



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ: คุณลักษณะของ Olein-Stearin จากน้ำมันปาล์มดิบที่อุณหภูมิและ
ตัวทำละลายต่าง ๆ หลังจากแยกตามลำดับส่วนด้วยการปั่นเหวี่ยง

**Characterization of Olein-Stearin from Crude Palm Oil at
Different Temperatures and Solvents after Fractionated by
Centrifugation**

โดย ผศ.ดร. ชญานุช แสงวิเชียร และคณะ

30 มิถุนายน 2549

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ: คุณสมบัติของ Olein-Stearin จากน้ำมันปาล์มดิบที่อุณหภูมิและ
ตัวทำละลายต่าง ๆ หลังจากแยกตามลำดับส่วนด้วยการปั่นเหวี่ยง

**Characterization of Olein-Stearin from Crude Palm Oil at Different
Temperatures and Solvents after Fractionated by Centrifugation**

ผศ.ดร. ชญานุช แสงวิเชียร
ภาควิชาวิศวกรรมเคมี
คณะวิศวกรรมศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนวิจัยและสำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว.และสกอ. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. ชาคริต ทองอุไร ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่กรุณาทำหน้าที่เป็นนักวิจัยที่ปรึกษา ให้คำแนะนำและช่วยเหลือ นักวิจัยรุ่นใหม่อย่างดีจนเป็นอย่างดีเสมอมา

ขอขอบพระคุณ ดร.อุตสาห์ จันทรอำไพ ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่กรุณาให้คำปรึกษาคำแนะนำ ช่วยแก้ไขข้อบกพร่องที่เกิดขึ้นในการทำวิจัยพร้อมทั้งให้ความรู้และสอนเทคนิคในการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ ต่างๆที่ใช้ในงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. ดำรงค์ศักดิ์ ฟาร์รุ่งสาธ ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ ที่กรุณาให้คำปรึกษาและคำแนะนำในการใช้เครื่องมือ Differential Scanning Calorimetry

ขอขอบพระคุณคณะวิศวกรรมศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ และ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์สถานที่และอุปกรณ์ต่างๆในการทำงานวิจัย

ท้ายสุดนี้ขอขอบพระคุณ สำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย (สกว.) และสำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา (สกอ.) ที่ได้ให้ความสนับสนุนด้านงบประมาณและแนวทางที่เป็นประโยชน์ในการทำงานวิจัย

ผศ.ดร. ชญานุช แสงวิเชียร

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: MRG4780127
ชื่อโครงการ: ลักษณะของ Olein-Stearin จากน้ำมันปาล์มดิบที่อุณหภูมิและตัวทำละลายต่างๆ หลังจากแยกตามลำดับส่วน
ชื่อนักวิจัย: ผศ.ดร.ชญาณุช แสงวิเชียร
ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
E-mail Address: chayanoot.s@psu.ac.th
ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี (1 กรกฎาคม 2547 ถึง 30 มิถุนายน 2549)

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของน้ำมันปาล์มดิบ (CPO) จากภาคใต้ของประเทศไทย ซึ่งคาดว่าจะสามารถนำมาใช้เป็นฐานข้อมูลสำหรับการสร้างผลิตภัณฑ์มูลค่าเพิ่มได้ โดยศึกษาผลผลิตเชิงปริมาณและคุณลักษณะของ stearin (สเตียรีน) แยกตามลำดับส่วนด้วยวิธีปั่นเหวี่ยงภายใต้อุณหภูมิที่ต่างกัน 4 ระดับ คือ 25 , 0 , -25 และ -80 °C และตัวทำละลาย 5 ชนิด ตามลำดับ polarity จากสูงไปหาต่ำ คือ acetone, ethanol, 1-butanol, 2-propanol, และ diethyl ether

ผลจากการทดลองเบื้องต้นพบว่า ที่อุณหภูมิ 0 °C, -25 °C และ -80 °C ไม่สามารถแยก olein (โอเลอิน) และ stearin (สเตียรีน) ออกจากน้ำมันปาล์มดิบได้ มีเพียงที่อุณหภูมิ 25 °C เท่านั้นที่สามารถวิเคราะห์คุณลักษณะต่างๆของสเตียรีนได้ และผลจากการวิเคราะห์ปริมาณของสเตียรีนที่แยกได้ด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน พบว่า สเตียรีนที่ได้จากการไม่ใช้ตัวกลางทำละลาย ให้ร้อยละผลได้ 10.6 % ขณะที่การใช้ตัวกลางทำละลาย ethanol, 2-propanol, 1-butanol, acetone และ diethyl ether ให้ร้อยละผลได้ 13.9, 12.9, 9.8, 9.1 และ 3.6 % ตามลำดับ และจากการวิเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์ พบว่า ทั้งใน CPO และสเตียรีน มีไตรกลีเซอไรด์เป็นส่วนประกอบหลักอยู่ประมาณ 97 %

จากการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดไขมันโดยใช้ GC พบว่า ส่วนประกอบหลักของกรดไขมันใน CPO คือ C16:0 (62.53%), C18:1ω12 (23.90%) และ C18:0 (4.28%) ตามลำดับ เช่นเดียวกับกรณีของสเตียรีนแต่พบว่าปริมาณของ C16:0 ในสเตียรีนสูงกว่ามาก ซึ่งจากการวิเคราะห์ปริมาณของกรดไขมันสรุปได้ว่า ในสเตียรีนมีปริมาณของ saturated fatty acid, monounsaturated fatty acid และ polyunsaturated fatty acid อยู่ในช่วง 83 - 94%, 5 -15% และ 0.9 - 2% ตามลำดับ

คำหลัก: น้ำมันปาล์มดิบ โอเลอิน สเตียรีน กรดไขมัน

Abstract

Project Code: MRG4780127
Project Title: Characterization of olein-stearin from crude palm oil at different temperatures and solvents after fractionated by centrifugation
Investigator: Asst.Prof. Chayanoot Sangwichien, Ph.D.
Dept. of Chemical Engineering, Faculty of Engineering
Prince of Songkla University
E-mail Address: chayanoot.s@psu.ac.th
Project Period: 2 years (1 July 2004 - 30 June 2006)

Physico-chemical properties of Crude Palm Oil (CPO) produced in Southern Thailand were studied in order to obtain basic background and useful knowledge base for the production of value-added products. The properties and percent yield of stearin and olein which were fractionated from the samples by centrifugation at different temperatures (ambient temperature, 0, -25 and -80 °C) and solvents (acetone, 2-propanol, 1-butanol and diethyl ether).

Preliminary study in this laboratory CPO samples at temperature below 0 °C were in solid state, separation by centrifugation could not be achieved therefore only stearin-olein carried out at ambient temperature was analyzed. The results showed that the percent yield of stearin without any medium was 10.6% while those using ethanol, 2-propanol, 1-butanol, acetone and diethyl ether as medium were 13.9, 12.9, 9.8, 9.1 and 3.6%, respectively. It appeared that triglyceride is a major constituent (app.97%) in both CPO and stearin obtained from all experimental conditions.

Fatty acid analysis using GC with capillary column indicated that CPO comprised mainly of C16:0, C18:1 and C18:0 with 62.53%, 23.90 and 4.28%, respectively. Although similar profiles were found in all stearin samples, markedly higher content of C16:0 was observed. Results also revealed that the constituents of saturated fatty acid, monounsaturated fatty acid and polyunsaturated fatty acid in stearin fractionated from all conditions were range from 83 - 94%, 5 -15% and 0.9 - 2%, respectively.

Keywords: Crude Palm Oil (CPO), Olein, Stearin, Fatty Acid

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	(1)
บทคัดย่อ	(2)
Abstract	(3)
สารบัญ	(4)
รายการตาราง	(5)
รายการรูป	(6)
ตัวย่อและสัญลักษณ์	(7)
บทที่	
1 บทนำ	1
2 บทตรวจเอกสาร	4
3 วัสดุและอุปกรณ์	21
4 อิทธิพลของตัวกลางทำละลายต่อเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสเตียรินจากน้ำมันปาล์มดิบ ซึ่งแยกด้วยวิธีปั่นเหวี่ยง	24
5 ส่วนประกอบกลีเซอไรด์ และกรดไขมันของน้ำมันปาล์มดิบและสเตียรินที่แยกด้วย ตัวกลางทำละลายโดยการปั่นเหวี่ยง	28
6 คุณลักษณะการหลอมละลาย (Melting characteristics) ของสเตียรินที่ได้ จากการแยกโดยสภาวะการทดลองต่างกัน	47
7 สรุปผลการทดลอง	49
บรรณานุกรม	51
ภาคผนวก	55
Output จากโครงการวิจัย	61
บทความสำหรับการเผยแพร่	62

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ระดับความเป็นพิษของสารเคมีเมื่อหนูทดลองได้รับทางปากเพียงครั้งเดียว	13
2 จุดหลอมเหลวของกรดไขมันชนิดต่างๆ	17
3 ปริมาณของสเตียรินที่แยกได้โดยการใช้อัตว์กลางทำละลายชนิดต่างๆและสเตียรินที่แยกโดยไม่ใช้อัตว์กลางทำละลาย จาก CPO ผลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ S.D	26
4 ปริมาณไตรกลีเซอไรด์ (%) ใน CPO, สเตียรินที่แยกได้โดยการใช้อัตว์กลางทำละลายชนิดต่างๆและสเตียรินที่แยกโดยไม่ใช้อัตว์กลางทำละลาย ผลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ S.D	39
5 ปริมาณ (%) และชนิดของกรดไขมันในน้ำมันปาล์มดิบ CPO	41
6 ปริมาณ (%) และชนิดของกรดไขมันในสเตียรินที่แยกได้จาก CPO โดยไม่ใช้อัตว์กลางทำละลาย	43
7 ปริมาณ (%) และชนิดของกรดไขมันในสเตียรินที่แยกได้จาก CPO โดยใช้อัตว์กลางทำละลาย	46
8 ค่า polarity และจุดเดือดของตัวทำละลายที่ใช้ในการทดลอง	56

รายการรูป

รูปที่	หน้า
1 ลักษณะของผลปาล์ม	5
2 โครงสร้างของผลปาล์ม	5
3 กระบวนการทางฟิสิกส์เพื่อแยกสเตอรินและโอเลอินจากน้ำมันปาล์มดิบ	10
4 ปฏิกิริยาเอสเตอริฟิเคชัน (Esterification)	13
5 โครงสร้างของโมโนกลีเซอไรด์ (Monoglyceride)	14
6 โครงสร้างของไดกลีเซอไรด์ (Diglyceride)	14
7 โครงสร้างของไตรกลีเซอไรด์ (Triglyceride)	14
8 พันธะที่เกิดในไขมันอิ่มตัว	15
9 พันธะที่เกิดในไขมันไม่อิ่มตัว	15
10 โครงสร้างไอโซเมอร์ชนิด Cis	16
11 โครงสร้างไอโซเมอร์ชนิด Trans	16
12 การจัดเรียงผลึกของไตรกลีเซอไรด์	18
13 จุดหลอมเหลวของไตรกลีเซอไรด์ที่จำนวนคาร์บอนต่างๆ	19
14 วัสดุที่ใช้เก็บน้ำมันปาล์มดิบ	21
15 Standard 34 ชนิดของ fatty acid methyl ester	31
16 Fatty acid profile ของน้ำมันปาล์มดิบที่ความเข้มข้นต่ำ	34
17 Fatty acid profile ของน้ำมันปาล์มดิบที่ความเข้มข้นสูง	36
18 ความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟของ palmitic acid กับปริมาณสารที่ฉีดเข้าคอลัมน์	37
19 Thermogram ของสเตอรินที่สภาวะการทดลองต่างกัน	47
20 กราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการคำนวณปริมาณกลีเซอไรด์	54
21 แผนภูมิปริมาณไตรกลีเซอไรด์ใน CPO สเตอรินจากสภาวะการทดลอง	55

ตัวย่อและสัญลักษณ์

น.น.	=	น้ำหนัก
°C	=	degree Celsius
psi	=	pounds per square inch
MPa	=	megapascal
K	=	degree Kelvin
g	=	gravity
vol	=	volume
mg	=	milligram
kg	=	kilogram
CPO	=	crude palm oil
GC	=	gas chromatography
RRT	=	relative retention time
OFN	=	oxygen-free nitrogen
FAME	=	fatty acid methyl ester
SFA	=	saturated fatty acid
MUFA	=	monounsaturated fatty acid
PUFA	=	polyunsaturated fatty acid
DSC	=	differential scanning calorimeter
LDL	=	low density lipoprotein
FFA	=	free fatty acid

บทที่ 1

บทนำ

บทนำตั้งเรื่อง

ปาล์มน้ำมันเป็นพืชเศรษฐกิจสำคัญของประเทศไทยโดยมีปริมาณการผลิตสูงเป็นอันดับ 4 ของโลก รองจากมาเลเซีย อินโดนีเซีย และ ไนจีเรีย ในปี 2003 มีปริมาณการผลิต 600,000 ตัน และคาดว่าในปี 2004 จะสามารถผลิตเพิ่มขึ้นเป็น 655,000 ตัน เป็นอันดับ 3 ของเอเชีย รองจากมาเลเซียและอินโดนีเซีย [1] ในปี 2002 ประเทศไทยสามารถผลิตน้ำมันปาล์มด้วยปริมาณ 650,000 เมตริกตัน โดยใช้พื้นที่ปลูก 1,312,500 ไร่ [2] คาดว่าจะมีการขยายพื้นที่ปลูกเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในอนาคต โดยเฉพาะน้ำมันปาล์มดิบที่นิยมนำมาใช้เป็นวัตถุดิบเริ่มต้นสำหรับอุตสาหกรรมอาหาร

น้ำมันปาล์มดิบประกอบด้วยกลีเซอไรด์ (glycerides) โดยเฉพาะอย่างยิ่งไตรกลีเซอไรด์ (triglycerides) มากกว่า 90%, กรดไขมันอิสระ (free fatty acids) 3-5% และส่วนประกอบย่อย (minor components) ที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงอีกประมาณ 1% เช่น β -carotenes (provitamin A) และ วิตามินอี (tocopherols และ tocotrienols) แม้ว่าสารเหล่านี้เป็นส่วนประกอบย่อยของน้ำมันปาล์มแต่นับว่ามีความเข้มข้นสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันที่ใช้เพื่อการบริโภคชนิดอื่น [3] นอกจากนี้ น้ำมันปาล์มยังมีระดับของ cholesterol ซึ่งเป็นต้นเหตุสำคัญของการเกิดการอุดตันของเส้นเลือดต่ำมาก ดังนั้นมากกว่า 90% ของน้ำมันปาล์มที่ผลิตได้จึงนิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร [4]

เป็นที่ทราบกันดีว่าแหล่งพลังงานโดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำมันดิบที่ได้จากฟอสซิลเป็นทรัพยากรธรรมชาติของโลกที่มีปริมาณจำกัด ดังนั้นจึงมีความพยายามค้นหาแหล่งพลังงานอื่นที่สามารถสร้างหรือเพาะปลูกขึ้นมาทดแทน ด้วยเทคโนโลยีปัจจุบันสามารถนำน้ำมันปาล์มมาผลิตไบโอดีเซลในระดับอุตสาหกรรมแล้ว นอกจากนั้นน้ำมันปาล์มยังสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอื่นอีกหลายด้าน เช่น อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง ส่วนประกอบของเวชภัณฑ์ รวมทั้งสารตั้งต้นในการผลิตโพลิเมอร์ [5] เป็นต้น

เนื่องจากคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากน้ำมันปาล์ม เช่น โอกาสของการตกตะกอนที่อุณหภูมิต่างกัน การเปลี่ยนคุณสมบัติของ สี กลิ่น รส และ คุณค่าทางโภชนาการระหว่างการเก็บรักษา (shelf-life) ขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของวัตถุดิบเริ่มต้นเป็นสำคัญ ดังนั้นคุณลักษณะพื้นฐานเหล่านี้จึงควรนำมาศึกษาเพื่อสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในด้านต่างๆให้ได้ประโยชน์สูงสุด

คุณสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของน้ำมันปาล์มดิบ เช่น จุดหลอมเหลว (melting point) การตกผลึก (crystallization behaviors) และการละลาย (solubility) ขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของกรดไขมันที่เป็นส่วนประกอบของไตรกลีเซอไรด์ Moreira และคณะ [6] ได้รายงานผลการวิเคราะห์กรดไขมันในน้ำมันปาล์มดิบที่ได้จากประเทศบราซิลว่าส่วนใหญ่ประกอบด้วยกรด palmitic (C16:0) และกรด oleic (C18:1) ซึ่งพบในปริมาณ 36.9% และ 45.3% ของกรดไขมันรวม ตามลำดับ โดยมีกรดไขมันชนิดอื่นประกอบอยู่เพียงเล็กน้อย อย่างไรก็ตามจากการตรวจสอบเอกสารพบว่าส่วนประกอบของกรดไขมันในน้ำมันปาล์มดิบที่ปรากฏในรายงานต่างๆมีความแตกต่างกัน [7] นอกจากนี้ยังเป็นที่น่าสนใจว่าข้อมูลเหล่านั้นไม่ได้บ่งโครงสร้างไอโซเมอร์ (isomer) ของกรดไขมันทั้งที่ที่คุณลักษณะดังกล่าวนี้มีความสำคัญทางด้านโภชนาการ เช่น กรดไขมันที่มีโครงสร้างชนิดทราน (trans-isomer) จะมีผลต่อการเพิ่มระดับคอเลสเตอรอล (cholesterol) และ low density lipoprotein (LDL) ในเลือด [8]

ที่อุณหภูมิห้องน้ำมันปาล์มดิบ (crude palm oil) มีลักษณะกึ่งของแข็งกึ่งของเหลวซึ่งในทางปฏิบัติสามารถแยกออกจากกันได้โดยการกรอง (filtration) หรือการปั่นเหวี่ยง (centrifugation) ซึ่งอัตราส่วนของของแข็งและของเหลวขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและตัวกลางทำละลายที่ผสมอยู่ โดยในงานวิจัยนี้หลังจากแยกแต่ละส่วนออกจากกันที่อุณหภูมิห้อง (25°C) ส่วนที่ได้จากการกรองซึ่งมีลักษณะเป็นของแข็งเรียกว่า สเตียรีน (stearin) และส่วนที่ผ่านการกรองซึ่งมีลักษณะเป็นของเหลวเรียกว่า โอลีน (olein) ดังนั้นการนำน้ำมันปาล์มดิบเพื่อไปประยุกต์ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์สำหรับแต่ละประเทศที่มีภูมิอากาศต่างกัน จึงจำเป็นต้องคำนึงถึงคุณสมบัติดังกล่าวนี้ Boey และคณะ [9] รายงานผลการแยก สเตียรีนและโอลีนด้วย density gradient centrifugation ภายใต้สภาวะการทดลองต่างๆกัน เช่น อุณหภูมิ (10-20°C) การใช้ตัวกลางทำละลาย (medium) ที่ประกอบด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 2 ชนิด ที่มีอัตราส่วนผสมต่างกัน 8 ระดับ แม้ว่าบางสภาวะของการทดลองนี้แสดงให้เห็น

ประสิทธิภาพการแยกโกลิน ออกมาได้มากกว่า 90% แต่ไม่ได้ระบุชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ (คาดว่าเป็นความลับในเชิงอุตสาหกรรม) นอกจากนั้นไม่ปรากฏผลการศึกษารายละเอียดประกอบกรดไขมันของสเตียรีนที่แยกได้ และยังขาดข้อมูลการทดลองที่อุณหภูมิต่ำกว่านี้ซึ่งสามารถทำได้ในอุตสาหกรรมปัจจุบัน

น้ำมันปาล์มดิบที่ผลิตออกมาอาจมีคุณสมบัติต่างกันขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น กระบวนการผลิต สายพันธุ์ และภูมิประเทศของพื้นที่เพาะปลูก Deffense และ Tirtiaux [10] แยกน้ำมันปาล์มโดยใช้กระบวนการที่แตกต่างกัน คือ การลดอุณหภูมิเหนียวทำให้เกิดการตกผลึกของของแข็ง ซึ่งแบ่งเป็นการลดอุณหภูมิลงอย่างรวดเร็ว (fast dry fractionation) และการลดอุณหภูมิลงอย่างช้าๆ (slow dry fractionation) ส่วนอีกกระบวนการอาศัยการลดอุณหภูมิเหนียวทำให้เกิดการตกผลึกร่วมกับการใช้สารซักฟอก (detergent fractionation) พบว่าปริมาณและส่วนประกอบโดยเฉพาะอย่างยิ่งกรดไขมันของผลผลิตที่ได้แตกต่างกัน นอกจากนั้น Downes และคณะ [11] รายงานว่าน้ำมันปาล์มที่ได้จากพื้นที่ปลูกที่ต่างกัน คือ Malaysia, Ivory coast, Sumatra, Papua New Guinea, Solomon Island, New Britain และ Nigeria มีส่วนประกอบและปริมาณของกรดไขมันแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามจากการตรวจสอบเอกสารยังไม่ปรากฏรายงานผลการศึกษารายละเอียดที่เกี่ยวข้องกับส่วนประกอบและคุณสมบัติน้ำมันปาล์มดิบที่ผลิตในประเทศไทย

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณลักษณะของน้ำมันปาล์มดิบซึ่งผลิตจากจังหวัดสตูลของประเทศไทย และ สเตียรีนที่แยกโดยวิธีปั่นเหวี่ยงที่สภาวะตัวกลางทำละลายต่างกัน ซึ่งการเลือกชนิดตัวกลางทำละลายในการศึกษานี้ใช้ความแตกต่างของ polarity และพิจารณาถึงระดับความปลอดภัยในการบริโภค รวมทั้งต้นทุนในการนำกลับมาใช้ใหม่เป็นหลัก จึงมุ่งเน้นการใช้ตัวกลางทำละลายชนิดเดียว คุณลักษณะทั้งทางเคมีและฟิสิกส์ของสเตียรีนที่แยกได้นำมาทำการวิเคราะห์ชนิด และ ปริมาณของกรดไขมัน ด้วย gas chromatography (GC) ปริมาณของไตรกลีเซอไรด์วิเคราะห์โดยวิธีเทียบสี (colorimetric techniques) และ คุณสมบัติการหลอมละลาย (melting characteristics) ทำการศึกษาด้วย differential scanning calorimeter (DSC) คาดว่าผลการศึกษานี้สามารถนำมาใช้เป็นฐานข้อมูลสำหรับการสร้างผลิตภัณฑ์มูลค่าเพิ่มในอุตสาหกรรมปาล์มน้ำมันในประเทศไทยต่อไป

บทที่ 2

บทตรวจเอกสาร

ชีววิทยาของปาล์ม

ปาล์มมีต้นกำเนิดอยู่ที่ทางตะวันตกและตอนกลางของทวีปแอฟริกา ต่อมาได้แพร่เข้าไปในทวีปอเมริกาใต้โดยสันนิษฐานว่าเกิดขึ้นในยุคล่าอาณานิคม ปาล์มจัดอยู่ในตระกูล *Palme* หรือ *Palmaceae* เป็นตระกูลย่อยเดียวกันกับมะพร้าว คือ *Eliaes* โดยแบ่งเป็น 3 สายพันธุ์ คือ *Eliaes guineensis*, *Eliaes oleifera* และ *Eliaes odora* สำหรับสองสายพันธุ์หลังไม่นิยมปลูกเนื่องจากเติบโตช้าและให้ผลเล็ก พันธุ์ที่นิยมปลูกเชิงเศรษฐกิจอยู่ในปัจจุบันคือ *Eliaes guineensis* อย่างไรก็ตามมีการค้นพบปาล์มป่าอีก 2 ชนิดในเขตลุ่มน้ำอะเมซอนทวีปอเมริกาใต้ ซึ่งเชื่อกันว่าเป็นพันธุ์พื้นเมืองในแถบนั้น คือ *Eliaes oleifera* และ *Eliaes odora*

Eliaes guineensis เป็นลูกผสมระหว่างสายพันธุ์ *dura* ซึ่งมีกะลาที่หนา เนื้อในเมล็ดใหญ่ มีส่วนของเปลือก (mesocarp) 30-50% ของน้ำหนัก และมีปริมาณน้ำมัน 17-18% กับสายพันธุ์ *tenera* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีกะลาหนานปานกลาง มีเยื่อหุ้มกะลา มีส่วนของเปลือก 60-95% ของน้ำหนัก และมีปริมาณน้ำมัน 22-24% เนื้อในเมล็ดปานกลาง

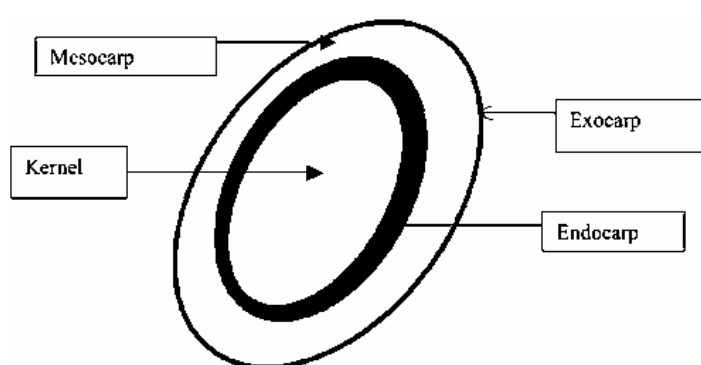
ปาล์มน้ำมันออกผลเป็นทะลาย รูปที่ 1 และ 2 แสดงลักษณะของผลปาล์ม จะเห็นว่าส่วนของผลมีเปลือกชั้นนอก (exocarp) และ ชั้นกลาง (mesocarp) ที่ประกอบด้วยเนื้อเยื่อไขมันซึ่งเมื่อคั้นออกมาได้ผลผลิตเรียกว่า น้ำมันปาล์มดิบ (crude palm oil:CPO) โดยมีไขมันรวมประมาณ 73.2% และ 32.6% ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

สำหรับชั้นในของผล (endocarp) จะหุ้มด้วยกะลา (shell) ภายในประกอบด้วยน้ำมันซึ่งมีคุณสมบัติแตกต่างจากที่ได้จากเปลือกนอก เมื่อคั้นออกมาเรียกผลผลิตส่วนนี้ว่าน้ำมันเมล็ดใน (kernel oil)



