

บทที่ 5

ส่วนประกอบกลีเซอไรด์ และกรดไขมันของน้ำมันปาล์มดิบและสเตียอรินที่แยกด้วย ตัวกลางทำละลายโดยการปั่นเหวี่ยง

5.1 วิธีการทดลอง

5.1.1 การวิเคราะห์ปริมาณกลีเซอไรด์

การวิเคราะห์ปริมาณของกลีเซอไรด์ในการทดลองนี้วิเคราะห์โดยวิธีการเทียบสี (colorimetric technique) ซึ่งดัดแปลงจากวิธีการทดลองที่แนะนำโดย Handel และ Smith [28,29] อย่างไรก็ตามเนื่องจากน้ำมันปาล์มดิบประกอบด้วยไตรกลีเซอไรด์มากกว่า 90% และมีสารสอดแทรก (interferences) ที่อาจส่งผลกระทบต่อความแม่นยำของการวิเคราะห์โดยเฉพาะอย่างยิ่งเป็นสารที่มี 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) สำหรับตัวอย่างน้ำมันปาล์มดิบและสเตียอรินที่ต้องการวิเคราะห์เตรียมเป็นสารละลายให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในตัวทำละลายเดียวกัน ดูดสารละลายมาตรฐานและสารละลายตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองแล้วระเหยตัวทำละลายในตู้อบลมร้อนที่มีอุณหภูมิ 60-70°C แล้วทำปฏิกิริยา saponification ด้วย 0.5 มิลลิลิตร 1% alcoholic KOH ในตู้อบที่อุณหภูมิ 60-70°C เป็นเวลา 20 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เติม 0.5 มิลลิลิตร ของ H₂SO₄ ความเข้มข้น 0.6% นำไปวางในตู้อบที่อุณหภูมิ 60-70°C 10 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เติม 0.1 มิลลิลิตร 0.5% sodium metaperiodate แล้ววางทิ้งไว้ 10 นาที จากนั้นเติมสารละลาย 0.1 มิลลิลิตร 5% sodium metabisulphite ปิดฝาแล้ววางทิ้งไว้อีก 10 นาที จากนั้นจึงทำให้เกิดสีโดยเติม 3 มิลลิลิตร ของ 2.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร chromotropic acid reagent เตรียมตามรายละเอียดวิธีการในภาคผนวกที่ 1 นำไปวางในน้ำเดือดเป็นเวลา 30 นาที (ซึ่งในระหว่างนี้สารผสมจะเกิดการเปลี่ยนสีเป็นสีม่วง) 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 ให้สมบูรณ์ต้องใช้เวลา นานขึ้นเป็น 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 และรักษาไว้ที่อุณหภูมินี้ 30 นาที ทั้งนี้กำหนดอัตราการไหลของ carrier gas เป็น 2 มิลลิลิตร/นาที และตั้งอุณหภูมิของ detector ไว้ที่ 275°C

