

PENGEMBANGAN TEKNIK *DIFFERENTIAL SCANNING CALORIMETRIC* UNTUK PENENTUAN TITIK LELEH DAN TITIK KABUT DARI PRODUK MINYAK SAWIT

Tri Haryati, Y.B. Che Man, dan Lalang Buana

ABSTRAK

Teknik differential scanning calorimetric (DSC) telah dikembangkan untuk menentukan titik leleh (melting point, MP) dan titik kabut (cloud point, CP) dari produk-produk minyak sawit. Tiga tahap kajian yang telah dilakukan yaitu daya ulang pengamatan variabel DSC, pembentukan model dengan regresi bertatar (stepwise), dan verifikasi model menggunakan regresi linear. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa MP dan CP, masing-masing dapat ditentukan menggunakan suhu "offset" pada termogram pemanasan dan suhu "onset" pada termogram pendinginan sebagai variabel penduga. Parameter offset dari termogram DSC dapat digunakan sebagai penduga MP dengan koefisien korelasi (r) 0,996, sedangkan parameter onset dapat digunakan untuk memprediksi CP dengan nilai r 0,956. Nilai variabilitas teknik DSC masing-masing adalah 0,274 dan 0,000. Nilai tersebut lebih rendah dibandingkan dengan yang diperoleh dengan metode standar AOCS, yaitu 0,892 untuk MP dan 0,111 untuk CP. Oleh karena itu, penentuan MP maupun CP dengan teknik DSC lebih konsisten dibandingkan dengan metode standar. Dari hasil kajian ini dapat disimpulkan bahwa teknik DSC dapat digunakan untuk menentukan MP dan CP dari produk minyak sawit yang merupakan salah satu usaha dalam mempersingkat waktu analisis.

Kata kunci : *Differential scanning calorimetry*, titik leleh, titik kabut, minyak sawit, regresi bertatar

PENDAHULUAN

Dalam perdagangan minyak sawit, karakteristik minyak sawit seperti kadar air, kadar kotoran, warna, asam lemak bebas, dan bilangan iod digunakan untuk mengukur mutu minyak. Di antara mutu sifat fisika yang penting dari lemak dan minyak adalah titik leleh (*melting point/MP*) and titik kabut (*cloud point/CP*). Parameter MP digunakan dalam perdagangan minyak padat sementara parameter CP digunakan dalam perdagangan minyak masak dan minyak goreng (12). Banyak metode penetapan titik leleh minyak yang tersedia (1,6,13,14). deMan *et al.* (7) mem-

pulkan bahwa metode *Mettler dropping point* dan *falling ball* memiliki daya ulang yang sangat baik. Namun, kedua metode tersebut memerlukan waktu yang lama.

Metode analisis menggunakan instrumen berkembang sangat cepat dan menunjukkan berbagai keunggulan dibandingkan teknik konvensional yang menggunakan bahan kimia terutama dalam kecepatan, ketepatan dan keamanan (2,4,10,15). Untuk titik leleh, Goh dan Ker (9) mengembangkan metode penetapannya menggunakan *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR). Metode NMR hanya memerlukan waktu dua jam untuk menetapkan MP, dan hal ini jauh lebih cepat dibandingkan dengan

¹Departemen Teknologi Pangan, Universiti Putra Malaysia

metode AOCS yang memerlukan waktu 16 jam.

deMan *et al.* (7) mengembangkan teknik penetapan titik leleh menggunakan *DSC 99 Dupont system*. Teknik ini memerlukan waktu satu jam. deMan *et al.* (7) menetapkan titik leleh sebagai titik belok kurva melting dari garis solidnya (*inflection point*). Dalam kajian ini, ide deMan dikembangkan lebih lanjut. Namun, tidak hanya *inflection point* yang digunakan melainkan semua variabel DSC yang dapat diperoleh. Selanjutnya, formulasi matematis untuk menghitung MP standar dibuat dan daya ulang dari metode dievaluasi dan dibandingkan dengan metode standard AOCS.

Selama ini, kajian untuk mengembangkan teknik instrumen untuk mengukur titik kabut dari produk minyak sawit belum pernah dilakukan. Dipostulasikan bahwa termogram DSC menyediakan parameter-parameter yang diperlukan untuk menghitung titik kabut minyak. Titik *onset* dari sebuah puncak dalam termogram pendinginan merupakan awal perubahan fisik dan semestinya titik tersebut merupakan titik kabut karena titik kabut didefinisikan sebagai suhu saat kabut (*cloud*) mulai terbentuk dalam sampel karena proses kristalisasi. Namun, titik kabut yang diperoleh dengan metode standard AOCS umumnya berbeda dari yang direfleksikan dalam termogram karena metode standar tersebut didasarkan pada pengamatan visual.

Tujuan dari kajian ini adalah mengembangkan teknik DSC untuk penetapan titik leleh (MP) dan titik kabut (CP) dalam produk minyak sawit. Untuk menetapkan MP dan CP, variabel-variabel DSC diseleksi dan formula matematis dari variabel DSC yang terpilih dibuat.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan pada kajian ini antara lain *refined bleached deodorized (RBD) palm oil*, *RBD-palm olein*, *RBD-palm stearin* dan *super olein*. Semua bahan kimia yang digunakan mempunyai spesifikasi mutu untuk dianalisis atau *high-performance liquid chromatography (HPLC) grade*.

Analisis

Komposisi triacylglycerol (TAG) dari contoh ditetapkan dengan alat kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Sistem KCKT yang digunakan dilengkapi dengan *Shimadzu LC-10 AD liquid chromatograph* (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan). Kolom yang digunakan adalah Nova-Pak C18 (3,9 x 300 mm) Waters *packed* dengan ukuran partikel 5 μm (Milford, MA, USA). Fase gerak adalah campuran acetone-acetonitrile (63,5 : 36,5) dan kecepatan alirannya adalah 1 ml/menit. Volume injeksi adalah 10 μl sampel minyak dalam chloroform 5 % (b/v). Puncak TAG diidentifikasi berdasarkan TAG standard hasil kajian sebelumnya (5,8,16).

Termogram pemanasan ditetapkan menggunakan Perkin-Elmer Model DSC-7 differential scanning calorimeter (DSC) (Norwalk, CT). Kondisi kerjanya adalah suhu analisis dari 80 ke -80°C dan dari -80 ke 80°C dengan laju pemanasan dan pendinginan 5°C per menit dan waktu penahanan 5 menit (10).

Uji konsistensi

Evaluasi konsistensi dari teknik standar dan DSC dilakukan pada tahap pertama. Untuk tujuan ini, sebuah percobaan

dengan rancangan acak lengkap (*completely randomized design*) dilakukan. Sebagai perlakuan adalah campuran minyak yang secara teoritis akan menghasilkan MP dan CP yang berbeda. Untuk MP, lima campuran digunakan sedangkan untuk CP tiga campuran. Sepuluh sampel diambil dari tiap campuran dan setiap sampel dianalisis dengan metode standar untuk mendapatkan nilai standar MP dan CP. Sampel juga dianalisis dengan DSC untuk mendapatkan termogram dan data terkait. Keragaman di dalam perlakuan (*mean squared error/ MSE*) mencerminkan daya ulang dari pengukuran. Hanya variabel DSC dengan daya ulang memadai yang digunakan sebagai variabel bebas untuk analisis selanjutnya.

Pembentukan persamaan standar

Langkah kedua adalah membangun persamaan standar.

$$Y = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + \dots + b_p X_p \dots \dots \dots [1]$$

Adapun Y adalah MP atau CP dengan metode standar, X_i adalah variabel DSC yang berdaya ulang dan b_i adalah koefisien. Untuk tujuan ini, dibuat campuran dengan variasi CP dan MP yang lebih lebar. Dipersiapkan 16 campuran dengan MP berbeda dan 21 campuran dengan CP berbeda. Setiap campuran dianalisis nilai MP dan CP-nya menggunakan metode standar AOCS dan juga dianalisis dengan DSC untuk mendapatkan termogramnya dan data terkait. Persamaan standar dibuat dengan meregresikan secara bertatar (*step-wise*) antara MP atau CP dengan variabel DSC yang berdaya ulang. Apabila persamaan standar telah diperoleh, variabel standar dapat dihitung dengan menggantikan X_i dengan nilai variabel DSC sehingga

konsistensi dari Y bergantung hanya pada konsistensi dari X_i :

$$\text{Var } Y = \text{Var}(b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + \dots + b_p X_p) \dots \dots \dots [2]$$

Persamaan standar haruslah tidak hanya mampu memprediksi nilai Y dengan baik tetapi juga mempunyai daya ulang yang lebih baik dibandingkan dengan apabila variabel tersebut diukur dengan metode standar.

Verifikasi

Langkah ketiga adalah untuk menguji persamaan standar. Untuk tujuan ini, 40 contoh yang lain dipersiapkan dan digunakan untuk menguji persamaan standar MP dan 30 sampel lain dipersiapkan untuk menguji persamaan standar CP. Tiap sampel dianalisis nilai MP dan CP menggunakan metode standar dan dianalisis dengan DSC untuk mendapatkan termogramnya. Nilai dari variabel DSC disubstitusikan ke persamaan standar untuk mendapatkan nilai prediksi. Nilai ini kemudian dibandingkan dengan nilai yang diperoleh dengan metode standar. Apabila kedua nilai tersebut berkorelasi tinggi maka persamaan standar dapat diterima.