รูปที่ 1 ลักษณะของผลปาล์ม

ที่มา: <http://www.mpopc.org.my/qrpof.htm> [12]



รูปที่ 2 โครงสร้างของผลปาล์ม

ที่มา: <http://www.mpopc.org.my/qrpof.htm> [12]

ความสำคัญทางเศรษฐกิจของปาล์มน้ำมัน

น้ำมันปาล์มในประเทศไทยมีการผลิตสูงเป็นอันดับ 4 ของโลก [1] รองจากมาเลเซีย อินโดนีเซีย และ ไนจีเรีย ในปี 2003 มีปริมาณการผลิต 600,000 ตัน และคาดว่าในปี 2004 จะสามารถผลิตเพิ่มขึ้นเป็น 655,000 ตัน เนื่องจากน้ำมันปาล์มมีคุณค่าทางโภชนาการสูงเมื่อเทียบกับน้ำมันที่ใช้เพื่อการบริโภคอื่นๆ ดังนั้นมากกว่า 80% ของผลผลิตจึงถูกนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น น้ำมันทอด น้ำมันปรุงอาหาร มargarin วานาสปาติ ไอศกรีม ครีมเทียม นมเทียม เนยขาว เนยโกโก้ ขนมหั้ว ขนมหั้ว ฯลฯ

จากการสำรวจในปี 1997 พบว่าความต้องการผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพ (health foods) ในประเทศไทย มีมูลค่าสูงถึง 7,600 ล้านบาท และคาดว่าอัตราความต้องการเพิ่มขึ้น 10-20% ต่อปี เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสุขภาพอื่นพบว่า antioxidant vitamins โดยเฉพาะอย่างยิ่ง β -carotenes (provitamin A) และ vitamin E (tocopherols และ tocotrienols) มีปริมาณการนำเข้าสูงที่สุดเนื่องจากมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) และเป็นตัวกลางสำคัญที่รักษาสมดุลการทำงานของเซลล์ ปัจจุบันนำมาใช้เป็น active ingredient ของเวชภัณฑ์ (drug products) และ ผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพ [13] หลากหลายชนิด นอกจากนี้ยังปรากฏในรายงานด้วยว่า ผู้บริโภคนิยมใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากธรรมชาติมากกว่าสารที่ได้จากการสังเคราะห์เช่นเดียวกับพฤติกรรมของผู้บริโภคในอีกหลายประเทศ ทำให้บริษัทต่างชาตินำมาใช้กำหนดยุทธศาสตร์ส่งเสริมการขาย ด้วยเหตุนี้ปาล์มน้ำมันจึงมีศักยภาพสูงที่จะนำมาใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อสกัดสารมูลค่าเพิ่มจากธรรมชาติดังกล่าว

เนื่องจากแหล่งพลังงานโดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำมันดิบที่ได้มาจากฟอสซิลเป็นแหล่งทรัพยากรธรรมชาติของโลกที่มีปริมาณจำกัด จึงมีความพยายามค้นหาแหล่งพลังงานอื่นที่สามารถสร้างหรือเพาะปลูกขึ้นมาทดแทน ในการนี้น้ำมันปาล์มนับว่ามีศักยภาพสูงยิ่งที่จะนำมาใช้เป็นวัตถุดิบ ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่าด้วยเทคโนโลยีปัจจุบันสามารถนำน้ำมันปาล์มมาผลิตไบโอดีเซลในระดับอุตสาหกรรมแล้ว

นอกจากนั้นน้ำมันปาล์มยังสามารถนำไปเปลี่ยนเป็นอนุพันธ์อื่นอีกหลายชนิด เช่น กลีเซอรอลไขมันซึ่งใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตสบู่ fatty acid, fatty alcohol ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตผงซักฟอก (detergent), fatty acid amides ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตสารลดแรงตึงผิว (surfactants) สำหรับอุตสาหกรรมสิ่งทอ การผลิตเยื่อกระดาษ และ ไม้อัด fatty

amines ใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตโพลิเมอร์ น้ำมันหล่อลื่น glycerol ใช้ในอุตสาหกรรมผลิตเครื่องสำอาง [4] สำหรับเศษเหลือจากกระบวนการผลิตน้ำมันปาล์มดิบ เช่น ทะลาย ใบ และ กะลา ก็ยังสามารถนำมาใช้เป็นเชื้อเพลิง [14] ได้อีกด้วย

กระบวนการผลิตน้ำมันปาล์มดิบ

กระบวนการผลิตน้ำมันปาล์มดิบในระดับอุตสาหกรรมส่วนใหญ่ดำเนินการโดยนำผลปาล์มทั้งทะลายเข้าสู่หม้ออบความร้อนที่อุณหภูมิ 130°C ความดัน 45 psi เป็นเวลา 60 นาที จากนั้นจึงบีบน้ำมันออกมา

ในปี 2002 Meireles [15] ทำการทดลองเปรียบเทียบการสกัดน้ำมันปาล์มสายพันธุ์ *Guilielma speciosa* จากประเทศบราซิล โดยใช้ hexane เป็นตัวทำละลาย เปรียบเทียบกับการใช้ CO₂ ที่สภาวะเหนือจุดวิกฤติ (supercritical fluid) พบว่า ผลผลิตที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีหลังมีปริมาณของกรด oleic และ ของกรดไขมันอิ่มตัวมากกว่าการสกัดด้วย hexane นอกจากนี้ยังรายงานไว้ว่า ความดันและอุณหภูมิที่ใช้ในการสร้างสภาวะเหนือจุดวิกฤติมีผลต่อส่วนประกอบของน้ำมันที่สกัดออกมาด้วย คือ เมื่อใช้ความดันสูง (30 MPa, 318K) ผลผลิตจะมีส่วนประกอบของ C16:0 และ C18:1 ในปริมาณสูงกว่าการใช้ความดันต่ำ (25 MPa, 323K)

ส่วนประกอบของน้ำมันปาล์มดิบ (crude palm oil: CPO)

น้ำมันปาล์มดิบประกอบด้วยไตรกลีเซอไรด์มากกว่า 90%, กรดไขมันอิสระ 3-5%, กลีเซอไรด์ชนิดอื่น และ minor component ที่ไม่มีกรดไขมันเป็นองค์ประกอบเช่น β -carotenes (provitamin A), vitamin E (tocopherols และ tocotrienols) ประมาณ 1% สารประกอบที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงเหล่านี้พบในน้ำมันปาล์มด้วยระดับความเข้มข้นสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันพืชชนิดอื่น [3]

กรดไขมันในน้ำมันปาล์มดิบส่วนใหญ่ คือ กรด palmitic (C16:0) และ กรด oleic (C18:1) ซึ่งพบในปริมาณ 44% และ 39.2% ของกรดไขมันรวม ตามลำดับ โดยที่มีกรดไขมันชนิดอื่นประกอบอยู่เพียงเล็กน้อย เช่น กรด Lauric (C12:0) 0.2%, กรด myristic (C14:0) 1.1%, กรด stearic (C18:0) 4.5%, กรด linoleic (C18:2) 10.1%, และ อื่นๆอีก 0.9% [7]

อย่างไรก็ตามยังมีผู้รายงานถึงปริมาณของกรดไขมันในน้ำมันปาล์มดิบ เช่น ในปี 2002 Moreira และคณะ [6] รายงานว่ากรด palmitic (C16:0) และกรด oleic (C18:1) ซึ่งพบในน้ำมันปาล์มดิบมีปริมาณ 36.9% และ 45.3% ของกรดไขมันรวม ตามลำดับ ในขณะที่

Suresh และคณะ [16] รายงานว่าในน้ำมันปาล์มดิบมีปริมาณของกรด palmitic (C16:0) และกรด oleic (C18:1) อยู่ 46% และ 39% ตามลำดับ

นอกจากนี้ในปี 1985 Downes และคณะ [11] ได้รายงานถึงส่วนประกอบและปริมาณของกรดไขมันในน้ำมันปาล์มดิบที่ได้จากพื้นที่ปลูกที่ต่างกัน คือ Malaysia, Ivory coast, Sumatra, Papua New Guinea, Solomon Island, New Britain และ Nigeria พบปริมาณของกรด palmitic และ กรด oleic อยู่ในช่วง 43.1-46.3% และ 36.7-40.8% ตามลำดับ นอกจากนี้ Downes และคณะ ได้เปรียบเทียบปริมาณของกรด palmitic ที่รายงานจาก madri, porim และ codex ว่ามีค่าอยู่ในช่วง 41.1-47, 41.8-46.8 และ 32-59% ตามลำดับ

คุณสมบัติของน้ำมันปาล์มดิบและการแยกสเตอรินและโอเลิน

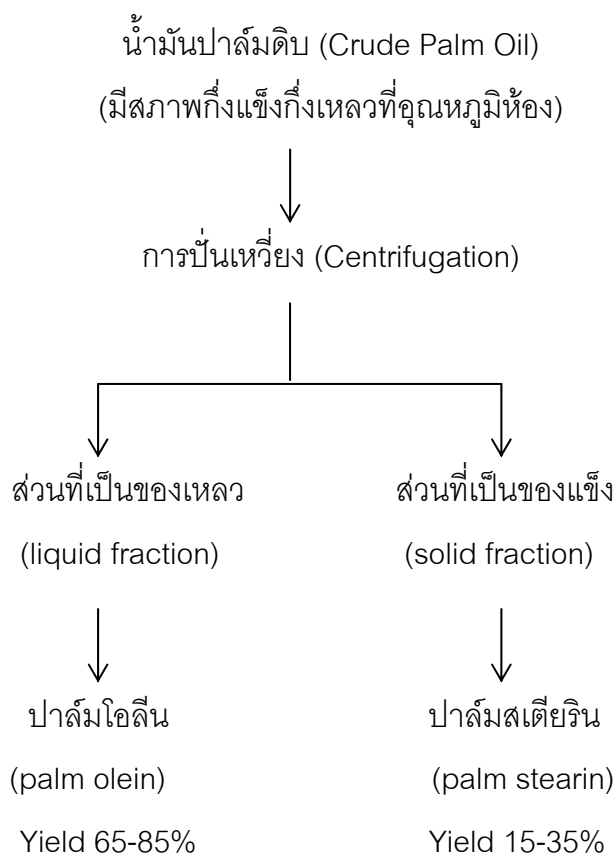
คุณลักษณะของน้ำมันปาล์มดิบที่ผลิตออกมาจะต้องมีคุณภาพได้มาตรฐาน จึงจะขายได้ราคาดี โดยการตัดสินคุณภาพน้ำมันปาล์มดิบในระดับอุตสาหกรรมวัดจากกรดไขมันอิสระ (FFA) ความชื้นและสิ่งสกปรก เนื่องจากความชื้นและสิ่งสกปรกเป็นสาเหตุให้กรดไขมันอิสระมีค่าเพิ่มขึ้น น้ำมันปาล์มดิบที่มีคุณภาพดีควรมีค่ากรดไขมันอิสระไม่เกินร้อยละ 5 ความชื้นควรมีค่าไม่เกินร้อยละ 0.5 และ สิ่งสกปรกมีค่าไม่เกินร้อยละ 0.05 [17] นอกจากนี้ การวัดคุณภาพน้ำมันปาล์มยังประกอบไปด้วยค่าต่างๆดังนี้

1. ค่าไอโอดีน (Iodine Value, IV) เป็นตัววัดปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวในน้ำมันปาล์ม ค่าที่วัดมีหน่วยเป็นน้ำหนักเป็นกรัมของไอโอดีนที่ทำปฏิกิริยากับน้ำมัน 100 กรัม ค่าไอโอดีนควรอยู่ระหว่าง 52-55
2. ค่าสปอนนิฟิเคชัน (Saponification Value, SP) เป็นค่าที่ใช้วัดความต้องการทำให้น้ำมันกลายเป็นสบู่ ค่าที่วัดมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมของ KOH ที่ทำปฏิกิริยากับน้ำมัน 1 กรัม ค่าสปอนนิฟิเคชันควรอยู่ระหว่าง 195-210
3. ค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide Value, PV) เป็นค่าที่ใช้วัดความหืนของน้ำมันปาล์ม โดยวัดเป็นค่าออกซิเจนที่ว่องไวต่อปฏิกิริยาทางเคมีที่มีอยู่ในน้ำมัน มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมสมมูลต่อน้ำมัน 1 กิโลกรัม ตามมาตรฐานค่านี้ไม่ควรเกิน 10
4. ปริมาณเหล็ก (Fe) หมายถึงปริมาณเหล็กที่เจือจางอยู่ในน้ำมันปาล์ม ค่ามาตรฐานไม่ควรเกิน 4 ส่วนในล้านส่วน

5. ทองแดง (Cu) หมายถึงปริมาณทองแดงที่เจือจางอยู่ในน้ำมันปาล์ม ค่ามาตรฐานไม่ควรเกิน 0.2 ล้านส่วนในล้านส่วน
6. สารหนู (arsenic) มีได้ไม่เกิน 0.1 ส่วนในล้านส่วน
7. ตะกั่ว มีได้ไม่เกิน 0.2 ส่วนในล้านส่วน
8. ปริมาณสบู่ มีได้ไม่เกินร้อยละ 0.005

ในการแยกส่วนน้ำมันปาล์มดิบที่นิยมใช้ในปัจจุบันตามการรายงานของ Goh [18] คือ การแยกส่วนโดยใช้ความแตกต่างของจุดหลอมเหลวที่เรียกว่า Fractionation คือ การลดอุณหภูมิเพื่อเหนี่ยวนำให้สารมีสภาพอิ่มตัววดยิ่งเกิดเป็น nuclei ทำให้สารเกิดการตกผลึกแยกออกจากของแข็งซึ่งแบ่งเป็น 3 วิธีคือ dry fractionation, detergent fractionation และ Solvent fractionation โดยทั้ง 3 แบบเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิอย่างช้าๆ เหนี่ยวนำให้เกิดการตกผลึกทำให้เกิดการแยกออกของสารที่จุดหลอมสูงกว่าสารที่จุดหลอมต่ำกว่า (ส่วนประกอบของแข็งนี้เรียกว่า stearin และส่วนประกอบเป็นของเหลวเรียกว่า olein)

น้ำมันปาล์มดิบที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 25-30°C) มีสภาพกึ่งของแข็งกึ่งของเหลว ปริมาณ และ คุณลักษณะของของแข็งขึ้นอยู่กับ อุณหภูมิ และ polarity ของตัวกลางทำละลายที่เติมลงไป การแยกส่วนที่เป็นของแข็งและของเหลวออกจากกันอาจทำได้ทั้งกระบวนการทางเคมีและฟิสิกส์ หรืออาจใช้ทั้งสองกระบวนการร่วมกัน ซึ่งในงานวิจัยนี้การแยกส่วนของน้ำมันปาล์มอาศัยทั้งกระบวนการทางเคมีและฟิสิกส์ โดยส่วนที่ได้จากการกรองที่อุณหภูมิห้อง (25°C) ซึ่งมีลักษณะเป็นของแข็งเรียกว่า สเตียรีน (stearin) และส่วนที่ผ่านการกรองที่มีลักษณะเป็นของเหลวเรียกว่า โอลีน (olein) ดังแสดงในรูปที่ 3



รูปที่ 3 กระบวนการทางฟิสิกส์เพื่อแยกสเตียรีนและโอเลอินจากน้ำมันปาล์มดิบ
ที่มา : คู่มือน้ำมันปาล์มและการจัดสวน [3]

ในทางปฏิบัติการแยกทางฟิสิกส์นิยมใช้วิธีการกรอง (filtration) หรือ วิธีปั่นเหวี่ยง (centrifugation) และ การแยกทางเคมีอาจดำเนินการโดยใช้ตัวกลางทำละลายที่มี polarity ต่างกัน (แสดงข้อมูลในภาคผนวกที่ 6) หรือ ใช้สารซักฟอก (detergent) โดยปรากฏรายงานผลการศึกษาที่ผ่านมามีดังต่อไปนี้

ในปี 2002 Chow และ Ho [19] ทำการแยกสเตียรีนและโอเลอินจากน้ำมันปาล์ม โดยใช้ methanol และ chloroform เป็นตัวกลางทำละลาย และอาศัยการปั่นเหวี่ยง เมื่อนำผลที่ได้มาวิเคราะห์พบว่า 84% ของน้ำหนักตัวอย่าง ประกอบด้วย neutral lipids (83% triglycerides, 8% diglycerides, 0.5% monoglycerides และ 8.0% free fatty acids) และ 14% เป็น complex lipids (6% glycolipids และ 10% phospholipids) เมื่อนำไป dry fractionation) และการลดอุณหภูมิลงอย่างช้าๆ (slow dry fractionation) ส่วนกระบวนการ

ที่ 2 อาศัยการลดอุณหภูมิเหนียวทำให้เกิดการตกผลึกร่วมกับการใช้สารซักฟอก (detergent fractionation) วิเคราะห์กรดไขมันพบว่าส่วนใหญ่ประกอบด้วยกรด palmitic (C16:0) และ กรด oleic (C18:1)

ในปี 2004 Kellens และคณะ [20] รายงานปริมาณของกรดไขมันในน้ำมันปาล์มดิบ ที่ผ่านกระบวนการ refining, bleaching และ deodorized (RBD) และ สเตียอรินกับโอเลอิน แยกจาก RBD ที่สภาวะอุณหภูมิต่างกัน คือ ที่ 9, 11, 13, 15 และ 18°C โดยวิเคราะห์ ปริมาณของกรดไขมันด้วย GC พบว่า ใน RBD มีปริมาณของกรด palmitic และ กรด oleic 44.2% และ 40.4% ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ในสเตียอรินกับโอเลอิน พบว่า ปริมาณของกรด palmitic และ กรด oleic อยู่ในช่วง 49-54% และ 34-38% กับ 3.7-4.6% และ 44-46% ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบปริมาณของกรด arachidic acid (C20:0) สูงถึง 7.5% ในสเตียอรินที่แยกจากอุณหภูมิ 11 °C ซึ่งไม่สามารถตรวจพบใน RBD

จากรายงานของ Goh ปี 2002 [18] แสดงคุณลักษณะของสเตียอรินแยกจากน้ำมัน ปาล์มดิบด้วย acetone โดยการกรอง ซึ่งกระบวนการทั้งหมดเริ่มต้นจากผสม acetone ลงใน น้ำมันอัตราส่วน 4:1 แล้วเหนียวทำให้เกิดผลึกที่ 0°C นำไปผ่านการกรอง หลังจากนั้นนำ สเตียอรินมาหลอมที่อุณหภูมิ 40°C ผสม acetone ลงในน้ำมันโดยใช้อัตราส่วนเดิม แต่สภาวะ นี้ใช้อุณหภูมิเหนียวทำให้เกิดผลึกที่ 20-24°C แล้วนำไปกรอง พบว่า สเตียอรินที่ได้มีจุด หลอมเหลวสูง (55-60 °C) มีปริมาณของกรด palmitic มากกว่า 80% และมีค่าไอโอดีนต่ำ กว่า 10 แต่อย่างไรก็ตามกระบวนการนี้ให้ผลได้ของสเตียอรินไม่ถึง 10%

Deffense และ Tirtiaux (1985) [10] ศึกษาคุณลักษณะทางเคมีและฟิสิกส์ที่ได้จาก กระบวนการแยกที่แตกต่างกัน คือ กระบวนการแรกอาศัยการลดอุณหภูมิเหนียวทำให้เกิด การตกผลึกของของแข็งแยกออกจากส่วนของเหลว ซึ่งแบ่งย่อยได้ 2 วิธีการ คือ การลด อุณหภูมิลงอย่างรวดเร็วด้วย Tritiaux จากผลการทดลองพบว่า สเตียอริน และ โอเลอินที่ได้จาก แต่ละกระบวนการมีคุณลักษณะ ร้อยละผลได้ และค่าใช้จ่ายในการดำเนินการที่ต่างกัน โดย สเตียอรินที่ได้จากกระบวนการที่ 2 มีลักษณะของผลึกที่เล็ก มีค่าใช้จ่ายสูง แต่ให้ร้อยละผลได้ ของโอเลอินสูงถึง 77-83% ในขณะที่แบบที่แรกการลดอุณหภูมิลงอย่างรวดเร็วให้ร้อยละผลได้ ของโอเลอิน 60-63% และ การลดอุณหภูมิลงอย่างช้าด้วย Bernardini ซึ่งให้ร้อยละผลได้ของโอ เลอิน 60-72% อย่างไรก็ตามไม่ว่าลดอุณหภูมิลงอย่างรวดเร็วหรือช้าสเตียอรินที่ได้ก็มีลักษณะของ ผลึกที่ใหญ่

ปี 1977 Moreira และ คณะ [6] ศึกษาอิทธิพลของตัวกลางทำละลาย และ อุณหภูมิที่มีผลต่อการแยกสเตียรินออกจากโกลินของน้ำมันปาล์ม โดยใช้ตัวกลางทำละลาย 2 ชนิดผสมกันด้วยอัตราส่วนต่างกัน 8 ระดับ (ไม่ระบุอัตราส่วน) และทดลองที่อุณหภูมิ 10-20°C แยกทั้งสองส่วนออกจากกันโดยวิธีปั่นเหวี่ยง พบว่า ส่วนของโกลินมีความเข้มข้นของวิตามินอี (tocopherols) แคโรทีน (carotenes) และ กรด linoleic สูงกว่าที่วัดได้ในน้ำมันปาล์มดิบเริ่มต้น นอกจากนี้ได้ทำการทดลองถึงผลของอัตราส่วนของ ตัวกลางทำละลาย : น้ำมันปาล์มดิบต่อปริมาณของ olein โดยทำการทดลองที่อัตราส่วนต่างกัน 7 อัตราส่วน คือ 0:1 (ไม่ใช่ตัวกลางทำละลาย), 1:1, 1:1.6, 1:2, 1:3, 1:4 และ 1:5 แยกแต่ละส่วนโดยใช้เครื่อง alfa – laval รุ่น LAPX202 ที่อุณหภูมิ 29 °C พบว่า การใช้อัตราส่วนของ ตัวกลางทำละลาย : น้ำมันปาล์มดิบ ที่ 2:1 ให้ปริมาณของ olein มากที่สุด คือ 73.1% ซึ่งใกล้เคียงกับการใช้อัตราส่วนที่ 1:1 ซึ่งให้ปริมาณของโกลิน 72.5%

ระดับความเป็นพิษของตัวกลางทำละลาย

ปัจจัยสำคัญประการหนึ่งที่ต้องตระหนักถึงเมื่อมีการใช้ตัวกลางทำละลายเพื่อแยกสเตียริน และ โกลินโดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อต้องการนำผลผลิตมาใช้ในการบริโภค คือ ระดับความเป็นพิษของสารตกค้าง ในทางสากลได้กำหนดระดับความเป็นพิษของสารประกอบชนิดต่างๆเป็นค่า lethal dose 50 (LD₅₀) ซึ่งหมายถึงปริมาณที่ทำให้สัตว์ทดลองตายจำนวนครึ่งหนึ่ง (50%) ของจำนวนเริ่มต้นที่ได้รับสารนั้นเพียงครั้งเดียว โดยกำหนดระยะเวลาเฝ้าสังเกตการตายภายใน 2 สัปดาห์ อย่างไรก็ตามเนื่องจากสัตว์ทดลองชนิดเดียวกันอาจมีน้ำหนักตัวแตกต่างกันหรือในบางกรณีอาจทำการทดสอบกับสัตว์ต่างชนิดกัน ดังนั้นการกำหนดมาตรฐานจึงต้องบ่งเป็นปริมาณของสารนั้นๆต่อน้ำหนัก รวมทั้งวิธีการได้รับสารของสัตว์ทดลองที่ใช้ เช่น LD₅₀ (oral) ของ benzene ในหนู (rat) เท่ากับ 4,900 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม นอกจากนั้นมาตรฐานสากลยังกำหนดระดับความเป็นพิษของสารไว้ 4 ระดับตั้งแต่มากไปหาน้อยดังแสดงในตารางที่ 1 สำหรับข้อมูลที่แสดงถึงระดับความเป็นพิษของตัวทำละลายแต่ละชนิดที่ใช้ในงานวิจัยนี้แสดงไว้ในภาคผนวกที่ 7

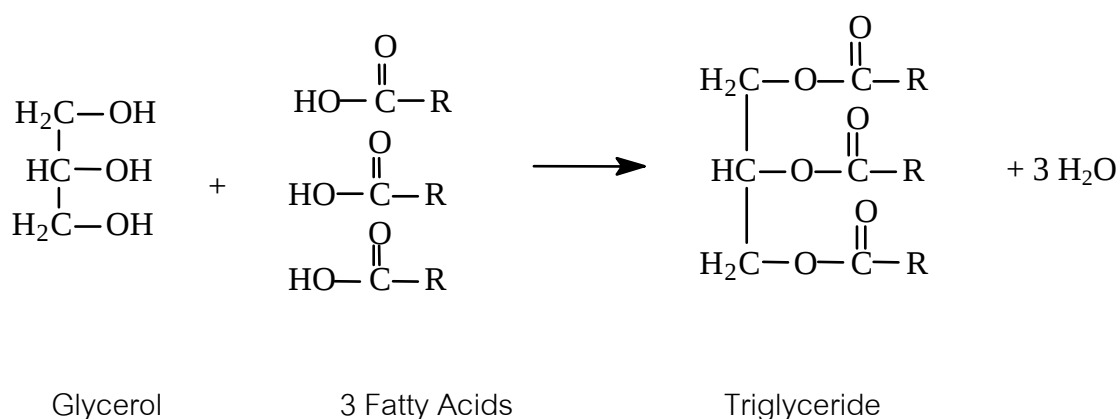
ตารางที่ 1 ระดับความเป็นพิษของสารเคมีเมื่อหนุ่ทดลองได้รับทางปากเพียงครั้งเดียว

Toxicity rating	Commonly used term	mg/kg
1	Extremely toxic	1 or less
2	Highly toxic	1-50
3	Moderately toxic	50-500
4	Slightly toxic	500-5000
5	Practically non-toxic	5000-15,000
6	Relatively harmless	15,000 or more

ที่มา : <http://www.ccohs.ca/oshanswers/chemicals/ld50.html> [21]

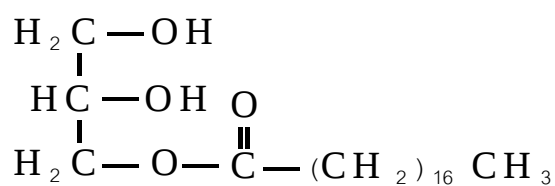
คุณสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของกลีเซอไรด์