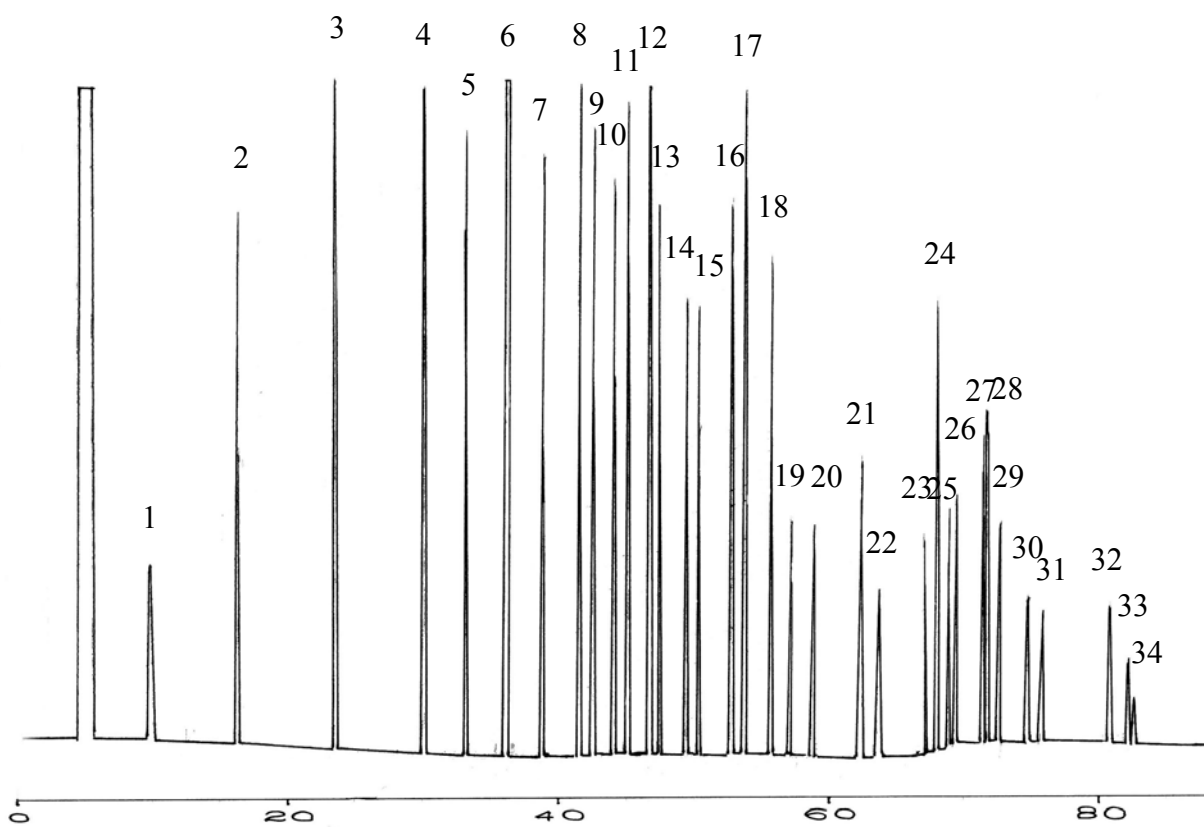
ซึ่งแต่ละตัวอย่างมีการทำ esterification 2 ซ้ำ และ แต่ละซ้ำทำการ inject 2 ซ้ำ แต่ในกรณีของสเตียรีนที่แยกได้จากการใช้ตัวทำละลาย acetone, ethanol และ 1-butanol มีการทำ esterification 1 ซ้ำ และ แต่ละซ้ำทำการ inject 2 ซ้ำ