HASIL DAN PEMBAHASAN

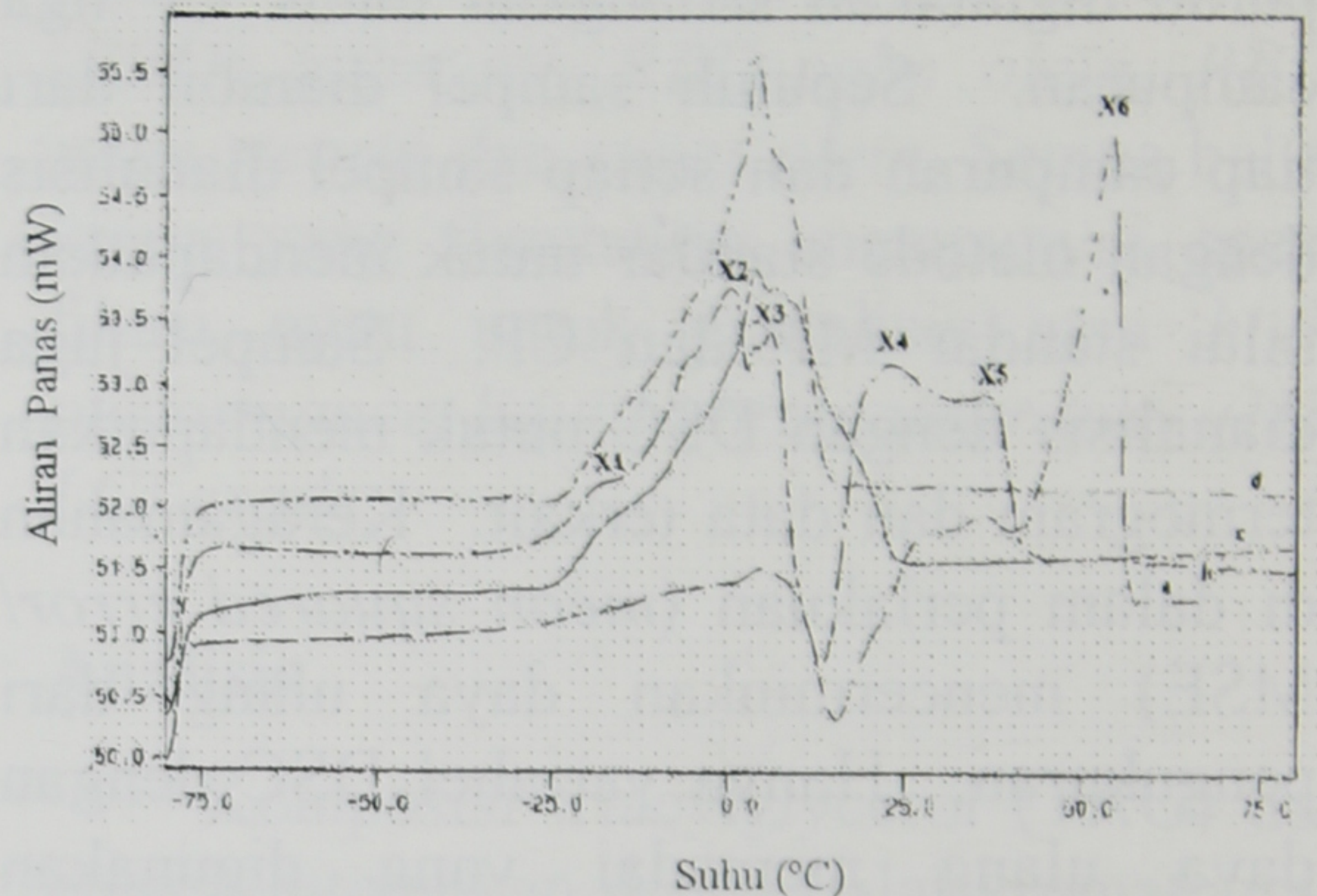
Analisis standar menunjukkan bahwa nilai MP sampel berkisar antara 13 - 55°C sedangkan CP 4 - 9°C. Standar spesifikasi MP dari *Palm Oil Refiners Association of Malaysia* (PORAM) untuk produk olah minyak sawit adalah 33-39°C untuk RBDPO, maksimum 24°C untuk RBD palm olein, minimum 44°C untuk RBD palm stearin, maksimum 19°C untuk super olein, sedangkan untuk CP, maksimum

8,8°C untuk RBD palm olein dan maksimum 4°C untuk super olein (12). Dengan demikian, rentang nilai MP dan CP mencakup hampir semua produk turunan minyak sawit.

Komposisi Triasilgliserol (TAG)

Termogram pemanasan dari sampel dengan MP yang berbeda mempunyai perbedaan yang jelas (Gambar 1). Puncak-puncak pada termogram minyak sawit terdiri atas kelompok titik leleh rendah (*low melting group/LMG*) dan kelompok titik leleh tinggi (*high melting group/HMG*). Terlihat pada termogram pemanasan bahwa minyak dengan MP 15 hanya mempunyai LMG dengan dua puncak. Kromatogram KCKT dari sampel ini menunjukkan bahwa sampel mengandung *diacylglycerol* (6,24%), *triunsaturated* (6,02%) [OOL, OOO], *monosaturated* (44,86%) [PLO, POO, OOS], *disaturated* (40,07%) [MPL, PPL, PPO, POS, POS, SOS], dan *trisaturated* (2,81%) [MMM, MMP, PPP]. Kromatogram MP yang tinggi (MP= 55) mempunyai dua puncak kecil di LMG dan tiga puncak di HMG. Sampel ini mengandung *diacylglycerol* (5,15%), *triunsaturated* TG (3,95%) [OOL, OOO], *monosaturated* TG (16,40%) [PLO, POO, OOS], *disaturated* (36,61%) [MPL, PPL, PPO, POS, POS, SOS], *trisaturated* (35,20%) [MMM, MMP, PPP, PPS], dan lain-lain (2,69%). Adapun M adalah miristat, P adalah palmitat, O adalah oleat, L adalah linoleat, dan S adalah stearat. Perbedaan yang besar antara MP rendah dan MP tinggi terlihat jelas pada kandungan *monosaturated* TG. Untuk MP 48, dijumpai ada tiga puncak di LMG dan dua di HMG. Sampel ini mengandung *diacylglycerol* (5,20%), *triunsaturated* (4,98%) [OOL, OOO], *monosaturated* (35,18%) [PLO,

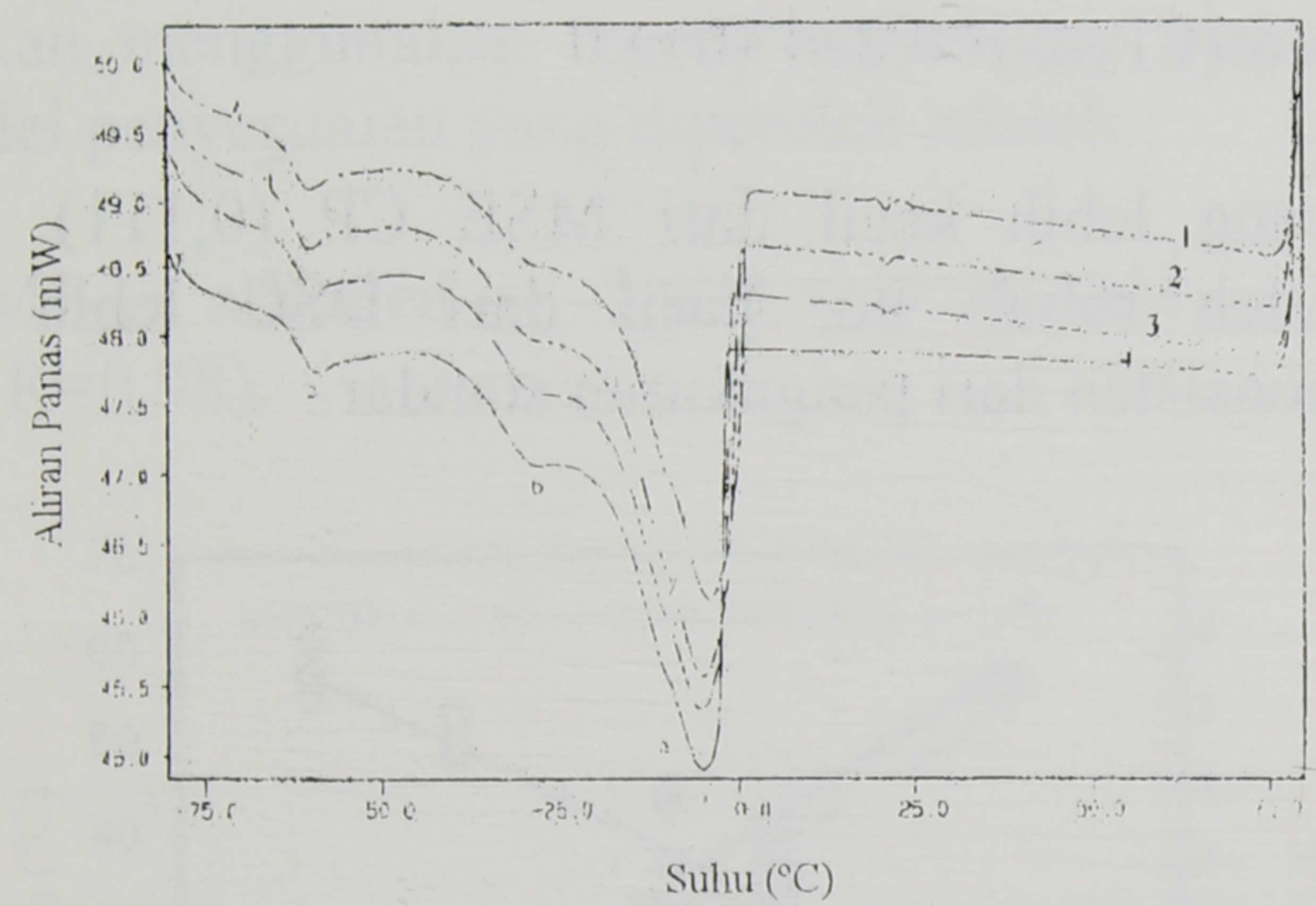
POO, OOS], *disaturated* (45,95%) [MPL, PPL, PPO, POS, POS, SOS], dan *trisaturated* (8,69%) [MMM, MMP, PPP, PPS].



Gambar 1. Termogram pemanasan DSC minyak sawit dengan berbagai titik leleh (a = 55 °C, b = 48 °C, c = 22°C, and d = 15°C) dianalisis pada -80 °C ke 80 °C dengan laju pemanasan 5°C/menit.

Termogram pendinginan dari contoh dengan CP berbeda hanya menunjukkan sedikit perbedaan (Gambar 2), tetapi masih terlihat bahwa makin tinggi CP, makin tinggi suhu awal terjadinya kristalisasi atau nilai *onset*. Puncak-puncak pada termogram pendinginan produk minyak sawit juga terdiri dari LMG dan HMG. Ditunjukkan bahwa termogram pendinginan dari minyak dengan CP 4 sampai 9 hanya mengandung LMG dengan tiga puncak. Kromatogram KCKT dari contoh dengan CP rendah (CP = 4) menunjukkan bahwa sampel ini mengandung *diacylglycerol* (6,24%), *triunsaturated* (6,02%) [OOL, OOO], *monosaturated* (44,86%) [PLO, POO, OOS], *disaturated* (40,07%) [MPL, PPL, PPO, POS, POS, SOS], dan *trisaturated* (2,81%) [MMM, MMP, PPP]. CP tinggi (CP = 9) mengandung *diacylgly-*

cerol (5,55%), *triunsaturated* TG (5,27%) [OOL,OOO], *monosaturated* TG (38,81%) [PLO, POO, OOS], *disaturated* (47,56%) [MPL, PPL, PPO, POS, POS, SOS], *trisaturated* (2,81%) [MMM, MMP, PPP, PPS], dengan M adalah miristat, P adalah palmitat, O adalah oleat, L adalah linoleat, dan S adalah stearat. Perbedaan yang kecil dalam komposisi TAG antara sampel dengan CP rendah dan tinggi menyebabkan sedikit perbedaan pada profil termogramnya seperti terlihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Termogram pendinginan DSC minyak sawit dengan berbagai titik kabut (1 = 9°C, 2 = 6 °C, 3 = 5°C, and 4 = 4°C) dianalisis pada 80°C ke – 80°C dengan laju pendinginan 5°C/menit.

Konsistensi dan pembentukan persamaan standar

Ada 8 variabel yang mungkin diperoleh dari termogram pemanasan yaitu suhu *onset* dari puncak pertama, suhu dari tiap puncak [low- T_a (X1), low- T_b (X2), low- T_c (X3), high- T_a (X4), high- T_b (X5), high- T_c (X6)] dan suhu *offset* dari puncak terakhir di DSC thermogram. Variabel ini kemudian digunakan sebagai peubah bebas dalam regresi bertatar, sedangkan MP yang diperoleh dengan metode standar sebagai

peubah tak bebasnya. Analisis menunjukkan bahwa pengukuran MP dengan cara standar cukup konsisten dengan koefisien keragaman 3,31%. Variabel DSC juga cukup konsisten dengan CV kurang dari 5% untuk semua variabel (Tabel 1).

