเปอร์เซ็นต์ DAG ที่ได้เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยากลีเซอ-โรไลซิสที่ใช้วิธีทางเคมีนั้น มีค่า DAG ประมาณ 40% โดยน้ำหนัก

Kase and Komatsu (2006) เปรียบเทียบการผลิต DAG ด้วยวิธีทางเคมีและเอนไซม์ของปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่น และการผลิต DAG ด้วยวิธีทางเคมีและเอนไซม์ของปฏิกิริยากลีเซอโรไลซิส โดยข้อดีของ

ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่นที่ใช้กรดไขมันกับกลีเซอรอล คือ สามารถปรับองค์ประกอบกรดไขมันของผลิตภัณฑ์ได้และได้ DAG มีความบริสุทธิ์ที่ดี ส่วนปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่นที่ใช้เอนไซม์มีข้อดีคือยับยั้งการเกิดกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดทรานส์ และสามารถกำหนดองค์ประกอบกรดไขมันของผลิตภัณฑ์ได้ และได้ DAG ที่มีความบริสุทธิ์ที่ดี แต่เมื่อต้องการผลิตภัณฑ์ที่มีองค์ประกอบกรดไขมันเหมือนกับไขมันหรือน้ำมันที่ใช้เป็นวัตถุดิบ มักจะใช้ปฏิกิริยากลีเซอโรไลซิสของไขมันหรือน้ำมันกับกลีเซอรอล เนื่องจากกระบวนการผลิตสามารถทำได้ง่าย โดยน่าจะใช้ปฏิกิริยากลีเซอโรไลซิสด้วยวิธีทางเคมีเพื่อลดเวลาในปฏิกิริยาและเพิ่มผลผลิต ส่วนวิธีที่ใช้เอนไซม์ในปฏิกิริยากลีเซอโรไลซิสนั้นจะช่วยยับยั้งการเกิดกรดไขมันชนิดทรานส์ที่ไม่อิ่มตัวได้

การศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำมันไดเอซิลกลีเซอรอลเมื่อผ่านกระบวนการทางความร้อน

การนำ DAG ไปใช้ควรคำนึงถึงสมบัติทางเคมีกายภาพ อย่างเช่น องค์ประกอบกรดไขมัน จุดหลอมเหลว ค่าไอโอดีน ค่าความเป็นกรด ค่าเปอร์-ออกไซด์ ซึ่งขึ้นกับชนิดและความยาวของสายโซ่ ระดับความไม่อิ่มตัวและปริมาณกรดไขมันที่ถูกเอสเทอริไฟด์ (esterified fatty acid) โดยสมบัติต่าง ๆ ดังที่กล่าวแล้วมีความสำคัญในการกำหนดชนิดของผลิตภัณฑ์ทางการค้าที่สามารถนำ DAG ไปประยุกต์ใช้ได้ โดยงานวิจัยที่ศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพของไขมันหรือน้ำมัน DAG ยังมีน้อย ตัวอย่างเช่น

Katsuta et al. (2008) เปรียบเทียบอัลดีไฮด์ที่ระเหยได้จากน้ำมันที่มี DAG สูง (DAG-OILs) และน้ำมันที่มี TAG สูง (TAG-OILs) ที่มีความแตกต่างของระดับความไม่อิ่มตัวของกรดไขมัน ในระหว่างการทอดแบบน้ำมันท่วมของมันฝรั่งแผ่นพบว่า ปริมาณและองค์ประกอบของอัลดีไฮด์ที่ระเหยที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการทอดนั้นไม่ได้มีผลมาจากโครงสร้างกลีเซอร์ไรด์ แต่มีผลมาจากองค์ประกอบของกรดไขมันเป็นหลัก จึงกล่าวได้ว่าน้ำมันแม้จะมีโครงสร้างกลีเซอร์ไรด์ที่ต่างกัน แต่ก็มีกลไกในการเกิดการเสื่อมคุณภาพจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่นในระหว่างการประกอบอาหารที่เหมือนกัน ทั้งในน้ำมันที่เสื่อมคุณภาพซึ่งผ่านการทอดเป็นเวลานานก็เช่นกัน สรุปได้ว่า DAG-OIL และ TAG-OIL มีรูปแบบการเกิดอัลดีไฮด์ที่เหมือนกัน ถึงแม้จะใช้เวลาในการทอดที่นานขึ้น อย่างไรก็ตามควรมีการประเมินทางด้านประสาทสัมผัสประกอบด้วยถึงแม้ว่าผลทางสถิติจะไม่แตกต่าง เนื่องจากปริมาณกรดไขมันอิสระใน DAG-OIL สูงกว่า TAG-OIL ซึ่งอาจมีผลต่อลักษณะทางประสาทสัมผัสได้

ทั้งนี้ผลการทดลองของ Katsuta et al. (2008) คล้ายคลึงกับงานวิจัยของ Shimizu et al. (2008) ที่ศึกษาการเสื่อมคุณภาพด้วยความร้อนของน้ำมัน DAG และน้ำมัน TAG ที่มีองค์ประกอบของกรดไขมันและปริมาณโทโคฟีรอลเหมือนกัน ในระหว่างการทอดแบบน้ำมันท่วม โดยวิเคราะห์ตัวชี้วัดที่บ่งบอกการเสื่อมคุณภาพของน้ำมันต่าง ๆ เพื่อใช้ในการเลือกตัวชี้วัดที่สำคัญในการทดสอบการเสื่อมคุณภาพของน้ำมัน DAG ได้ พบว่าไม่มีความแตกต่างของการเสื่อมคุณภาพด้วยความร้อนของน้ำมันระหว่างน้ำมัน DAG และน้ำมัน TAG ในระหว่างการทอดแบบน้ำมันท่วม และแม้ใช้เวลาในการทอดนานขึ้นจะไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบ DAG โดยดูจากตัวชี้วัดการเสื่อมคุณภาพน้ำมัน ได้แก่ *p*-anisidine values และค่าไอโอดีน พบว่าค่าต่าง ๆ เหล่านี้ไม่มีความแตกต่างระหว่างน้ำมัน DAG และ น้ำมัน TAG ส่วนค่าความเป็นกรดไม่เหมาะสำหรับใช้เป็นตัวชี้วัด เพราะค่าความเป็นกรดเริ่มต้นของน้ำมัน DAG สูงกว่าน้ำมัน TAG แม้จะมีระดับการเกิดออกซิเดชันเท่ากัน เนื่องจากน้ำมัน DAG มีกรดไขมันอิสระสูงกว่าน้ำมัน TAG จากงานวิจัยนี้ทำ

ให้สามารถเลือกตัวชี้วัดของการเสื่อมคุณภาพของน้ำมัน DAG ที่เหมาะสมได้

จากงานวิจัยทั้งหมดที่แสดงการผลิตและคุณสมบัติของน้ำมัน DAG ดังที่กล่าวมาแล้ว สามารถวิเคราะห์ได้ว่า การผลิต DAG สามารถเตรียมได้ 2 วิธี คือวิธีทางเคมีและการใช้เอนไซม์ โดยการผลิต DAG ด้วยวิธีทางเคมีจะทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิสูง (ประมาณ 220-260°C) ใช้ด่างหรือสารอนินทรีย์เป็นตัวเร่ง (inorganic catalyst) เช่น โซเดียม โพแทสเซียมหรือแคลเซียมไฮดรอกไซด์ เช่น ในระดับอุตสาหกรรมแบบเดิม DAG ถูกผลิตด้วยวิธีทางเคมี โดยใช้ปฏิกิริยากลีเซอโรไลซิสหรือปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่นที่อุณหภูมิ 180-230°C โดยใช้เบสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ซึ่งให้ผลผลิตและความบริสุทธิ์ค่อนข้างต่ำ และวิธีทางเคมีนี้มักต้องตามด้วยขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์ต่อเสมอ เพื่อให้มั่นใจว่าจะได้คุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ

ส่วนวิธีทางเอนไซม์สามารถเตรียม DAG ได้โดยปฏิกิริยาต่าง ๆ โดยปฏิกิริยาที่นิยมใช้ในงานวิจัยและในระดับอุตสาหกรรม ได้แก่ ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของไขมันหรือน้ำมันกับน้ำ ปฏิกิริยากลีเซอโรไลซิสของไขมันหรือน้ำมันกับกลีเซอรอล และการใช้ 2 ปฏิกิริยาร่วมกันระหว่างปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสบางส่วนของไขมันหรือน้ำมัน เพื่อให้ได้ไฮโดรไลเซทบางส่วน (partial hydrolysate) ที่มีกรดไขมันอิสระสูง แล้วตามด้วยปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่นของกรดไขมันอิสระกับกลีเซอรอล เอนไซม์ที่ใช้คือเอนไซม์ไลเปส โดยเอนไซม์ไลเปสที่ใช้มีทั้งแบบที่มีและไม่มีความจำเพาะต่อตำแหน่ง 1 และ 3 ในระบบของวิธีการทางเอนไซม์นั้นอาจใช้หรือไม่ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ก็ได้ ระบบที่ไม่ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์จะเหมาะกับการใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ทั้งนี้เป็นที่ทราบกันดีว่า เอนไซม์ไลเปสมีความจำเพาะในการเร่งปฏิกิริยา (enzyme-catalyzed reaction) ทำให้เอนไซม์ไลเปสถูกนำไปใช้ในกระบวนการต่าง ๆ ที่เกี่ยวกับการสังเคราะห์หรือดัดแปรไขมันหรือน้ำมัน โดยมีข้อดีคือ ปฏิกิริยาสามารถเกิดได้ที่อุณหภูมิห้องและที่ความดันบรรยากาศ เมื่อเทียบกับวิธีทางเคมีแบบเดิมที่มีค่าใช้จ่ายด้านพลังงานสูง และยังให้ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะไม่เป็นที่ต้องการเนื่องจากวิธีทางเคมีขาดความจำเพาะต่อตำแหน่งและต้องผ่านปฏิกิริยาหลายขั้นตอน ส่วนวิธีทางเอนไซม์จะได้ปริมาณผลผลิตและความบริสุทธิ์ของ DAG ที่ดีกว่า ดังนั้นวิธีทางเอนไซม์จึงเหมาะสมในการผลิต DAG เนื่องจากใช้สภาวะไม่รุนแรง เอนไซม์ไลเปสมีความจำเพาะต่อตำแหน่ง (regioselectivity) และมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อย

ส่วนการผลิต DAG ด้วยปฏิกิริยากลีเซอโรไลซิส มีข้อดีคือ เป็นกระบวนการที่ง่าย ที่สามารถใช้น้ำมันทั่วไปเป็นวัตถุดิบได้โดยตรงโดยไม่ต้องทำให้เกิดกรดไขมันอิสระก่อน ในปฏิกิริยากลีเซอโรไลซิส DAG สามารถเกิดได้ทั้งจากการเคลื่อนย้ายออกของหมู่เอซิลจาก TAG และจากการรวมกันของ MAG ในระหว่างปฏิกิริยา หรือเป็นการแลกเปลี่ยนหมู่แอลกอฮอล์ระหว่างไขมันและกลีเซอรอล แต่มีข้อจำกัดกับน้ำมันที่มีกรดไขมันที่อิ่มตัวมาก

ไขมันหรือน้ำมันที่มี DAG เป็นองค์ประกอบสามารถนำไปใช้ได้เหมือนกับไขมันหรือน้ำมันบริโภคทั่วไป รวมทั้งสามารถนำไปประยุกต์ใช้อาหารประเภทที่มีองค์ประกอบแบบไขมันในน้ำ เช่น เครื่องดื่ม ของหวาน ไอศกรีม เดรสซิ่ง ท้อปปิ้ง มายองเนส และซอส อาหารประเภทที่มีองค์ประกอบแบบน้ำในน้ำมัน เช่น มาการีนและสเปรด อาหารไขมัน เช่น เนยถั่ว เนยเทียมที่ใช้ทอดหรืออบ อาหารที่ผ่านกระบวนการต่าง ๆ เช่น เค้ก คุกกี้ พาย ขนมปัง และช็อกโกแลต และอาหารอื่น ๆ เช่น ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ และอาหารแช่แข็ง เป็นต้น

บทสรุป

ปฏิกิริยาสำคัญที่ใช้ในการผลิตน้ำมันไดเอซิลกลีเซอรอล ได้แก่ ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่น ปฏิกิริยากลีเซอโรไลซิส และการใช้ร่วมกันระหว่างปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสบางส่วนของไขมันและน้ำมันตามด้วยปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่น โดยการใช้เอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาค่อนข้างเหมาะสมต่อการผลิตน้ำมันไดเอซิลกลีเซอรอล เนื่องจากใช้สภาวะที่ไม่รุนแรง ให้ปริมาณผลผลิตและความบริสุทธิ์ของผลิตภัณฑ์ตามที่ต้องการ โดยการควบคุมปัจจัยที่มีต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาให้เหมาะสมเช่น เวลาในการทำปฏิกิริยา ความเข้มข้นของเอนไซม์ อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา อัตราส่วนโมลาร์ของสับสเตรทและปริมาณน้ำ จะทำให้สามารถผลิตน้ำมันไดเอซิลกลีเซอรอลที่มีปริมาณและคุณภาพที่สอดคล้องกับความต้องการได้

เอกสารอ้างอิง

Cheong, L.Z., Tan, C.P., Arifin, N., Lo, S.K. and Lai, O.M. (2007). Production of a diacylglycerol-enriched palm olein using lipase-catalyzed partial hydrolysis: Optimization using response surface methodology. Food Chemistry 105: 1614-1622.

Flickinger, B.D., and Matsuo, N., (2003). Nutritional characteristics of DAG oil. Lipids 38: 129-132.

Fregolente, P.B., Fregolente, L.V., Pinto, G.M., Bastistella, B.C., Wolf-Maciel, M.R. and Filho, R.M. (2008). Monoglycerides and diglycerides synthesis in a solvent-free system by lipase-catalyzed glycerolysis. Applied Biochemistry and Biotechnology 146 (1-3): 165-172.

Jacobs, L., Lee, I. and Poppe, G. (2003). Chemical process for production of 1,3-diglyceride oils. PCT International Patent number: WO03029392.

Kase, M and Komatsu, T. (2006). Process for producing fatty acids. United State Patent number: US 8323934 B2.

Katsuta, I., Shimizu, M. and Yamaguchi, T. (2008). Emission of volatile aldehydes from DAG-rich and TAG-rich oils with different degrees of unsaturation during deep-frying. Journal of the American Oil Chemists' Society 85: 513-519.

Kristensen, J.B., Xu, B. and Mu, H. (2005). Process optimization using response surface design and pilot plant production of dietary diacylglycerols by lipase-catalyzed glycerolysis. Journal of Agricultural and Food Chemistry 53 (18): 7059-7066.

Lai, O.M., Yusoff, M.S.A., Lo, S.K., Long, K., Tan, C.P. Tahiruddin, S., Hashim, K. and Lim, J.Y. (2008). Process for the production of diacylglycerol. United State Patent number: US 2008/0312342 A1.

Lo, S.K., Baharin, B.S., Tan, C.P. and Lai, O.M. (2004). Diacylglycerols from palm oil deodoriser distillate. Part 1-synthesis by lipase-catalysed esterification. Food Science and Technology International 10: 149-156.

Lo, S.K., Tan, C.P., Long, K., Yusoff, M.S.A., and Lai, O.M. (2008). Diacylglycerol oil properties, process and products: Review. Food and Bioprocess Technology 1: 223-233.

Matsuo, N. (2004). Nutritional characteristics and health benefits of diacylglycerol in foods. Food Science and Technology Research 10: 103-110.

Morita, O., Tamaki, Y., Kirkpatrick, J.B., and Chengelis, C.P. (2008). Safty assessment of heated diacylglycerol oil: subchronic toxicity study in rats. Food and Chemical Toxicology 46(8): 2748-2757.

Plou, F.J., Barandiaran, M.V., Ballasteros, A., Pastor, E. (1996). High-yield production of mono- and di-oleylglyceride by lipase-catalysted hydrolysis of triolein. Enzyme and Microbial Technology. 18: 66-71.

Rudkowska, I., Roynette, C.E., Demonty, I., Vanstone, C. A., Jew, S. and Jones, P. J. H. (2005). Diacylglycerol: Efficacy and mechanism of action of an anti-obesity agent. Obesity Research 13: 1864-1876.

Shimizu, M., Kudo, N., Nakajima, Y., Matsuo, N., Katsuragi, Y., Tokimitsu, I. and Barcelo, F. (2008). Effect of lipase activity and specificity on the DAG content of olive oil from the Shodoshima-produced olive fruits. Journal of the American Oil Chemists' Society 85: 629-633.

USP Food Chemicals Codex 7th edition, (2010). DAG oil (CAS: 308082-33-9). Maltimore, MD, U.S.A.: United Book Press, Inc., 286-288.

Watanabe, T., Shimizu, M., Sugiura, M., Sato, M., Kohori, J., Yamada, N. and Nakanishi, K. (2003). Optimization of reaction conditions for the production of DAG using immobilized 1,3-regiospecific lipase lipozyme RM IM. Journal of the American Oil Chemists' Society 80: 1201-1207.

Yamada, Y., Shimizu, M., Sugiura, M., and Yamada, N. (2001). Process for producing diglycerides. United State Patent number: US 6,261,812 B1.

Yanai, H., Tomono, Y., Ito, K., Furutani, N., Yoshida, H. and Tada, N. (2007). Diacylglycerol oil for the metabolic syndrome. Nutrition Journal 6: 43.

Yanai, H. Yoshida, H., Hirowatari, Y. and Tada, N. (2012). Therapeutic Application of diacylglycerol oil for obesity: Serotonin Hypothesis. Functional Foods in Health and Disease, 2(1): 1-10

❑❑❑❑❑