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



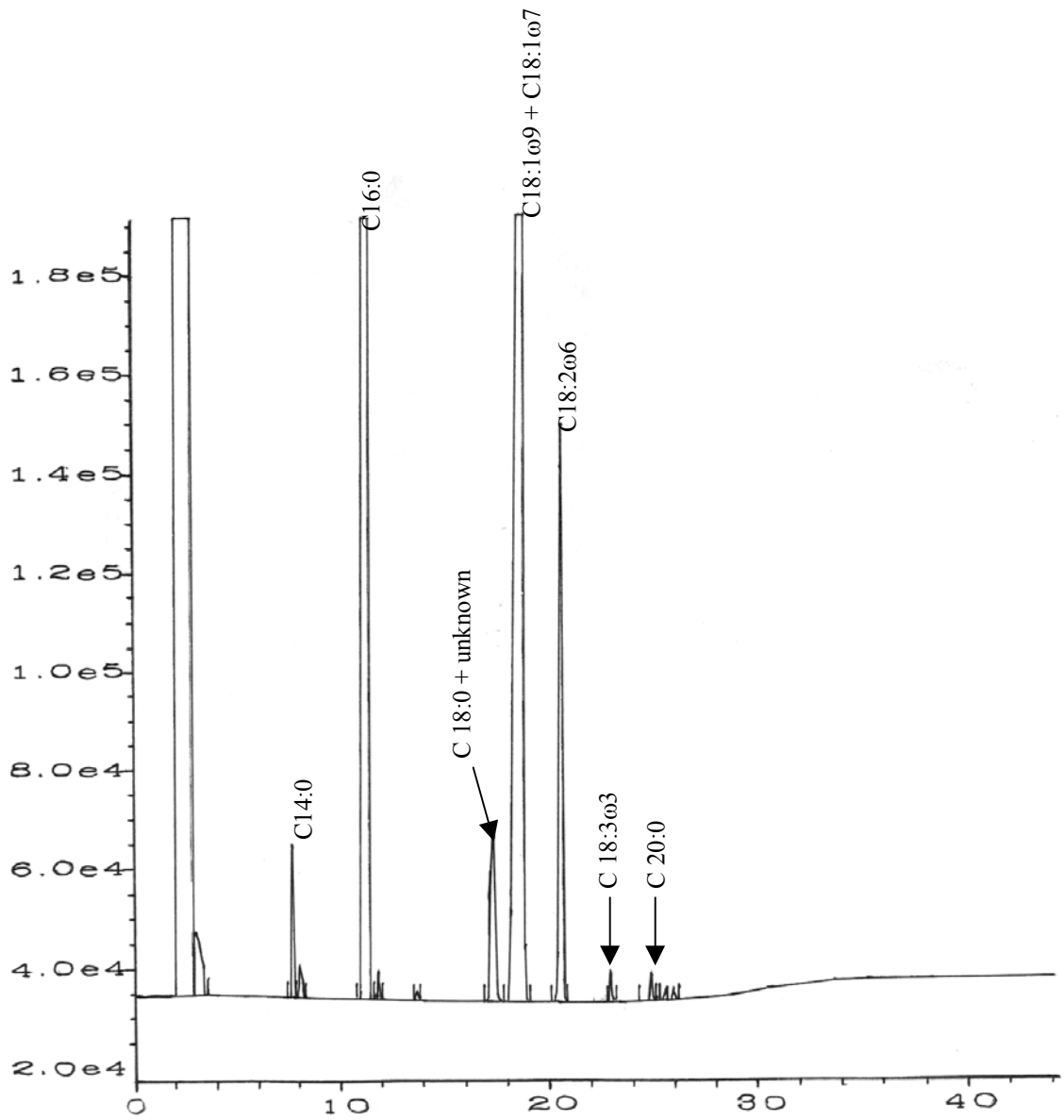
รูปที่ 15 Standard 34 Fatty Acid Methyl Ester

	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 22:1 ω 9	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 24:1 ω 9	Nervonic acid methyl ester	
34.	C 22:6 ω 3	cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoic acid methyl ester	
	C 19:0	Nonadecanoate	Internal standard