Tabel 1. Uji keragaman dari MP standar dan variabel DSC

No.	Variabel	Mean Square Error (MSE)	Koefisien keragaman (CV, %)
Standard			
	MP std	0.892	3,310
Variabel DSC			
1	<i>onset</i>	1.410	3,620*
2	<i>offset</i>	0.190	1,335*
3	X1	0.000	0,000002*
4	X2	0.000	0*
5	X3	0.0003	0,513*
6	X4	0	0*
7	X5	0	0*
8	X6	0.095	0,562*

Keterangan: MP = titik leleh; DSC = *differential scanning calorimetry*; X1-6 = suhu puncak termogram pemanasan; * = variabel potensial untuk digunakan dalam menetapkan MP standar.

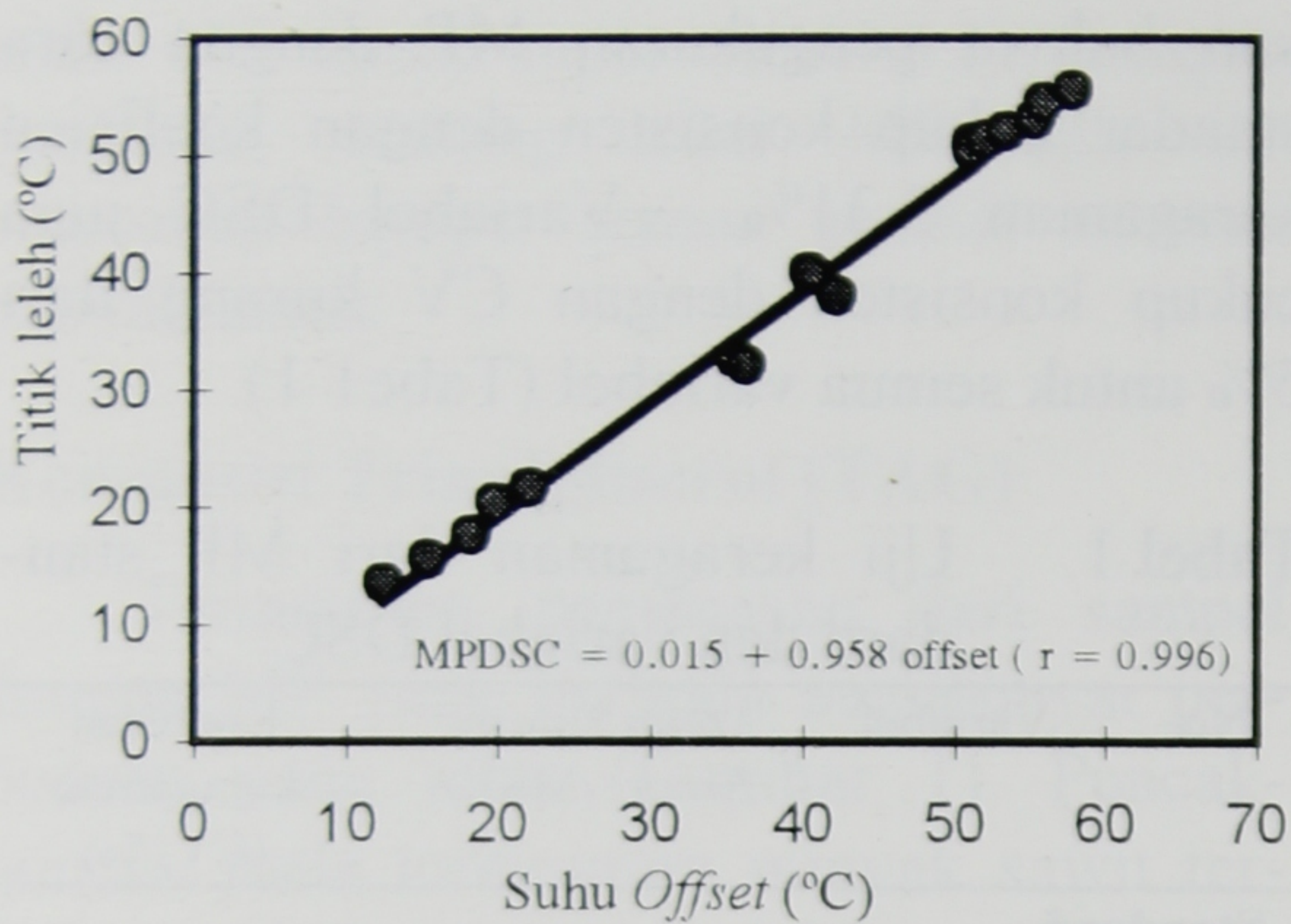
Namun, regresi bertatar menunjukkan bahwa hanya suhu *offset* yang diperlukan untuk memperkirakan MP dengan persamaan sebagai berikut:

$MP_{DSC} = 0,015 + 0,958 \text{ offset}$, dengan koefisien korelasi (r) 0.996 (Gambar 3).

Apabila persamaan ini digunakan untuk menduga nilai MP (MP_{DSC}), daya ulang matematis dari variabel ini adalah

$Var(MP_{DSC})=0,958^2(0,190)=0,174$

yang masih lebih kecil dari MSE untuk MP (0,892). Oleh sebab itu, penghitungan MP dengan DSC lebih konsisten dari pengukuran dengan metode standar.



Gambar 3. Kurva standar titik leleh dari sampel

Ada lima variabel yang mungkin diperoleh dari termogram pendinginan, yaitu suhu *onset* dari puncak pertama, suhu *offset* puncak terakhir, enthalpy di puncak a ($E-P_a$), enthalpy di puncak c ($E-P_c$), enthalpy di semua ($E-P_{a-c}$). Variabel-variabel ini digunakan sebagai variabel bebas dalam regresi bertatar dengan CP dari metode standar sebagai variabel tak bebasnya. Analisis menunjukkan bahwa pengukuran standar CP sangat konsisten dengan CV 0.111%. Evaluasi terhadap variabel DSC menunjukkan bahwa hanya 4 variabel yang memiliki CV kurang dari 5% (Tabel 2).

Tabel 2. Uji keragaman dari CP standar dan variabel DSC

No.	Variabel	MSE	Koefisien keragaman (%)
Standard			
1	CP std	0,111	5,712
Variabel DSC			
2	<i>onset</i>	0	0*
3	<i>offset</i>	260,555	-39,238
4	$E-P_a$	1,01	1,820*
5	$E-P_c$	0,026	4,829*
6	$E-P_{a-c}$	1,227	2,668*

Keterangan: CP=cloud point; DSC=differential scanning calorimetry; *onset* = suhu awal pendinginan suhu dari puncak pertama, *offset* = suhu akhir dari puncak terakhir, $E-P_a$ = enthalpy pada puncak a, $E-P_c$ = enthalpy pada puncak c; $E-P_{a-c}$ = enthalpy semua puncak

Analisis regresi bertatar menunjukkan bahwa hanya suhu *onset* yang diperlukan untuk menduga CP dengan persamaan sebagai berikut:

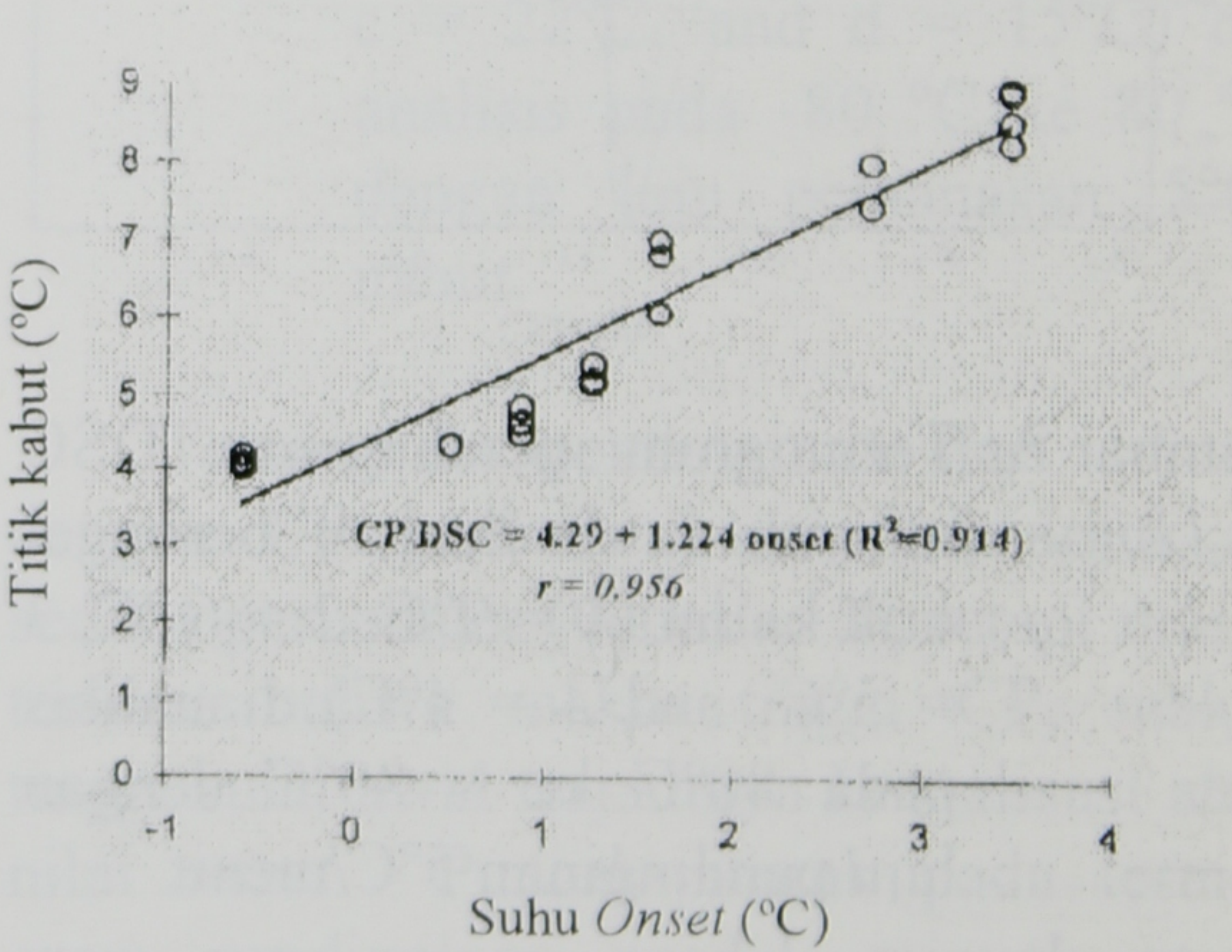
$$CP_{DSC} = 4,29 + 1,224 \text{ onset}$$

Dengan koefisien korelasi (r) 0,956 (Gambar 4).