กลีเซอไรด์เกิดจากปฏิกิริยาเอสเตอริฟิเคชัน (esterification) ระหว่างหมู่ alcohol (–OH) ของ glycerol และ carboxylic acid (–COOH) ของกรดไขมัน เมื่อนำ glycerol 1 mole ทำปฏิกิริยากับกรดไขมัน 1, 2 และ 3 mole ผลผลิตที่ได้ คือ โมโนกลีเซอไรด์ (monoglyceride), ไดกลีเซอไรด์ (diglyceride) และ ไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 5, 6 และ 7



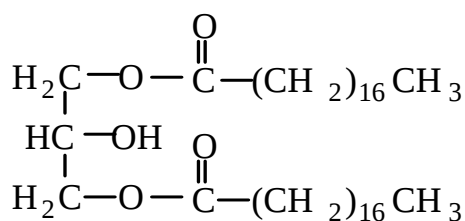
รูปที่ 4 ปฏิกิริยาเอสเตอริฟิเคชัน (esterification)

ที่มา: <http://www.mpopc.org.my/qrpof.htm> [12]

Monoglyceride (α - monostearin)

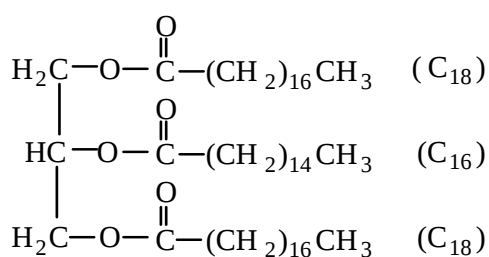
รูปที่ 5 โครงสร้างของโมโนกลีเซอไรด์ (monoglyceride)

ที่มา: <http://www.mpopc.org.my/qrpof.htm> [12]

Diglyceride (α, α' - distearin)

รูปที่ 6 โครงสร้างของไดกลีเซอไรด์ (diglyceride)

ที่มา: <http://www.mpopc.org.my/qrpof.htm> [12]

Triglyceride (β - palmityl distearin)

รูปที่ 7 โครงสร้างของไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride)

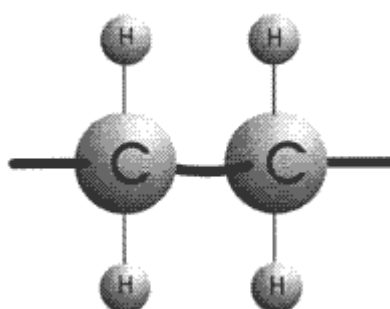
ที่มา: <http://www.mpopc.org.my/qrpof.htm> [12]

ปัจจัยที่มีผลต่อคุณสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของไตรกลีเซอไรด์

เนื่องจากไตรกลีเซอไรด์เป็นส่วนประกอบหลักของน้ำมันปาล์ม ดังนั้นคุณสมบัติทั้งทางเคมีและฟิสิกส์ของน้ำมันปาล์มจึงขึ้นอยู่กับชนิดของไตรกลีเซอไรด์หรือกรดไขมันที่เป็นส่วนประกอบซึ่งอาจแตกต่างกันได้ด้วยปัจจัยดังต่อไปนี้

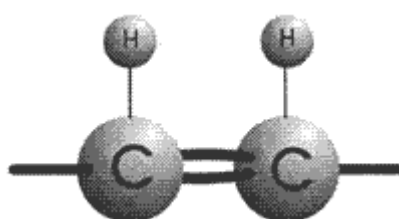
1. ระดับความไม่อิ่มตัว (degree of unsaturation) ของกรดไขมัน

กลีเซอไรด์ที่ประกอบด้วยกรดไขมันอิ่มตัว saturated fatty acid (ดังแสดงในรูปที่ 8) สูงจะมีจุดหลอมเหลว (melting point) สูงด้วย ดังนั้น tripalmitin (C16:0 เป็นองค์ประกอบ) และ tristearin (C18:0 เป็นองค์ประกอบ) จึงมีสภาพเป็นของแข็งที่อุณหภูมิห้อง ในทางที่กลับกันกลีเซอไรด์ที่ประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัว unsaturated fatty acid (ดังแสดงในรูปที่ 9) สูงจะมีจุดหลอมเหลวต่ำ ดังนั้น triolein (C18:1 เป็นองค์ประกอบ) และ trilinolein (C18:2 เป็นองค์ประกอบ) จึงมีสภาวะเป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้อง คุณสมบัตินี้สอดคล้องกับจุดหลอมเหลวของกรดไขมันแต่ละชนิดดังแสดงในตารางที่ 2



รูปที่ 8 พันธะในกรดไขมันอิ่มตัว

ที่มา : http://www.iseo.org/ffo_6-7.htm [22]



รูปที่ 9 พันธะในกรดไขมันไม่อิ่มตัว

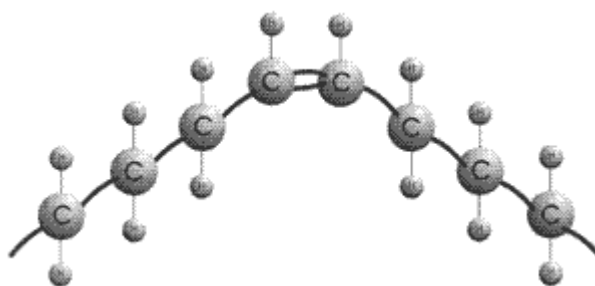
ที่มา : http://www.iseo.org/ffo_6-7.htm [22]

2. น้ำหนักโมเลกุล (molecular weight)

กรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนอะตอมสูงหรือน้ำหนักโมเลกุลมากกว่าจะมีจุดหลอมเหลวสูงกว่ากรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนอะตอมต่ำกว่า (ดังแสดงในตารางที่ 2)

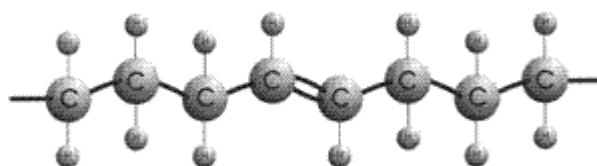
3. โครงสร้างไอโซเมอร์ (isomer)

สารที่เป็น isomer กัน คือ สารที่มีสูตรโมเลกุลเหมือนกันแต่มีโครงสร้างที่ต่างกัน ทำให้คุณสมบัติทางฟิสิกส์ต่างกันด้วย เช่น *Cis*-oleic acid (C18:1) มีจุดหลอมเหลวต่ำกว่า *Trans*-elaidic acid (C18:1) (ดังแสดงในตารางที่ 1) ในรูปที่ 10 และรูปที่ 11 ได้แสดงโครงสร้างของสารที่เป็น isomer



รูปที่ 10 โครงสร้างไอโซเมอร์ชนิด Cis

ที่มา : http://www.iseo.org/ffo_6-7.htm [22]



รูปที่ 11 โครงสร้างไอโซเมอร์ชนิด Trans

ที่มา : http://www.iseo.org/ffo_6-7.htm [22]

ตารางที่ 2 จุดหลอมเหลวของกรดไขมันชนิดต่างๆ

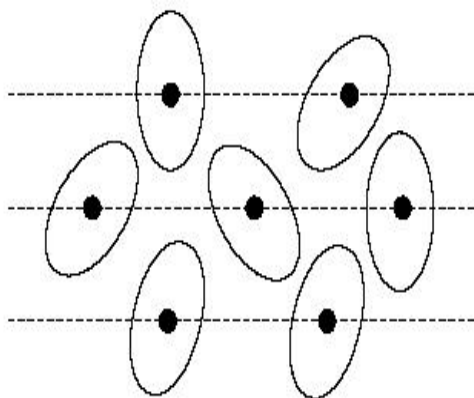
กรดไขมัน	จุดหลอมเหลว ($^{\circ}\text{C}$)
Lauric acid (C12:0)	44.2
Myristic acid (C14:0)	53.9
Palmitic acid (C16:0)	63.1
Stearic acid (C18:0)	69.6
<i>Cis</i> -Oleic acid (C18:1)	13.4
<i>Trans</i> -Elaidic acid (C18:1)	46.5*
Linoleic acid (C18:2)	-17

ที่มา : Biochemistry Lehninger [23]

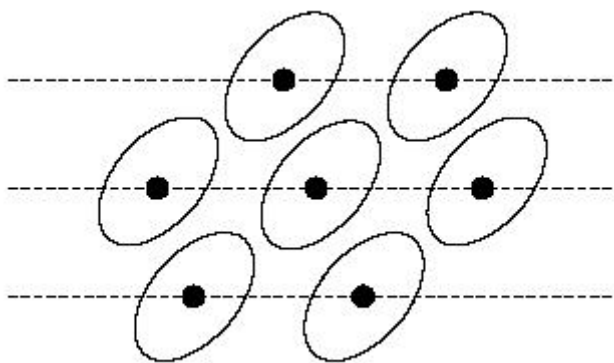
*ที่มา : <http://www.abscott.com.au/chemistry.html> [24]

อันยรูปของไตรกลีเซอไรด์

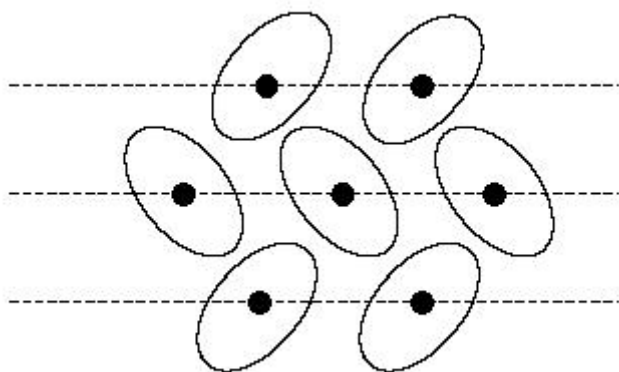
คุณลักษณะของไตรกลีเซอไรด์ในสเดียรนที่ไดจากกระบวนการแยกทางฟิสิกส์และเคมีอาจมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับการจัดเรียงตัวเป็นโครงสร้าง 3 มิติของไตรกลีเซอไรด์ โมเลกุล โครงสร้างดังกล่าวนี้เรียกว่าอันยรูป (polymorphism) การจัดเรียงนี้ตัวสามารถเกิดได้หลายรูปแบบขึ้นอยู่กัปัจจัยสำคัญ เช่น อุณหภูมิ ความดัน ตัวทำละลาย อัตราการตกผลึก และสารเจือปน เป็นต้น [25] แต่อย่างไรก็ตามการจัดเรียงตัวของไตรกลีเซอไรด์ที่พบทั่วไปมี 3 แบบ [26] คือ alpha (α) เป็นรูปผลึกที่มีโมเลกุลเกาะกันอย่างหลวมๆ มีความเสถียรต่ำสุด แบบ beta (β) เป็นรูปผลึกที่มีโมเลกุลเกาะกันแน่น และ แบบ beta-prime (β') เป็นวัฏภาคที่มีจุดหลอมเหลวสูงและยังมีความเสถียรสูงสุด ซึ่งโครงสร้างของการจัดเรียงตัวและจุดหลอมเหลวของผลึก ทั้ง 3 แบบ ได้แสดงไว้ดังรูปที่ 12 และ รูปที่ 13 ตามลำดับ



การจัดเรียงผลึกแบบ alpha (α)



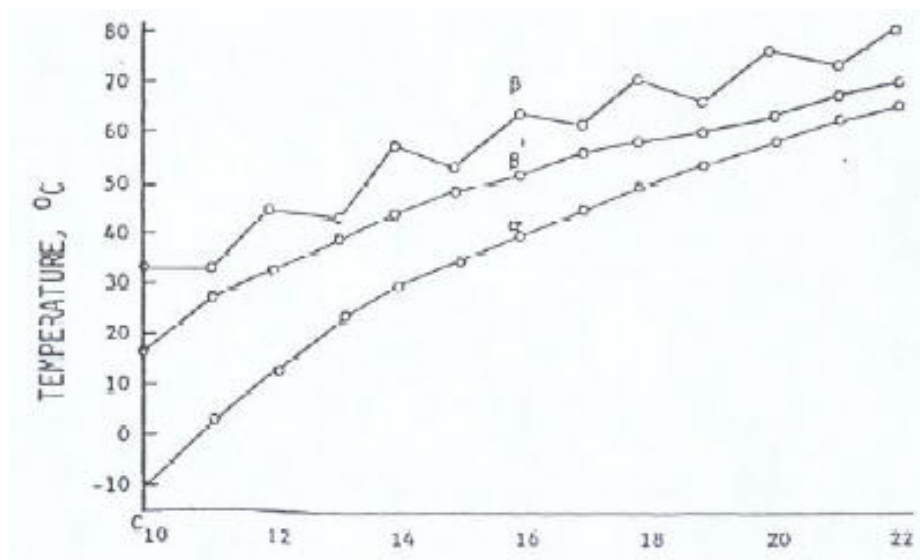
การจัดเรียงผลึกแบบ beta (β)



การจัดเรียงผลึกแบบ beta-prime (β')

รูปที่ 12 แสดงการจัดเรียงผลึกของไตรกลีเซอไรด์

ที่มา : <http://class.fst.ohio-state.edu/fst821/Lect/polymor.pdf> [27]



จำนวนคาร์บอน

รูปที่ 13 แสดงจุดหลอมเหลวของไตรกลีเซอไรด์ที่จำนวนคาร์บอนต่างๆ

ที่มา : <http://class.fst.ohio-state.edu/fst821/Lect/polymor.pdf> [27]

จากรูปที่ 13 จะเห็นได้ว่าการเปลี่ยนแปลงของอันตรูปเริ่มเกิดจากอุณหภูมิต่ำไปสูง ดังนี้

Alpha (α) $\longrightarrow$ Beta-prime (β') $\longrightarrow$ Beta (β) $\longrightarrow$ ของเหลว

พบว่าไตรกลีเซอไรด์ที่มีกรดไขมันอิ่มตัวชนิดเดียวกันมักมีการจัดเรียงตัวของผลึกในลักษณะของ β ส่วนไตรกลีเซอไรด์ที่มีกรดไขมันอิ่มตัวต่างชนิดกันมักมีการจัดเรียงตัวของผลึกในลักษณะของ β' โดยอันตรูปนี้จะเกิดขึ้นเร็วหรือช้าขึ้นอยู่กับจำนวนคาร์บอนและความสมมาตรของไตรกลีเซอไรด์ ในกรณีที่ไฮโดรคาร์บอนเป็นเป็นจำนวนคู่และมีไตรกลีเซอไรด์ที่สมมาตรอันตรูปนี้จะเกิดขึ้นได้เร็ว ในทางกลับกันในกรณีที่ไฮโดรคาร์บอนเป็นเป็นจำนวนคี่และมีไตรกลีเซอไรด์ที่ไม่สมมาตรอันตรูปก็จะเกิดช้า [26]

ในปี 2005 Edward และ คณะ [28] ได้ทำการศึกษาการเปลี่ยนสภาวะของอันตรูปจาก $\beta' \longrightarrow \beta$ ของของผสม 5 ตัวอย่าง โดยของผสมที่ได้เกิดจากการนำเอา น้ำมันจากเมล็ด rapeseed, น้ำมันถั่วเหลือง, น้ำมันปาล์ม และ น้ำมันมะพร้าว มาผสมในอัตราส่วนต่างๆ (ไม่

ระบุอัตราส่วนที่ใช้ในการผสม) พบว่าการที่ของผสมจากตัวอย่างที่ 2 และ 5 มีปริมาณของกรด palmitic มากกว่าของผสมจากตัวอย่างที่ 1, 3 และ 4 ไม่ได้มีผลต่ออัตราการเปลี่ยนสถานะของอเนกูป แต่อย่างไรก็ตามปริมาณที่เพิ่มขึ้นของกรด stearic และ *trans-elaidic* ในของผสมตัวอย่างที่ 1, 3 และ 4 ก็เป็นการเพิ่มความเสถียรภาพให้กับอเนกูปแบบ β'

บทที่ 3

วัสดุและอุปกรณ์

ตัวอย่างน้ำมันปาล์มดิบและการเก็บรักษา

น้ำมันปาล์มดิบที่ใช้ตลอดการทดลองนี้ผลิตโดย บริษัท สตุล อินดัสตรี จำกัด จังหวัด สตุล โดยการบีบอัดเฉพาะส่วนเปลือกนอก (mesocarp) เพื่อลดตัวแปรจากกระบวนการผลิต จึงเก็บตัวอย่างจากการผลิตชุดเดียวกัน นำตัวอย่างน้ำมันมาแบ่งและเก็บในขวดแก้ว (Schott Duran) ใส่อากาศภายในออกด้วยก๊าซไนโตรเจน (oxygen free nitrogen; OFN) ปิดฝาขวด ให้แน่นพันให้สนิทด้วยพาราฟิล์มแล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4°C ระหว่างรอนำไปทดลองเพื่อ ป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชันและรักษาคุณสมบัติอื่นๆให้คงที่



รูปที่ 14 ตัวอย่างน้ำมันปาล์มดิบ

สารเคมี

ชื่อสารเคมี	ผู้ผลิต/เกรด
1. Acetone	Lab-Scan/Analyticals, U.S.A.
2. Ethanol	BDH/Analyticals, U.S.A.
3. 2-Propanol	Lab-Scan/Analyticals, U.S.A.
4. 1-Butanol	Lab-Scan/Analyticals, U.S.A.
5. Diethylether	Lab-Scan/Analyticals, U.S.A.
6. Chloroform	BDH/Analyticals, U.S.A.
7. Methanol	BDH/Analyticals, U.S.A.
8. Hexane	Lab Scan/Analyticals, U.S.A.
9. Benzene	Lab-Scan/Analyticals, U.S.A.
10. Standard fatty acids	Sigma และ Supelco, U.S.A.
11. Standard tristearin	Sigma, U.S.A.
12. Potassium hydroxide	CARLOERBA/Analyticals, U.S.A.
13. Sulfulic acid	BDH/Analyticals, U.S.A.
14. Sodium metaperiodate	CARLOERBA/Analyticals, U.S.A.
15. Sodium metabisulphite	UNIVAR/Analyticals, U.S.A.
16. Chromotopic acid	FLUKA/Analyticals
17. Thiourea	BDH/Analyticals, U.S.A.
18. Boron trifluoride, BF_3 (14% in mathanol)	Merck/Analyticals, U.S.A.
19. ก๊าซไนโตรเจน oxygen free nitrogen (OFN)	Thai Industrial Gas (TIG)
20. ไนโตรเจนเหลว	ภาควิชาฟิสิกส์, คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

อุปกรณ์

ชื่ออุปกรณ์	ผู้ผลิต/รุ่น
1. Gas Liquid Chromatography	Hewlett Packard, 5890, U.S.A.
2. UV-visible spectrophotometer	Milton Roy, U.S.A.
3. Differential Scanning Calorimetry	Perkin Elmer 7 DSC, U.S.A.
4. Aluminium Pan	Perkin Elmer, U.S.A.
5. Refrigerated super speed centrifuge	Backham, J-30I
6. เครื่องชั่งความละเอียด 0.001 กรัม	Mettler, AE240 Switzerland
7. High performance vacuum	Franklin electric, U.S.A.
8. Vacuum pump	Waters, U.S.A.
9. ตู้แช่ : อุณหภูมิ 25, 0, -25, -80°C	ภาควิชาชีวเคมี, คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
10. ห้องเย็นที่มีอุณหภูมิ 0-4°C	ภาควิชาชีวเคมี, คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
11. ตู้อบลมร้อน (hot air oven)	WTB binder, Memmert
12. เครื่องเขย่า	Vortex, Genie 2, U.S.A.
13. Sinter glass ASTM 40-60C	Kimax, U.S.A.
14. กระดาษกรอง	Wattman No.1, U.S.A.

บทที่ 4

อิทธิพลของตัวกลางทำละลายต่อเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสเตียรินจากน้ำมันปาล์มดิบซึ่งแยกด้วยวิธีปั่นเหวี่ยง

ก่อนการศึกษาถึงอิทธิพลของตัวกลางทำละลายผู้ทำการทดลองได้ตรวจสอบเอกสารพบว่า สัดส่วนของของแข็งและของเหลวหลังการเหวี่ยงแยก นอกจากจะขึ้นอยู่กับตัวกลางทำละลายที่ผสมอยู่นั้น ยังขึ้นอยู่กับอุณหภูมิด้วย ซึ่งสมมติฐานเบื้องต้นก่อนการทดลอง คาดว่าของแข็งที่แยกได้จากอุณหภูมิที่ต่างกันน่าจะมีคุณลักษณะที่ต่างกัน เนื่องจากอุณหภูมิมีผลต่อคุณลักษณะและปริมาณของกรดไขมัน และถึงแม้ว่ากรดไขมันส่วนใหญ่ของน้ำมันปาล์มดิบ (CPO) ประกอบด้วยกรด palmitic (C16:0) และกรด oleic (C18:1) โดยกรดไขมันทั้งสองชนิดนี้มีจุดหลอมเหลวที่ 63°C และ 13°C ตามลำดับ ซึ่งที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0°C จะทำให้ CPO มีคุณสมบัติเป็นของแข็ง แต่อย่างไรก็ตาม กรดไขมันทั้งสองชนิดเมื่อผสมอยู่ใน CPO อยู่ในลักษณะของของผสม และต้องเชื่อมต่อกับกลีเซอรอล glycerol เพื่อประกอบเป็นไตรกลีเซอไรด์ ซึ่งยังไม่พบผู้ใดรายงานได้ว่า การจัดเรียงตัวของกรดไขมันในไตรกลีเซอไรด์มีลักษณะอย่างไร เมื่อพิจารณาข้อมูลที่มีเกี่ยวกับองค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันปาล์มดิบยังพบอีกว่ามีส่วนประกอบของกรด linoleic (C18:2) ซึ่งมีจุดหลอมเหลวที่ -17°C ซึ่งอาจจะทำให้มีสเตียรินบางส่วนที่สามารถแยกออกจาก CPO ได้ ดังนั้นผู้ทำการทดลองจึงได้ทำการทดลองที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0°C โดยออกแบบการทดลอง คือ นำน้ำมันปาล์มดิบซึ่งเก็บรักษาไว้ดังรายละเอียดในบทที่ 3 มาค่อยๆ หลอมละลายให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยความร้อน ซึ่งตัวอย่าง 10 กรัมลงในหลอด centrifuge นำไปวางที่ 25, 0, -25 และ -80°C จนกระทั่งอุณหภูมิสมดุลทั่วทั้งหลอด แล้วปั่นเหวี่ยงด้วย supper speed centrifuge ที่ 7,740g อุณหภูมิ 0°C เป็นเวลา 20 นาที ยกเว้นกรณีของตัวอย่างที่ศึกษาที่อุณหภูมิ 25°C ปั่นเหวี่ยงที่ 7,740g อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 20 นาที ซึ่งตัวอย่างที่สภาวะอุณหภูมิ 0, -25 และ -80°C ได้แยกตะกอนหรือสเตียรินออกในห้องเย็นอุณหภูมิ $0-4^{\circ}\text{C}$ ด้วยชุดกรองความดันต่ำ ส่วนตัวอย่างที่สภาวะอุณหภูมิ 25°C แยกสเตียรินออกที่อุณหภูมิ 25°C โดยผลจากการทดสอบ พบว่า มีเพียงสภาวะการทดลองที่อุณหภูมิห้อง (25°C) เท่านั้นที่เกิดการแยกของสเตียรินและโอเลิน ในขณะที่การทดลองที่อุณหภูมิ 0 -25 และ -80°C ตัวอย่างน้ำมันมีสภาพเป็นของแข็งจึงไม่สามารถ

แยกเอาตะกอนของสเตียรินออกมาได้ ซึ่งที่สภาวะอุณหภูมิห้องผู้ทำการทดลองล้างสเตียรินเพื่อชะไขมันที่ปนอยู่ออกไปด้วย acetone แล้วระเหย acetone ออกจากสเตียรินภายใต้สภาวะสุญญากาศด้วย high performance vacuum จนมีน้ำหนักคงที่ (โดยการชั่งน้ำหนัก) บันทึกน้ำหนักที่ได้เพื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์ผลได้ (yield) ด้วยเหตุนี้ผู้ทำการทดลองจึงเลือกสภาวะที่อุณหภูมิ 25°C ศึกษาพร้อมกับอิทธิพลของตัวกลางทำละลาย ตามวิธีการดังแสดงในหัวข้อ 4.1

4.1 วิธีการทดลอง

นำน้ำมันปาล์มดิบซึ่งเก็บรักษาไว้ดังรายละเอียดในบทที่ 3 มาค่อยๆ หลอมละลายให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยความร้อน ซึ่งตัวอย่าง 10 กรัมลงในหลอด centrifuge เติมตัวกลางทำละลายที่ต้องการศึกษาตามลำดับ polarity จากสูงไปหาต่ำ 5 ชนิด คือ acetone, ethanol, 1-butanol, 2-propanol, และ diethyl ether ปริมาตร 10 มิลลิลิตร (อัตราส่วนน้ำมันตัวอย่าง: ตัวกลางทำละลาย 1:1; น.น./ปริมาตร) เขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วย vortex ป้องกันการระเหยของตัวกลางทำละลายระหว่างทดลองโดยปิดปากหลอดด้วย aluminium foil แล้วพันทับด้านข้างด้วยพาราฟินตึงทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25°C) นานกว่า 12 ชั่วโมง เพื่อให้แน่ใจว่าเกิดการตกตะกอนของของแข็งอย่างสมบูรณ์ นำไปปั่นเหวี่ยงด้วย super speed centrifuge ที่ 7,740g อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นจึงแยกสเตียรินออกด้วยชุดกรองลดความดันที่อุณหภูมิห้อง ชะโลลีนที่ปนอยู่ด้วยตัวกลางทำละลายชนิดเดียวกัน นำสเตียรินที่ได้ไประเหยตัวทำกลางทำละลายออกด้วย high performance vacuum จนกระทั่งน้ำหนักคงที่ (โดยการชั่งน้ำหนัก) บันทึกน้ำหนักที่ได้เพื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์ผลได้ เก็บตัวอย่าง สเตียรินในขวด vial ระหว่างรอการทดสอบคุณสมบัติอื่นๆ แต่ละสภาวะทำการทดลอง 4 ซ้ำ