5.1.2.4 การทดสอบประสิทธิภาพการวิเคราะห์กรดไขมันในน้ำมันปาล์มดิบ

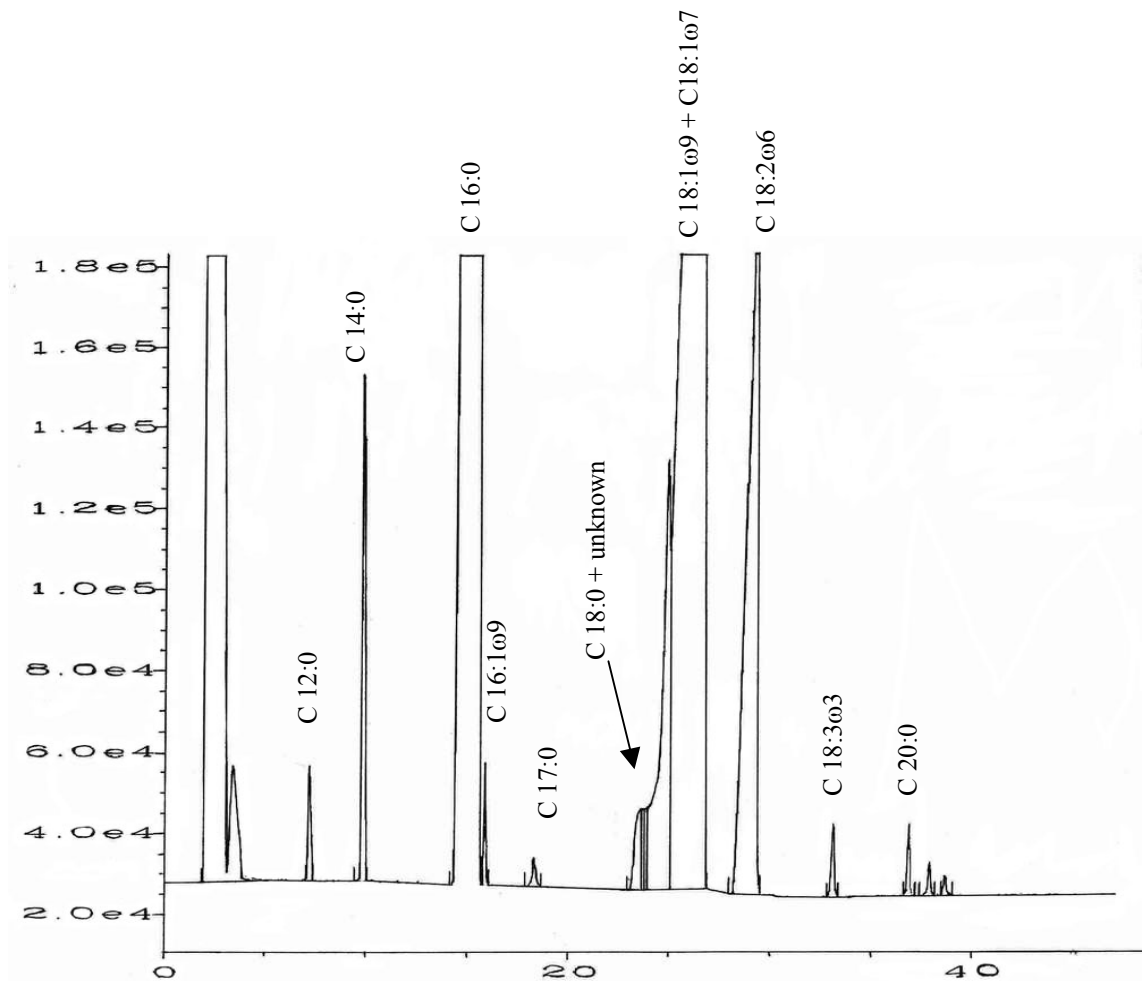
เพื่อประเมินความเหมาะสมของ chromatographic conditions ที่ศึกษาไว้ในข้อ 5.1.2.2 ว่าสามารถนำมาใช้เพื่อวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดไขมันในตัวอย่างหรือไม่ ทำการทดสอบโดยนำน้ำมันปาล์มดิบปริมาณ 10 ไมโครกรัม ซึ่งเตรียมในรูปสารละลายมาทำปฏิกิริยา esterification สกัดและเตรียมสารละลาย FAME ดังรายละเอียดในหัวข้อ 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 นอกจากนี้เป็นที่น่าสังเกตว่าน้ำมันปาล์มดิบประกอบด้วยกรดไขมันบางชนิดด้วยปริมาณต่ำมากเมื่อเทียบกับกรดไขมันหลัก ดังนั้นเพื่อให้ผลการวิเคราะห์ที่มีความถูกต้องมากขึ้นจึงควรเพิ่มปริมาณสารตัวอย่างที่ฉีดเข้าสู่ระบบมากขึ้น