Apabila persamaan tersebut digunakan untuk menduga CP_{DSC} , daya ulang matematis dari variabel ini adalah

$$Var(CP_{DSC})=0,224^2(0)=0$$

yang lebih kecil dari MSE CP (0,111). Oleh sebab itu, hasil dari DSC lebih konsisten dari pengukuran standar.



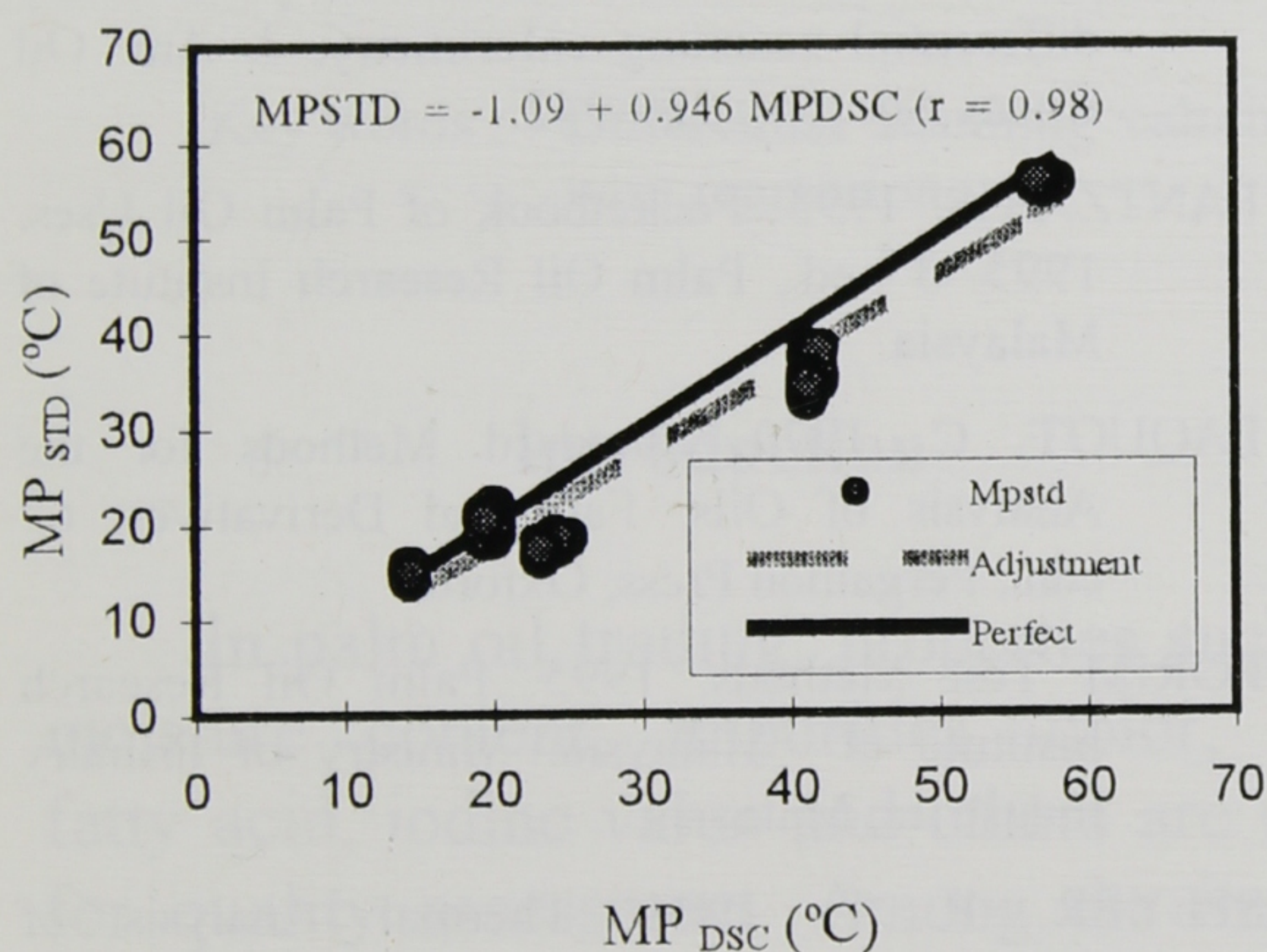
Gambar 4. Kurva standar titik kabut dari sampel

Verifikasi

Pada langkah pengujian dijumpai bahwa korelasi antara yang diperoleh dari persamaan standar MP_{DSC} dan MP dengan metode standar (MP_{STD}) cukup tinggi (0,983). Apabila teknik DSC untuk MP dapat menduga secara tepat nilai MP_{STD} , tebaran angka-angka tersebut akan berbentuk garis lurus sempurna (Gambar 5).

Namun, terlihat adanya sedikit ketidak konsistenan angka-angka yang diperoleh dari metode standar seperti yang ditunjukkan oleh keragaman pada sumbu horisontal sehingga hubungan angka-angka tersebut tidak membentuk garis lurus sempurna. Walaupun demikian karena saat ini yang menjadi angka ukuran “resmi” adalah masih angka dari metode standar, maka angka tersebut menjadi rujukan. Agar dapat menduga nilai yang diperoleh dengan metode standar, nilai dugaan MP dari DSC disesuaikan. Penyesuaian dilakukan menggunakan regresi sederhana. Model penyesuaian yang diperoleh adalah :

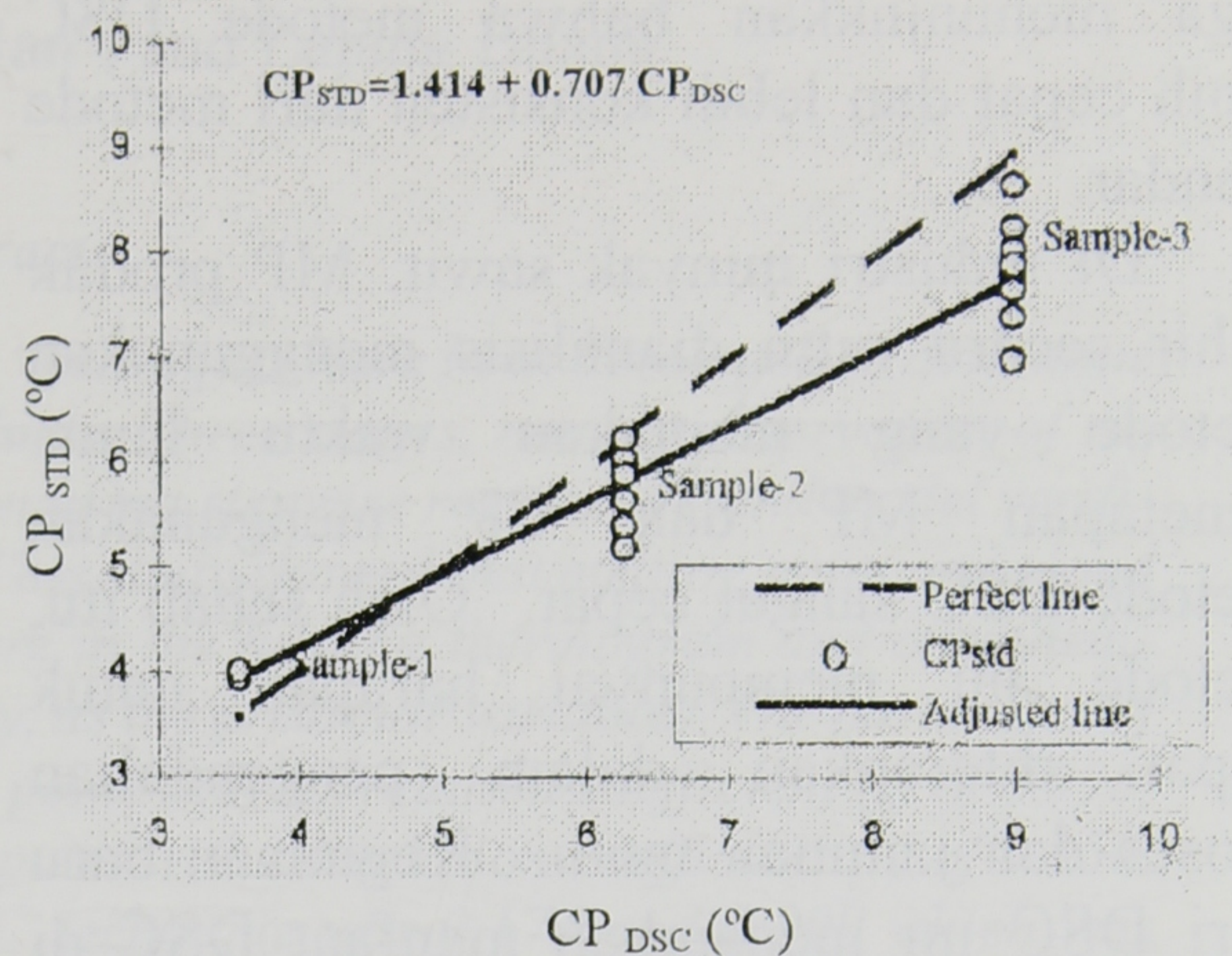
$$MP_{STD} \text{ adjusted} = -1,090 + 0,946 MP_{DSC} \quad (R=0.98).$$



Gambar 5. Penyesuaian model penduga titik leleh

Seperti halnya pada MP, tebaran angka-angka CP_{DSC} dan CP_{STD} tidak membentuk garis lurus sempurna yang disebabkan tidak konsistennya angka-angka yang diperoleh dari metode standar seperti yang ditunjukkan oleh keragaman pada sumbu horisontal (Gambar 6). Agar dapat menduga nilai yang diperoleh dengan metode standar, nilai dugaan CP dari DSC disesuaikan. Penyesuaian dengan regresi sederhana menghasilkan persamaan sebagai berikut:

$$CP_{STD} \text{ adjusted} = 1,414 + 0,707 CP_{DSC} \quad (r = 0,98)$$



Gambar 6. Penyesuaian model penduga titik kabut

KESIMPULAN

Kajian ini menyimpulkan bahwa MP minyak sawit dapat ditetapkan menggunakan teknik DSC. Angka MP rata-rata dapat diduga dengan baik menggunakan variabel DSC suhu offset dengan koefisien korelasi 0,996 yang menunjukkan bahwa persamaan standar cukup handal untuk menetapkan MP. Penyesuaian dengan regresi sederhana memperbaiki ketepatan dari penetapan ini yang ditunjukkan dengan koefisien korelasi 0,98. Kajian ini menunjukkan bahwa teknik DSC sangat cepat, yang hanya memerlukan waktu 60 menit dan lebih konsisten dari metode standar.

Kajian ini juga menyimpulkan bahwa CP produk minyak sawit dapat ditetapkan dengan teknik DSC. Nilai CP dapat diduga dengan baik menggunakan suhu *onset* dengan koefisien korelasi 0,956, yang menunjukkan bahwa persamaan ini cukup handal untuk menetapkan CP. Penyesuaian

dengan regresi sederhana memperbaiki ketepatan pendugaan yang ditunjukkan dengan koefisien korelasi 0.98. Kajian ini juga menunjukkan bahwa metode DSC lebih cepat dan lebih konsisten dari metode standar.