4.2 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ตารางที่ 3 แสดงปริมาณของสเตียรินที่แยกได้จาก CPO ที่อุณหภูมิห้องด้วยตัวกลางทำละลายทั้ง 5 ชนิด คือ acetone, ethanol, 1-butanol, 2-propanol และ diethyl ether พบว่าเมื่อนำ ethanol เป็นตัวกลางทำละลายผสมกับน้ำมันปาล์มดิบ ทำให้สเตียรินแยกออกมาด้วยปริมาณมากที่สุด คือ 13.88% รองลงมาคือ 2-propanol, 1-butanol และ acetone ให้ปริมาณสเตียริน 12.88, 9.75 และ 9.05% ตามลำดับ ในขณะที่ diethyl ether

เป็นตัวกลางทำละลายที่มีค่า polarity ต่ำที่สุดให้ปริมาณของสเตียรินต่ำสุดเพียง 3.6% ซึ่งต่ำกว่าการแยก สเตียรินออกจาก CPO หลังจากการตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (10.58%) ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าปริมาณของสเตียรินไม่มีความสัมพันธ์โดยตรงกับระดับ polarity ของตัวกลางทำละลาย และระดับ polarity ที่เหมาะสมต่อการแยกเพื่อให้ได้ปริมาณของสเตียรินมากที่สุดน่าจะอยู่ในระดับ polarity ของ ethanol คือ 5.2 อย่างไรก็ตาม 2-propanol และ 1-butanol มีระดับ polarity ที่ใกล้เคียงกัน คือ 4 กับ 3.9 แต่ความสามารถในการละลายต่างกัน โดย ethanol และ 2-propanol มีความสามารถในการละลายเท่ากับและมีค่าสูงกว่าของ 1-butanol มาก ซึ่งอาจจะเป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ 1-butanol ให้ปริมาณของสเตียรินต่ำออกไป

ตารางที่ 3 ปริมาณของสเตียรินที่แยกได้โดยการใช้ตัวกลางทำละลายชนิดต่างๆและสเตียรินที่แยกโดยไม่ใช้ตัวกลางทำละลาย จาก CPO ผลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ S.D (จากการทดลอง 4 ซ้ำ)

ตัวอย่าง	ปริมาณของสเตียริน (%)
CPO ที่ไม่เติมตัวทำละลาย	10.58 $\pm$ 0.22
Acetone	9.05 $\pm$ 0.64
Ethanol	13.88 $\pm$ 1.42
1-Butanol	9.75 $\pm$ 0.57
2-Propanol	12.88 $\pm$ 0.80
Diethyl ether	3.60 $\pm$ 0.47

Ong [29] รายงานผลการแยกสเตียริน และ โอลีน ออกจากน้ำมันปาล์มดิบด้วย Alfa-Laval separator LAPX 202 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 52 มิลลิเมตร 8200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 29°C พบว่า เมื่อน้ำมันปาล์มดิบผสมกับตัวกลาง คือ water:isopropanol (45:55) ด้วยอัตราส่วน 1:1 (vol/vol) สามารถแยกปริมาณสเตียรินได้ 27.5% อย่างไรก็ตาม เป็นที่น่าสังเกตว่าเมื่อน้ำมันปาล์มดิบตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องแล้วนำมาปั่นแยกโดยตรงโดย

ไม่ใช้ตัวกลางให้ปริมาณสเตียรินสูงถึง 45% ซึ่งจากผลการทดลองในงานวิจัยนี้ เมื่อใช้ตัวทำละลาย 2-propanol เพียงชนิดเดียวให้ปริมาณสเตียริน 12.88% ซึ่งคำนวณเป็นปริมาณโกลินได้ 87.12% และให้ปริมาณสเตียริน 10.58% ซึ่งคำนวณเป็นปริมาณโกลิน 89.42% เมื่อไม่มีการเติมตัวทำละลาย ซึ่งทั้ง 2 กรณีให้ปริมาณสเตียรินที่ต่างกัน แต่อย่างไรก็ตามคาดว่าจะการใช้ตัวทำละลายเพียงชนิดเดียวน่าจะมีประโยชน์ในทางปฏิบัติมากกว่าเพราะสามารถลดต้นทุนการผลิตโดยนำกลับมาใช้ใหม่ได้ง่ายกว่าการใช้ตัวกลางทำละลาย 2 ชนิดผสมกัน

บทที่ 5

ส่วนประกอบกลีเซอไรด์ และกรดไขมันของน้ำมันปาล์มดิบและสเตียรีนที่แยกด้วย ตัวกลางทำละลายโดยการปั่นเหวี่ยง

5.1 วิธีการทดลอง

5.1.1 การวิเคราะห์ปริมาณกลีเซอไรด์

การวิเคราะห์ปริมาณของกลีเซอไรด์ในการทดลองนี้วิเคราะห์โดยวิธีการเทียบสี (colorimetric technique) ซึ่งดัดแปลงจากวิธีการทดลองที่แนะนำโดย Handel และ Smith [28,29] อย่างไรก็ตามเนื่องจากน้ำมันปาล์มดิบประกอบด้วยไตรกลีเซอไรด์มากกว่า 90% และ มีสารสอดแทรก (interferences) ที่อาจส่งผลกระทบต่อความแม่นยำของการวิเคราะห์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเป็นสารที่มี glycerol เป็นโครงสร้างของโมเลกุล เช่น phospholipids น้อยมาก [30] โดยปริมาณ (%) ที่วิเคราะห์ได้สามารถคำนวณเป็นปริมาณของไตรกลีเซอไรด์รวมกับปริมาณของไดกลีเซอไรด์และโมโนกลีเซอไรด์

สารละลายไตรกลีเซอไรด์ที่ใช้สร้างกราฟมาตรฐาน คือ tristearin ซึ่งเตรียมโดยนำมาละลายใน คลอโรฟอร์ม:เมทานอล 2:1 ให้มี 5 ระดับความเข้มข้น (250, 500, 750, 1000 และ 1500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) สำหรับตัวอย่างน้ำมันปาล์มดิบและสเตียรีนที่ต้องการวิเคราะห์ เตรียมเป็นสารละลายให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในตัวทำละลายเดียวกัน ดูดสารละลายมาตรฐานและสารละลายตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองแล้วระเหยตัวทำละลายในตู้อบลมร้อนที่มีอุณหภูมิ 60-70°C แล้วทำปฏิกิริยา saponification ด้วย 0.5 มิลลิลิตร 1% alcoholic KOH ในตู้อบที่มีอุณหภูมิ 60-70°C เป็นเวลา 20 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เติม 0.5 มิลลิลิตร ของ H_2SO_4 ความเข้มข้น 0.6% นำไปวางในตู้อบที่มีอุณหภูมิ 60-70°C 10 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เติม 0.1 มิลลิลิตร 0.5% sodium metaperiodate แล้ววางทิ้งไว้ 10 นาที จากนั้นเติมสารละลาย 0.1 มิลลิลิตร 5% sodium metabisulphite ปิดฝาแล้ววางทิ้งไว้ 10 นาที จากนั้นจึงทำให้เกิดสีโดยเติม 3 มิลลิลิตร ของ 2.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร chromotropic acid reagent เตรียมตามรายละเอียดวิธีการในภาคผนวกที่ 1 นำไปวางในน้ำเดือดเป็นเวลา 30 นาที (ซึ่งในระหว่างนี้สารผสมจะเกิดการ

เปลี่ยนสีเป็นสีม่วง) ทำให้เย็นแล้วเติม 0.3 มิลลิลิตร 7% thiourea เพื่อเพิ่มความอยู่ตัวของสี โดยในทุกขั้นตอนของปฏิกิริยาทำการเขย่าสารผสมให้เข้ากันดีด้วย Vortex นำสารละลายที่ได้ วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV-visible spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร

5.1.2 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดไขมัน

5.1.2.1 การเตรียม fatty acid methyl esters (FAME)

เนื่องจากชนิดและปริมาณของกรดไขมันในน้ำมันปาล์มดิบและสเตียรีนดำเนินการวิเคราะห์ด้วย gas liquid chromatography (GC) จึงนำตัวอย่างไขมันมาทำปฏิกิริยา esterification กับ BF_3 ใน methanol เพื่อเปลี่ยนกรดไขมันไปเป็น fatty acid methyl esters (FAME) ตามวิธีที่แนะนำโดย Morrison และ Smith [31] อย่างไรก็ตามการทดลองนี้ได้ดัดแปลงวิธีเป็นระบบปิดเพื่อลดโอกาสการเกิดปฏิกิริยา oxidation โดยเตรียมสารละลายตัวอย่างไขมันใน hexane ให้มีความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ใช้ปิเปตดูดสารละลายตัวอย่าง 10 มิลลิกรัม ใส่ใน ampule ระเหยตัวทำละลายให้แห้งด้วยก๊าซไนโตรเจน (OFN) แล้วเติม BF_3 (14% ใน methanol) 1 มิลลิลิตร ค่อยๆหยด benzene จนกระทั่งทุกส่วนละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ไล่ออกซิเจนด้วย OFN ก่อนปิด ampule โดยใช้เปลวไฟหลอมปิดให้สนิท นำไปวางในตู้อบลมร้อนที่ 100°C เป็นเวลา 45 นาที เพื่อให้ปฏิกิริยาเกิดขึ้นสมบูรณ์ หลังจากตั้งทิ้งไว้ให้เย็นตัด ampule ออกแล้วดูดสารละลายที่ได้ลงในกระบอกตวง เติมน้ำลงไป 1 เท่า และ hexane 2 เท่า ของสารละลาย เขย่าของผสมแรงๆและตั้งทิ้งไว้จนกระทั่งแยกเป็น 2 ชั้น ดูดเอาชั้นของ hexane ซึ่งมี FAME ผสมอยู่ ออกมาให้สมบูรณ์ ระเหย hexane ออกด้วย OFN แล้วละลายกลับด้วยตัวทำละลายเดิมปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้ความเข้มข้นเหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ด้วย gas liquid chromatography ตามสภาวะที่ศึกษาไว้ในข้อ 5.1

อย่างไรก็ตามพบว่าในกรณีของตัวอย่างสเตียรีนที่ได้จากการใช้ acetone, ethanol และ 1-butanol เป็นตัวกลางทำละลาย การทำปฏิกิริยา esterification ให้สมบูรณ์ต้องใช้เวลานานขึ้นเป็น 90 นาที สำหรับตัวอย่างไขมันดังกล่าวจึงใช้เวลานี้สำหรับการทำปฏิกิริยา

5.1.2.2 การทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมของการแยก fatty acid methyl esters (FAME) ด้วย gas chromatography (GC)

เครื่อง gas liquid chromatography (GC) ที่ใช้ในการทดลองนี้ผลิตโดย บริษัท Hewlett Packard, U.S.A. รุ่น 5890 ซึ่งประกอบด้วย PEG capillary column (HP-

Innowex) ความยาว 60 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร ความหนาของชั้นฟิล์ม 0.5 ไมโครเมตร โดยมี flame ionization detector (FID) เป็นอุปกรณ์วัดสัญญาณและแปลงค่า เป็นพื้นที่ได้กราฟพร้อมทั้งบันทึกข้อมูลโดย HP Chemstation และใช้ Helium (He) เป็น carrier gas

ประสิทธิภาพของการแยก (resolution) FAMES ชนิดต่างๆทำการทดสอบโดยฉีด 0.1 ไมโครลิตร ของสารละลายมาตรฐานที่มีส่วนผสมของ FAMES 34 ชนิด (Supelco, U.S.A.) ด้วย automatic sampler (HP 7673) เข้าสู่ injector port ที่อุณหภูมิ 220°C ผลการทดสอบพบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่ทำให้การแยกมีประสิทธิภาพสูงสุดคือใช้โปรแกรมอุณหภูมิของ oven เริ่มต้นที่ 50°C เป็นเวลา 2 นาที แล้วเพิ่มให้สูงขึ้นเป็น 220°C ด้วยอัตรา 4°C/นาที รักษาไว้ที่อุณหภูมินี้ 20 นาที จากนั้นจึงเพิ่มให้สูงขึ้นเป็น 250°C ด้วยอัตรา 30°C/นาที และรักษาไว้ที่อุณหภูมินี้อีก 30 นาที ทั้งนี้กำหนดอัตราการไหลของ carrier gas เป็น 2 มิลลิลิตร/นาที และตั้งอุณหภูมิของ detector ไว้ที่ 275°C

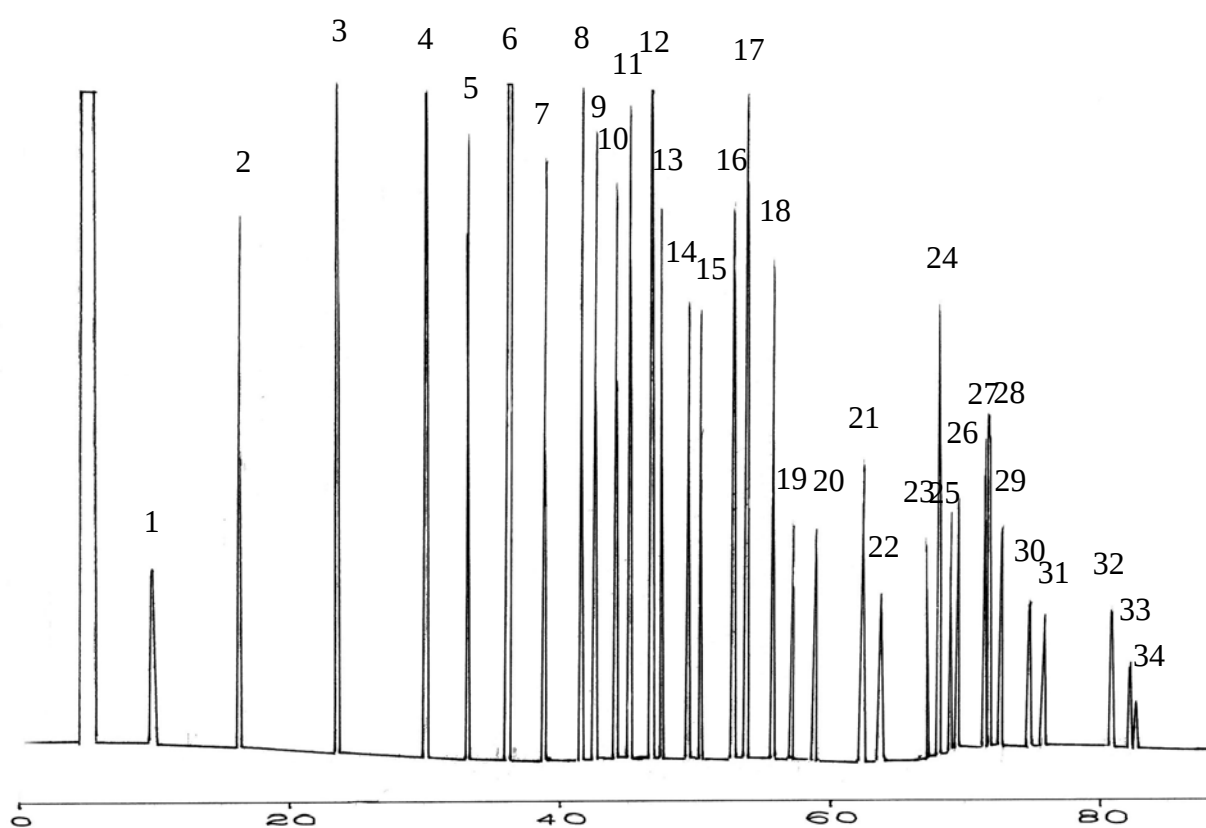
ซึ่งแต่ละตัวอย่างมีการทำ esterification 2 ซ้ำ และ แต่ละซ้ำทำการ inject 2 ซ้ำ แต่ในกรณีของสเตียรีนที่แยกได้จากการใช้ตัวทำละลาย acetone, ethanol และ 1-butanol มีการทำ esterification 1 ซ้ำ และ แต่ละซ้ำทำการ inject 2 ซ้ำ

5.1.2.3 การบ่งชนิดของ fatty acid methyl ester ใน chromatogram

นอกจากข้อมูลที่แสดงประสิทธิภาพการแยก FAMES มาตรฐานทั้ง 34 ชนิดด้วย column ชนิดนี้แล้ว การบ่งชนิดของ FAME ใน chromatogram สำหรับการทดลองนี้ใช้ค่า relative retention time (RRT) ของ FAME ที่เตรียมจากกรดไขมันบริสุทธิ์ (Sigma, U.S.A.) ชนิดนั้นๆประกอบด้วย (ดังรายละเอียดวิธีการเตรียมในหัวข้อ 5.1.2.2) ซึ่งคำนวณโดยใช้ค่า retention time (RT) ของ peak นั้น เทียบกับค่า RT ของ C16:0 ดังต่อไปนี้

$$\text{Relative Retention Time (RRT)} = \frac{\text{retention time of unknown fatty acid}}{\text{retention time of C 16:0}}$$

ในกรณีที่การใช้ค่า RRT ไม่มีความชัดเจนจะทดสอบยืนยันด้วยเทคนิค co-elution ของ FAME ชนิดนั้นๆ ประกอบ



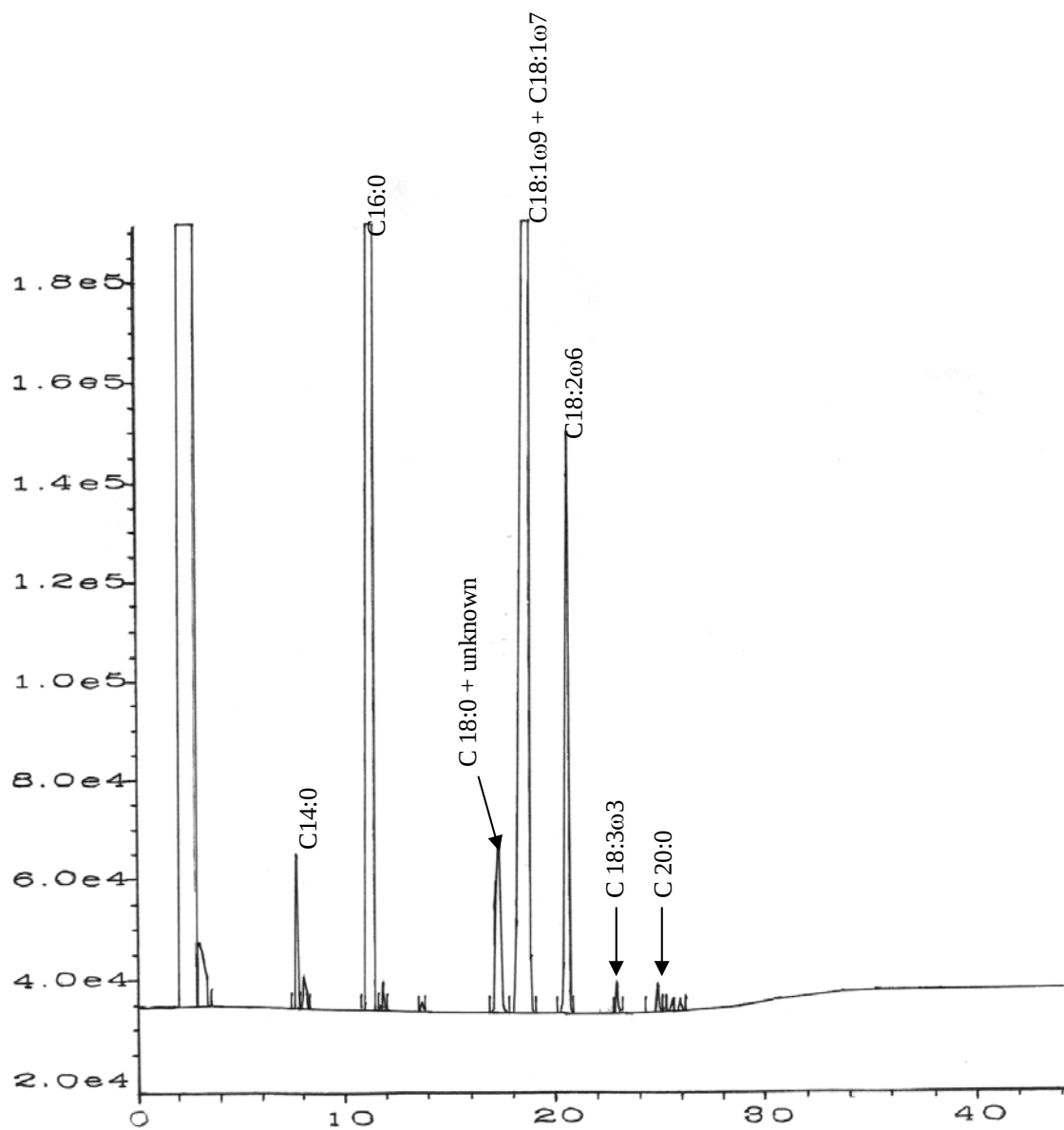
รูปที่ 15 Standard 34 Fatty Acid Methyl Ester

	สัญลักษณ์	ชื่อของกรดไขมัน
1.	C 4:0	Butyric acid methyl ester
2.	C 6:0	Caproic acid methyl ester
3.	C 8:0	Caprylic acid methyl ester
4.	C 10:0	Capric acid methyl ester
5.	C 11:0	Undecanoic acid methyl ester
6.	C 12:0	Lauric acid methyl ester
7.	C 13:0	Tridecanoic acid methyl ester
8.	C 14:0	Myristic acid methyl ester
9.	C 14:1	Myristoleic acid methyl ester
10.	C 15:0	Pentadecanoic acid methyl ester
11.	C 15:1	cis-10- Pentadecanoic acid methyl ester
12.	C 16:0	Palmitic acid methyl ester
13.	C 16:1	Palmitoleic acid methyl ester
14.	C 17:0	Heptadecanoic acid methyl ester
15.	C 17:1	cis-10- Heptadecanoic acid methyl ester
16.	C 18:0	Stearic acid methyl ester
17.	C 18:1	Oleic acid methyl ester
18.	C 18:2 ω 6	Linoleic acid methyl ester
19.	C 18:3 ω 6	ω - Linolenic acid methyl ester
20.	C 18:3 ω 3	Linolenic acid methyl ester
21.	C 20:0	Arachidic acid methyl ester
22.	C 20:1 ω 9	cis-11-Eicosenoic acid methyl ester
23.	C 20:3 ω 6	cis-8,11,14-Eicosatrienoic acid methyl ester
24.	C 21:0	Heneicosanoic acid methyl ester
25.	C 20:2 ω 6	cis-11,14-Eicosadienoic acid methyl ester
26.	C 20:3 ω 3	cis-11,14,17- Eicosatrienoic acid methyl ester
27.	C 20:4 ω 6	Arachidonic acid methyl ester

28.	C 22:0	Behenic acid methyl ester	
29.	C 22:1๑9	Erucic acid methyl ester	
30.	C 22:2	cis-13,15-Docosadienoic acid methyl ester	
31.	C 23:0	Tricosanoic acid methyl ester	
32.	C 24:0	Lignoceric acid methyl ester	
33.	C 24:1๑9	Nervonic acid methyl ester	
34.	C 22:6๑3	cis-4,7,10,13,16,19-Docosaheptaenoic acid methyl ester	
	C 19:0	Nonadecanoate	Internal standard

5.1.2.4 การทดสอบประสิทธิภาพการวิเคราะห์กรดไขมันในน้ำมันปาล์มดิบ

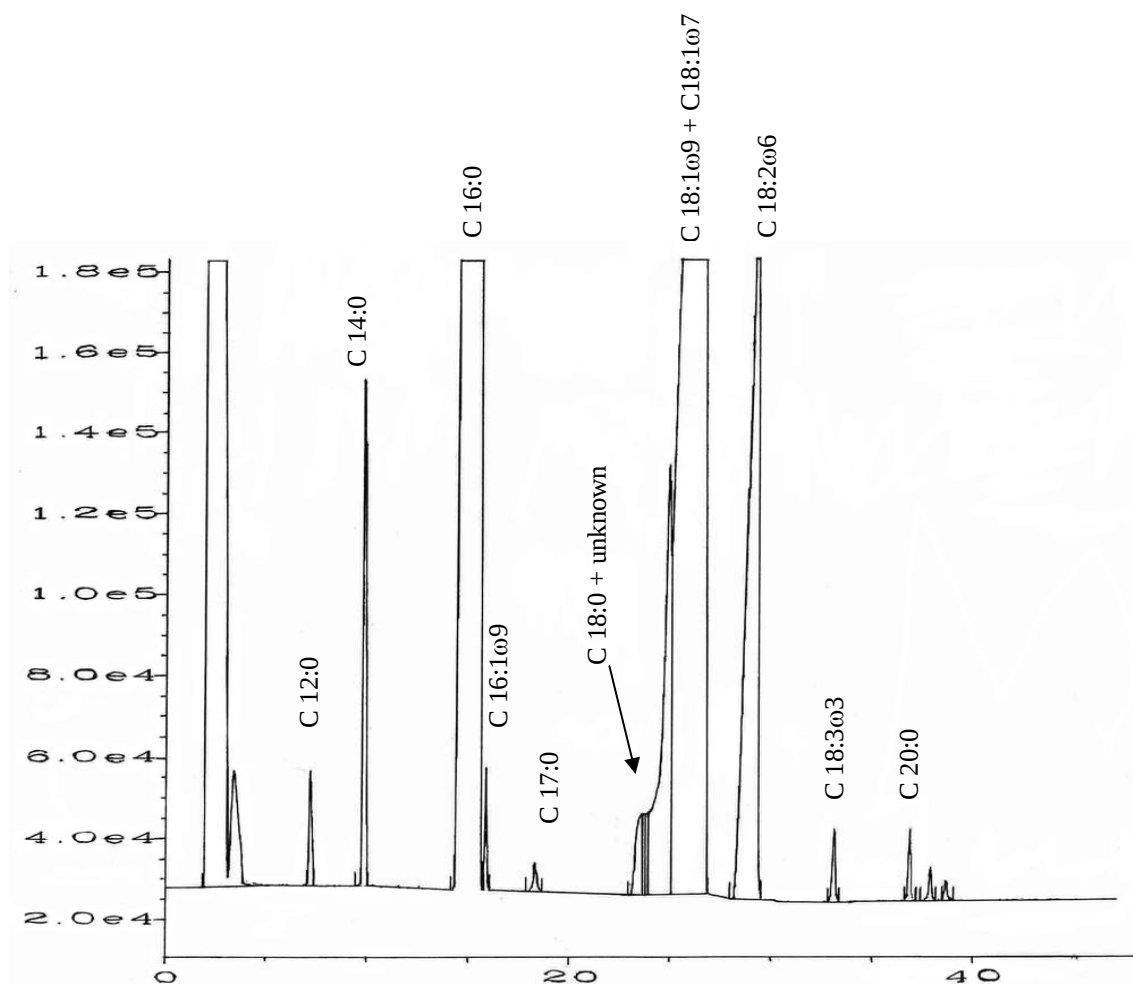
เพื่อประเมินความเหมาะสมของ chromatographic conditions ที่ศึกษาไว้ในข้อ 5.1.2.2 ว่าสามารถนำมาใช้เพื่อวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดไขมันในตัวอย่างหรือไม่ ทำการทดสอบโดยนำน้ำมันปาล์มดิบปริมาณ 10 ไมโครกรัม ซึ่งเตรียมในรูปสารละลายมาทำปฏิกิริยา esterification สกัดและเตรียมสารละลาย FAME ดังรายละเอียดในหัวข้อ 5.1.2.1 ฉีดสารละลาย FAME ที่ได้ ปริมาตร 1.0 ไมโครลิตร เข้าสู่ injector port แล้วทำการวิเคราะห์ด้วย chromatographic conditions ที่กำหนดในข้อ 5.1.2.2 พบว่าได้ chromatogram ดังแสดงในรูปที่ 16