เพื่อยืนยันสมมุติฐานดังกล่าวนี้จึงดำเนินการทดสอบโดยการหา chromatographic conditions ที่เหมาะสมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการแยก (resolution) ประกอบกับการใช้เทคนิค co-elution โดยผสม methylester ของ C18:0 ลงในสารละลายตัวอย่าง และการเพิ่มปริมาตรการฉีดตัวอย่างเดิมเข้าสู่ injector port เป็น 5.0 ไมโครลิตร ซึ่งได้ chromatogram ดังแสดงในรูปที่ 17 จะเห็นว่าที่บริเวณใกล้เคียงกับ retention time ของ C18:0 มีสารประกอบอื่นที่ไม่สามารถบ่งชนิดได้ปนอยู่ด้วยจริงตามสมมุติฐาน 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

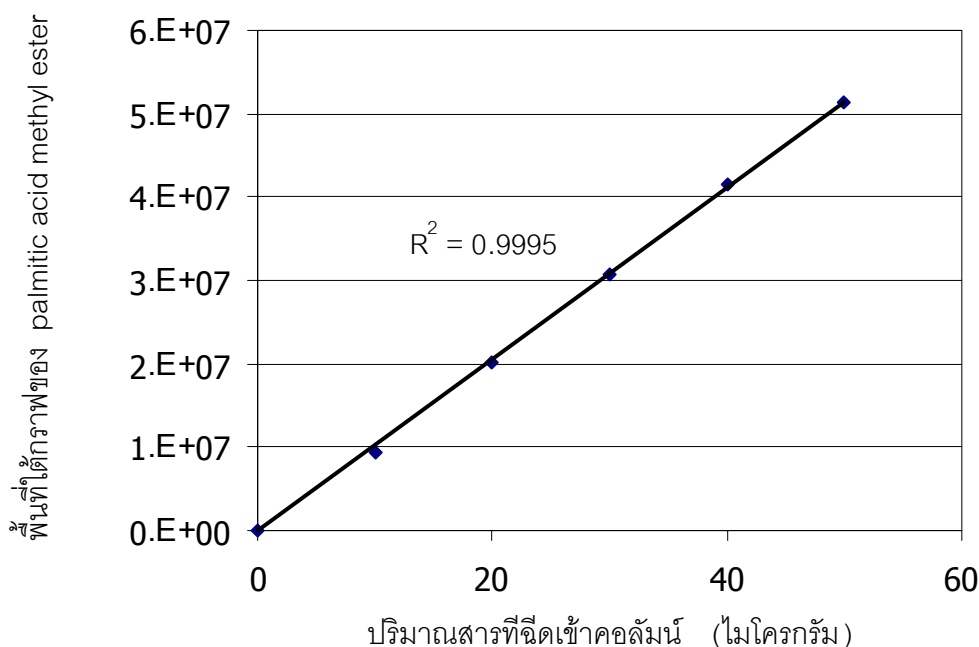


รูปที่ 17 Fatty acid profile ของน้ำมันปาล์มดิบที่ความเข้มข้นสูง

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 อุปกรณ์วัดสัญญาณสามารถวัดปริมาณกรดไขมันที่ฉีดเข้าสู่ระบบเพื่อการวิเคราะห์มีความสัมพันธ์โดยตรงกับพื้นที่ใต้กราฟของกรดไขมันนั้นๆ (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] แต่สำหรับงานวิจัยนี้การคำนวณหาปริมาณของกรดไขมันแต่ละชนิดในสเตียรีนได้เลือกใช้วิธีการคำนวณโดยวิธีแรก 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 ปริมาณกลีเซอไรด์ในน้ำมันปาล์มดิบและสเตียรีนที่แยกโดยสภาวะการทดลองต่างกัน