Di industri minyak sawit, MP produk akhir secara rutin dianalisis menggunakan metode yang memakan waktu lama. Penetapan MP dan CP menggunakan metode DSC sangat cepat. Oleh sebab itu, metode ini mempunyai harapan untuk dapat diterapkan dalam pengendalian proses dan jaminan mutu. Kegunaan baru dari DSC ini menambah manfaat DSC di pabrik pengolahan minyak.

DAFTAR PUSTAKA

1. AOCS. 1990. Official and Tentative Methods of the American Oil Chemists' Society, 15th ed., American Oil Chemist Society, Champaign, IL.
2. BERGER, K.G., W.L. and F.C.H. OH. 1982. Factors affecting slip melting point of palm oil products. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 59: 244-249.
3. BILIADERIS, C. G. 1983. Differential scanning calorimetry in food research- A Review. *Food Chem.* 10:239-265.
4. CHARSELEY, E.L. and S. B. WARRINGTON. 1992. Thermal Analysis - Techniques and Applications. Royal Society of Chemistry, Cambridge.
5. CHE MAN, Y.B., T. HARYATI, H.M. GHAZALI, and B.A. ASBI. 1999. Composition and thermal profile of crude palm oil and its products. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 76(2): 215-220.
6. COCKS, L.V. and C. VAN REDE. 1966. Laboratory Handbook for Oil and Fat Analysis. Academic Press, London.
7. deMAN, J.M., L. deMAN and B. BLACKMAN. 1983. Melting-point determination of fat products. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 60: 91-94.
8. GHAZALI, H.M., MAISARAH A., YUSOF S. and YUSOFF M.S.A.M. 1995. TAG profiles and melting properties of lipase-catalyzed transesterified palm stearin and coconut oil. *Asia Pasific Journal of Mol. Biol. & Biotech.*, 3:280-289.
9. GOH, E.M. and T.H. KER. 1991. Relationship between slip melting point and pulsed nmr data of palm kernel oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68:144-146.
10. HARYATI, T., Y.B. CHE MAN, and P.Z. SWE. 1997. Effect of repeated heating on thermal behaviour of crude palm oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 74: 393-396.
11. HARYATI, T., Y.B. CHE MAN, A.B. ASBI, H.M. GHAZALI, and L. BUANA. 1997. Determination of iodine value of palm oil by differential scanning calorimetry. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 74: 939-942.
12. PANTZARIS. 1995. Pocketbook of Palm Oil Uses. 1995. 3rd ed., Palm Oil Research Institute of Malaysia.
13. PAQUOT, C. 1979. Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives. 6th edn., Pergamon Press, Oxford.
14. PORIM Test Methods. 1995. Palm Oil Research Institute of Malaysia. Ministry of Primary Industries, Malaysia.
15. SPEYER, R. F. 1994. Thermal Analysis of Materials. Marcel Dekker, Inc. New York.
16. SWE, P.Z., Y.B. CHE MAN, and H.M. GHAZALI. 1996. Improved NARP-HPLC method for separating TAGs of palm olein and its solid fractions obtained at low temperature storage. *Food Chem.*, 56:181-186.

Development of differential scanning calorimetric techniques for determining melting point and cloud point of palm oil products

Tri Haryati, Y.B. Che Man¹, and Lalang Buana

Abstract

Differential scanning calorimetric (DSC) techniques have been developed to determine melting point and cloud point of palm oil products. Three stages, namely observation of repeatability of DSC variables, model construction using stepwise regression, and model verification using linear regression were conducted. This study showed that melting point and cloud point can be determined using offset temperature in the heating thermogram and onset temperature in the cooling thermogram, respectively, as the predictor variables. The parameter of the DSC thermogram predicted well the melting point with correlation coefficient (r) of 0.996, while onset parameter predicted well the cloud point with correlation coefficient (r) of 0.956. The value that indicated the variability of DSC technique was 0.174 and 0.000 which was much lower compared to that of the standard method of 0.892 and 0.111 for melting point and cloud point, respectively. Therefore, determination of both melting point and cloud point using DSC methods were found to be more consistent than the standard method. This study concluded that DSC technique could be used to determine melting point and cloud point of palm oil and its products as an attempt to shorten the analysis time.

Key words : Differential scanning calorimetry (DSC), melting point, cloud point, palm oil, stepwise regression

Introduction

In palm oil trading, properties such as moisture content, impurities, color, free fatty acid, iodine value and others are used for quality assessment. Among the important physical quality parameters of oils and fats are melting point (MP) and cloud point (CP). MP parameter is routinely used in solid fat trading, while CP parameter in cooking or frying oil trading (12). There are many methods to determine melting point of oil (1,6,13,14). deMan *et al.* (7) compared nine different methods and concluded that Mettler dropping point and falling ball methods showed excellent repeatability. All of these methods, however, are time consuming.

Instrumental analysis is developing very rapidly and showing its superiority

over the conventional wet chemical methods especially on its rapidity, accuracy, and safety (2,4,10,15). Concerning the melting point, Goh and Ker (9) developed a method to determine MP using Nuclear Magnetic Resonance (NMR). This method takes only two hour to determine melting point compared to at least 16 hour by the standard AOCS method. deMan *et al.* (7) determined melting point using DSC 99 Dupont system. This technique needs around one hour.

deMan *et al.* (7) determined melting point as the inflection point of the melting curve and the solid line. In this study, the idea was further developed. Instead of using the inflection point alone, all the other possible DSC variables were considered. Further, mathematical formulation to calculate standard MP was constructed and

¹Department of Food Technology, Universiti Putra Malaysia

repeatability of the method was evaluated and compared with that of the standard AOCS method.

There is no study conducted to develop instrumental technique to measure cloud point of palm oil products. It is postulated that DSC thermogram provides the necessary parameter to calculate cloud point of an oil. The onset point of a peak in cooling thermogram is the start of physical change and this should have been the cloud point because cloud point is defined as the temperature at which a cloud is induced in the sample caused by the first stage of crystallization. However, cloud point obtained from the standard AOCS method is typically different from the one reflected in the thermogram since the standard method is based on the visual observation.

The objectives of this study were to develop DSC techniques in determining melting point and cloud point of palm oil products. DSC variables that can be used were selected to determine MP and CP, and mathematical formulation of these DSC variables were constructed to calculate MP and CP.

Materials and Methods

Materials

Refined, bleached, and deodorized (RBD) palm oil, RBD-palm olein, RBD-palm stearin and super olein are used in this experiment. All chemicals used were of analytical or high-performance liquid chromatography (HPLC) grade.

Analysis

Triacylglycerol (TAG) composition of samples were determined by high performance liquid chromatography (HPLC). The

HPLC system used was equipped with Shimadzu LC-10 AD liquid chromatograph (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan). The column used is Nova-Pak C18 (3.9 x 300mm) Waters packed with a particle size of 5 μm (Milford, MA, USA). The mobile phase was a mixture of acetone-acetonitrile (63.5:36.5) and the flow rate was 1 ml/min. The injection volume was 10 μl of 5% (w/v) oil in chloroform. Peaks of TAG were identified based on the TAG standards and earlier results (5,8,16).

The heating cooling thermograms were determined using Perkin-Elmer Model DSC-7 differential scanning calorimeter (DSC) (Norwalk, CT). The working condition of DSC were running from 80 to -80°C and from -80 to 80°C with heating and cooling rates of 5 °C/min and holding time of 5 min (10).

Consistency test

Evaluation for the consistency of the standard techniques and the DSC was conducted as the first step. For this purpose, a completely randomized design was set up for each variable of interest. Five blends and three blends of raw material with different compositions were made, for MP and CP determination, respectively. Ten samples were taken from each blend and each sample was analyzed by standard method to obtain their standard MP and CP values and run with DSC to obtain the thermograms and their associate figures. Within treatment variability (mean squared error/MSE) reflects the repeatability of measurement. Only DSC variables with reasonable repeatability were considered as independent variables for further analysis.

Constructing standard equation

The second step was to construct standard equation.

$$Y = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + \dots + b_p X_p \dots \dots \dots [1]$$

where Y is the standard variable MP or CP, X_i is the DSC repeatable variable and b_i is the coefficients. For this purpose wider variation of blend were made. There were 16 blends with different MP and 21 blends with different CP were made. Each blend was analyzed for their MP and CP as well as run with DSC for their thermograms and their associate figures. Standard equation were generated by stepwise regressing between the MP or CP with the repeatable DSC variables. Once the standard equation was obtained, the standard variable could be calculated by replacing X_i with the value of DSC variable. Therefore, consistency of Y depend only on the consistency of X_i

$$\text{Var } Y = \text{Var}(b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + \dots + b_p X_p) \dots \dots \dots [2]$$

Standard equation must not only predict well the Y but also has a higher repeatability than if it is measured using standard method.

Verification

The third step was to verify the standard equation. For this purpose 40 other samples were prepared and used to verify MP standard equation, and 30 other samples were prepared to verify CP. Each sample was analyzed for their MP and CP using standard method and also run to obtain thermograms. The DSC variables values were substituted to the standard equation to obtain the predicted value. These values were then compared to the values

obtained with standard method. If they were highly correlated it meant that the standard equation was acceptable.

Results and Discussion

The standard analysis showed that the MP of the samples ranged from 13 to 55°C, and the CP of the samples ranged from 4 to 9°C. Palm Oil Refiners Association of Malaysia (PORAM) standard specifications for MP of processed palm oil i.e. RBDPO is 33-39°C. RBD palm olein maximum is 24°C, RBD palm stearin minimum is 44°C, whereas super olein maximum is 19°C, while for CP RBD palm olein maximum is 8.8°C and for super olein maximum is 4°C (12). Thus, this range covered almost all of the palm oil products.

TAG composition

The heating thermograms of the samples showed clear differences among samples with different MP (Figure 1). The thermograms classified the materials present in the oil into low melting group (LMG) and high melting group (HMG). It was showed in the heating thermogram that oil with MP of 15 contained only LMG with two peaks. The HPLC chromatogram of this sample indicated that this sample consisted of diacylglycerol (6.24%), triunsaturated (6.02%) [OOL, OOO], monosaturated (44.86%) [PLO, POO, OOS], disaturated (40.07%) [MPL, PPL, PPO, POS, POS, SOS], and trisaturated (2.81%) [MMM, MMP, PPP]. The high MP (MP=55) contained two small peaks in the LMG and three peaks in the HMG. This sample consisted of diacylglycerol (5.15%), triunsaturated TG (3.95%) [OOL, OOO], monosaturated TG (16.40%) [PLO, POO, OOS], disaturated (36.61%) [MPL, PPL,

PPO, POS, POS, SOS], trisaturated (35.20%) [MMM, MMP, PPP, PPS], and others (2.69%) where M stands for miristic, P for palmitic, O for oleic, L for linoleic, and S for stearic fatty acids. The big difference between low MP sample and high MP sample was clearly shown in the monosaturated TG content. For MP of 48, there were three peaks in low melting and two peaks in HMG. This sample consists of diacylglycerol (5.20%), triunsaturated (4.98%) [OOL, OOO], monosaturated (35.18%) [PLO, POO, OOS], disaturated (45.95%) [MPL, PPL, PPO, POS, POS, SOS], and trisaturated (8.69%) [MMM, MMP, PPP, PPS].

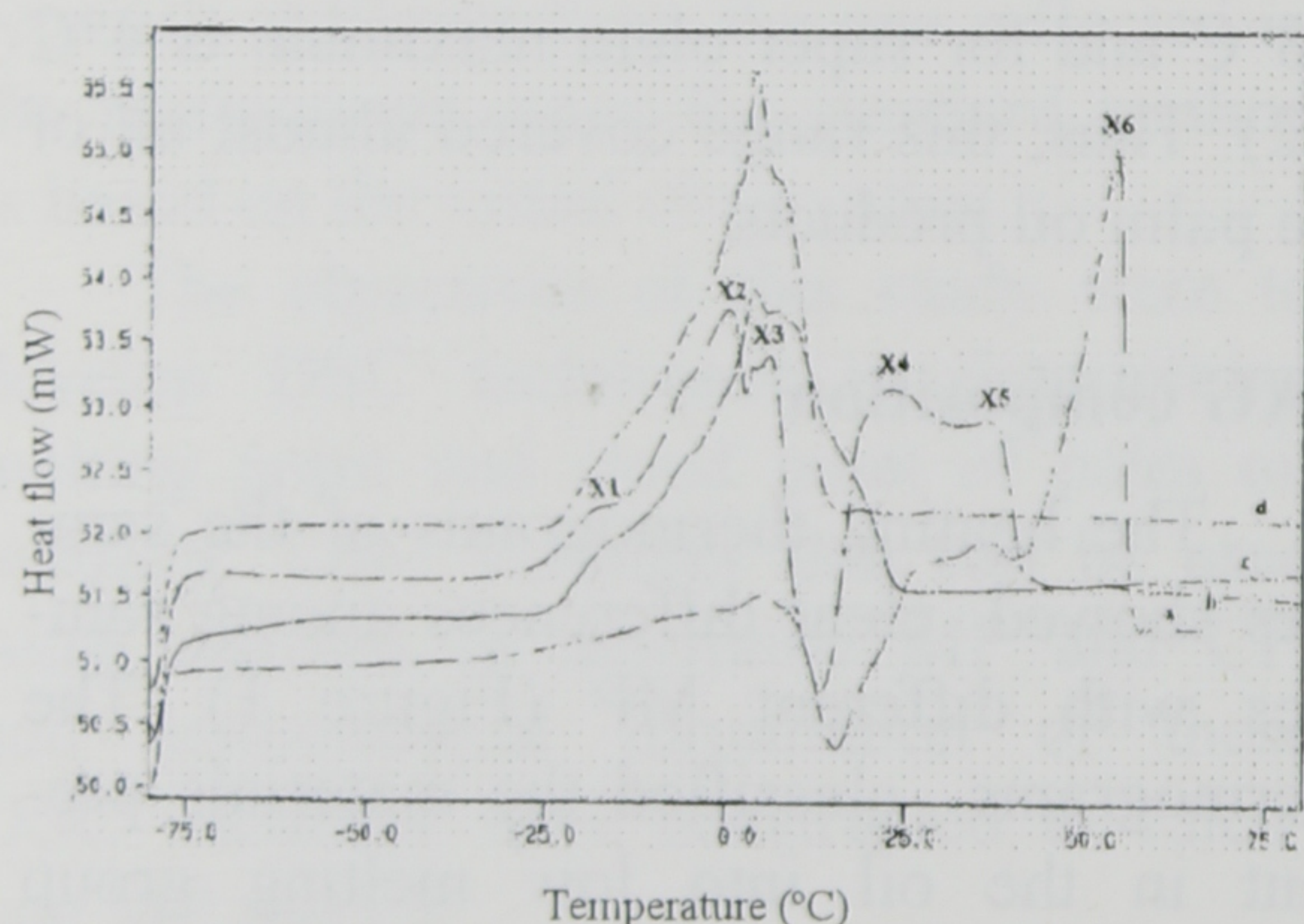


Figure 1. DSC heating thermograms of palm oil with different melting point (a = 55°C, b = 48°C, c = 22°C, and d = 15°C) run at -80°C to 80°C with heating rate of 5°C/min.

The cooling thermograms of the samples showed only slightly differences among samples with different CP (Figure 2), but it still can be seen that the higher the CP value, the higher the start temperature of crystallization or the onset value. The thermogram classified the materials present in the oil into LMG and HMG as well. It is shown that in the cooling ther-

mogram, oil with CP of 4 to 9 contained only LMG with three peaks. The HPLC chromatogram of sample with low CP (CP = 4) indicated that this sample consisted of diacylglycerol (6.24%), triunsaturated (6.02%) [OOL, OOO], monosaturated (44.86%) [PLO, POO, OOS], disaturated (40.07%) [MPL, PPL, PPO, POS, POS, SOS], and trisaturated (2.81%) [MMM, MMP, PPP]. The high CP (CP = 9) consisted of diacylglycerol (5.55%), triunsaturated TG (5.27%) [OOL, OOO], monosaturated TG (38.81%) [PLO, POO, OOS], disaturated (47.56%) [MPL, PPL, PPO, POS, POS, SOS], trisaturated (2.81%) [MMM, MMP, PPP, PPS], in which M stands for myristic, P for palmitic, O for oleic, L for linoleic, and S for stearic fatty acids. The small difference in TAG composition between low CP sample and high CP sample caused a little difference of thermogram profiles as seen in Figure 2.

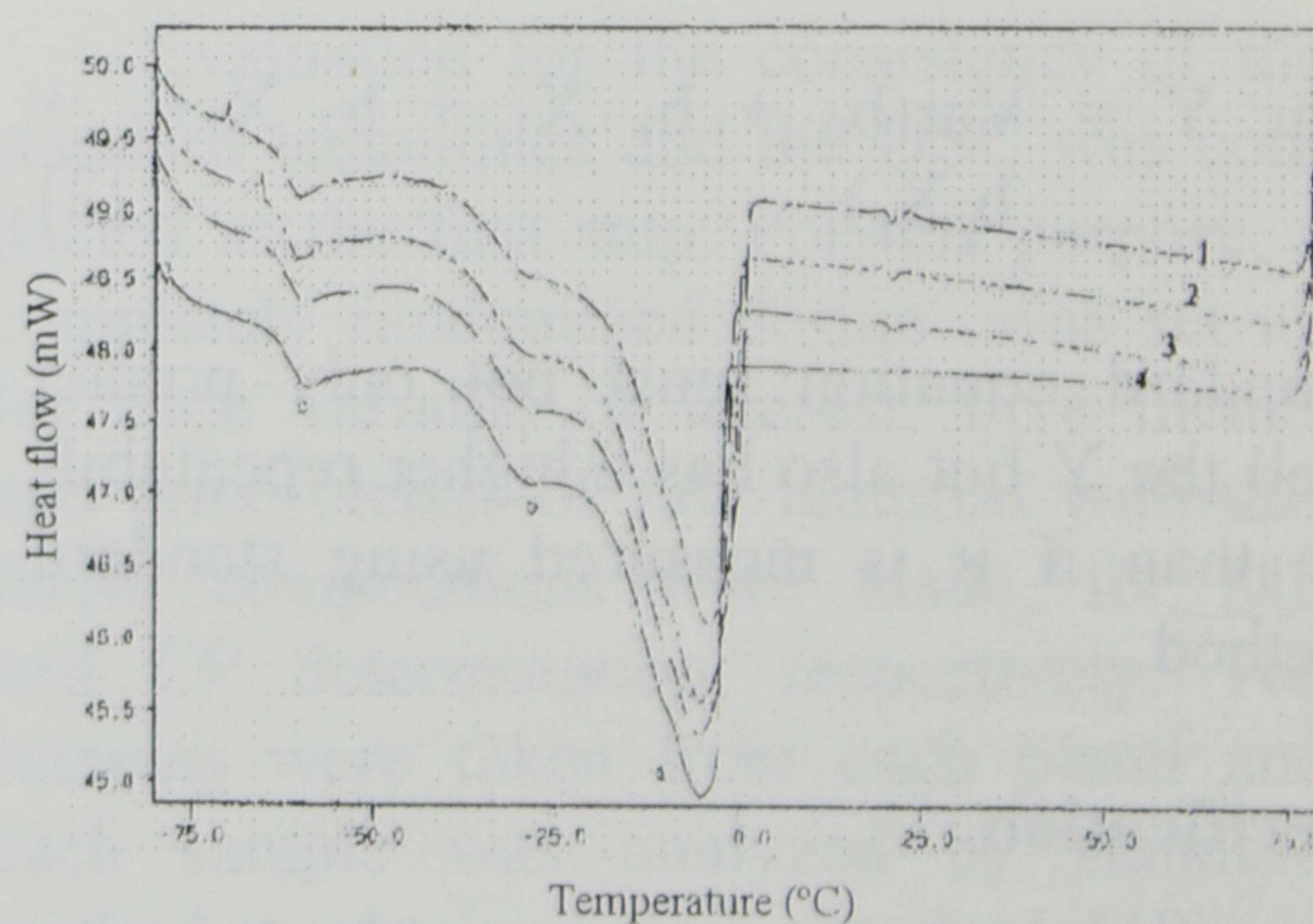


Figure 2. DSC cooling thermograms of palm oil with different cloud point (1 = 9°C, 2 = 6°C, 3 = 5°C, and 4 = 4°C) run at 80°C to -80°C with cooling rate of 5°C/min.

Consistency and constructing standard equation

There were 8 possible variables obtained from the heating thermogram of samples namely temperature of the onset of the first peak, temperature of each peak [low- T_a (X1), low- T_b (X2), low- T_c (X3), high- T_a (X4), high- T_b (X5), high- T_c (X6)] and temperature of the offset of the last peak in DSC thermogram. These variables were then used as the independent variables in the stepwise regression analysis with MP obtained from standard procedure as the dependent variable. The analysis showed that standard measurement for MP was quite consistent with coefficient variance (CV) of 3.31%. The DSC variables were also quite consistent with CV less than 5% for all DSC variables (Table 1).

Table 1. Variability test of MP standard method and all parameters on DSC thermogram for predicting MP of palm oil

No.	Variabel	Mean Square Error (MSE)	Coefficient of Variance (CV, %)
Standard			
	MP std	0.892	3.310
Variabel DSC			
1	onset	1.410	3.620*
2	offset	0.190	1.335*
3	X1	0.000	0.000002*
4	X2	0.000	0*
5	X3	0.0003	0.513*
6	X4	0	0*
7	X5	0	0*
8	X6	0.095	0.562*

Note: MP, melting point; DSC, differential scanning calorimetry; X1-6, peak temperature of heating thermograms; *, potential DSC variables

The stepwise regression, however, showed that only offset temperature was required to predict MP with regression equation as follows:

$MP_{DSC} = 0.015 + 0.958 \text{ offset}$, with coefficient correlation (r) of 0.996 (Figures 3).

If this equation was used to predict MP_{DSC} , the mathematical repeatability of this variable was

$$\text{Var}(MP_{DSC}) = 0.958^2(0.190) = 0.174$$

which was still smaller than MSE of MP (0.892). Therefore, the results from DSC was more consistent than that of the standard method.