รูปที่ 16 Fatty acid profile ของน้ำมันปาล์มดิบที่ความเข้มข้นต่ำ

ผลจากการทดลองนี้พบว่าไม่ปรากฏ peak ของ C18:0 ที่ชัดเจน แต่มี peak หนึ่งซึ่งมีลักษณะไม่สมมาตรและมีค่า RRT ใกล้เคียงกับ C18:0 จึงเป็นไปได้ว่าน่าจะเป็นผลมาจากมีสารประกอบอื่นถูกชะออกมาปนอยู่ด้วย นอกจากนั้นเป็นที่น่าสังเกตว่าน้ำมันปาล์มดิบประกอบด้วยกรดไขมันบางชนิดด้วยปริมาณต่ำมากเมื่อเทียบกับกรดไขมันหลัก ดังนั้นเพื่อให้ผลการวิเคราะห์มีความถูกต้องมากขึ้นจึงควรเพิ่มปริมาณสารตัวอย่างที่ฉีดเข้าสู่ระบบมากขึ้น

เพื่อยืนยันสมมุติฐานดังกล่าวนี้จึงดำเนินการทดสอบโดยการหา chromatographic conditions ที่เหมาะสมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการแยก (resolution) ประกอบกับการใช้เทคนิค co-elution โดยผสม methyl ester ของ C18:0 ลงในสารละลายตัวอย่าง และการเพิ่มปริมาตรการฉีดตัวอย่างเดิมเข้าสู่ injector port เป็น 5.0 ไมโครลิตร ซึ่งได้ chromatogram ดังแสดงในรูปที่ 17 จะเห็นว่าที่บริเวณใกล้เคียงกับ retention time ของ C18:0 มีสารประกอบอื่นที่ไม่สามารถบ่งชี้ได้ปนอยู่ด้วยจริงตามสมมุติฐาน อย่างไรก็ตามจากการใช้เทคนิค co-elution พบว่าส่วนใหญ่ของ peak นี้คือ C18:0 (มากกว่า 85%) ดังนั้นการแสดงผลลดการทดลองนี้จึงถือว่า peak ดังกล่าวคือ C18:0 และจากเหตุผลนี้จึงไม่สามารถนำ C18:0 มาเป็นสารเปรียบเทียบในการคำนวณค่า relative retention time (RRT) สำหรับการวิเคราะห์ชนิดของ fatty acid ใน chromatogram ตามที่ใช้อ้างอิงกันทั่วไปได้

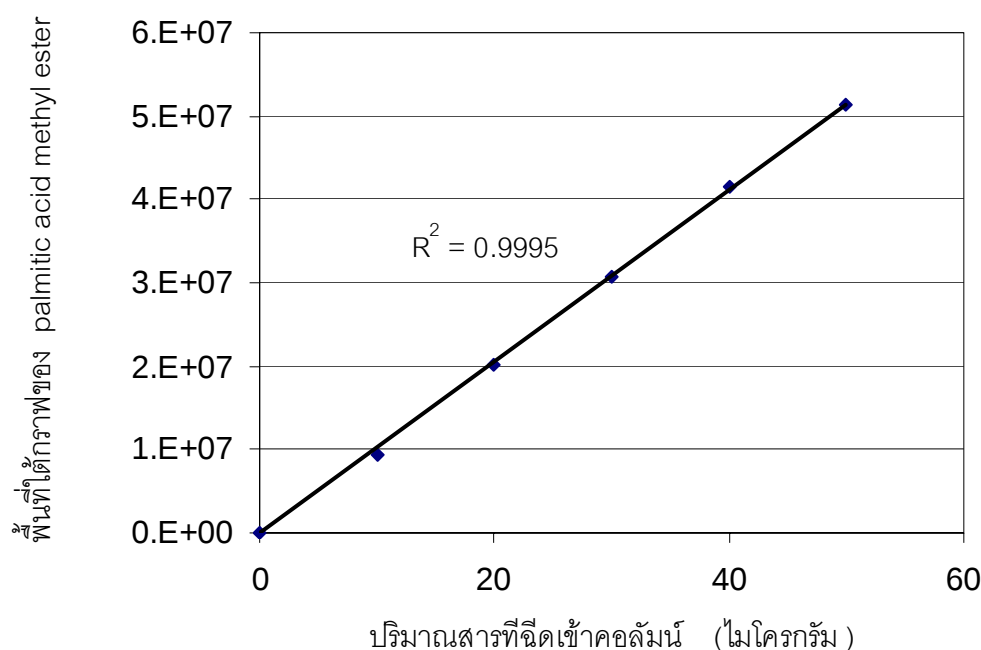


รูปที่ 17 Fatty acid profile ของน้ำมันปาล์มดิบที่ความเข้มข้นสูง

นอกจากนั้น ผลจากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าไม่สามารถตรวจพบ C19:0 ในตัวอย่างน้ำมันปาล์มดิบได้ (ไม่ปรากฏ peak) ด้วยเหตุนี้การวิเคราะห์หาปริมาณของกรดไขมันชนิดต่างๆในไขมันตัวอย่างด้วยหลัก absolute calibration จึงเลือกใช้ C19:0 เป็น internal standard โดยเติมลงในตัวอย่างสารละลายไขมัน 10 มิลลิกรัม ก่อนทำปฏิกิริยา esterification

5.1.2.5 การประเมินความแม่นยำ (precision) ของอุปกรณ์วัดสัญญาณ(FID)

ความแม่นยำ (precision) ของอุปกรณ์วัดสัญญาณ (FID) ที่ใช้ในการทดลองนี้ ทดสอบโดยการฉีดสารละลาย FAME มาตรฐาน (C16:0) ปริมาณต่างกัน 5 ระดับ (10, 20, 30, 40 และ 50 ไมโครกรัม) เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารที่ฉีดเข้าสู่ระบบและพื้นที่ใต้กราฟ พบว่าได้กราฟเส้นตรง ($R^2 = 0.9995$) ดังแสดงในภาพที่ 18 แสดงว่า อุปกรณ์วัดสัญญาณสามารถวัดปริมาณกรดไขมันที่ฉีดเข้าสู่ระบบเพื่อการวิเคราะห์ที่มีความสัมพันธ์โดยตรงกับพื้นที่ใต้กราฟของกรดไขมันนั้นๆ (linear response)



รูปที่ 18 ความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟ ester ของ palmitic กับปริมาณสารที่ฉีดเข้าคอลัมน์

5.1.2.6 การคำนวณปริมาณกรดไขมันในตัวอย่าง

ปริมาณของกรดไขมันแต่ละชนิดในไขมันตัวอย่างในการทดลองนี้สามารถคำนวณได้โดย 2 วิธี คือ area normalization และ internal standardization ตามที่แนะนำโดย [32] แต่สำหรับงานวิจัยนี้การคำนวณหาปริมาณของกรดไขมันแต่ละชนิดในสเดียร์นได้เลือกใช้วิธีการคำนวณโดยวิธีแรก ซึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อนำผลการศึกษานี้ไปเปรียบเทียบกับผลการทดลองที่นิยมรายงานทั่วไป ซึ่งคำนวณโดยใช้พื้นที่ใต้กราฟ (area under curve) ของ กรดไขมันนั้นๆเทียบกับพื้นที่ใต้กราฟที่พบส่วนใหญ่ทั้งหมดดังนี้

$$\% \text{ Unknown fatty acid} = \frac{\text{Peak area of unknown fatty acid} \times 100}{\text{Total area}}$$

สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณของกรดไขมันในตัวอย่างด้วยวิธีด้วยวิธี Internal standardization มีวัตถุประสงค์เพื่อแสดงผลการวิเคราะห์เป็นน้ำหนักจริงเป็นร้อยละของกรดไขมันแต่ละชนิดเปรียบเทียบกับน้ำหนักไขมันตัวอย่าง โดยคำนวณจากความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนของพื้นที่ใต้กราฟ (area ratios) และ อัตราส่วนน้ำหนัก (weight ratios) ของกรดไขมันชนิดนั้นๆเปรียบเทียบกับกรดไขมันที่ใช้เป็น internal standard (ในที่นี้ใช้ C 19:0) ซึ่งทราบปริมาณแน่นอน ดังนี้

$$\% \text{ Weight of unknown} = \frac{\text{Area of unknown} \times \text{Weight of internal standard} \times 100}{\text{Area of internal standard}}$$

5.2 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

5.2.1 ปริมาณกลีเซอไรด์ในน้ำมันปาล์มดิบและสเดียร์นที่แยกโดยสภาวะการทดลองต่างกัน

ตารางที่ 4 แสดงปริมาณของกลีเซอไรด์ที่คิดคำนวณในรูปเปอร์เซ็นต์ของไตรกลีเซอไรด์ (tristearin) ใน CPO และสเดียร์นที่แยกได้จากสภาวะการทดลองที่ต่างกัน จะเห็นว่าตัวอย่างทั้งหมดประกอบด้วยกลีเซอไรด์อยู่สูงถึง 96-97% ในขณะที่จากรายงานผลการวิเคราะห์ใน

สเตียรีนจากน้ำมันปาล์มด้วย HPLC ของประเทศอินโดนีเซียที่ผ่านกระบวนการ refining, bleaching และ deodorized (RBD) มีส่วนประกอบของไตรกลีเซอไรด์และไดกลีเซอไรด์ด้วยปริมาณ 95.5-95.7% และ 4.3-4.5% ตามลำดับ รวมทั้งน้ำมันปาล์มจากประเทศมาเลเซียที่ผ่านกระบวนการทำให้เป็นกลาง (neutralized) พบปริมาณของไตรกลีเซอไรด์และไดกลีเซอไรด์ในสเตียรีน 95.3-95.4% และ 4.6-4.7% ตามลำดับ [10]

ตารางที่ 4 ปริมาณกลีเซอไรด์ (%) ใน CPO, สเตียรีนที่แยกได้โดยใช้ตัวกลางทำละลายชนิดต่างๆและสเตียรีนที่แยกโดยไม่ใช้ตัวกลางทำละลายผลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ S.D (จากการทดลอง 6 ครั้ง)

ตัวอย่าง	ปริมาณของ Glyceride (%)
CPO	97.71 $\pm$ 6.26
non-solvent	97.09 $\pm$ 3.55
acetone	96.77 $\pm$ 6.26
ethanol	97.82 $\pm$ 2.46
butanol	97.53 $\pm$ 2.09
2-propanol	97.12 $\pm$ 3.46
diethyl ether	97.55 $\pm$ 2.73

5.2.2 ส่วนประกอบของกรดไขมันในน้ำมันปาล์มดิบและสเตียรีน

ตารางที่ 5 แสดงชนิดและปริมาณของกรดไขมันในน้ำมันปาล์มดิบ (CPO) จะเห็นว่าส่วนใหญ่ประกอบด้วยกรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acid-SFA) ซึ่งคิดเป็น 70.45% ของกรดไขมันรวม ทั้งนี้มี C16:0 ด้วยปริมาณสูงถึง 62.53% และพบ C18:0 เพียง 4.28% รองลงมา คือกรดไขมันในกลุ่ม MUFA คือมีปริมาณ 24.26% ของกรดไขมันรวม โดยส่วนประกอบหลักของกรดไขมันกลุ่มนี้คือ C18:1 ω 12 (23.90%) ในขณะที่กรดไขมันในกลุ่ม

PUFA มีปริมาณน้อยมากเพียง 5.3% ของกรดไขมันรวม ซึ่ง ใหญ่คือ C18:2ω6 (5.14%) เมื่อเปรียบเทียบในเชิงปริมาณจะพบความแตกต่างกับรายงานอื่นค่อนข้างชัดเจน Bora และคณะ [6] รายงานว่ากรดไขมันในน้ำมันปาล์มดิบจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศบราซิลประกอบด้วยกรดไขมันอิ่มตัวคือ C16:0 และ C18:0 เพียง 36.9% และ 4.68% ตามลำดับ มี MUFA ชนิด C18:1 (ไม่ปรากฏรายงานเป็น isomer) ประกอบอยู่ 45.29% และ PUFA ชนิด C18:2 (ไม่ปรากฏรายงานเป็น isomer) ประกอบอยู่ 10.69% ความแตกต่างที่เกิดขึ้นอาจเป็นผลจากน้ำมันปาล์มดิบที่สกัดได้จากพื้นที่ปลูกรวมทั้งวิธีการวิเคราะห์ที่ต่างกัน

ตารางที่ 5 ปริมาณ (%) และชนิดของกรดไขมันในน้ำมันปาล์มดิบ CPO (จากการทดลอง 3
ซ้ำ)

Fatty acid		ปริมาณของกรดไขมัน (%)
<i>Saturated fatty acid (SFA)</i>		
C 4:0	Butanoic acid	Nd
C 12:0	Dodecanoic acid	0.20
C 14:0	Tetradecanoic acid	1.75
C 15:0	Pentadecanoic acid	0.07
C 16:0	Hexadecanoic acid	62.53
C 17:0	Heptadecanoic acid	0.02
C 18:0	Octadecanoic acid	4.28
C 20:0	Eicosanoic acid	0.26
C 21:0	Heneicosanoic acid	0.30
C 22:0	Docosanoic acid	0.87
C 24:0	Tetracosanoic acid	0.03
รวม SFA		70.45
<i>Monounsaturated fatty acid (MUFA)</i>		
C 16:1 ⁰⁷	9-Hexadecenoic acid	0.12
C 18:1 ⁰¹²	6-Octadecenoic acid	23.90
C 18:1 ⁰⁹	9-Octadecenoic acid	0.13
C 18:1 ⁰⁷	11-Octadecenoic acid	Nd
C 20:1 ⁰⁹	11-Eicosenoic acid	0.09
C 22:1 ⁰⁶	16-Docosenoic acid	0.02
C 24:1 ⁰⁹	15-Tetracosanoic acid	Nd
รวม MUFA		24.26
<i>Polyunsaturated fatty acid (PUFA)</i>		
C 18:2 ⁰⁶	9,12-Octadecadienoic acid	5.14
C 18:3 ⁰³	9,12,15-Octadecatrienoic acid	0.16
C 20:3 ⁰⁶	8,11,14-Eicosatrienoic acid	Nd
C 20:2 ⁰⁶	11,14-Eicosadienoic acid	Nd
C 20:4 ⁰⁶	5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid	Nd
รวม PUFA		5.30
หมายเหตุ	Nd หมายถึง ไม่สามารถตรวจพบ	

ตารางที่ 6 แสดงปริมาณและชนิดของกรดไขมันในสเตียรีนและโอเลอินที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงโดยไม่มีการเติมตัวกลางทำลาย เมื่อเปรียบเทียบกับกรดไขมันรวมในสเตียรีนจะเห็นว่าส่วนใหญ่ ประกอบด้วยกรดไขมันอิ่มตัว (89.54%) โดยมี C16:0 เป็นหลัก (81.80%) นอกจากนั้นเป็น MUFA และ PUFA ประกอบอยู่ 9.19% และ 1.26% ตามลำดับ โดยกรดไขมันใน MUFA ส่วนใหญ่คือ C18:1 ω 12 (8.93%) และกรดไขมันรวมในโอเลอิน พบว่า มีกรดไขมันอิ่มตัว, MUFA และ PUFA อยู่ 47.89, 41.25 และ 10.86% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองของ Boey และ คณะ [9] ซึ่งทำการศึกษากรดไขมันในสเตียรีนและโอเลอินที่ได้จากน้ำมันปาล์มดิบในกรณีที่ไม่มีการใช้ตัวกลางทำลาย โดยปั่นเหวี่ยงที่ 8,200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 29°C และรายงานพบว่า SFA และ unsaturated fatty acid ในสเตียรีน 55.2% และ 44.6% ตามลำดับ และ ในโอเลอิน 45.7% และ 54.3% ของกรดไขมันรวมตามลำดับ จะเห็นว่าปริมาณของกรดไขมันในสเตียรีนที่รายงานไว้ ต่ำกว่าที่พบในงานวิจัยนี้ แต่ปริมาณของกรดไขมันรวมที่พบในโอเลอินมีค่าใกล้เคียงกัน อย่างไรก็ตามปริมาณของกรดไขมันรวมที่แตกต่างกันนี้ เกิดจากความแตกต่างของแหล่งที่มาของน้ำมันปาล์มดิบและเป็นไปได้ว่าความแตกต่างที่เกิดขึ้นอาจเป็นผลมาจาก สเตียรีนในการทดลองนี้ได้จากการปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิต่ำกว่าทำให้ได้ปริมาณของสเตียรีนสูงกว่า จึงทำให้กรดไขมันแต่ละกลุ่มที่วิเคราะห์ได้มีปริมาณสูงกว่าด้วย (เมื่อคิดเป็นร้อยละ)

ตารางที่ 6 ปริมาณ (%) และชนิดของกรดไขมันในสเตียรีนที่แยกได้จาก CPO โดยไม่ใช้ตัวกลางทำละลาย (จากการทดลอง 3 ซ้ำ)

Fatty acid		ปริมาณของกรดไขมัน (%)	
		สเตียรีน	โอลีน
<i>Saturated fatty acid (SFA)</i>			
C 4:0	Butanoic acid	0.09	Nd
C 12:0	Dodecanoic acid	0.07	0.37
C 14:0	Tetradecanoic acid	2.04	1.46
C 15:0	Pentadecanoic acid	0.10	0.05
C 16:0	Hexadecanoic acid	81.80	41.64
C 17:0	Heptadecanoic acid	0.20	0.15
C18:0	Octadecanoic acid	4.82	3.70
C 20:0	Eicosanoic acid	0.26	0.26
C 21:0	Heneicosanoic acid	0.05	0.26
C 22:0	Docosanoic acid	0.11	Nd
C 24:0	Tetracosanoic acid	Nd	Nd
รวม SFA		89.54	47.89
<i>Monounsaturated fatty acid (MUFA)</i>			
C 16:1 ⁰⁷	9-Hexadecenoic acid	0.04	0.23
C 18:1 ⁰¹²	6- Octadecenoic acid	8.93	40.23
C 18:1 ⁰⁹	9-Octadecenoic acid	0.22	0.66
C 18:1 ⁰⁷	11-Octadecenoic acid	Nd	Nd
C 20:1 ⁰⁹	11-Ecosenoic acid	Nd	0.13
C 22:1 ⁰⁶	16-Docosenoic acid	Nd	Nd
C 24:1 ⁰⁹	15-Tetracosaenoic acid	Nd	Nd
รวม MUFA		9.19	41.25
<i>Polyunsaturated fatty acid (PUFA)</i>			
C 18:2 ⁰⁶	9,12-Octadecadienoic acid	1.21	10.29
C 18:3 ⁰³	9,12,15-Octadecatrienoic acid	0.03	0.32
C 20:3 ⁰⁶	8,11,14-Eicosatrienoic acid	Nd	Nd
C 20:2 ⁰⁶	11,14-Eicosadienoic acid	0.02	Nd
C 20:4 ⁰⁶	5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid	Nd	0.22
รวม PUFA		1.26	10.86

หมายเหตุ Nd หมายถึง ไม่สามารถตรวจพบ

ตารางที่ 7 แสดงส่วนประกอบของกรดไขมันในสเตียรีนที่แยกได้จากการเติมตัวกลางทำละลายที่แตกต่างกัน 5 ชนิด ตามลำดับ polarity จากสูงไปหาคือ acetone, ethanol, 1-butanol, 2-propanol, และ diethyl ether พบว่ามีกรดไขมันบางชนิดในกลุ่ม polyunsaturated fatty acid (PUFA) ซึ่งไม่พบในน้ำมันปาล์มดิบแต่พบในสเตียรีนที่แยกได้จากการใช้ตัวกลางทำละลายต่างๆ คือ C20:2 ω 6 ซึ่งพบในสเตียรีนที่ได้จากการเติม acetone และ 2-propanol เป็นตัวกลางทำละลาย พบ C20:4 ω 6 ในสเตียรีนที่ได้จากการเติม acetone, ethanol และ diethyl ether เป็นตัวกลางทำละลาย และ พบ C20:3 ω 6 ใน สเตียรีนที่ได้จากการเติม ethanol และ diethyl ether เป็นตัวกลางทำละลาย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากน้ำมันปาล์มดิบประกอบด้วยกรดไขมันในกลุ่ม PUFA ในระดับต่ำจึงไม่สามารถตรวจวัดได้ แต่ส่วนประกอบดังกล่าวนี้รวมตัวกันเป็นของแข็งเมื่อเติมตัวกลางทำละลาย จึงทำให้มีความเข้มข้นในสเตียรีนเพิ่มสูงขึ้นถึงระดับที่สามารถตรวจวัดได้

จากผลการทดลองยังแสดงให้เห็นอีกว่าสเตียรีนที่ได้จากการใช้ตัวกลางทำละลายมีส่วนประกอบของ SFA, MUFA และ PUFA ด้วยปริมาณที่แตกต่างกันด้วย เช่น สเตียรีนที่ได้จากการเติม diethyl ether เป็นตัวกลางทำละลายประกอบด้วย SFA ปริมาณสูงถึง 94.36% ของกรดไขมันรวม ในขณะที่สเตียรีนที่ได้จากการเติม ethanol มีปริมาณ 82.96% ของกรดไขมันรวม แต่อย่างไรก็ตามสรุปได้ว่าสเตียรีนที่แยกได้หลังการเติมตัวกลางทำละลายชนิดต่างๆ ในการทดลองนี้ประกอบด้วย SFA, MUFA และ PUFA อยู่ในช่วง 83-94%, 5-15% และ 0.9-2% ของกรดไขมันรวม ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองของ Boey และคณะ [9] ซึ่งแยกสเตียรีนและโอเลอินจากน้ำมันปาล์มดิบโดยใช้ตัวกลางทำละลาย 2 ชนิดผสมกัน (ไม่บ่งชนิด) (น้ำมันปาล์มดิบ:ตัวกลาง 1:1) และปั่นเหวี่ยงแยกที่ 8,200 รอบต่อนาที ที่ 29°C พบว่า มีปริมาณของกรดไขมันรวม saturated fatty acid และ unsaturated fatty acid ในสเตียรีน 58.9% และ 41.7% ของกรดไขมันรวม ตามลำดับ ส่วนในโอเลอินมีปริมาณ 46.3% และ 53.6% ของกรดไขมันรวม ตามลำดับ จะเห็นว่าปริมาณของกรดไขมันทั้ง 2 กลุ่ม ต่ำกว่าที่พบในงานวิจัยนี้ นอกจากความแตกต่างของแหล่งที่มาของน้ำมันปาล์มดิบแล้ว เป็นไปได้ว่าความแตกต่างที่เกิดขึ้นอาจเป็นผลมาจากสเตียรีนในการทดลองนี้ได้จากการปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิต่ำกว่าทำให้ได้ปริมาณของสเตียรีนสูงกว่า จึงทำให้กรดไขมันแต่ละกลุ่มที่วิเคราะห์ได้มีปริมาณสูงกว่าด้วย (เมื่อคิดเป็นร้อยละ) ผลการทดลองเหล่านี้แสดงให้เห็นว่า สเตียรีนที่แยกโดยการใส่ตัวกลางทำละลายจะมีส่วนประกอบของกรดไขมันในผลิตภัณฑ์แตกต่างกันด้วย

แต่อย่างไรก็ตามการใช้ตัวทำละลายเพียงชนิดเดียว (diethyl ether) ก็ให้ปริมาณของกรดไขมันที่สูง และสามารถกำจัดออกจากสเตียรินและโกลีนได้ง่ายกว่าการเลือกใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิดผสมกัน

ตารางที่ 7 ปริมาณ (%)และชนิดของกรดไขมันในสเต็มตันที่ได้จากCPO โดยใช้ตัวกลางทำละลาย

Fatty acid		ปริมาณของกรดไขมัน (%)				
		Acetone	Ethanol	Butanol	2-Propanol	Diethylether
<i>Saturated fatty acid (SFA)</i>						
C 4:0	Butanoic acid	Nd	Nd	Nd	0.02	0.61
C 12:0	Dodecanoic acid	0.08	0.08	0.07	0.08	0.07
C 14:0	Tetradecanoic acid	2.10	1.94	2.03	2.06	1.61
C 15:0	Pentadecanoic acid	0.10	0.09	0.10	0.10	0.09
C 16:0	Hexadecanoic acid	83.33	74.93	80.39	82.40	87.40
C 17:0	Heptadecanoic acid	0.18	0.19	0.19	0.19	0.17
C18:0	Octadecanoic acid	4.39	5.03	4.57	4.61	3.89
C 20:0	Eicosanoic acid	0.25	0.28	0.25	0.26	0.21
C 21:0	Heneicosanoic acid	0.14	0.35	0.51	0.12	0.07
C 22:0	Docosanoic acid	0.14	0.07	2.09	0.21	0.24
C 24:0	Tetracosanoic acid	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
	รวม SFA	90.71	82.96	90.20	89.69	94.36
<i>Monounsaturated fatty acid (MUFA)</i>						
C 16:1 07	9-Hexadecenoic acid	0.04	0.06	0.04	0.04	0.03
C 18:1 012	6- Octadecenoic acid	7.34	14.30	8.36	8.54	4.38
C 18:1 09	9-Octadecenoic acid	0.19	0.32	0.22	0.24	0.11
C 18:1 07	11-Octadecenoic acid	Nd	Nd	Nd	Nd	0.06
C 20:1 09	11-Ecosenoic acid	Nd	0.10	Nd	0.03	0.06
C 22:1 06	16-Docosenoic acid	Nd	0.02	Nd	Nd	0.09
C 24:1 09	15-Tetracosanoic acid	Nd	Nd	Nd	Nd	0.05
	รวม MUFA	7.57	14.80	8.62	8.85	4.78
<i>Polyunsaturated fatty acid (PUFA)</i>						
C 18:2 06	9,12-Octadecadienoic acid	1.07	1.07	1.16	1.38	0.84
C 18:3 03	9,12,15-Octadecatrienoic acid	0.01	0.03	0.03	0.04	0.01
C 20:3 06	8,11,14-Eicosatrienoic acid	Nd	0.04	Nd	Nd	0.01
C 20:2 06	11,14-Eicosadienoic acid	0.03	Nd	Nd	0.05	Nd
C 20:4 06	5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid	0.61	1.12	Nd	Nd	0.01
	รวม PUFA	1.72	2.26	1.19	1.47	0.87
หมายเหตุ Ndหมายถึง		ไม่สามารถตรวจพบ				

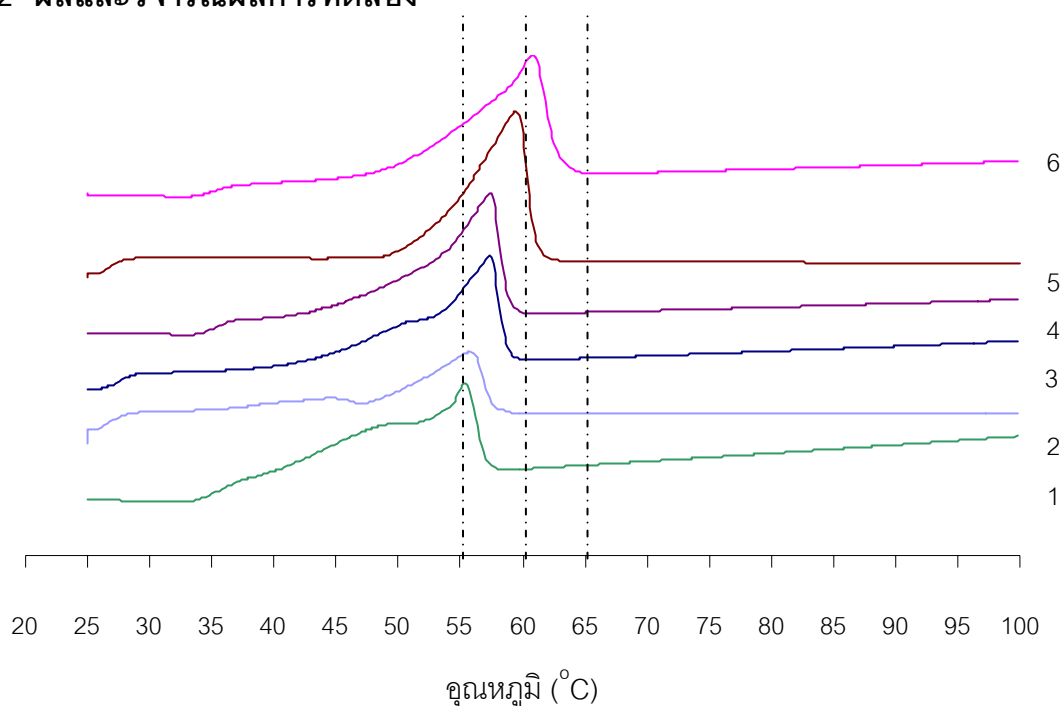
บทที่ 6

คุณลักษณะการหลอมละลาย (melting characteristics) ของสเตียรินที่ได้จากการแยก โดยสภาวะการทดลองต่างกัน

6.1 วิธีการทดลอง

คุณลักษณะการหลอมละลาย (melting characteristics) ของสเตียรินที่ได้จากการแยกโดยสภาวะการทดลองต่างกันทำการศึกษาค้นคว้าด้วย differential scanning calorimetry (DSC: Perkin Elmer 7 DSC; Norwalk, CN, U.S.A.) โดยชั่งตัวอย่างลงบน aluminium pan (Perkin Elmer) บันทึกน้ำหนักลงในโปรแกรม ตั้งไว้ที่ 25°C เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นค่อยๆเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 5°C ต่อนาที จนถึง 100°C

6.2 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง



รูปที่ 19 Thermogram ของสเตียรินที่ได้จากสภาวะการทดลองต่างกัน

1 = Ethanol, 2 = 2-Propanol, 3 = Non-solvent
4 = Butanol, 5 = Diethyl ether, 6 = Acetone

รูปที่ 19 แสดงคุณลักษณะการหลอมละลายของสเตียรีนที่ได้จากสภาวะการทดลองต่างกัน พบว่าส่วนใหญ่การเปลี่ยนสภาวะอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 55-60°C ยกเว้นตัวอย่างที่ได้จากการใช้ acetone เป็นตัวกลางทำละลายซึ่งการเปลี่ยนสภาวะเกิดขึ้นที่อุณหภูมิประมาณ 61°C ซึ่งจากผลการวิเคราะห์ปริมาณกลีเซอไรด์ และ กรดไขมันในสเตียรีน พบว่า สเตียรีนที่ได้ส่วนใหญ่มีปริมาณของกลีเซอไรด์อยู่มากกว่า 95% ประกอบกับกรดไขมันที่วิเคราะห์ได้ก็เป็นกรด palmitic อยู่สูงถึง 75-87% ดังนั้นกลีเซอไรด์ที่พบในสเตียรีนน่าจะมีสัดส่วนของกรด palmitic อยู่มาก เมื่อพิจารณาจุดหลอมเหลวการจัดเรียงผลึก (β และ β') ของ tripalmitin คาดว่าสเตียรีนที่ได้จากสภาวะการทดลองที่มีการใช้ ethanol, 1-butanol, 2-propanol, diethyl ether เป็นตัวกลางทำละลาย ในขณะที่สเตียรีนซึ่งได้ที่สภาวะไม่ใช้ตัวกลางทำละลาย (อุณหภูมิหลอมเหลวอยู่ในช่วง 55-60°C) น่าจะมีการจัดเรียงตัวของผลึกในลักษณะของ β' และมีกลีเซอไรด์ที่ประกอบด้วยกรดไขมันอิ่มตัวต่างชนิดกัน ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ deman และ deman [33] ที่รายงานว่าจุดหลอมเหลว β' ของ tripalmitin อยู่ที่ 56.5°C ในกรณีของสเตียรีนที่ได้จากการใช้ acetone เป็นตัวกลางทำละลาย ถึงแม้จะมีอุณหภูมิหลอมเหลวประมาณ 61°C ซึ่งสูงกว่าจุดหลอมเหลว β' แต่ก็ต่ำกว่าจุดหลอมเหลว β คือ 66.4°C จึงเป็นไปได้ว่าการเรียงตัวของผลึกกลีเซอไรด์ที่ได้จากสภาวะนี้อาจจะมีการจัดเรียงตัวของผลึกได้ทั้ง 2 แบบ คือ β หรือ β' การเปียงเบนของจุดหลอมละลายนี้น่าจะเป็นผลมาจากชนิดของตัวทำละลายและ polarity ซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง polymorphism ของกลีเซอไรด์

บทที่ 7

สรุปผลการทดลอง

ผลการศึกษาคูณลักษณะของน้ำมันปาล์มดิบและสเตียรีนที่แยกได้จากน้ำมันปาล์มดิบด้วยวิธีปั่นเหวี่ยงที่ตัวกลางทำละลายต่างๆ และแยกแต่ละส่วนออกจากกันที่อุณหภูมิห้อง (25°C) ด้วยการกรองโดยส่วนที่ได้จากการกรองซึ่งมีลักษณะเป็นของแข็งเรียกว่า สเตียรีน (stearin) และส่วนที่ผ่านการกรองซึ่งมีลักษณะเป็นของเหลวเรียกว่า โอเลิน (olein) ซึ่งได้สรุปผลการทดลองไว้ดังนี้

1. ปริมาณของสเตียรีนที่แยกได้จาก CPO ที่อุณหภูมิห้องด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน พบว่า น้ำมันปาล์มดิบที่ละลายด้วย ethanol ให้ปริมาณสเตียรีนสูงที่สุด คือ 13.88% รองลงมาคือ 2-propanol 1-butanol และ acetone ตามลำดับ ในขณะที่ diethyl ether ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มี polarity ต่ำที่สุดให้ปริมาณของสเตียรีนต่ำสุดเพียง 3.6%
2. น้ำมันปาล์มดิบและสเตียรีนที่แยกได้จากทุกสภาวะการทดลองมีปริมาณกลีเซอไรด์คิดคำนวณในรูปปริมาณไตรกลีเซอไรด์สูงถึง 96-97%
3. ปริมาณและชนิดของกรดไขมันที่วิเคราะห์จากน้ำมันปาล์มดิบ (CPO) พบว่ากรดไขมันที่เป็นส่วนประกอบหลัก คือ กรด C16:0 ซึ่งมีปริมาณสูงถึง 62.53% รองลงมา คือ กรด C18:1 ω 12 และ กรด C18:0 พบในปริมาณ 23.90% และ 4.28% ตามลำดับ
4. ปริมาณและชนิดของกรดไขมันในสเตียรีนที่ได้จากการเหวี่ยงแยกโดยไม่มีการเติมตัวทำละลาย (คำนวณโดย area normalization) พบว่า มีส่วนประกอบหลัก คือ C16:0 81.80% ส่วนปริมาณของกรด C18:1 ω 12 เหลืออยู่ในสเตียรีนเพียง 8.93% สรุปได้ว่าสเตียรีนที่ได้มี saturated fatty acid (SFA) อยู่ 89.54% และมี monounsaturated fatty acid (MUFA) และ polyunsaturated fatty acid (PUFA) อยู่ 9.19% และ 1.26% ตามลำดับ
5. ปริมาณและชนิดของกรดไขมันในสเตียรีนที่แยกได้จากการเติมตัวกลางทำละลายที่แตกต่างกัน พบว่า ในสเตียรีนมีปริมาณของ SFA, MUFA และ PUFA อยู่ในช่วง 83-94%, 5-15% และ 0.9-2% ตามลำดับ

6. จากการเติมตัวกลางทำละลายที่ต่างชนิดกัน พบว่า ชนิดของกรดไขมันในสเตอรินที่แยกได้มีความแตกต่างกัน แสดงว่าตัวทำละลายมีผลต่อการละลายของกรดไขมันได้ต่างกัน

บรรณานุกรม

1. Available:http://161.142.157.2/home2/home/rev03_content.htm
(Accessed:15 /04/ 2005)
2. Yoo, C.K. Priority needs and project proposals on technology from renewable sources in the Asean region. *Malaysian Palm Oil Board*.
3. วีระ เอกสมทราเมษฐ์ ชัยรัตน์ นิพนธ์ วีระพงศ์ จันทรมิตร ประกิจ ทองคำ และ
วรรณ เลี้ยววาริณ.(2546). *คู่มือน้ำมันปาล์มและการจัดสวน : คณะ
ทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่ สงขลา.
หน้า 8-10.*
4. Augustine S.H.Ohg. (1994). "Nutritional aspects of palm oil : an introductory
review". *Asia Pacific J Clin Nutr*. 3, 201-206.
5. May, C.Y., et al. (2003). "Value-added products from palm-pressed fiber".
MPOB TT 207. 193, <http://mpob.gov> (Accessed: 19/09/2003).
6. Pushkar, B., Rosalynd, R., Narendra, N., Moreiro, A.C. และ Moreira, R.A.
(2003). "Characterization of principal nutritional components of
Brazilian oil palm (*Eliaes guineensis*) fruits". *Bioresource Technology*.
87, 1-5.
7. Ong, A.S. and Goh,S.H. (2003). "A Healthful Cost-Effective Dietary
Component", *Food Nutr Bull*, 23(1), 11-22.
8. Sambanthamurthi, R. Sundram, K. and Yew-Ai, T. (2000). *Chemistry and
Biochemistry of Palm Oil*. Kuala Lumpur: Palm oil Research Institute
of Malaysia.
9. Ong, S. H., Chuah, C. C. and Boey, P. L. (1977). *Preliminary study on Olein
Stearin Separation of Palm Oil*. In International Developments in Palm
Oil. Earp, D. A. & Newall, W. ed. Kuala Lumpur : Rajiv Printers, 281-
290.

10. Deffense, E. and Tirtiaux, A. (1985). "Fractionation of Palm Oil", *Jaocs*, 62(2), 376-385.
11. Rossell, A.B., King, B., and Downes, M.J. (1985). "Composition of Oil", *Jaocs*, 62(2), 221-230.
12. Available:<http://www.mpopc.org.my/qrpof.htm> (Accessed:27/8/2003).
13. US. Department of commerce. STAT-USA on internet. Thailand health foods-market assessment, <http://stayegis.ic.gc.ca/SSG/dd73511e.html> (Accessed: 04/10/2003).
14. Available:http://www.doa.go.th/public/plibai/plibai_46/january%2046/palm.html (Accessed : 26/05/2005).
15. Araújo, M. E., Machado, N. T., França, L. F. และ Meireles, M. A. A. (2002). "Supercritical Extraction of Pupunha (*Guilielma speciosa*) Oil in a fixed bed using carbon dioxide", *Braz. J. Chem. Eng*, 17(3). Available:http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010466322000000300005&script=sci_arttext&tlng=en (Accessed : 02/06/2005).
16. Baljit, S. G., Sandra, D. D. and Suresh, S. N. (2002). "Lipid shortenings : a review", *Food Research International*, 35, 1015-1048.
17. ธเนศ วัยสุวรรณ . (2538). "การศึกษาการแยกเสตียรินและโอเลอินในน้ำมันปาล์มรีไฟน์โดยวิธีการตกผลึก", *วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตร์ สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี*, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
18. Goh, E. M. (2002). "Applications and uses of palm and palm kernel oils in speciality products". *Malaysian Oil Science and Technology*, 11 (1), 46-50.
19. Chow, M. C. and HO, C.C. (2002). *Journal of Oil Palm Research*, 14 (1), 25-34.
20. Zaliha, O., Chong, C.L., Cheow, C.S., Norizzah, A.R., Kellens, M.J. (2004). "Crystallization properties of palm oil by dry fractionation", *Food Chemistry*, 86, 245-250.

21. Available:<http://www.ccohs.ca/oshanswers/chemicals/ld50.html>
(Accessed: 06/2005).
22. Available:http://www.iseo.org/ffo_6-7.htm (Accessed:14/04/2005).
23. Albert L. Lehninger. (1975), "Biochemistry Lehninger", Spark, maryland, 2nd edition.
24. Anonymous. <http://www.abscott.com.au/chemistry.html> (Accessed: 28 / 7 / 2000).
25. Kiyotaka S. (2002) "Crystallization behaviour of fats and lipids-a review", *Chemical Engineering Science*, 56, 2255-2265.
26. Larsson K. (1966). "classification of glyceride crystal forms", *Acta Chemica Scandinavica*, 20, 2255-2260.
27. Available:<http://class.fst.ohio-state.edu/fst821/Lect/polymor.pdf>
28. Aleksandra, S.C., Gyorgy, K., Marcin, L. and Edward, S. (2005). "X-ray diffraction and differential scanning calorimetry studies of $\beta' \rightarrow \beta$ transitions in fat mixtures", *Food Chemistry*, 92, 133-141.
29. Ong, S. H., Chuah, C. C. and Boey, P. L. (1983). "Fractionation Studies of Palm Oil by Density Gradient", *Jaocs*, 60(10), 1755-1760.
30. Masturah, M., Harcharan, S. and Masitah H. (2001). "Supercritical CO₂ fraction of crude palm oil", *J Supercritical Fluids*, 20, 45-53.
31. Stein, J. and Smith, G. (1964). "Introduction to lipid separation methods". In *Techniques In Lipid and Membrane Biochemistry Part 1* (Hesketh, T. R. Kornberg, H. L. Metcalfe, J. C. Northcote, D. H. Ogson, C. I. P. and Tipton, K. F. Editors), (B4/1).
32. McNair, H.M. and Bonelli, E.J. (1969). "Qualitative analysis". In *Basic Gas Chromatography*, 5th edition. Varian Aerograph.
33. deMan, J.M. and deMan, L. (2001). Polymorphism and texture of fats. In: N. Widlak, R. Hartel and S.S. Narine, "Crystallization and solidification properties of lipids", *AOCS Press*, 225–235.

34. Available:http://home.planet.nl/~skok/techniques/hplc/elutotropic_series_extended.html (Accessed: 03/11/2002).

35. Available:<http://www.wcrl.ars.usda.gov/cec/java/solvents.htm>
(Accessed : 29/2005).

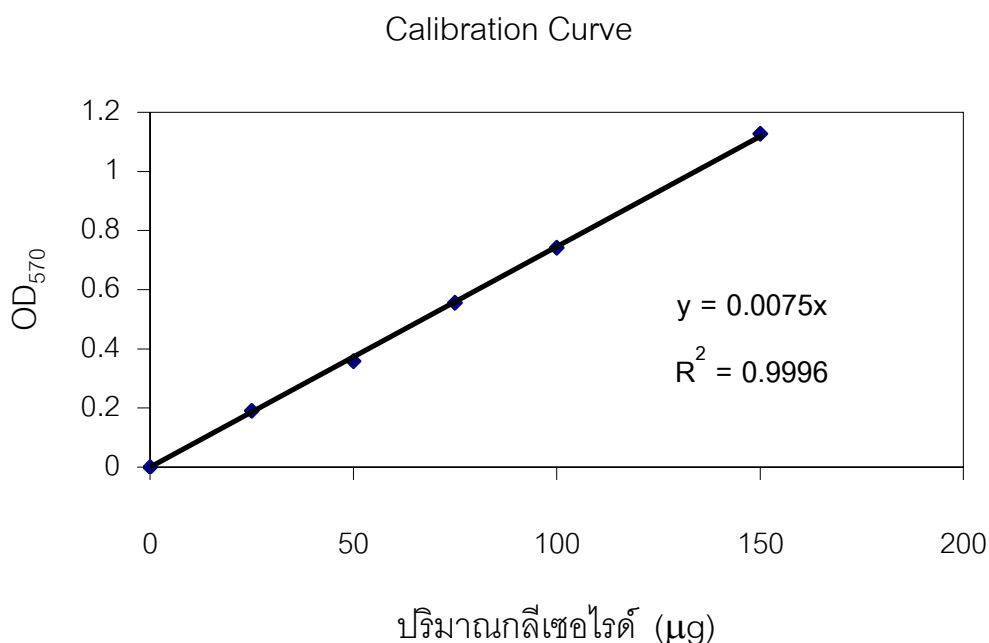
36. Available:http://131.104.156.23/Lectures/CHEM_462/462_Alkali.html
(Accessed : 28/2005).

ภาคผนวก

ภาคผนวกที่ 1 การเตรียม chromotropic acid reagent

สารละลาย chromotropic acid reagent สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณของ triglyceride เตรียมโดยค่อยๆเติม 1.14 กรัม chromotropic acid ลงใน 33% H_2SO_4 กวนจนกว่าจะละลายเป็นเนื้อเดียวกัน กรองสารละลายที่ได้ด้วย Sinter glass ASTM เก็บรักษาในขวดแก้วที่หุ้มด้วย aluminium foil เพื่อป้องกันแสง ปิดฝาให้สนิทที่อุณหภูมิ $0-4^\circ\text{C}$ ในระหว่างรอการนำไปใช้วิเคราะห์ สารละลายนี้จะไม่นำมาใช้เมื่อพบว่าเกิดตะกอนหรือเกิดการเปลี่ยนสี

ภาคผนวกที่ 2 กราฟมาตรฐานกลีเซอไรด์



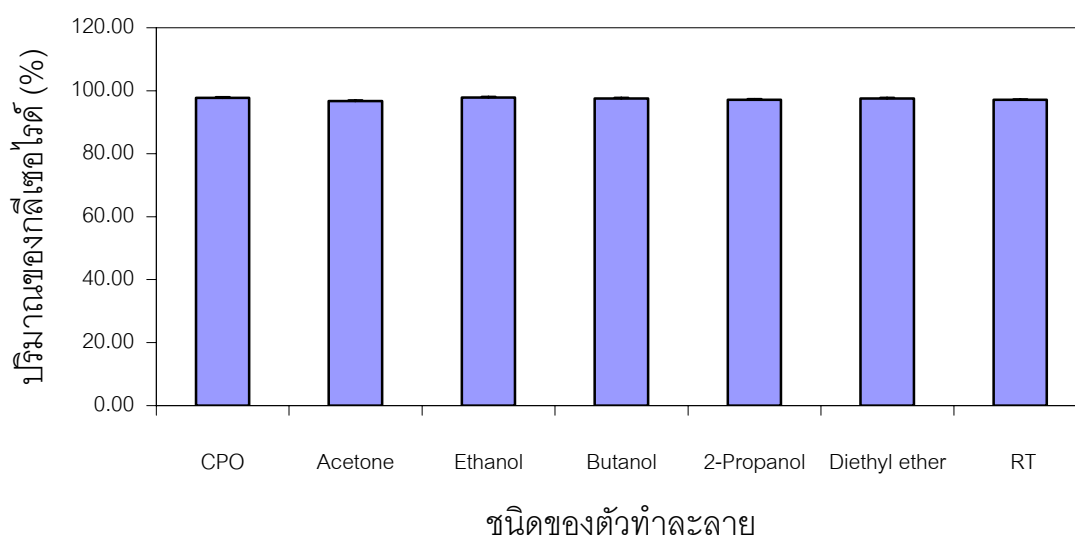
รูปที่ 20 กราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการคำนวณปริมาณกลีเซอไรด์

จากรูปที่ 22 พบว่ากราฟมาตรฐานที่ได้มีความน่าเชื่อถือ ($R^2=0.9996$) ที่จะนำมาคำนวณปริมาณไตรกลีเซอไรด์ที่มีอยู่ในน้ำมันปาล์มดิบ (CPO) และสเต็มยวีนที่ได้จากทุกสภาวะการทดลอง โดยมีวิธีการคำนวณปริมาณไตรกลีเซอไรด์เมื่อเทียบกับปริมาณของ สเต็มยวีน 100 ไมโครกรัม ดังนี้

สมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน $y = 0.0075x$

$$\text{ปริมาณไตรกลีเซอไรด์ (\%)} = \frac{\text{ปริมาณการดูดกลืนแสง (OD}_{570})}{0.0075}$$

ภาคผนวกที่ 3 แผนภูมิแสดงปริมาณเป็นร้อยละของกลีเซอไรด์ในน้ำมันปาล์มดิบและตัวอย่างสเตียรีนที่แยกโดยใช้ตัวกลางทำละลายชนิดต่างๆ



รูปที่ 21 แผนภูมิปริมาณกลีเซอไรด์ใน CPO สเตียรีนจากสภาวะการทดลอง

จากแผนภูมิแสดงปริมาณกลีเซอไรด์เป็นค่าเฉลี่ย (%) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) จากการทดลองซ้ำ 6 ครั้ง ใน CPO สเตียรีนที่แยกได้โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ และสเตียรีนที่แยกโดยไม่ใช้ตัวทำละลายผลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ S.D (จากการทดลอง 6 ซ้ำ) พบว่าค่า S.D. ที่ได้มีช่วงกว้าง อาจจะมาจกปริมาณในวิธีการวิเคราะห์อยู่ในระดับของไมโครกรัม การคลาดเคลื่อนของค่าการดูดกลืนแสงเพียง 0.01 ก็ทำให้ปริมาณที่วิเคราะห์ได้ต่างกัน 1.33% แต่อย่างไรก็ตาม ความผิดพลาดของผู้ทำการทดลองก็อาจจะเป็นอีกสาเหตุที่ทำให้เกิดการเบี่ยงเบนของผลการทดลอง

ภาคผนวกที่ 4 ตัวทำละลาย และ polarity

สารตัวทำละลาย (solvent) เป็นสารเคมีที่อยู่สถานะของเหลวที่มีคุณสมบัติละลายสารอื่นหรือทำให้สารอื่นเจือจางได้ เช่น ละลายไขมัน น้ำมัน หมึก สี พลาสติก ยาง เป็นต้น โดยข้อมูลข้างล่างนี้ได้แสดงค่า polarity และจุดเดือด (boiling point, °C) ของตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่ใช้ในการทดลอง

ตารางที่ 8 ค่า polarity และจุดเดือดของตัวทำละลายที่ใช้ในการทดลอง

solvent	polarity index (Snyder)	BP (°C)
methanol	6.6	64.7
acetone	5.4	56.3
ethanol	5.2	78.3
1-butanol	3.9	117.2
2-propanol	4.3	82.4-117.7
chloroform	3.4-4.4	61.2
Diethyl ether	2.8*	34**
n-hexane	0	68.9

ที่มา : http://home.planet.nl/~skok/techniques/hplc/eluotropic_series_extended.html[34]

ที่มา*: <http://www.wcrl.ars.usda.gov/cec/java/solvents.htm> [35]

ที่มา**: http://131.104.156.23/Lectures/CHEM_462/462_Alkali.html [36]

ภาคผนวกที่ 5 ระดับของ LD₅₀ ของตัวทำละลายที่ใช้ในงานวิจัย

Acetone

	LD50	ที่มา
ORL-RAT	5800 mg/kg	JTEHD6 15,609,1985
ORL-MUS	3 mg/kg	PCJOAU 14,162,1980
ORL-RBT	5340 mg/kg	FAONAU 48A,86,1970

Ethanol

	LD50	ที่มา
ORL-RAT	7060 mg/kg	TXAPA9 16,718,1970
ORL-MUS	3450 mg/kg	GISAAA 32(3),31,1967
ORL-RBT	6300 mg/kg	HBTXAC 1,130,1955
ORL-GPG	5560 mg/kg	JIHTAB 23,259,1941

Buthanol

	LD50	ที่มา
ORL-RAT	> 5000 mg/kg	MSDS

2-Propanol

	LD50	ที่มา
ORL-MUS	3600 mg/kg	MSDS
ORL-RBT	6410 mg/kg	MSDS
ORL-RAT	5045 mg/kg	MSDS

Diethyl ether

	LD50	พื้มา
ORL-MUS	5300 mg/kg	MSDS
ORL-RBT	2 mg/kg	MSDS
ORL-RAT	4200 mg/kg	MSDS

Chloroform

	LD50	พื้มา
ORL-RAT	908 mg/kg	MSDS

Methanol

	LD50	พื้มา
ORL-RAT	5628 mg/kg	MSDS

N-Hexane

	LD50	พื้มา
ORL-RAT	28710 mg/kg	MSDS

สัญลักษณ์

ORL	=	oral
RAT	=	rat
MUS	=	mouse
RBT	=	rabbit
GPG	=	guinea pig
HAM	=	hamster
MAM	=	mammal
JTEHD	=	Journal of Toxicology and Environmental Health
PCJOAU	=	Pharmaceutical Chemistry Journal
TXAPA	=	Toxicology and Applied Pharmacology
GISAAA	=	Gigiena i Sanitariya
HBTXAC	=	Handbook of Toxicology
MSDS	=	Material Safety Data Sheet

Output ที่ได้จากโครงการวิจัย

ได้มีการนำไปเสนอผลงานในที่ประชุมวิชาการทั้งในและนอกประเทศตามรายละเอียดดังนี้

ครั้งที่ 1:

Chayanoot Sangwichien, Jaruwan Na Nakorn, Ausa Chandumpai, and Chakrit Tongurai, "Separation of olein-stearin from crude palm oil at different temperatures and solvents by centrifugation", The Regional Symposium on Chemical Engineering 2004 (RSCE 2004) in conjunction with Enhancement of ASEAN Chemical Engineering Cooperation (Proceedings), pp. 112, Bangkok, 1-3 December 2004.

ครั้งที่ 2:

Chayanoot Sangwichien, Ausa Chandumpai, Jaruwan Na Nakorn, and Chakrit Tongurai, Effect of solvent on fatty acid profile of stearin separated from crude palm oil", The PSU-UNS International Conference on Engineering and Environment – ICEE-2005 (Proceedings), Paper No. T11-1.5, pp.1-4, Novi Sad, Serbia & Montenegro, 19-21 May 2005.

บทความสำหรับการเผยแพร่

เอกสารหมายเลข 1 : Reprint ของบทความที่นำเสนอในงานประชุมวิชาการครั้งที่ 1

Chayanoot Sangwichien, Jaruan Na Nakorn, AUSA Chandumpai, and Chakrit Tongurai, "Separation of olein-stearin from crude palm oil at different temperatures and solvents by centrifugation", The Regional Symposium on Chemical Engineering 2004 (RSCE 2004) in conjunction with Enhancement of ASEAN Chemical Engineering Cooperation (Proceedings), pp. 112, Bangkok, 1-3 December 2004.

เอกสารหมายเลข 2 : Reprint ของบทความที่นำเสนอในงานประชุมวิชาการครั้งที่ 2

Chayanoot Sangwichien, AUSA Chandumpai, Jaruan Na Nakorn, and Chakrit Tongurai, Effect of solvent on fatty acid profile of stearin separated from crude palm oil", The PSU-UNS International Conference on Engineering and Environment – ICEE-2005 (Proceedings), Paper No. T11-1.5, pp.1-4, Novi Sad, Serbia & Montenegro, 19-21 May 2005.

SEPARATION OF OLEIN-STEARIN FROM CRUDE PALM OIL AT DIFFERENT TEMPERATURES AND SOLVENTS BY CENTRIFUGATION

Chayanoot Sangwichien^{1*}, Jaruwan Na Nakorn¹, Ausa Chandumpai² and Chakrit Tongurai¹

¹Department of Chemical Engineering,
Faculty of Engineering, Prince of Songkla University,
Hat Yai, Songkla, 90112, Thailand
Phone: 66-7428-7055, E-mail: chayanoot.s@psu.ac.th

² Department of Biochemistry,
Faculty of Science,
Prince of Songkla University,
Hat Yai, Songkla, 90112, Thailand

ABSTRACT

This project is concerned with separation of olein-stearin from crude palm oil (CPO) by centrifugation at different temperatures (ambient temperature, 0, -25 and -80 °C) and solvents (acetone, 2-propanol, 1-butanol and diethylether). Melting characteristics, triglycerides contents and fatty acid compositions in CPO and stearin fractions at the different conditions were analyzed. Since CPO samples at temperature below 0 °C were in solid state, separation by centrifugation could not be carried out. Also, it was difficult to maintain the solutions at the given temperatures throughout an experiment, therefore, effects of solvent polarity were performed only at ambient temperature. Among the experimental conditions, the highest percent yield of stearin (12.03%) was obtained from CPO dissolved in 2-propanol, while 10.18% was from CPO sample. Triglyceride is a major constituent (92.5-100%) in all the separated stearins. Studying on melting characteristics indicated that the stearin obtained from CPO at ambient temperature has the lowest melting point, while the others do not correspond with solvent polarity index. In addition, analysis of fatty acid using GLC with capillary column showed that CPO sample might comprise of some fatty acids which are not commonly found in biological materials and is under determined in this laboratory.

Keywords: palm oil, olein-stearin separation, centrifugation, triglyceride, fatty acid

1. INTRODUCTION

The palm tree belongs to a family of plants known as *Palme* or *Palmaceae* which include about 3,000-3,700 species grouped among 240-387 genera (Bora, et al., 2003)[1]. The most commonly planted in Thailand are *Eliaes guineensis* and its hybrid species. Mesocarp of the palm fruit is an excellent source of edible oil which could be extruded after cooking at 130 °C for 60 minutes under pressure of 45 psi. The semi-solid product is called crude palm oil (CPO) which triglycerides are the major component (more than 90%). The rests are free fatty acids 3-5% and minor components such as β -carotene (provitamin A) and vitamin E (tocopherols and tocotrienols) about 1%. Since trace amount of cholesterol was found in palm oil, it has been worldwide accepted as good quality dietary oil.

Malaysia is the largest palm oil producer in the world, while Indonesia and Thailand are in the second and third ranks, respectively. In 2003, Thailand produced 680,000 metric tons, but most of which are used as local dietary consumption. In comparison, exported values of the products from Malaysia were 3,875 million US dollars, whereas much less of 7.4 million US dollars was exported from Thailand.

Apart from dietary products, palm oil could be used as precursor of other industries such as biodiesel, glycerol and its derivatives, surfactants in cosmetic industries, lubricant, hydraulic, gear box for engines, synthetic polymer i.e. polyurethanes, polyamides, polyamidoamides, non-nylon polyamides and modified epoxy resin. It should be noted that most of the Malaysian products are in form of value added, palm olein and oleochemicals while CPO contributes only 10%.

Physical-chemical properties of triglyceride and its applications depend upon fatty acid constituents in molecule. The differences are due primarily to chain length, degree and position of unsaturation. The shorter chain fatty acids have lower melting point than the longer ones. The higher degree unsaturation exhibits the lower melting point than those of saturated fatty acids of the same chain length. Also, numerous studies have been shown that

qualities of edible oils depend largely on fatty acid compositions their in as extensively reviewed by Ong, A.S. and Goh, S.H. (2002) and Sundrum, K. (1997)[2].

In general, the two most predominant fatty acids in palm oil are palmitic acid (C16:0; 44%) and oleic acid (C18:1; 40%), while linoleic acid (C18:2) and stearic acids are 10 and 5%, respectively. However, a great variation in the number and concentrations of fatty acid constituents among the palm oils from different origins as well as among different varieties is revealed (Bora, P.S. *et al.*, 2003; George, S. and Arumughan, C., 1991)[1].

Food industry requires concentration of the middle range of triglycerides to obtain a product with a desired melting character. Thus separation and fractionation processes are essential part of the oil industry. At present, two conventional processes predominate: vacuum distillation and solvent extraction. However, the isolation of substances from natural products remains problematic, especially with thermally labile materials such as polyunsaturated fatty acids and their glycerides. Vacuum distillation requires relatively high temperature, result in decomposition or degradation of these substances. Some of the disadvantages of solvent extraction are the tendency for the solvent to remain in the product after extraction and the continually shrinking list of safe solvents. For these reasons, much effort has centered on the development of separation and fractionation methods that are clean, efficient and free of thermal degradation of substances.

Although the numerous studies of fatty acid compositions in palm oil elsewhere have been reported, information from Thailand products has limited. Accordingly, the present study attempts to gain knowledge base of CPO product from Thailand which is an essential background in health food and nutraceutical applications. The efficiency of using centrifugation techniques and in combination with using some solvents for separation of olein and stearin was also evaluated. In addition, some properties, i.e. melting characteristics, triglyceride contents as well as fatty acids compositions of the stearin samples separated by the different conditions were included.

2. MATERIALS AND METHODS

Sample collection and stocking

Crude palm oil sample was obtained from Satun Industries Co., Ltd., Satoon, Thailand. To make well comparable data, the sample used throughout these studies was collected from the same batch and was separately stocked under nitrogen in 500 ml tightly sealed glass bottles at 4 °C. To each experiment, appropriate amounts were taken and were slightly warmed with stirring until homogeneous sample was obtained.

Effects of temperature on the yield of olein-stearin separation

The effects of temperature on a yield of olein-stearin separation were planned to evaluate at 4 conditions, i.e. ambient temperature, 0, -25 and -80 °C. The homogeneous sample was transferred into centrifuge tube and weight. They were left at the desired temperature until equilibrium was reached. Unfortunately, the samples left at 0 °C and lower were in solid state, therefore, centrifugation could not be performed. Olein-stearin appeared for the samples left at ambient temperature after standing over night. They were fractionated by centrifugation at 7,741g for 20 minutes (Beckman, J-30i). Stearin fraction was filtered with known weight Whatman filter paper No. 1 under vacuum and washed twice with acetone in cold room at 0-4 °C. The filter paper with stearin was put in desiccator and was further dried under high performance vacuum (0.05 millibar; Franklin electric, U.S.A.), then was weighed with analytical balance (Mettler, AE 240).

Effects of solvent on the yield of olein-stearin separation

Preliminary study in this laboratory indicated that stearin and olein were not formed by dissolving CPO in low polarity solvents such as hexane. In contrast, phase separation appeared when the sample was dissolved in the higher solvent polarity. In addition, toxicity to human health was also taken into consideration. Accordingly, four solvents were selected to investigate the effects of solvent polarity on separation of stearin and olein, namely, acetone, 2-propanol, 1-butanol and diethylether which were in order from the higher to the lesser polarity index. Experiment was carried out by mixing 10 gm of the homogeneous CPO sample in centrifuge tube with 10 ml of the selected solvents. To prevent a solvent evaporation, the tubes were sealed with aluminium foil and paraffin, and were stood over night at ambient temperature. They were centrifuged at room temperature on top bench centrifuge at 756g for 20 minutes.

Analysis of triglyceride

Triglyceride was determined using calorimetric techniques as the procedure described by Van Handel and Zilver Smith [3-4]. Various concentrations (125-2000 $\mu\text{g/ml}$) of tri-stearin (Sigma Chemicals) were prepared by dissolving in chloroform, and were used as standard triglyceride. Standard curve was performed by taking aliquot of 100 μl (12.5-200 μg) of the solutions, and drying at 70 $^{\circ}\text{C}$. Saponification was achieved by adding 0.5 ml of 1% KOH in alcohol, heating at 70 $^{\circ}\text{C}$ for 20 min. The solutions were neutralized with 0.5 ml 0.2N H_2SO_4 at 70 $^{\circ}\text{C}$ for 10 minutes. After cooling, 0.1 ml of 0.5% sodium metaperiodate was added, followed by 0.1 ml of 5% sodium bisulfite. The color was developed by adding 3 ml 0.25% chromotropic acid reagent and heating in boiling water for 30 minutes. Then, an absorbance of the color solutions was determined with spectrophotometer (Shimazu U160A) at wavelength of 570 nm. Similar procedure was performed for unknown samples, and their triglyceride contents were determined from the standard curve.

Melting characteristics

Melting characteristics of sample were analyzed with differential scanning calorimeter (Perkin Elmer, 7 DSC). Accurately weight of approximately 3-5 mg was introduced into aluminium pan and sealed with a pan crimper. Initial temperatures were set at -10 $^{\circ}\text{C}$ and 25 $^{\circ}\text{C}$ for crude palm oil and stearin samples, respectively. After holding at the initial temperatures for 1 minute, they were heated to 25 $^{\circ}\text{C}$ and 90 $^{\circ}\text{C}$ by a raising rate of 10 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$.

Preparation of fatty acid methyl ester (FAME)

Fatty acid methyl ester (FAME) was prepared as the procedure recommended by Morrison and Smith [5]. In brief, 50 mg sample was accurately weighed in ampule. It was mixed with 1 ml of boron trifluoride-methanol (140g BF_3 per liter of methanol), flushed with nitrogen free oxygen (OFN) and sealed to minimize oxidation. The reaction mixture was left in an oven at 100 $^{\circ}\text{C}$ for 45 minutes. After cooling, fatty acid methyl esters were extracted by adding 1 volume of water and 2 volumes of hexane. The FAME in hexane layer was taken and dried with OFN stream. The residue was re-dissolved in hexane to obtain an optimum concentration for further analysis with GLC.

Determination of fatty acid methyl esters

Fatty acid methyl esters were analyzed on Hewlett Packard 5890 series chromatograph equipped with flame ionization detector (FID). One microlitre of sample was injected at 220 $^{\circ}\text{C}$ in the splitless mode onto a non-polar bondable PEG capillary column (HP-Innowax 30 m x 0.32 mm i.d., 0.5 μm film thickness, Hewlett Packard) using a Hewlett Packard (HP 7673) automatic sampler. The oven temperature was programmed as following: initiated with 140 $^{\circ}\text{C}$ for 1 minute, increased to 190 $^{\circ}\text{C}$ with the rate of 25 $^{\circ}\text{C/min}$ and maintained at this temperature for 25 minutes, raised to 220 $^{\circ}\text{C}$ with the rate of 3 $^{\circ}\text{C/min}$ and further maintained at this temperature for 30 minutes. Helium was used as a carrier gas with a flow rate of 1 ml/min. The detector temperature was 275 $^{\circ}\text{C}$. Peak identification of unknown was determined by comparison with the relative retention time (RRT) of twenty-one standard fatty acids (Sigma, U.S.A.).

3. RESULTS AND DISCUSSIONS

Effects of temperature and solvents on fractionation of olein-stearin

Since CPO samples at 0, -25 and -80 $^{\circ}\text{C}$, CPO were in solid state, centrifugation at the conditions could not be performed. The results reflected the high melting properties of samples which may due to an effect of the two most predominant constituents in CPO i.e. palmitic acid and oleic acid.

Table 1 shows that stearin of 10.18 % could be fractionated from CPO after standing the samples at ambient temperature over night. Slightly higher percent yields were obtained when the CPO was dissolved in acetone and 2-propanol. However, the use of lower polarity solvent (diethylether), the lower stearin content could be separated.

Table 1. Percent yield of stearin fractionated from crude palm oil (CPO), CPO in acetone, 2-propanol, 1-butanol and diethylether with 1:1 ratio (w/v). Values are the mean of 4 replications.

Sample	Yield (%)
CPO	10.18
CPO:Acetone	10.25
CPO:2-Propanol	12.03
CPO:1-Butanol	10.20
CPO:Diethylether	5.125

Triglyceride contents in stearin

Results in this study indicated that the CPO sample comprising of 92.5% triglyceride which is slightly lower than that reported by Ong, S.H., Chuah, C.C., and Boey P.L [6]. The variation may due to the difference of procedure used for determination. The contents observed in stearin fractionated were shown in Table 2. It was found that the stearin sample CPO:1-butanol contained 100 % triglyceride which consisted of high proportion of saturated fatty acid. Therefore, much less saturated fatty acid was left in the olein fraction. Moreover, it would be easier for extracting other minor components such as β -carotenes (provitamin A), vitamin E (tocopherols and tocotrienols), etc.

Table 2. Triglyceride contents (%) in stearin fractionated from crude palm oil (CPO), CPO in acetone, 2-propanol, 1-butanol and diethylether with 1:1 ratio (w/v). Values are the mean of 4 replications.

Sample	Triglyceride content (%)
CPO	92.5
CPO:Acetone	95.6
CPO:2-Propanol	98.5
CPO:1-Butanol	100.0
CPO:Diethylether	97.1

Melting characteristic

From the experiment in this study, the melting point of CPO before a centrifugation was 3.5 °C. The results of melting thermograms of stearin separated at different conditions were shown in Figure 1. The melting thermogram of the stearin separated from CPO sample has the lower melting point than the samples of CPO in acetone, 2-propanol, 1-butanol and diethylether. At least two clear peaks were observed in the heating thermogram of the CPO sample, indicative of more than two melting forms present in the sample. A high melting peak at 63 °C was obtained. While the thermograms of CPO samples in acetone, 2-propanol, 1-butanol and diethylether illustrated a sharp endotherm at 67.5 °C, 68 °C, 65.7 °C and 68.7 °C, respectively. The high melting components at 65 °C - 69 °C could be due to the high proportion of saturated fatty acid. Therefore, C16:0 and C18:0 would be including in the palm stearin. However, from the experimental data [7] illustrated that 44 % C16:0 contained in CPO while only 4.5 % C18:0 was found, this confirms that C16:0 would be a major component in the palm stearin rather than other saturated fatty acids.

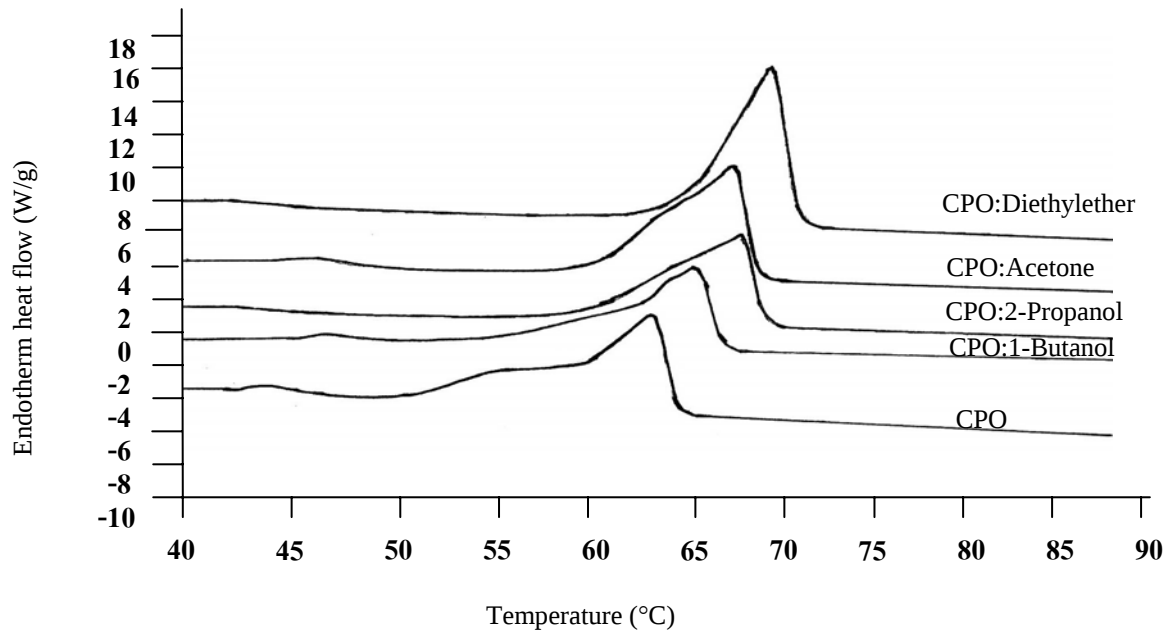


Figure 1. DSC thermogram of the stearin fractionated from crude palm oil (CPO), CPO in acetone, 2-propanol, 1-butanol and diethylether with 1:1 ratio (w/v).

Fatty Acid Analysis

Figure 2 shows chromatogram of twenty-one standard FAMES which are commonly found in biological samples. This suggested that the use of GLC chromatographic conditions as described above provided well resolution for fatty acid analysis. With identical conditions, the satisfied result was also obtained by injection of the low concentration of FAMES from CPO (presented in Figure 3). In consistent with other reports, C16:0 and C18:1 ω 9 appeared to be the predominant constituents in CPO.

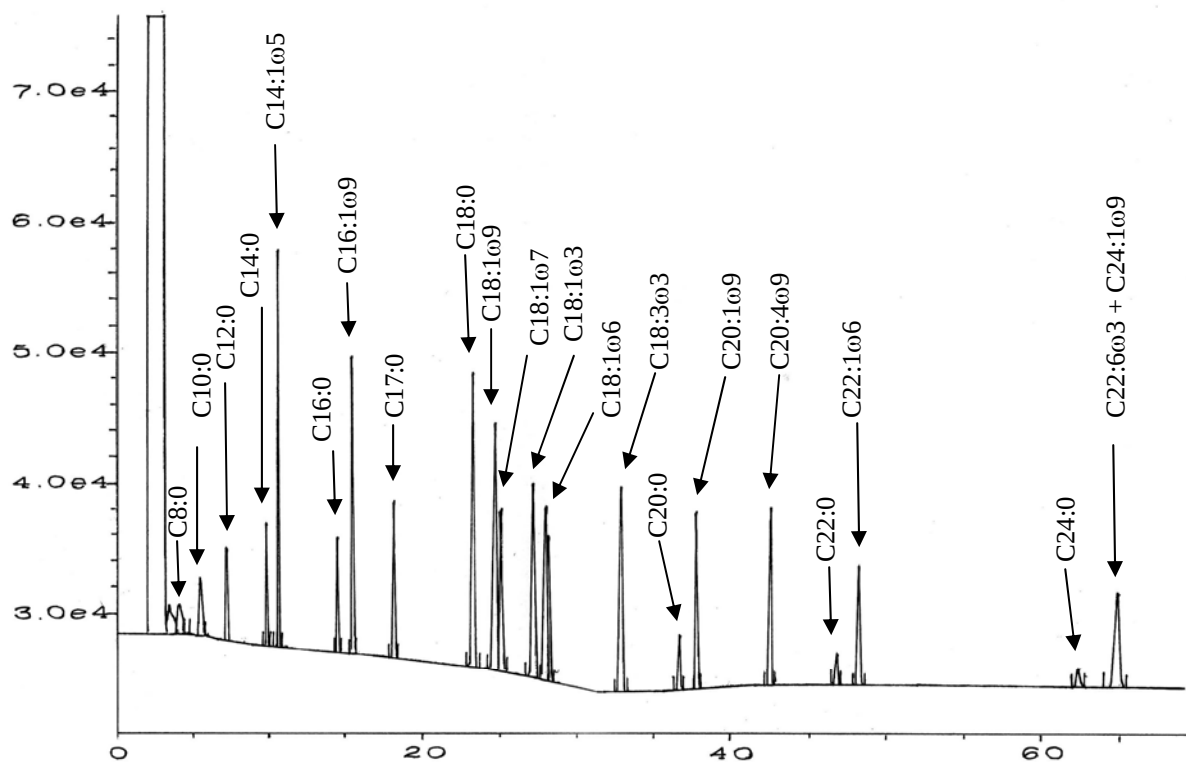


Figure 2. Chromatogram of 21 standard FAMES

It was noted, however, that when the higher concentration of FAMES from CPO was injected, asymmetric peak was observed around C18:0. This suggested the co-elution of unknown fatty acids associated with C18:0 and that was illustrated in Figure 4 while the more amount of sample was injected. Therefore, it was presumed that CPO might consist of uncommon fatty acids which have never been found in literature such as branch chain, unusual trans-isomers as well as others fatty acid derivatives. This is under investigating in this laboratory in order to re-evaluate the nutritional value of palm oil.

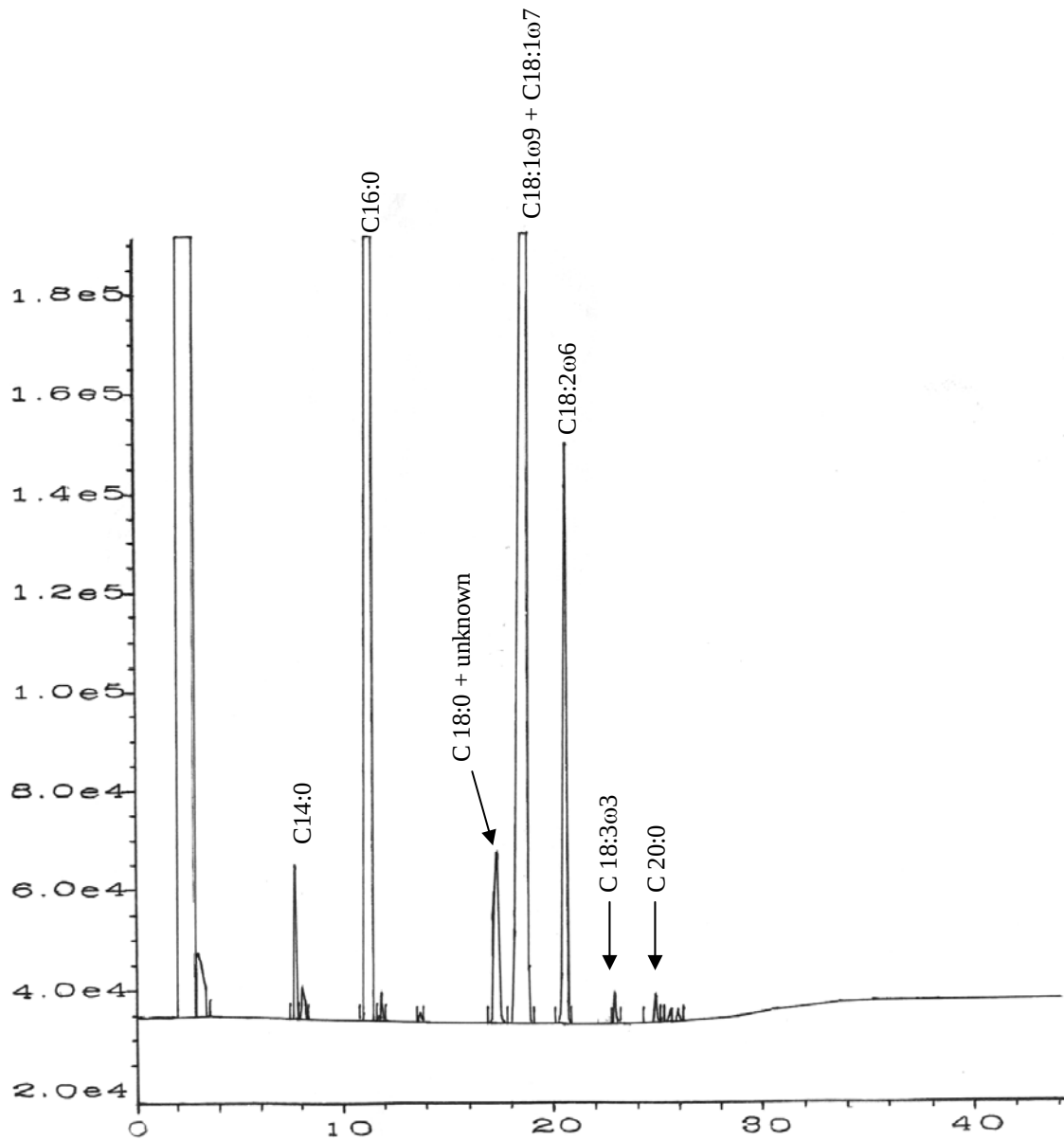


Figure 3. Fatty acid profile of CPO by injection of the low concentration of FAMES

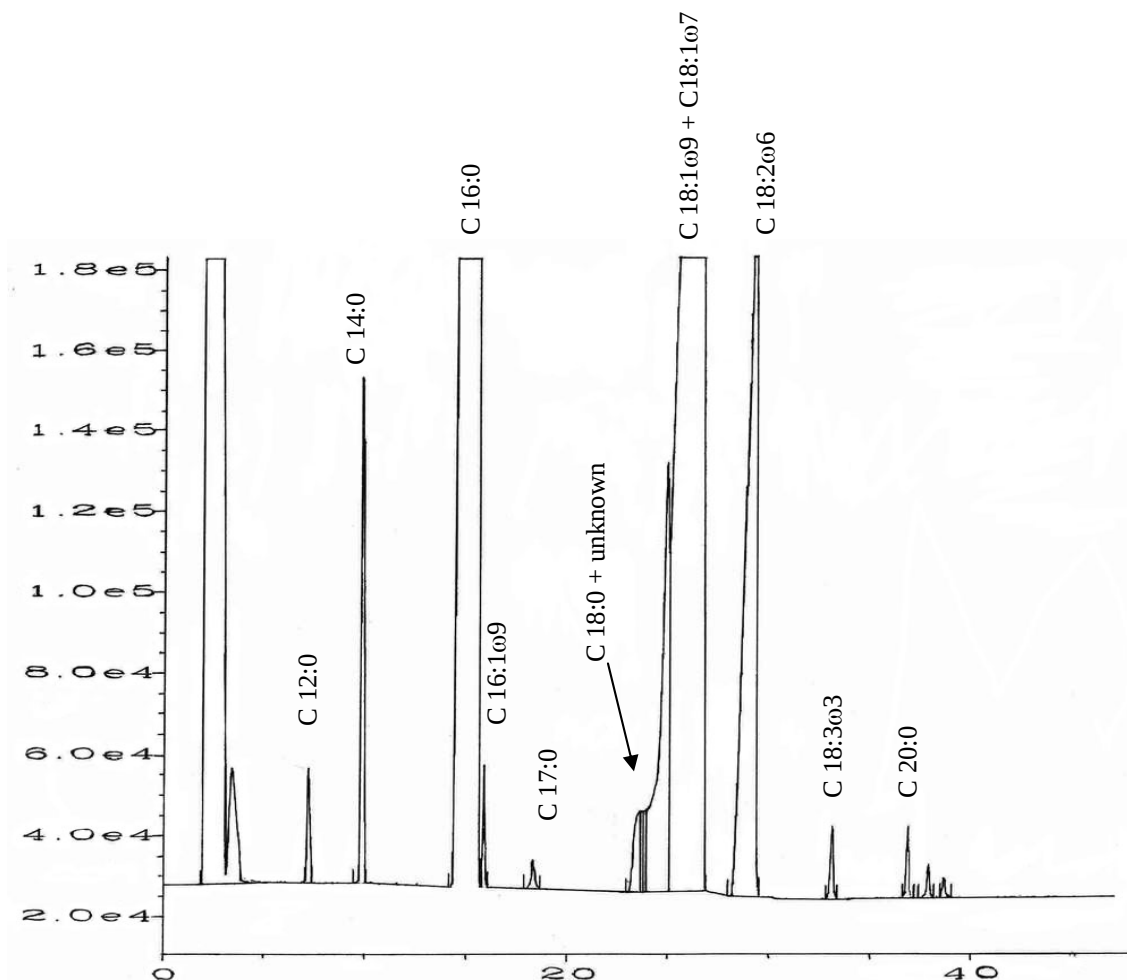


Figure 4. Fatty acid profile of CPO by injection of the higher concentration of FAMES

4. CONCLUSION

Separation of stearin from CPO by centrifugation could not be achieved at temperature lower than 0°C , but it was easily performed at ambient temperature with the yield of 10.2%. Relatively similar yield was obtained when CPO was dissolved in acetone, 2-propanol and 1-butanol. It was found that triglyceride is principal constituent in stearin separated from all experimental conditions. Studying on melting characteristics of stearin separated at different conditions indicated that the sample obtained from CPO at ambient temperature has the lowest melting point. Results indicated, however, that melting point of the stearin separated from the different solvents does not correspond with polarity index. Analysis of fatty acid using GLC with capillary column showed that CPO sample might comprise of some fatty acids which are not commonly found in biological materials.

5. ACKNOWLEDGEMENTS

The authors gratefully acknowledge the financial support provided by the Thailand Research Fund (TRF) and the Graduate School, Prince of Songkla University. We also would like to thank Assoc. Prof. Dr. Damrongsak Faroongsarn for his assisting in DSC analysis.

6. REFERENCES

- [1] Bora, P.S., Rocha, R.V.M., Narain, N., Moreira-Monteiro, A.C. and Moreira, R.A., 'Characterization of Principal Nutritional Components of Brazilian Oil Palm (*Eliaes guineensis*) Fruits', *Bioresource Technology*, **87**, pp 1-5, (2003).
- [2] Ong, A.S. and Goh, S.H. Palm oil, 'A Healthful Cost-Effective Dietary Component', *Food Nutr Bull. Mar*; **23(1)**, pp 11-22, (2002).
- [3] Rich, E.W., *Standard Method in Chemical Chemistry*, Edited by MacDonald, R.P., Academic Press, New York, Vol 6, pp 215, (1970).
- [4] Van Handel, E. and Zilversmit D.B., *J Lab Clin Med*, **50**, pp 152, (1957).
- [5] William R. Morrison and Lloyd M. Smith, 'Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals form lipid with boron fluoride-methanol', *Journal of Oil Palm Research*, **5**, pp 600-608, (1964).
- [6] Ong, S.H., Chuah, C.C., and Boey, P.L., 'Preliminary Study on Olein Stearin Separation of Palm Oil'. In *International Developments in Palm Oil*, Earp, D.A. and Newall, W.ed., Rajiv Printers, Kuala Lumpur, pp 281-290, (1977).
- [7] Noh, A., Rajanaidu, N., Kushairi, A., Mohdrafii, Y., Mohd Din, A., Mohd Isa, Z.A. and Saleh, G., 'Variability in Fatty Acid Composition; Iodine Value and Carotene Content in the MPOB Oil Palm Germplasm Collection from Angola', *Journal of Oil Palm Research*, **14(2)**, pp 18-23, (2002).
- [8] Lehninger, A.L. *Biochemistry*, Spark, Maryland (1975).
- [9] George, S., and Arumughan, C., 'Distribution of Lipids in Exocarp and Mesocarp of Three Varieties of Oil Palm Fruit *Eliaes guineensis*', *J. Sci. Food Agr*, **56(2)**, pp 210-222, (1991).
- [10] Sambanthamurthi, R., Sundram, K. and Yew-Ai, T., 'Chemistry and Biochemistry of Palm Oil'. Palm Oil Research Institute of Malasia, Kuala Lumpur.
- [11] Siew, W.L. and Faridah M.D. Jaafar, 'Composition and Differential Scanning Calorimetry (DSC) Studies of Crystals of Palm Oil', *Journal of Oil Palm Research*, **12(2)**, pp 1-13, (2000).
- [12] Sundram, K. 'Modulation of Human Lipids and Lipoproteins by Dietary Palm Oil and Palm Olein: A Review', *Asia Pacific J Clin Nutr*, **6(1)**, pp 12-16, (1997).



EFFECT OF SOLVENT ON FATTY ACID PROFILE OF STEARIN SEPARATED FROM CRUDE PALM OIL

Chayanoot Sangwichien¹, Ausa Chandumpai², Jaruwan Na Nakorn¹ and Chakrit Tongurai¹

¹Prince of Songkla University, Faculty of Engineering, Thailand

²Prince of Songkla University, Faculty of Science, Thailand

Abstract: Crude palm oil was dissolved in five different solvents based on their polarity and toxicity at the ratio of 1:1 (w/v). After standing overnight, they were centrifuged at room temperature on a top bench centrifuge at 7,741g for 20 minutes and the stearin obtained from this centrifugation was taken for fatty acid profile analysis using the Hewlett Packard 5890 series chromatograph equipped with a flame ionization detector (FID). The fatty acid profile plays a key role to the physical-chemical properties of stearin and there has not been any systematic study of fatty acid profiles in stearin from Thailand crude palm oil. Therefore the results are useful knowledge base for further advanced research.

Key Words: Fatty acid / stearin/ crude palm oil / centrifugation

1. INTRODUCTION

Mesocarp of the palm fruit is an excellent source of edible oil which could be extruded after cooking at 130 °C for 60 minutes under pressure of 45 psi. The semi-solid product is called crude palm oil (CPO) which triglycerides are the major component (more than 90%). The rests are free fatty acids 3-5% and minor components such as β -carotene (provitamin A) and vitamin E (tocopherols and tocotrienols) about 1%. Since trace amount of cholesterol was found in palm oil, it has been worldwide accepted as good quality dietary oil.

Physical-chemical properties of triglyceride and its applications depend upon fatty acid constituents in molecule. The differences are due primarily to chain length, degree and position of unsaturation. The short chain fatty acids are of lower melting point and are more soluble in water. Whereas, the longer chain fatty acids have higher melting points. Unsaturated acids will have a lower melting point compared to saturated fatty acids of similar chain length. Also, numerous studies have been shown that qualities of edible oils depend largely on fatty acid compositions their in as extensively reviewed by Ong, A.S. and Goh, S.H. (2002) and Sundrum, K. (1997)

[1, 2]. Typical fatty acid composition of palm oil is given as:

C12:0	Lauric	- 0.2%
C14:0	Myristic	- 1.1%
C16:0	Palmitic	- 44.0%
C18:0	Stearic	- 4.5%
C18:1	Oleic	- 39.2%
C18:2	Linoleic	- 10.1%
Others		- 0.9%

However, a great variation in the number and concentration of fatty acid constituents among palm oils from different origins as well as among different varieties is revealed (Bora, P.S. *et al.*, 2003; George, S. and Arumugham, C., 1991) [3,4].

Although the numerous studies of fatty acid compositions in palm oil elsewhere have been reported, information from Thailand products has limited. In this present study, we attempt to gain knowledge base of CPO product from Thailand which is an essential background in health food and nutraceutical applications. By using centrifugation techniques and in combination with using some solvents for separation of olein and stearin was performed. Accordingly, fatty acids compositions of the stearin samples separated by the different conditions were analyzed.

2. MATERIALS AND METHODS

Preliminary study in this laboratory indicated that stearin and olein were not formed by dissolving CPO in low polarity solvents such as hexane. In contrast, phase separation appeared when the sample was dissolved in the higher solvent polarity. In addition, toxicity to human health was also taken into consideration. Accordingly, five solvents were selected to investigate the effects of solvent polarity on separation of stearin and olein, namely, acetone, ethanol, 1-butanol, 2-propanol and diethylether which were in order from the higher to the lesser polarity index. Experiment was carried out by mixing 10 gm of the homogeneous CPO sample in centrifuge tube with 10 ml of the selected solvents. To prevent a solvent evaporation, the tubes were sealed with

aluminium foil and paraffin, and were stood over night at ambient temperature. They were centrifuged at room temperature on top bench centrifuge at 7,741g for 20 minutes.

2.1 Sample collection and stocking

Crude palm oil sample was obtained from Satun Industries Co., Ltd., Satoon, Thailand. To make well comparable data, the sample used throughout these studies was collected from the same batch and was separately stocked under nitrogen in 500 ml tightly sealed glass bottles at 4 °C. To each experiment, appropriate amounts were taken and were slightly warmed with stirring until homogeneous sample was obtained.

2.2 Preparation of fatty acid methyl ester (FAME)

Fatty acid methyl ester (FAME) was prepared as the procedure recommended by Morrison and Smith [5]. In brief, 10 mg sample was accurately weighted in ampule with 1 mg of internal standard. It was mixed with 1 ml of boron trifluoride-methanol (140g BF₃ per liter of methanol), flushed with oxygen-free nitrogen (OFN) and sealed to minimize oxidation. The reaction mixture was left in an oven at 100 °C for 45 minutes. After cooling, fatty acid methyl esters were extracted by adding 1 volume of water and 2 volumes of hexane. The FAME in hexane layer was taken and dried with OFN stream. The residue was re-dissolved in hexane to obtain an optimum concentration for further analysis with GLC.

2.3 Determination of fatty acid methyl esters

Fatty acid methyl esters were analyzed on Hewlett Packard 5890 series chromatograph equipped with flame ionization detector (FID). One microlitre of sample was

injected at 220 °C in the splitless mode onto a non-polar bondable PEG capillary column (HP-Innowax 60 m x 0.32 mm i.d., 0.5 µm film thickness, Hewlett Packard) using a Hewlett Packard (HP 7673) automatic sampler. The oven temperature was programmed as following: initiated with 50 °C for 2 minutes, increased to 220 °C with the rate of 4 °C/min and maintained at this temperature for 20 minutes, raised to 250 °C with the rate of 30 °C/min and further maintained at this temperature for 30 minutes. Helium was used as a carrier gas with a flow rate of 2 ml/min. The detector temperature was 275 °C. Peak identification of unknown was determined by comparison with the relative retention time (RRT) of thirty-four standard fatty acids (Sigma, U.S.A.)

3. RESULTS AND DISCUSSION

The chromatogram of thirty-four standard FAMES which are commonly found in biological samples is illustrated in Figure 1. This suggested that the use of GLC chromatographic conditions as described above provided well resolution for fatty acid analysis. With identical conditions, the results were obtained by injection of FAMES from stearin sample that fractionated from CPO. Figure 2 show the results of fatty acid compositions for stearin fractionated from CPO that dissolved in acetone, ethanol, 2-propanol, 1-butanol, and diethylether and without solvent respectively.

The qualitative and quantitative analysis for all cases has been done and is shown in Table 1 on the basis of 100 gm of CPO. It was found that the highest percent yield of stearin fractionated from crude palm oil was obtained from CPO using ethanol as a solvent.

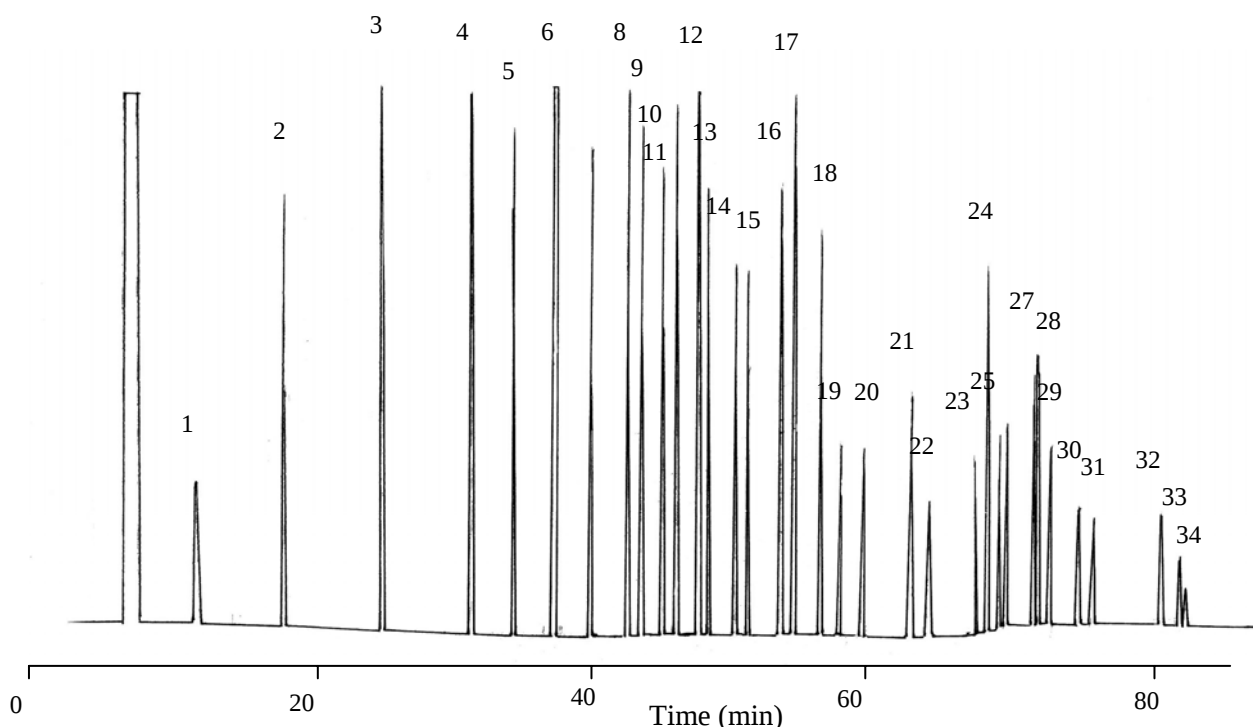


Fig. 1. Chromatogram of thirty-four standard FAMES

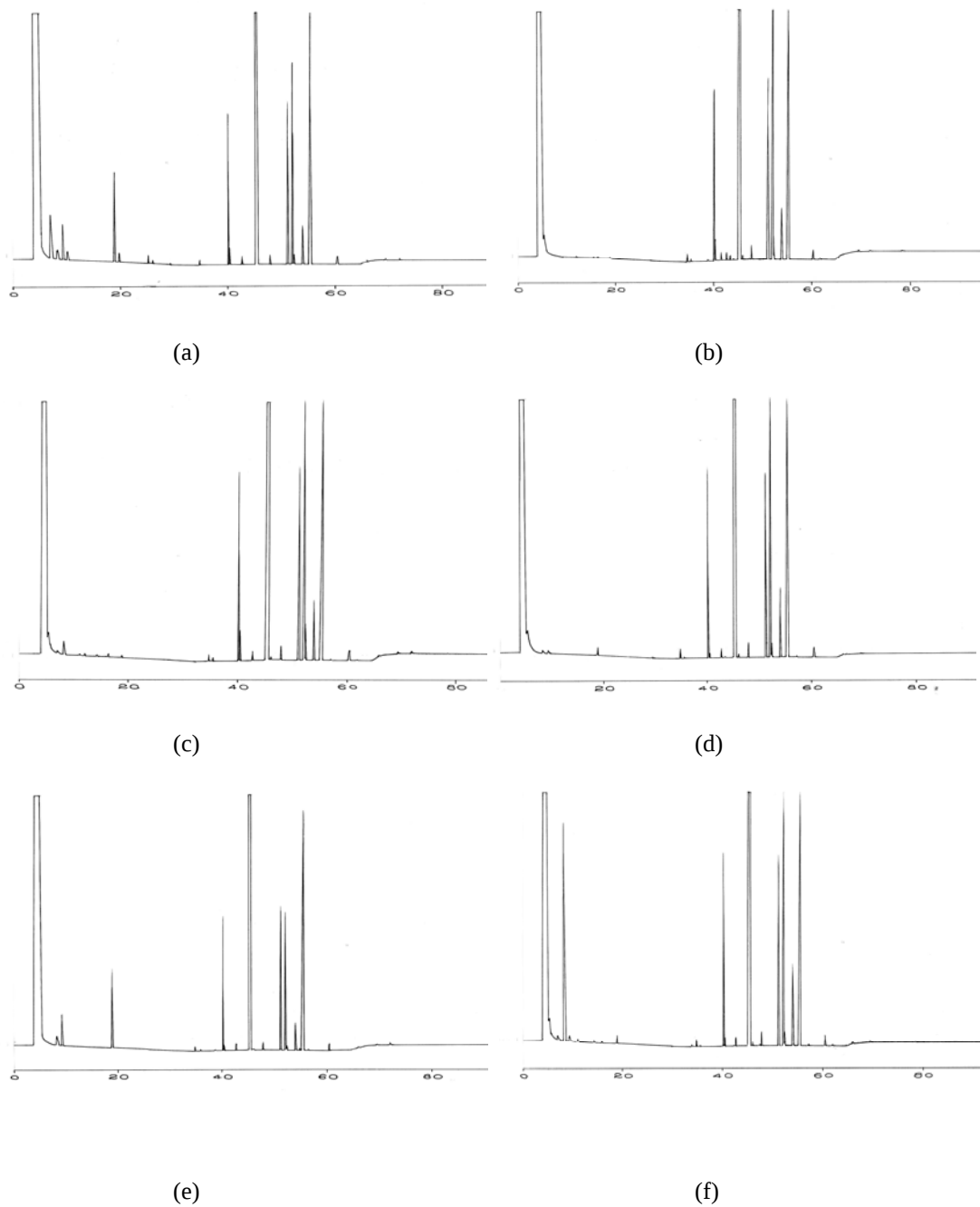


Fig. 2. Chromatograms of FAMES for stearin fractionated from CPO in a) acetone b) ethanol c) 1-butanol d) 2-propanol e) diethylether with the 1:1 ratio (w/v) and f) stearin fractionated from CPO without solvent

Table 1. Fatty acid composition in CPO and stearin fractionated from CPO in solvents with 1:1 ratio (w/v)

Peak in Fig. 1	Fatty Acid	CPO	Stearin without solvent	Stearin fractionated from CPO in solvent:				
				Acetone	Ethanol	Buthanol	2-Propanol	Diethylether
	Saturated fatty acid							
1	C4:0	0.14	0.02	0.07	0.11	0.06	0.01	0.04
6	C12:0	0.31	0.01	0.01	0.08	0.01	0.01	trace
8	C14:0	1.50	0.21	0.18	0.28	0.20	0.27	0.05
10	C15:0	0.06	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	trace
12	C16:0	46.63	8.65	7.68	10.71	7.93	10.82	3.11
14	C17:0	0.14	0.02	0.02	0.03	0.02	0.02	0.01
16	C18:0	3.92	0.48	0.40	0.70	0.45	0.58	0.14
21	C20:0	0.28	0.03	0.03	0.04	0.02	0.03	0.01
24	C21:0	0.20	0.01	0.03	0.02	0.01	0.02	trace
28	C22:0	0.73	0.02	0.01	0.01	0.02	0.05	0.02
32	C24:0	0.03	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	SUM	53.94	9.46	8.41	11.98	8.73	11.83	3.37
	Unsaturated fatty acid							
13	C16:1ω7	0.19	trace	trace	0.01	trace	0.01	trace
17	C18:1ω12	36.42	0.94	0.51	1.69	0.89	0.82	0.17
17.1	C18:1ω9	0.15	0.02	0.01	0.04	0.02	0.03	trace
17.2	C18:1ω7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	trace
22	C20:1ω9	0.12	ND	0.01	0.02	ND	trace	trace
29	C22:1ω6	ND	ND	0.01	ND	ND	ND	0.01
33	C24:1ω9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	trace
	SUM	36.88	0.97	0.54	1.76	0.92	0.85	0.19
	Polyunsaturated fatty acid							
18	C18:2ω6	8.89	0.15	0.08	0.13	0.13	0.18	0.03
20	C18:3ω3	0.28	trace	trace	trace	trace	0.01	trace
25	C20:2ω6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	trace
23	C20:3ω6	ND	trace	0.01	0.01	ND	0.01	ND
27	C20:4ω6	ND	ND	0.01	ND	ND	ND	trace
	SUM	9.17	0.16	0.10	0.14	0.13	0.20	0.04
	Total (g)	100	10.59	9.05	13.88	9.78	12.88	3.60

*ND: non detected, trace: quantity that is less than 0.01 g

5. CONCLUSION

The fatty acid composition of palm oil contains a healthy mixture of all the types of fatty acid (53.94 % saturated fatty acid, 36.88 % monounsaturated, and 9.17 % polyunsaturated). The results in this study indicated that the variation of fatty acid profiles were obtained for stearin fractionated from CPO in various solvents. The fatty acid profile plays a key role to the physical-chemical properties therefore this is useful knowledge base for further advanced research.

6. ACKNOWLEDGEMENT

This project is financial support by the Thailand Research Fund (TRF) under contract MRG4780127.

7. REFERENCES

- [1] A.S.Ong, and S.H.Goh, Palm oil, "A Healthful Cost-Effective Dietary Component", *Food Nutr Bull.* Mar; Vol.23, No.1, 2002, pp. 11-22.
- [2] K.Sundram, 'Modulation of Human Lipids and Lipoproteins by Dietary Palm Oil and Palm Olein: A Review', *Asia Pacific J Clin Nutr*, Vol.6, No.1, 1997, pp. 12-16.
- [3] P.S.Bora, R.V.M.Rocha, N.Narain, A.C.Moreira-Monteiro, and R.A.Moreira, "Characterization of Principal Nutritional Components of Brazilian Oil Palm (*Eliaes guineensis*) Fruits", *Bioresource Technology*, Vol.87, 2003, pp. 1-5.
- [4] S.George, and C. Arumugan, 'Distribution of Lipids in Exocarp and Mesocarp of Three Varieties of Oil Palm Fruit *Eliaes guineensis*', *J. Sci. Food Agr*, Vol.56, No.2, 1991, pp. 210-222.
- [5] W. R. Morrison and L. M. Smith, "Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipid with boron fluoride-methanol", *Journal of Oil Palm Research*, Vol.5, 1964, pp. 600-608.