ตารางที่ 4 แสดงปริมาณของกลีเซอไรด์คิดคำนวณในรูปเปอร์เซ็นต์ของไตรกลีเซอไรด์ (tristearin) ใน CPO และสเตียรีนที่แยกได้จากสภาวะการทดลองที่ต่างกัน จะเห็นว่าตัวอย่างทั้งหมดประกอบด้วยกลีเซอไรด์อยู่สูงถึง 96-97% ในขณะที่จากรายงานผลการวิเคราะห์ในส

เตียรินจากน้ำมันปาล์มด้วย HPLC ของประเทศอินโดนีเซียที่ผ่านกระบวนการ refining, bleaching และ deodorized (RBD) มีส่วนประกอบของไตรกลีเซอไรด์และไดกลีเซอไรด์ด้วย ปริมาณ 95.5-95.7% และ 4.3-4.5% ตามลำดับ รวมทั้งน้ำมันปาล์มจากประเทศมาเลเซียที่ผ่านกระบวนการทำให้เป็นกลาง (neutralized) พบปริมาณของไตรกลีเซอไรด์และไดกลีเซอไรด์ในสเตียริน 95.3-95.4% และ 4.6-4.7% ตามลำดับ [10]

ตารางที่ 4 ปริมาณกลีเซอไรด์ (%) ใน CPO, สเตียรินที่แยกได้โดยการใช้อัตว์กลางทำละลาย ชนิดต่างๆและสเตียรินที่แยกโดยไม่ใช้อัตว์กลางทำละลายผลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย \pm S.D (จากการทดลอง 6 ซ้ำ)

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 ส่วนประกอบของกรดไขมันในน้ำมันปาล์มดิบและสเตียริน

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 มี

ปริมาณน้อยมากเพียง 5.3% ของกรดไขมันรวม ซึ่ง ใหญ่คือ C18:2 ω 6 (5.14%) เมื่อเปรียบเทียบในเชิงปริมาณจะพบความแตกต่างกับรายงานอื่นค่อนข้างชัดเจน Bora และ คณะ [6] รายงานว่ากรดไขมันในน้ำมันปาล์มดิบจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศบราซิล ประกอบด้วยกรดไขมันอิ่มตัวคือ 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 ⁿ⁻⁷	9-Hexadecenoic acid	0.12
C 18:1 ⁿ⁻¹²	6-Octadecenoic acid	23.90
C 18:1 ⁿ⁻⁹	9-Octadecenoic acid	0.13
C 18:1 ⁿ⁻⁷	11-Octadecenoic acid	Nd
C 20:1 ⁿ⁻⁹	11-Eicosenoic acid	0.09
C 22:1 ⁿ⁻⁶	16-Docosenoic acid	0.02
C 24:1 ⁿ⁻⁹	15-Tetracosanoic acid	Nd
รวม MUFA		24.26
<i>Polyunsaturated fatty acid (PUFA)</i>		
C 18:2 ⁿ⁻⁶	9,12-Octadecadienoic acid	5.14
C 18:3 ⁿ⁻³	9,12,15-Octadecatrienoic acid	0.16
C 20:3 ⁿ⁻⁶	8,11,14-Eicosatrienoic acid	Nd
C 20:2 ⁿ⁻⁶	11,14-Eicosadienoic acid	Nd
C 20:4 ⁿ⁻⁶	5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid	Nd
รวม PUFA		5.30
หมายเหตุ	Nd หมายถึง ไม่สามารถตรวจพบ	