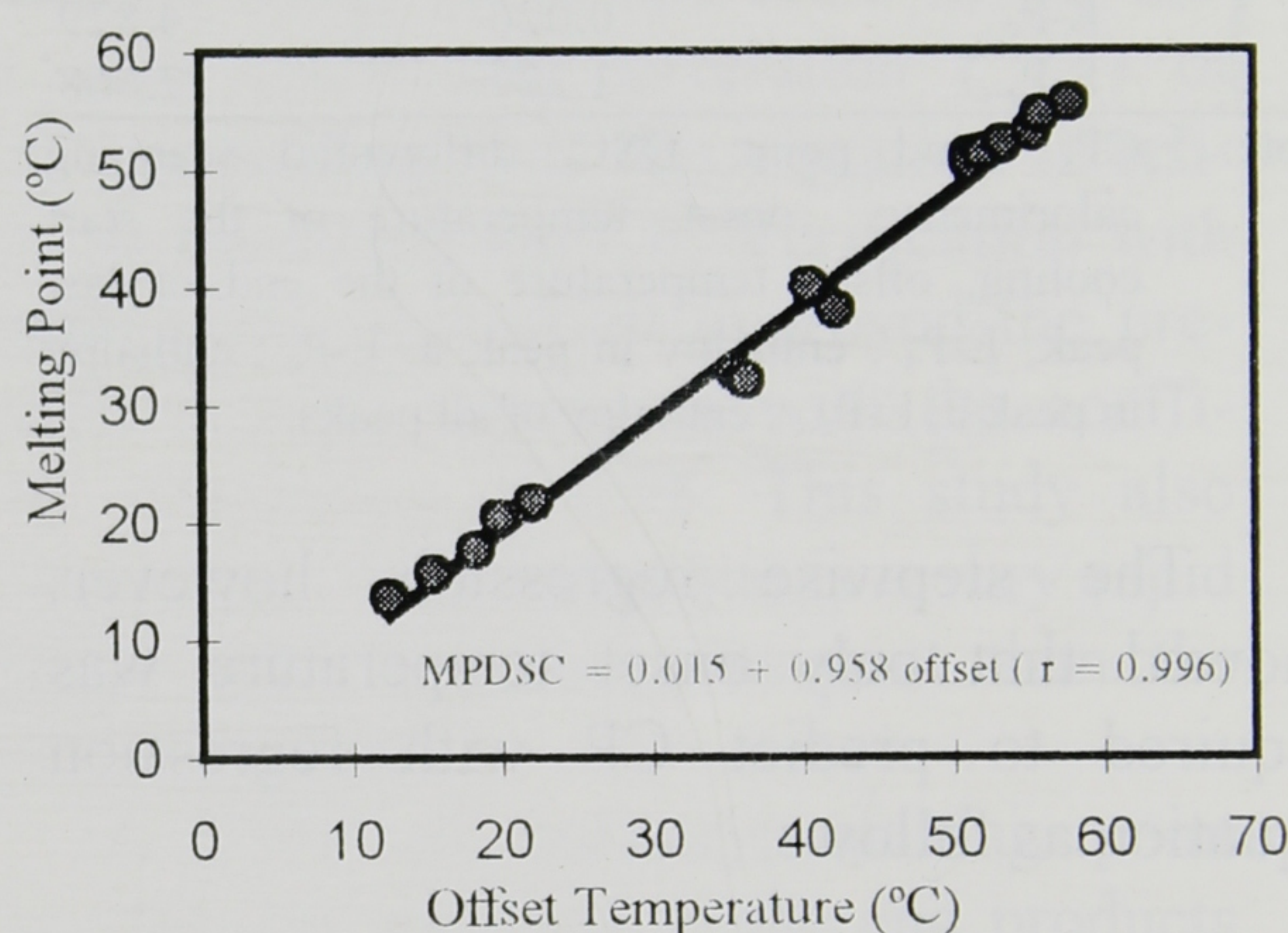


Figure 3. Standard curve of melting point of samples.

There were 5 possible variables obtained from the cooling thermogram of samples namely temperature of the onset of the first peak, temperature of the offset of the last peak in DSC thermogram, enthalpy in the peak a ($E-P_a$), enthalpy in peak c ($E-P_c$), enthalpy in all of the peaks ($E-P_{a-c}$). These variables were then used as the independent variables in the stepwise regression analysis with CP obtained from standard procedure as the dependent variable. The analysis showed that standard measurement for CP was quite consistent with coefficient variance (CV) of 0.111%. The DSC variables show that only 4

variables were quite consistent with CV less than 5% (Table 2).

Table 2. Variability test of CP standard method and all parameters on DSC thermogram for predicting CP of palm oil

No.	Variabel	MSE	Koefisien keragaman (%)
Standard			
1	CP std	0.111	5.712
Variabel DSC			
2	onset	0	0*
3	offset	260.555	-39.238
4	E-P _a	1.01	1.820*
5	E-P _c	0.026	4.829*
6	E-P _{a-c}	1.227	2.668*

Note: CP, cloud point; DSC, differential scanning calorimetry; onset, temperature of the start cooling, offset, temperature of the end of last peak, E-P_a, enthalpy in peak a, E-P_c, enthalpy in peak c, E-P_{a-c}, enthalpy of all peaks.

The stepwise regression, however, showed that only onset temperature was required to predict CP with regression equation as follows:

$CP_{DSC} = 4.29 + 1.224 \text{ onset}$, with coefficient correlation (r) of 0.956 (Figure 4).

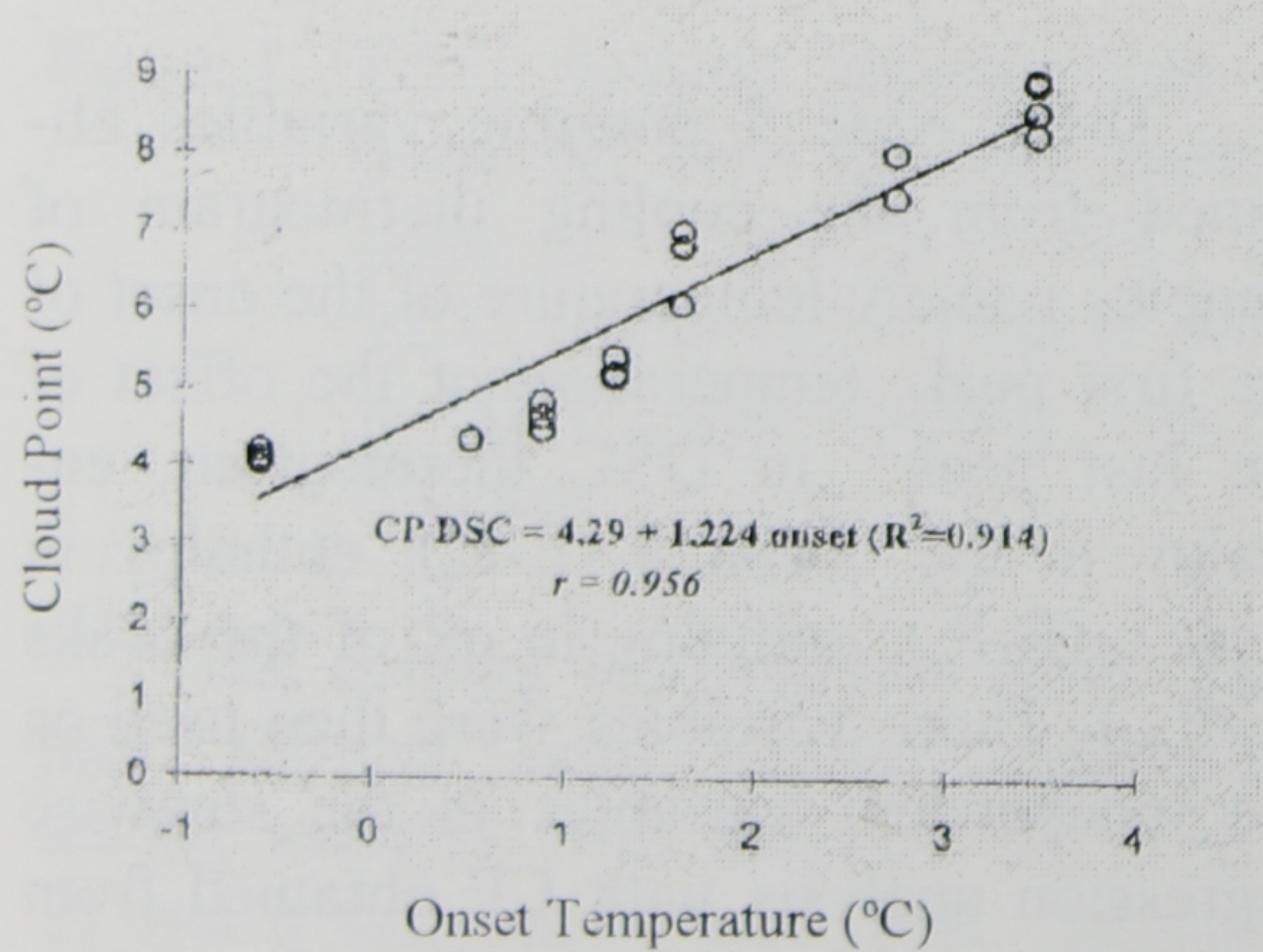


Figure 4. Standard curve of cloud point of samples.

If this equation was used to predict CP_{DSC}, the mathematical repeatability of this variable was:

$Var(CP_{DSC})=0.224^2(0)= 0$

which was still smaller than MSE of CP (0.111). Therefore, the results from DSC was more consistent than that of the standard method.

Verification

On the verification step it was found that correlation of MP obtained from standard equation (MP_{DSC}) with the one obtained with standard method (MP_{STD}) was good (0.983). If the DSC technique for MP could perfectly predict the MP_{STD}, regression of these two figures would be the “perfect” line (Figure 5). However, it was seen that there were some inconsistency on the standard method as shown by horizontal variability, hence, the relationship is not perfect. In order to predict the standard value, the predicted MP from DSC were then adjusted. The adjustment was derived using simple regression. The adjustment models is as follows:

$MP_{STD} \text{ adjusted} = -1.090 + 0.946 MP_{DSC}$ (R=0.98).

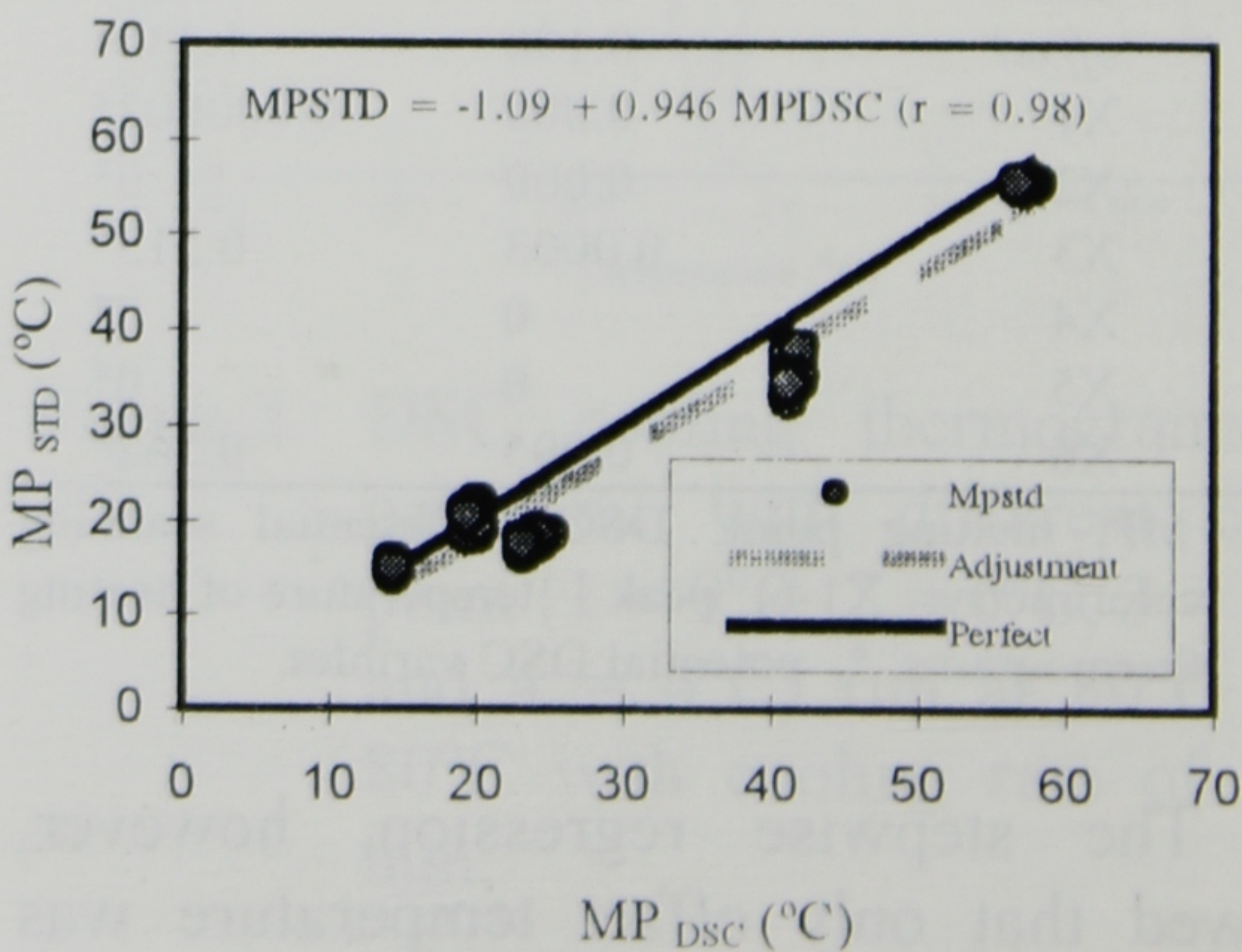


Figure 5. Verification of the model for predicting melting point of samples.

On the verification step it was found that correlation of CP obtained from standard equation (CP_{DSC}) with the one obtained with standard method (CP_{STD}) was good ($r = 0.98$). If the DSC technique for CP could perfectly predict the CP_{STD} , regression of these two figures would be the "perfect" line (Figure 6). However, it is seen that there were some inconsistencies on the standard method showed by horizontal variability, hence, the relationship was not perfect. In order to predict the standard value, the predicted CP from DSC were then adjusted. The adjustment was derived using simple regression. The adjustment models is as follows:

$$CP_{STD} \text{ adjusted} = 1.414 + 0.707 CP_{DSC} \quad (r = 0.98)$$

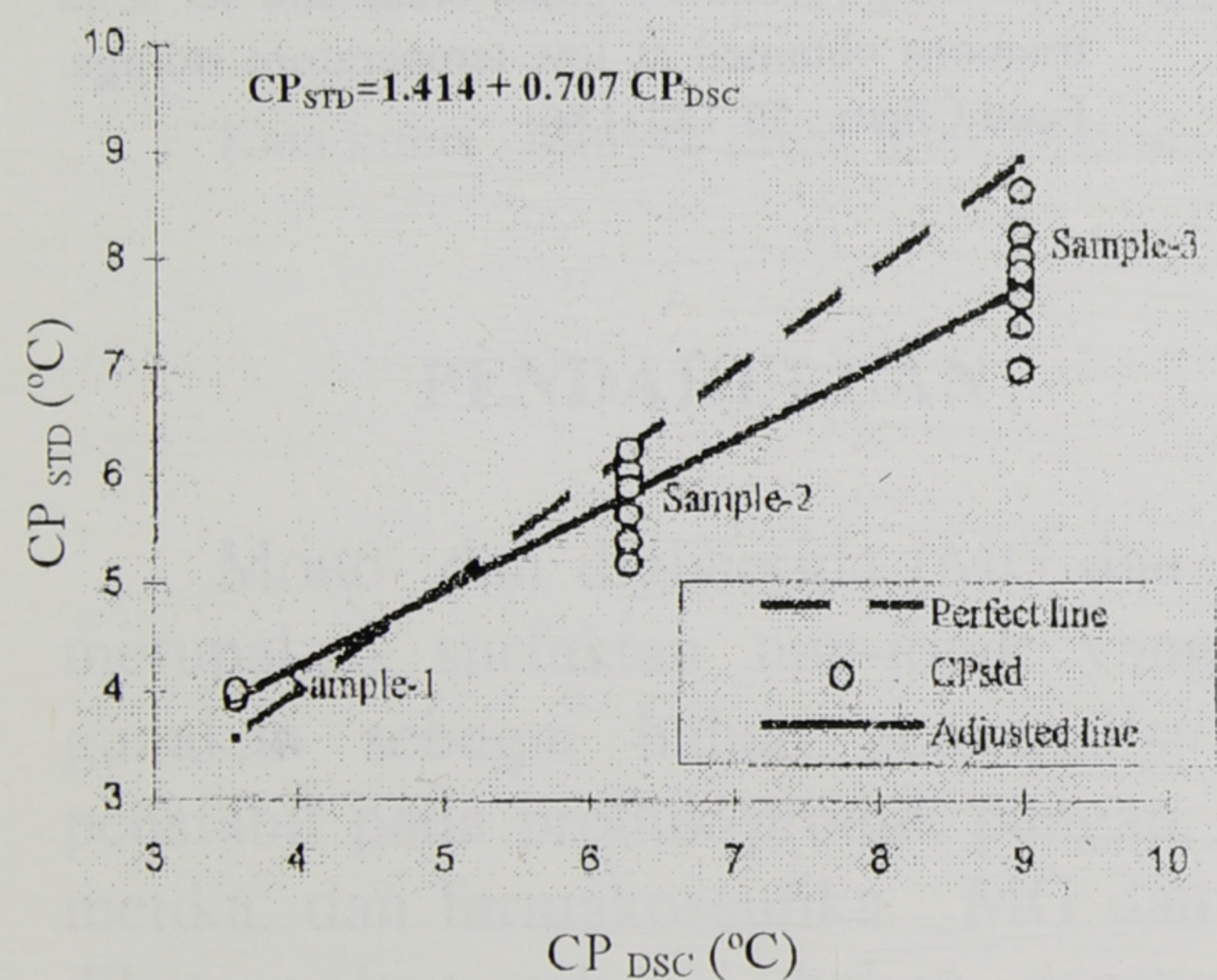


Figure 6. Verification of the model for predicting cloud point of samples.

Conclusions

This study concluded that MP of palm oil product can be determined by DSC technique. The average value of MP can be well predicted using the temperature of the

offset with coefficient correlation (r) of 0.996, indicating that this equation is reliable to determine the MP. Verification with simple linear regression improved the precision of these estimation with the coefficient correlation of 0.98. This study also showed that DSC technique is a very rapid method requiring time of about 60 min and is more consistent than the standard method.

This study concluded that CP of palm oil product can be determined by DSC technique. The value of CP can be well predicted using the temperature of the onset with coefficient correlation (r) of 0.956, indicating that this equation is reliable to determine the CP. Verification with simple linear regression improved the precision of these estimation with the coefficient correlation of 0.98. This study also showed that DSC technique is a very rapid method and is more consistent than the standard method.

In palm oil industry, melting point was routinely analysed to the end products for quality assurance using time consuming standard method. Determination of melting point and cloud point using DSC were quite rapid. Therefore, it is quite promising to be applied in process control as well as in quality assurance. This additional use of DSC widens the application of DSC in oil processing plant.

References

1. AOCS. 1990. Official and Tentative Methods of the American Oil Chemists' Society, 15th ed., American Oil Chemist Society, Champaign, IL.
2. BERGER, K.G., W.L. and F.C.H. OH. 1982. Factors affecting slip melting point of palm oil products. J. Am. Oil Chem. Soc., 59: 244-249.

3. BILIADERIS, C. G. 1983. Differential scanning calorimetry in food research- A Review. *Food Chem.* 10:239-265.
4. CHARSLEY, E.L. and S. B. WARRINGTON. 1992. *Thermal Analysis - Techniques and Applications*. Royal Society of Chemistry, Cambridge.
5. CHE MAN, Y.B., T. HARYATI, H.M. GHAZALI, and B.A. ASBI. 1999. Composition and thermal profile of crude palm oil and its products. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 76(2): 215-220.
6. COCKS, L.V. and C. VAN REDE. 1966. *Laboratory Handbook for Oil and Fat Analysis*. Academic Press, London.
7. deMAN, J.M., L. deMAN and B. BLACKMAN. 1983. Melting-point determination of fat products. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 60: 91-94.
8. GHAZALI, H.M., MAISARAH A., YUSOF S. and YUSOFF M.S.A.M. 1995. TAG profiles and melting properties of lipase-catalyzed transesterified palm stearin and coconut oil. *Asia Pasific Journal of Mol. Biol. & Biotech.*, 3:280-289.
9. GOH, E.M. and T.H. KER. 1991. Relationship between slip melting point and pulsed nmr data of palm kernel oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68:144-146.
10. HARYATI, T., Y.B. CHE MAN, and P.Z. SWE. 1997. Effect of repeated heating on thermal behaviour of crude palm oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 74: 393-396.
11. HARYATI, T., Y.B. CHE MAN, A.B. ASBI, H.M. GHAZALI, and L. BUANA. 1997. Determination of iodine value of palm oil by differential scanning calorimetry. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 74: 939-942.
12. PANTZARIS. 1995. *Pocketbook of Palm Oil Uses*. 1995. 3rd ed., Palm Oil Research Institute of Malaysia.
13. PAQUOT, C. 1979. *Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives*. 6th edn., Pergamon Press, Oxford.
14. PORIM Test Methods. 1995. Palm Oil Research Institute of Malaysia, Ministry of Primary Industries, Malaysia.
15. SPEYER, R. F. 1994. *Thermal Analysis of Materials*. Marcel Dekker, Inc. New York.
16. SWE, P.Z., Y.B. CHE MAN, and H.M. GHAZALI. 1996. Improved NARP-HPLC method for separating TAGs of palm olein and its solid fractions obtained at low temperature storage. *Food Chem.*, 56:181-186.

ooOoo