ตารางที่ 6 แสดงปริมาณและชนิดของกรดไขมันในสเตียรีนและโอลลีนที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงโดยไม่มีการเติมตัวกลางทำลาย เมื่อเปรียบเทียบกับกรดไขมันรวมในสเตียรีนจะเห็นว่าส่วนใหญ่ ประกอบด้วยกรดไขมันอิ่มตัว (89.54%) โดยมี C16:0 เป็นหลัก (81.80%) นอกจากนั้นเป็น MUFA และ PUFA ประกอบด้วย 9.19% และ 1.26% ตามลำดับ โดยกรดไขมันใน MUFA ส่วนใหญ่คือ C18:1 ω 12 (8.93%) และกรดไขมันรวมในโอลลีน พบว่า มีกรดไขมันอิ่มตัว, MUFA และ PUFA อยู่ 47.89, 41.25 และ 10.86% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองของ Boey และ คณะ [9] ซึ่งทำการศึกษากรดไขมันในสเตียรีนและโอลลีนที่ได้จากน้ำมันปาล์มดิบในกรณีที่ไม่มีการใช้ตัวกลางทำลาย โดยปั่นเหวี่ยงที่ 8,200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 29°C และรายงานพบ SFA และ unsaturated fatty acid ในสเตียรีน 55.2% และ 44.6% ตามลำดับ และ ในโอลลีน 45.7% และ 54.3% ของกรดไขมันรวมตามลำดับ จะเห็นว่าปริมาณของกรดไขมันในสเตียรีนที่รายงานไว้ ต่ำกว่าที่พบในงานวิจัยนี้ แต่ปริมาณของกรดไขมันรวมที่พบในโอลลีนมีค่าใกล้เคียงกัน อย่างไรก็ตามปริมาณของกรดไขมันรวมที่แตกต่างกันนี้เกิดจากความแตกต่างของแหล่งที่มาของน้ำมันปาล์มดิบและ เป็นไปได้ว่าความแตกต่างที่เกิดขึ้นอาจเป็นผลมาจาก สเตียรีนในการทดลองนี้ได้จากการปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิต่ำกว่าทำให้ได้ปริมาณของสเตียรีนสูงกว่า จึงทำให้กรดไขมันแต่ละกลุ่มที่วิเคราะห์ได้มีปริมาณสูงกว่าด้วย (เมื่อคิดเป็นร้อยละ)

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

Fatty acid		ปริมาณของกรดไขมัน (%)	
		สเตียริน	โอสลิน
<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 ω 7	9-Hexadecenoic acid	0.04	0.23
C 18:1 ω 12	6- Octadecenoic acid	8.93	40.23
C 18:1 ω 9	9-Octadecenoic acid	0.22	0.66
C 18:1 ω 7	11-Octadecenoic acid	Nd	Nd
C 20:1 ω 9	11-Ecosenoic acid	Nd	0.13
C 22:1 ω 6	16-Docosenoic acid	Nd	Nd
C 24:1 ω 9	15-Tetracosaenoic acid	Nd	Nd
	รวม MUFA	9.19	41.25
<i>Polyunsaturated fatty acid (PUFA)</i>			
C 18:2 ω 6	9,12-Octadecadienoic acid	1.21	10.29
C 18:3 ω 3	9,12,15-Octadecatrienoic acid	0.03	0.32
C 20:3 ω 6	8,11,14-Eicosatrienoic acid	Nd	Nd
C 20:2 ω 6	11,14-Eicosadienoic acid	0.02	Nd
C 20:4 ω 6	5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid	Nd	0.22
	รวม PUFA	1.26	10.86
หมายเหตุ	Nd	หมายถึง ไม่สามารถตรวจพบ	

ตารางที่ 7 แสดงส่วนประกอบของกรดไขมันในสเตียอรินที่แยกได้จากการเติมตัวกลางทำละลายที่แตกต่างกัน 5 ชนิด ตามลำดับ polarity จากสูงไปหาค่า คือ acetone, ethanol, 1-butanol, 2-propanol, และ diethyl ether พบว่ามีกรดไขมันบางชนิดในกลุ่ม polyunsaturated fatty acid (PUFA) ซึ่งไม่พบในน้ำมันปาล์มดิบแต่พบในสเตียอรินที่แยกได้จากการใช้ตัวกลางทำละลายต่างๆ คือ C20:2 ω 6 ซึ่งพบในสเตียอรินที่ได้จากการเติม acetone และ 2-propanol เป็นตัวกลางทำละลาย พบ C20:4 ω 6 ในสเตียอรินที่ได้จากการเติม acetone, ethanol และ diethyl ether เป็นตัวกลางทำละลาย และ พบ C20:3 ω 6 ใน สเตียอรินที่ได้จากการเติม ethanol และ diethyl ether เป็นตัวกลางทำละลาย ทั้งนี้อาจเนื่องจากน้ำมันปาล์มดิบประกอบด้วยกรดไขมันในกลุ่ม PUFA ในระดับต่ำจึงไม่สามารถตรวจวัดได้ แต่ส่วนประกอบดังกล่าวนี้รวมตัวกันเป็นของแข็งเมื่อเติมตัวกลางทำละลาย จึงทำให้มีความเข้มข้นในสเตียอรินเพิ่มสูงขึ้นถึงระดับที่สามารถตรวจวัดได้

จากผลการทดลองยังแสดงให้เห็นอีกว่าสเตียอรินที่ได้จากการใช้ตัวกลางทำละลายมีส่วนประกอบของ SFA, MUFA และ PUFA ด้วยปริมาณที่แตกต่างกันด้วย เช่น สเตียอรินที่ได้จากการเติม diethyl ether เป็นตัวกลางทำละลายประกอบด้วย SFA ปริมาณสูงถึง 94.36% ของกรดไขมันรวม ในขณะที่สเตียอรินที่ได้จากการเติม ethanol มีปริมาณ 82.96% ของกรดไขมันรวม แต่อย่างไรก็ตามสรุปได้ว่าสเตียอรินที่แยกได้หลังการเติมตัวกลางทำละลายชนิดต่างๆ ในการทดลองนี้ประกอบด้วย SFA, MUFA และ PUFA อยู่ในช่วง 83-94%, 5-15% และ 0.9-2% ของกรดไขมันรวม ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองของ Boey และ คณะ [9] ซึ่งแยกสเตียอรินและโกลินจากน้ำมันปาล์มดิบโดยใช้ตัวกลางทำละลาย 2 ชนิดผสมกัน (ไม่บ่งชนิด) (น้ำมันปาล์มดิบ:ตัวกลาง 1:1) และปั่นเหวี่ยงแยกที่ 8,200 รอบต่อนาที ที่ 29°C พบว่ามีปริมาณของกรดไขมันรวม saturated fatty acid และ unsaturated fatty acid ในสเตียอริน 58.9% และ 41.7% ของกรดไขมันรวม ตามลำดับ ส่วนในโกลินมีปริมาณ 46.3% และ 53.6% ของกรดไขมันรวม ตามลำดับ จะเห็นว่าปริมาณของกรดไขมันทั้ง 2 กลุ่ม ต่ำกว่าที่พบในงานวิจัยนี้ นอกจากความแตกต่างของแหล่งที่มาของน้ำมันปาล์มดิบแล้ว เป็นไปได้ว่าความแตกต่างที่เกิดขึ้นอาจเป็นผลมาจากสเตียอรินในการทดลองนี้ได้จากการปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิต่ำกว่าทำให้ได้ปริมาณของสเตียอรินสูงกว่า จึงทำให้กรดไขมันแต่ละกลุ่มที่วิเคราะห์ได้มีปริมาณสูงกว่าด้วย (เมื่อคิดเป็นร้อยละ) ผลการทดลองเหล่านี้แสดงให้เห็นว่า สเตียอรินที่แยกโดยการใส่ตัวกลางทำละลายจะมีส่วนประกอบของกรดไขมันในผลิตภัณฑ์แตกต่างกันด้วย

แต่อย่างไรก็ตามการใช้ตัวทำละลายเพียงชนิดเดียว (diethyl ether) ก็ให้ปริมาณของกรดไขมันที่สูง และสามารถกำจัดออกจากสเตียรินและโกลีนได้ง่ายกว่าการเลือกใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิดผสมกัน