21089

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ชนิดของเอนไซม์ไลเปสและสภาวะที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์ม และปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันระหว่างกรดไขมันจากน้ำมันปาล์มกับเมธานอล

(Lipases and reaction conditions suitable for hydrolysis of palm oil and esterification of free fatty acid derived from palm oil and methanol)

T096809

จัดทำโดย

นางสาววรรณา อยู่ดี รหัสนักศึกษา 45040808

นางสาวสุวรรณี สีคุณเมือง รหัสนักศึกษา 45040821

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผศ.ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2548

ปพ.
อ267ช
2548

สขมภ.
เลขทะเบียน 96809
วัน เดือน ปี 4 JUN 2009

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หองสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ชนิดของเอนไซม์ไลเปสและสภาวะที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์ม และปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันระหว่างกรดไขมันจากน้ำมันปาล์มกับเมธานอล

(Lipases and reaction conditions suitable for hydrolysis of palm oil and esterification of free fatty acid derived from palm oil and methanol)

จัดทำโดย

นางสาววรรณา อยู่ดี รหัสนักศึกษา 45040808

นางสาวสุวรรณี สีคุณเมือง รหัสนักศึกษา 45040821

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

..... 23/ส.ค./49 **อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ**

(ผศ.ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม)

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นางสาววรรณา อยู่ดี และนางสาวสุวรรณี สีคุณเมือง. 2549 : ชนิดของเอนไซม์ไลเปสและสภาวะที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มและปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันระหว่างกรดไขมันจากน้ำมันปาล์มกับเมธานอล (Lipases and reaction conditions suitable for hydrolysis of palm oil and esterification of free fatty acid derived from palm oil and methanol) ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

จากการศึกษาชนิดของเอนไซม์ไลเปสที่เหมาะสมสำหรับการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มและปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันระหว่างกรดโอเลอิกกับเมธานอล โดยใช้เอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* , Novozyme 435 และ QLM พบว่าเอนไซม์ไลเปสที่เร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสและปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันได้ดีที่สุดคือเอนไซม์ไลเปสจาก *C . rugosa* และเอนไซม์ไลเปส QLM ตามลำดับ จากการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมันอิสระจากน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์กับเมธานอลโดยใช้เอนไซม์ไลเปส QLM เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา พบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือ ปริมาณเมธานอล 40% และปริมาณน้ำ 30% โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยา โดยใช้ปริมาณเอนไซม์ไลเปส 100 ยูนิตต่อกรัมสารละลายปฏิกิริยา เกิดปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันเท่ากับ 92.64% ที่เวลาของปฏิกิริยา 24 ชั่วโมง และเมื่อศึกษาถึงความเป็นไปได้ของการเตรียมเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันโดยใช้ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสร่วมกับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของน้ำมันปาล์มและใช้เอนไซม์ไลเปสจาก *C . rugosa* และ QLM ตามลำดับ พบว่าเอนไซม์ไลเปสทั้งสองชนิดมีประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยาได้ดี โดยให้ค่าเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสและเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันที่เวลาของปฏิกิริยา 24 ชั่วโมง เท่ากับ 95.91% และ 93.58% ตามลำดับ ผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าปฏิกิริยา 2 ขั้นตอนคือ ไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ไลเปสจาก *C . rugosa* ตามด้วยเอสเทอริฟิ-เคชันโดย QLM มีความเป็นไปได้สำหรับใช้ในการผลิตเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันจากน้ำมันปาล์ม

วรรณา อยู่ดี
สุวรรณี สีคุณเมือง ..... 23 มีนาคม 2549

ลายมือนักศึกษา (ผศ.ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม) วัน/เดือน/ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การจัดทำปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ทั้งนี้คณะผู้จัดทำต้องขอกราบขอบพระคุณ ผ.ศ.ดร. ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาการทำปัญหาพิเศษที่เสียสละเวลามาให้คำแนะนะรวมทั้งความห่วงใยเอาใจใส่มาโดยตลอด และขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่ให้ความรู้ให้คำแนะนำต่างๆ จนทำให้ปัญหาพิเศษนี้สำเร็จได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ที่คอยให้กำลังทรัพย์และเป็นกำลังใจที่สำคัญยิ่ง และขอขอบคุณพี่ๆนักวิทยาศาสตร์ทุกท่านที่ให้เบิกยืมอุปกรณ์ตลอดจนความช่วยเหลือด้านต่างๆในการทำปัญหาพิเศษ

ขอขอบคุณเพื่อนๆ สาขาเทคโนโลยีการหมัก รุ่นที่ 9 ที่คอยช่วยเหลือและให้คำปลอบใจในเวลาที่มีอุปสรรคในการทำปัญหาพิเศษ และขอบคุณกำลังใจดีๆที่ได้รับจากบุคคลอื่นๆที่มิได้กล่าวถึงในที่นี้ด้วย

สุดท้ายนี้ ขอบคุณตัวเองที่อดทนฟันฝ่าอุปสรรคต่างๆ มาจนกระทั่งปัญหาพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

นางสาววรรณา อยู่ดี
นางสาวสุวรรณี สีคุณเมือง
23 มีนาคม 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ค
กิตติกรรมประกาศ	ง
สารบัญ	จ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ซ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 วารสารปริทรรศน์	2
2.1 การผลิตไบโอดีเซล	2
2.1.1 การผลิตไบโอดีเซลโดยใช้ตัวเร่งทางเคมี	3
2.1.2 การผลิตไบโอดีเซลโดยใช้ตัวเร่งทางชีวภาพ	4
2.1.3 ข้อดีและข้อเสียของการผลิตไบโอดีเซลเมื่อใช้ตัวเร่งทางเคมีหรือตัวเร่งทางชีวภาพ	5
2.2 เอนไซม์ไลเปส	5
2.3 ตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตไบโอดีเซล	6
2.3.1 การผลิตไบโอดีเซลด้วยปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันโดยใช้กรดไขมันเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมทูน่า	6
2.3.2 ไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มและเอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมันจากน้ำมันปาล์มกับเมธานอลโดยเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa*	11
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	12
3.1 วัตถุดิบ	12
3.2 อุปกรณ์	12
3.3 สารเคมี	13
3.4 วิธีการทดลอง	13
3.4.1 วิธีหาค่า acid value (AV)	13
3.4.2 การเตรียมกรดไขมันอิสระจากน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์	14
3.4.3 ศึกษาชนิดของเอนไซม์ที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส	14
3.4.4 ศึกษาชนิดของเอนไซม์ที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน	14
3.4.5 ศึกษาปริมาณเมธานอลที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน	15
3.4.6 ศึกษาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน	15
3.4.7 ศึกษาปริมาณน้ำที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน	16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.4.8 ศึกษาการเตรียมเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันโดยใช้ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสร่วมกับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของน้ำมันปาล์ม	16
บทที่ 4 ผลการทดลอง	17
4.1 การหาค่า Acid value (AV)	17
4.2 ศึกษาชนิดของเอนไซม์ที่เหมาะสมปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส	17
4.3 ศึกษาชนิดของเอนไซม์ที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน	19
4.4 ศึกษาปริมาณเมธานอลที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน	19
4.5 ศึกษาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน	20
4.6 ศึกษาปริมาณน้ำที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน	21
4.7 ศึกษาการเตรียมเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันโดยใช้ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสร่วมกับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของน้ำมันปาล์ม	23
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	26
เอกสารอ้างอิง	27
ภาคผนวก	28
ประวัติผู้เขียน	38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 เปรียบเทียบวิธีการเร่งปฏิกิริยาด้วยด่างและการเร่งด้วยเอนไซม์ไลเปสในการผลิตเชื้อเพลิงไบโอดีเซล 5

2.2 ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันแบบสองขั้นตอนของกรดไขมันเหลือทิ้ง 10

4.1 เปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสที่เกิดจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์เมื่อใช้เอนไซม์ไลเปสชนิดต่าง ๆ เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา 17

4.2 เปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันที่เกิดจากปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดโอเลอิกกับเมธานอลเมื่อใช้เอนไซม์ไลเปสชนิดต่าง ๆ เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา 19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 แสดงการทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของไตรกลีเซอไรด์ด้วยแอลกอฮอล์	2
2.2 แสดงกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ใช้ด่างเป็นตัวเร่ง	4
2.3 แสดงกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ใช้เอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่ง	4
2.4 ปริมาณเอนไซม์ที่มีผลต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมันเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมทูน่า	7
2.5 ปริมาณเมธานอลที่มีผลต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมันเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมทูน่า	8
2.6 การยับยั้งเอนไซม์โดยเมธานอลที่มากเกินพอโดยปฏิกิริยาจะใช้เอนไซม์ที่แยกได้จากปฏิกิริยาครั้งก่อนใส่ลงไปยังสารตั้งต้นที่ผสมใหม่ทุกๆ 24 ชั่วโมง	9
4.1 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสกับเวลาในการเกิดปฏิกิริยา เมื่อใช้เอนไซม์ไลเปส *Caddida rugosa* เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาภายใต้สภาวะที่เหมาะสม	18
4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันกับเวลาในการเกิดปฏิกิริยาเมื่อใช้ปริมาณเมธานอลต่าง ๆ กัน	20
4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันกับเวลาในการเกิดปฏิกิริยาเมื่อใช้ปริมาณเอนไซม์ต่าง ๆ กัน	21
4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันกับเวลาในการเกิดปฏิกิริยาเมื่อใช้ปริมาณน้ำต่าง ๆ กัน	22
4.5 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันกับเวลาในการเกิดปฏิกิริยาเมื่อใช้เอนไซม์ไลเปส QLM เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาภายใต้สภาวะที่เหมาะสม	23
4.6 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสกับเวลาในการเกิดปฏิกิริยาเมื่อใช้เอนไซม์ไลเปสจาก *Caddida rugosa* เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา	24
4.7 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันกับเวลาในการเกิดปฏิกิริยาเมื่อใช้เอนไซม์ไลเปส QLM เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

บทนำ

ในการผลิตเชื้อเพลิงไบโอดีเซลจากน้ำมันพืชซึ่งมีองค์ประกอบหลักเป็นไตรเอซิลกลีเซอรอล (TAG) ด้วยการทำปฏิกิริยากับเมธานอลสามารถใช้เอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาได้ ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์ไลเปสเป็นเอนไซม์ที่มีคุณสมบัติในการย่อยสลายพันธะเอสเทอร์ในโมเลกุลของ TAG เกิดเป็นส่วนของกลีเซอรอลและกรดไขมันอิสระ หลังจากนั้นกรดไขมันอิสระและเมธานอลสามารถสังเคราะห์เป็นเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (ไบโอดีเซล) แต่ประสิทธิภาพของการผลิตไบโอดีเซลขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาที่ใช้เอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่ง

ในปี พ.ศ. 2548 สุรัชนีและอภิสิทธิ์ได้ศึกษาปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มและปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมันจากน้ำมันปาล์มกับเมธานอล โดยใช้เอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* พบว่าเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* มีประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสได้ดี แต่เปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันที่ได้มีค่าต่ำกว่า 20% ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปัจจัยหลายประการที่มีผลต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน เช่น ชนิดของเอนไซม์ไลเปสที่ใช้ อัตราส่วนระหว่างกรดไขมันอิสระต่อเมธานอล , ปริมาณเอนไซม์และปริมาณน้ำที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน เป็นต้น ปัญหาพิเศษนี้จึงศึกษาชนิดและสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเร่งปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันระหว่างกรดไขมันอิสระกับเมธานอล โดยใช้เอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* , *Candida antarctica* (Novozym 435) และ QLM เป็นตัวเร่ง เพื่อให้เอสเทอริฟิเคชันมีค่าสูงขึ้น รวมทั้งศึกษาเพิ่มเติมในส่วนของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสโดยใช้เอนไซม์ไลเปสทั้ง 3 ชนิดด้วย เพื่อเป็นแนวทางในการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์มต่อไป

วัตถุประสงค์

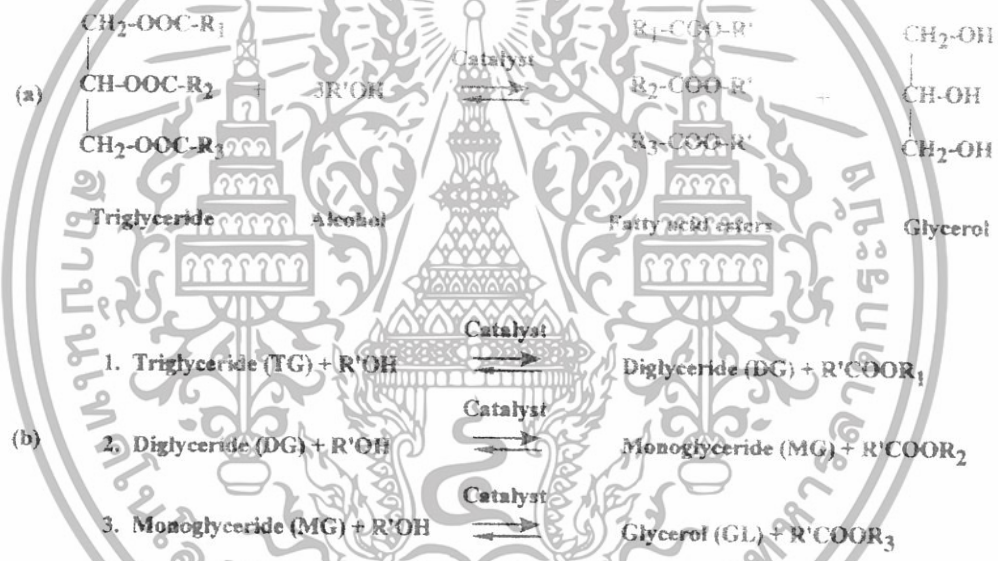
1. เพื่อศึกษาชนิดของเอนไซม์ที่เหมาะสมสำหรับเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มและปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันระหว่างกรดไขมันอิสระจากน้ำมันปาล์มกับเมธานอล
2. เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันระหว่างกรดไขมันอิสระจากน้ำมันปาล์มกับเมธานอลโดยใช้เอนไซม์ไลเปส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
วารสารปริทรรศน์

2.1 การผลิตไบโอดีเซล

ไบโอดีเซลได้จากการทรานส์เอสเทอริฟิเคชันไตรกลีเซอไรด์ด้วยแอลกอฮอล์ ซึ่งเป็นการแทนที่แอลกอฮอล์ในเอสเทอร์ของไตรกลีเซอไรด์ด้วยแอลกอฮอล์ตัวอื่น ได้เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมัน (ไบโอดีเซล) และกลีเซอรอลออกมาเป็นผลพลอยได้ดังแสดงในรูปที่ 1 โดยขั้นตอนของปฏิกิริยาจะเกิดต่อเนื่องกัน คือ เปลี่ยนไตรกลีเซอไรด์เป็นไดกลีเซอไรด์ ตามด้วยการเปลี่ยนไดกลีเซอไรด์เป็นโมนอกลีเซอไรด์ และโมนอกลีเซอไรด์เปลี่ยนเป็นกลีเซอรอล ซึ่งกรดไขมันที่ได้ในแต่ละขั้นตอนจะทำปฏิกิริยากับแอลกอฮอล์เกิดเป็นเอสเทอร์ของกรดไขมัน



ภาพที่ 2.1 แสดงการทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของไตรกลีเซอไรด์ด้วยแอลกอฮอล์ โดย (a) คือ สมการโดยทั่วไปของปฏิกิริยา และ (b) คือ 3 ขั้นตอนย่อยของปฏิกิริยาที่เกิดต่อเนื่องกัน เมื่อ R_1, R_2, R_3 และ R' คือ หมู่อัลคิล

ที่มา : Fukuda *et al.*,2001

ในช่วงหลายปีที่ผ่านมาได้มีการศึกษาเพื่อพัฒนาการผลิตไบโอดีเซลโดยการใช้ตัวเร่งทางเคมีทั้งกรดและด่าง เช่น กรดซัลฟูริก โซเดียมไฮดรอกไซด์ และตัวเร่งทางชีวภาพ ได้แก่เอนไซม์ไลเปส โดยพบว่าการใช้ด่างเป็นตัวเร่งการทรานส์เอสเทอริฟิเคชันทำให้เกิดการเปลี่ยนไตรกลีเซอไรด์เป็นเมทิลเอสเทอร์สูงในเวลาอันสั้น ซึ่งกระบวนการนี้ได้มีการนำไปใช้ในการผลิต ไบโอดีเซลอย่างกว้างขวาง ส่วนการใช้เอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่งการทรานส์เอสเทอริฟิเคชันได้รับความสนใจมากขึ้น ในการนำมาผลิตไบโอดีเซล เนื่องจากสามารถแยกกลีเซอรอลที่เป็นผลพลอยได้ออกมาได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง่ายและการทำเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันให้บริสุทธิ์สามารถทำได้ง่าย แต่ปัญหาที่สำคัญของระบบในทางการค้า คือ ราคาของการผลิตเอนไซม์ไลเปสสูง ดังนั้นจะเห็นได้ว่ากระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่เร่งปฏิกิริยาด้วยตัวเร่งทางเคมีและตัวเร่งทางชีวภาพจะมีข้อได้เปรียบเสียเปรียบแตกต่างกันออกไป

2.1.1 การผลิตไบโอดีเซลโดยใช้ตัวเร่งทางเคมี

2.1.1.1 การทรานส์เอสเทอริฟิเคชันที่ใช้กรดเป็นตัวเร่ง

กรดที่สามารถใช้ในการทรานส์เอสเทอริฟิเคชันได้ประกอบด้วยกรดซัลฟูริก ฟอสฟอริก ไฮโดรคลอริกและสารประกอบกรดซัลฟอนิก ถึงแม้ว่าการทรานส์เอสเทอริฟิเคชันที่เร่งด้วยกรดจะเกิดช้ากว่าการเร่งด้วยด่างมาก แต่การทรานส์เอสเทอริฟิเคชันที่เร่งด้วยกรดจะมีความเหมาะสมกับกลีเซอไรด์ที่มีกรดอิสระเป็นองค์ประกอบและมีปริมาณน้ำอยู่ในระบบมาก มากกว่าการใช้ด่างเป็นตัวเร่ง เช่น การผลิตเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่ 1 ตำแหน่ง หรือกรดไขมันสายสั้นโดยใช้กรดซัลฟูริกความเข้มข้น 2% เป็นตัวเร่งจะทำให้ได้เชื้อเพลิงที่ดี (Klopfenstein *et al* ., 1983)

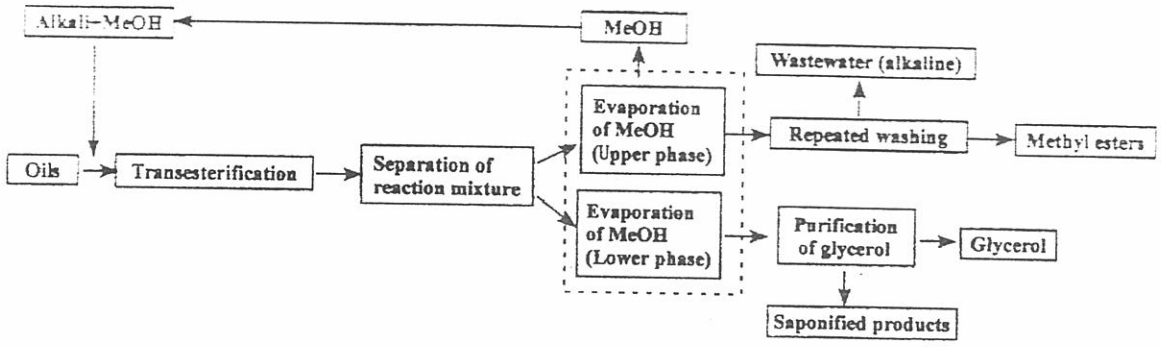
2.1.1.2 การทรานส์เอสเทอริฟิเคชันที่ใช้ด่างเป็นตัวเร่ง

ด่างที่สามารถใช้ในการทรานส์เอสเทอริฟิเคชันประกอบด้วย โซเดียมไฮดรอกไซด์ โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ คาร์บอเนตและอัลคอกไซด์ เช่น โซเดียมเมทรอกไซด์ โซเดียมเอทรอก-ไซด์ โซเดียมโพรพรอกไซด์และโซเดียมบิวทรอกไซด์ การทรานส์เอสเทอริฟิเคชันที่เร่งด้วยด่างจะเกิดขึ้นเร็วกว่าการเร่งด้วยกรดเมื่อใช้ในปริมาณที่เท่ากัน และนิยมใช้ในการผลิตในทางการค้าสูง

2.1.1.3 กระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ใช้ด่างเป็นตัวเร่ง

เมื่อนำน้ำมันพืชมาทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันด้วยเมทานอลโดยใช้ด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังแสดงในรูปที่ 2.2 พบว่า จะได้ผลผลิตที่แยกออกเป็น 2 ชั้น โดยชั้นบนจะเป็นส่วนของเมทิลเอสเทอร์ซึ่งจะต้องนำไปทำการระเหยเพื่อกำจัดเมทานอลที่ปนอยู่ออกไป และต้องนำมาทำการล้างด้วยน้ำหลาย ๆ ครั้งเพื่อแยกเอาด่างที่ใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกไป จึงจะได้เมทิลเอส-เทอร์ที่บริสุทธิ์ ส่วนชั้นล่างเป็นส่วนของกลีเซอรอลซึ่งจะต้องนำไประเหยเพื่อเอาเมทานอลออกเช่นเดียวกับชั้นบน และจะนำมาผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์เพื่อแยกเอผลิตภัณฑ์ที่เป็นสบู่ออกจากกลีเซอรอล สำหรับเมทานอลที่ได้จากการระเหยออกจากผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 ชั้น สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ -

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.2 แสดงกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ใช้ด่างเป็นตัวเร่ง

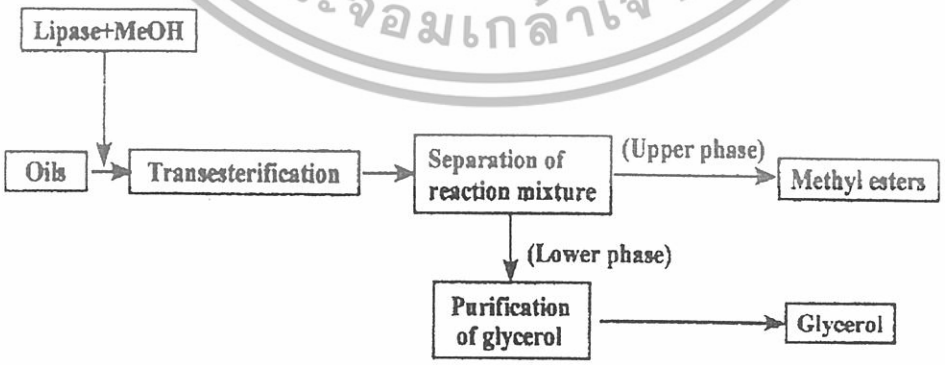
ที่มา : Fukuda *et al.*,2001

2.1.2 การผลิตไบโอดีเซลโดยใช้ตัวเร่งทางชีวภาพ

การใช้ตัวเร่งทางชีวภาพ ซึ่งคือเอนไซม์ไลเปสในการเร่งการทรานส์เอสเทอริฟิเคชันนั้น ไตรกลีเซอไรด์และบางส่วนของไตรกลีเซอไรด์จะถูกย่อยโดยเอนไซม์ไลเปสไปเป็นส่วนของ กลีเซอรอลและกรดไขมันอิสระ หลังจากนั้นกรดไขมันอิสระและเมทานอลจะเกิดการสังเคราะห์ขึ้นเป็นเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน ซึ่งผลได้นี้จะไม่เหมือนในกรณีการเร่งการทรานส์เอสเทอริฟิเคชันด้วยตัวเร่งทางเคมี คือ กรดไขมันอิสระที่มีอยู่ในน้ำมันสามารถแยกไปเป็นเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันได้ง่าย

2.1.2.1กระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ใช้เอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่ง

เมื่อนำน้ำมันพืชมาทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันด้วยเมทานอลโดยใช้เอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังแสดงในรูปที่ 2.3 พบว่าจะได้ผลิตภัณฑ์ที่แยกออกเป็น 2 ชั้น โดยชั้นบนเป็นส่วนของเมทิลเอสเทอร์ ส่วนชั้นล่างเป็นส่วนของกลีเซอรอลซึ่งจะต้องนำไปผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ก่อนนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป



ภาพที่ 2.3 แสดงกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ใช้เอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่ง

ที่มา : Fukuda *et al.*,2001

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 ข้อดีและข้อเสียของการผลิตไบโอดีเซลเมื่อใช้ตัวเร่งทางเคมีหรือตัวเร่งทางชีวภาพ

ตารางที่ 2.1 เปรียบเทียบวิธีการเร่งปฏิกิริยาด้วยด่างและการเร่งด้วยเอนไซม์ไลเปสในการผลิตเชื้อเพลิงไบโอดีเซล

สิ่งที่เปรียบเทียบ	กระบวนการที่ใช้ด่างเป็นตัวเร่ง	กระบวนการที่ใช้เอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่ง
อุณหภูมิของปฏิกิริยา	60-70 ^{0}C	30-40 ^{0}C
กรดไขมันอิสระในวัตถุดิบ	เกิดผลิตภัณฑ์ที่เป็นสบู่	เกิดเมทิลเอสเทอร์
น้ำที่มีอยู่ในวัตถุดิบ	มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยา	ไม่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยา
ผลได้ของเมทิลเอสเทอร์	ปกติ	สูง
การแยกกลีเซอรอล	ทำได้ยาก	ทำได้ง่าย
การทำเมทิลเอสเทอร์ให้บริสุทธิ์	ต้องทำการล้างหลาย ๆ ครั้ง	ไม่ต้องทำ
ราคาในการผลิตตัวเร่ง	ถูก	ค่อนข้างแพง

ที่มา : Fukuda *et al*., 2001

จากตารางที่ 2.1 พบว่า กระบวนการที่ใช้ด่างเป็นตัวเร่งในการทรานส์เอสเทอริฟิเคชันจะมีความคงตัวในการเปลี่ยนน้ำมันไปเป็นเมทิลเอสเทอร์สูง แต่มีข้อเสียคือ การแยกกลีเซอรอลออกจากเมทิลเอสเทอร์ทำได้ยาก ต้องมีการแยกตัวเร่งปฏิกิริยาออกจากผลิตภัณฑ์และจำเป็นต้องมีการบำบัดน้ำเสียทั้งนี้เนื่องจากมีการล้างและแยกผลิตภัณฑ์ที่เป็นสบู่

สำหรับกระบวนการที่ใช้เอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่งในการทรานส์เอสเทอริฟิเคชันจะเกิดได้ดี สามารถแยกกลีเซอรอลออกมาได้ง่าย ไม่จำเป็นต้องมีการบำบัดน้ำเสีย แต่มีข้อเสียคือ ราคาในการผลิตเอนไซม์ไลเปสจะสูงกว่าการใช้ตัวเร่งทางเคมี

2.2 เอนไซม์ไลเปส

เอนไซม์ไลเปสเป็นเอนไซม์ที่มีคุณสมบัติในการย่อยสลายพันธะเอสเทอร์ในโมเลกุลไตร-เอซิลกลีเซอรอล (TAG) ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันพืชทั่วไป โครงสร้างของ TAG จะประกอบด้วยกรดไขมัน 3 โมเลกุลจับอยู่กับหมู่ไฮดรอกซิลของกลีเซอรอลด้วยพันธะเอสเทอร์ เอนไซม์ไลเปสสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มตามความจำเพาะต่อสับสเตรท ได้แก่

(www. Thaiscience . com)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

• ความจำเพาะต่อกรดไขมัน (group specific) เอนไซม์ไลเปสมีระดับของความจำเพาะต่อกรดไขมัน เช่น ไลเปสจาก *Candida antarctica* จะมีความจำเพาะต่อกรดไขมันสายสั้นมากกว่าสายยาว

• ความจำเพาะต่อตำแหน่ง (regio- หรือ position specific) ซึ่งเอนไซม์ไลเปสโดยทั่วไปมักจะมีความจำเพาะต่อตำแหน่งของพันธะเอสเทอร์บน TAG โดยเฉพาะตำแหน่งที่ 1 และ 3 (1,3-specific lipase)

• ไม่มีความจำเพาะเจาะจงต่อตำแหน่ง (non-position specific) หมายถึงเอนไซม์ไลเปสที่เข้าทำปฏิกิริยากับไขมันได้อย่างไม่เจาะจง จะเป็นตำแหน่งที่ 1,2 หรือ 3 ของไตรกลีเซอไรด์ก็ได้

แหล่งของอนไซม์ไลเปสได้แก่ จุลินทรีย์ทั้งประเภทแบคทีเรีย ยีสต์ และรา นอกจากนี้ยังพบเอนไซม์ไลเปสในพืชบางชนิดด้วย ตัวอย่างของเอนไซม์ไลเปสที่เป็นที่นิยมใช้ในการผลิตไบโอดีเซลได้แก่เอนไซม์ไลเปสจาก *Candida antarctica, Candida rugosa, Pseudomonas cepacia, Pseudomonas fluorescens* และ *Rhizomucor miehei* เป็นต้น

ปัญหาหลักของการใช้เอนไซม์ไลเปสในการผลิตไบโอดีเซลได้แก่ ต้นทุนการผลิตค่อนข้างสูง เนื่องจากเอนไซม์ไลเปสมีราคาแพงรวมทั้งปัญหาความเสถียรของเอนไซม์ในระหว่างการเร่งปฏิกิริยา อย่างไรก็ตามปัญหาดังกล่าวสามารถแก้ไขได้โดยการใช้เอนไซม์ในรูปของเอนไซม์ตรึงรูปหรือการตรึงเซลล์ที่ผลิตเอนไซม์ไลเปสแทนการใช้เอนไซม์อิสระ โดยวิธีนี้จะสามารถทำให้เอนไซม์กลับมาใช้ซ้ำได้หลายครั้ง ซึ่งเป็นการลดต้นทุนการผลิต

2.3 ตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตไบโอดีเซล

2.3.1 การผลิตไบโอดีเซลด้วยปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันโดยใช้กรดไขมันเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมทูน่า

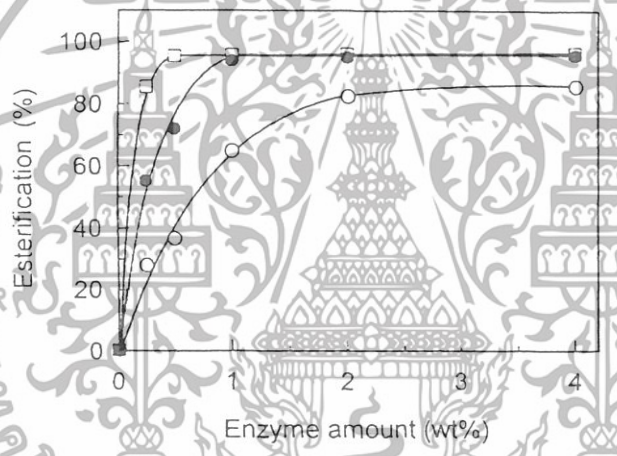
ในปี ค.ศ. 2002 Shimada และคณะ ได้ศึกษาการผลิตไบโอดีเซลจากกรดไขมันเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมทูน่า โดยใช้ปฏิกิริยา 2 ลักษณะคือปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันขั้นตอนเดียว (one-step reaction) และปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันแบบสองขั้นตอน (two - step reaction) ซึ่งประสิทธิภาพในการผลิตไบโอดีเซลจะแตกต่างกัน โดยปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันแบบขั้นตอนเดียวเกิดขึ้นจากการผสมกรดไขมันเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมทูน่ากับเมธานอลอัตราส่วน 1:2 โดยโมล และเอนไซม์ไลเปสตรึงรูป จากปฏิกิริยานี้ทำให้ได้ไบโอดีเซล 95% ในขณะที่ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันแบบสองขั้นตอน ในขั้นตอนแรกผสมกรดไขมันเหลือทิ้งกับเมธานอลอัตราส่วน 1:2 โดยโมล และเอนไซม์ไลเปส ทำให้ได้ไบโอดีเซล 95.2% ไบโอดีเซลที่ได้นี้จะถูกกำจัดน้ำออกผสมกับเมธานอลอัตราส่วน 1:5 โดยโมลเป็นปฏิกิริยาในขั้นตอนที่สอง โดยเมธานอลจะทำปฏิกิริยากับกรดไขมันที่เหลือจากปฏิกิริยาในขั้นตอนแรก ทำให้ได้ไบโอดีเซลเพิ่มขึ้นเป็น 97.7%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากในการเกิดปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันมีหลายปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพในการผลิตไบโอดีเซลจึงได้มีการศึกษาถึงผลกระทบต่อปฏิกิริยา โดยเอนไซม์ที่ใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาจะใช้เอนไซม์ไลเปสจาก *Candida antarctica*

ปริมาณเอนไซม์

จากการศึกษาโดยการผสมกรดไขมันเหลือทิ้งจากทูน่ากับเมธานอลอัตราส่วน 1:2 โดยโมล และปริมาณเอนไซม์ที่แตกต่างกัน เมื่อปฏิกิริยาเกิดขึ้นหลังจาก 1, 3 และ 24 ชั่วโมง ผลการทดลองแสดงได้ดังรูปที่ 5 จะเห็นได้ว่า หลังจาก 1 ชั่วโมงและ 3 ชั่วโมง ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันขึ้นอยู่กับปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ในปฏิกิริยา ในขณะที่ปฏิกิริยาที่เกิดหลัง 24 ชั่วโมง ระดับของการเกิดปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันสูงถึง 95% โดยเอนไซม์ไลเปสที่ใช้น้อยกว่า 0.5 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นในการเกิดปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันจึงใช้เอนไซม์ไลเปส 0.5 หรือ 1 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 2.4 ปริมาณเอนไซม์ที่มีผลต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมันเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมทูน่า สารละลายปฏิกิริยาประกอบด้วยกรดไขมันกับเมธานอลอัตราส่วน 1:2 โดยโมลและปริมาณเอนไซม์ที่แตกต่างกัน ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสให้ระดับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน 1 ชั่วโมง (○) ระดับปฏิกิริยาหลัง 3 ชั่วโมง (●) และระดับปฏิกิริยาหลัง 24 ชั่วโมง (□)

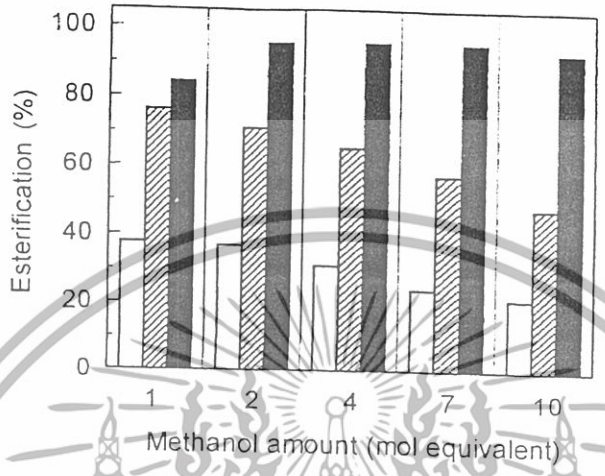
ที่มา : Shimada *et al.*, 2002

ปริมาณเมธานอล

จากการศึกษาผลของปริมาณเมธานอลต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมันเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมทูน่ากับเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปจาก *C.antarctica* 0.5% เมื่อวิเคราะห์การเกิดปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน จากรูปที่ 6 จะเห็นว่าระดับปฏิกิริยาหลังจาก 1 และ 3 ชั่วโมงลดลงเมื่อปริมาณเมธานอลเพิ่มขึ้น แสดงว่าปริมาณเมธานอลที่เพิ่มขึ้นจะไปยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาเอสเทอริ-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

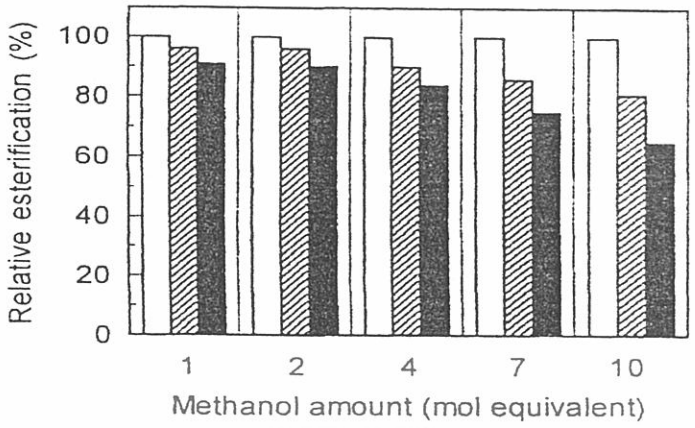
ฟิเคชัน สำหรับการเกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 24 ชั่วโมงเมื่อใช้เมธานอลอัตราส่วน 1: 1 โดยโมลระดับของการเกิดปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันจะเท่ากับ 84.3% เมื่อมีการเติมเมธานอลเพิ่มขึ้นระดับของการเกิดปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันก็เพิ่มขึ้นด้วย แต่จะไม่เพิ่มมากกว่า 95%



ภาพที่ 2.5 ปริมาณเมธานอลที่มีผลต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมันเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมทูน่า สารละลายปฏิกิริยาประกอบด้วยกรดไขมัน 10 กรัมกับเอนไซม์ไลเปส 50 มิลลิกรัม และปริมาณเมธานอลที่แตกต่างกัน ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ระดับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันหลัง 1 ชั่วโมง (□) ระดับของปฏิกิริยาหลัง 3 ชั่วโมง (▬) และระดับปฏิกิริยาหลัง 24 ชั่วโมง (▨)
ที่มา : Shimada *et al*., 2002

เนื่องจากปริมาณของเมธานอลที่ความเข้มข้นสูงมีผลในการยับยั้งเอนไซม์ไลเปสในการเกิดปฏิกิริยา จึงมีการศึกษาความเสถียรของเอนไซม์ด้วยการทำปฏิกิริยาซ้ำ ๆ กันหลาย ๆ ครั้งโดยเมื่อทำปฏิกิริยาครบ 24 ชั่วโมงจะแยกเอาเอนไซม์ออกมาแล้วนำเอนไซม์นั้นมาใส่ลงในสารตั้งต้นที่ผสมขึ้นใหม่ จากรูปที่ 7 จะเห็นว่าปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันที่ทำซ้ำ 5 ครั้ง เมื่อเติมเมธานอลอัตราส่วน 1:1 และ 1:2 โดยโมล ระดับของปฏิกิริยาจะลดลงถึง 90% และลดลงมากขึ้นเมื่อเมธานอลอัตราส่วนมากกว่า 1:4 โดยโมล แสดงว่าเอนไซม์ไม่เสถียรในปริมาณเมธานอลที่มาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.6 การยับยั้งเอนไซม์โดยเมธานอลที่มากเกินพอโดยปฏิกิริยาจะใช้เอนไซม์ที่แยกได้จากปฏิกิริยาครั้งก่อนใส่ลงไปยังสารตั้งต้นที่ผสมใหม่ทุกๆ 24 ชั่วโมง ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันครั้งที่หนึ่ง (□) ปฏิกิริยาทำซ้ำ 3 ครั้ง (▨) และปฏิกิริยาทำซ้ำ 5 ครั้ง (■)

ที่มา : Shimada *et al.*, 2002

ปริมาณน้ำที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยา

ในการเกิดปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันแบบขั้นตอนเดียวเมื่อเติมเมธานอลอัตราส่วน 1:2 โดยโมลการเกิดปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันสูงถึง 95% โดยในปฏิกิริยายังไม่กำจัดน้ำที่เกิดขึ้นออก ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันจะเพิ่มสูงขึ้นโดยการกำจัดน้ำที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์และใช้เป็นสารตั้งต้นในการเกิดปฏิกิริยาซ้ำต่อไป

ในการเกิดปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันแบบสองขั้นตอน โดยใช้เอนไซม์ไลเปส 1.0% โดยน้ำหนัก ในปฏิกิริยาขั้นตอนแรกเติมเมธานอลอัตราส่วน 1:1 โดยโมลทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ระดับปฏิกิริยาที่ได้คือ 82.5% ส่วนผสมที่ได้จากการเกิดปฏิกิริยาจะแยกชั้นน้ำมันกับชั้นน้ำโดยใช้ stand นำชั้นของน้ำมันมาทำปฏิกิริยาทั้งๆที่ชั้นนี้ยังปริมาณน้ำปนอยู่มาทำปฏิกิริยา โดยเติมเมธานอลอัตราส่วน 1:1 1:5 และ 1:10 โดยโมลเพื่อทำปฏิกิริยากับกรดไขมันที่เหลืออยู่ (ข้อมูลไม่ได้แสดงในตาราง) ทำให้ได้ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน 43.1 64.7 และ68.2% ตามลำดับ ในขณะที่อีกวิธีหนึ่งกำจัดน้ำที่มีในชั้นน้ำมันและทำปฏิกิริยาโดยเติมเมธานอลอัตราส่วน 1:1 1:5 และ 1:10 โดยโมล และเติมเอนไซม์ 1.0% โดยน้ำหนัก ดังแสดงในตารางที่ 2 จะเห็นได้ว่าปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันมีค่า 53.8 82.1 และ 81.4 ตามลำดับ ในการเติมเม - ธานอลอัตราส่วน 1:5 โดยโมลจากปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันทั้งหมด 96.9% จะเห็นว่าการกำจัดน้ำออกจากปฏิกิริยาทำให้ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันทั้งหมดมีค่าใกล้เคียง 97%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาอีกวิธีหนึ่งซึ่งใช้กรดไขมันเหลือทิ้งทำปฏิกิริยากับเมธานอลอัตราส่วน 1:2 โดยโมลในขั้นตอนแรกที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เติมเมธานอลอัตราส่วน 1:2 โดยโมลและเอนไซม์ไลเปส 1.0% โดยน้ำหนัก แล้วทำการวิเคราะห์ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันที่เกิดขึ้น ผลดังแสดงในตารางที่ 2 และเมื่อนำส่วนผสมที่ได้จากปฏิกิริยากำจัดน้ำออกและทำปฏิกิริยาต่อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เติมเมธานอลอัตราส่วน 1:1 1:5 และ 1:10 โดยโมลและเติมเอนไซม์ไลเปสได้ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน 26.5 , 52.0 และ 54.8% ตามลำดับ จากตารางการเติมเมธานอลอัตราส่วน 1:5 โดยโมลให้ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันทั้งหมดของการเปลี่ยนกรดไขมันเป็นไบโอดีเซล 97.7% จากการทดลองชี้ให้เห็นว่าปริมาณเมธานอลที่จะเติมแล้วให้ผลคุ้มค่าทางเศรษฐกิจมากที่สุดคือในปฏิกิริยาขั้นแรกเติมอัตราส่วน 1:1 โดยโมลและขั้นที่สองเติม 1:5 โดยโมล

ตารางที่ 2.2 ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันแบบสองขั้นตอนของกรดไขมันเหลือทิ้ง

First reaction [a]		Second reaction [b]		Total
FFA/MeOH (mol/mol)	Esterification (%)	FFA/MeOH (mol/mol)	Esterification (%)	Esterification (%)
1:1	82.5	1:1	53.8	91.9
		1:5	82.1	96.9
		1:10	81.4	96.7
1:2	95.2	1:1	26.5	96.4
		1:5	52.0	97.7
		1:10	54.8	97.8

หมายเหตุ a แทนการผสมกรดไขมันกับเมธานอล และเอนไซม์ไลเปสทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

b แทนชั้นน้ำมันที่แยกได้จากส่วนผสมในปฏิกิริยาขั้นตอนแรกแล้วเติม เมธานอล อัตราส่วน 1:1 1:5 และ 1:10 โดยโมลและเอนไซม์ไลเปส

ที่มา : Shimada *et al.*, 2002

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2 ไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มและเอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมันจากน้ำมันปาล์มกับเมธานอลโดยเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa*

ในปี พ.ศ. 2548 สุรัชนีและอภิสิทธิ์ได้ศึกษาปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์และน้ำมันปาล์มที่เหลือทิ้งจากการทอดอาหาร และปฏิกิริยาเอสเทอร์ริฟิเคชันของกรดไขมันจากน้ำมันปาล์มทั้งสองชนิดกับเมธานอล โดยใช้เอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* และแปรปริมาณน้ำ 5 ระดับคือ 10 , 20 , 30 , 40 และ 50 % โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยา และแปรปริมาณเอนไซม์ในช่วง 25 – 300 ยูนิตต่อกรัมสารละลายปฏิกิริยา พบว่าปริมาณน้ำและปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสคือ 40 % โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยา และ 200 ยูนิตต่อกรัมสารละลายปฏิกิริยา ตามลำดับ ซึ่งให้ค่าเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มทั้งสองมีค่าประมาณ 96 % แสดงว่าเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* มีประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสได้ดี

สำหรับการศึกษาปฏิกิริยาเอสเทอร์ริฟิเคชันของกรดไขมันจากน้ำมันปาล์มทั้งสองชนิดกับเมธานอล โดยแปรปริมาณเมธานอล 5 ระดับ คือ 10 , 20 , 30 , 40 และ 50 % โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยา และแปรปริมาณเอนไซม์ในช่วง 200 – 300 ยูนิตต่อกรัมสารละลายปฏิกิริยา พบว่าค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันที่ได้ต่ำกว่า 20 % ซึ่งอาจเนื่องมาจากปริมาณน้ำที่เกิดขึ้นในระหว่างการเกิดปฏิกิริยาเอสเทอร์ริฟิเคชัน ดังนั้นจึงได้มีการศึกษาผลของ water activity (a_w) ต่อปฏิกิริยาเอสเทอร์ริฟิเคชัน โดยการควบคุม a_w เพื่อให้ปริมาณน้ำในระบบคงที่ พบว่าที่ a_w สูงขึ้นมีผลทำให้ค่าเอสเทอริฟิเคชันเพิ่มขึ้นเล็กน้อย จากผลการศึกษาดังกล่าวทำให้ทราบว่าน้ำในระบบช่วยให้เปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันมีค่าเพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงได้มีการศึกษาผลของปริมาณน้ำต่อปฏิกิริยาเอส-เทอริฟิเคชัน โดยแปรปริมาณน้ำ 2 ระดับ คือ 10 และ 20 % โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยา พบว่าค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันเท่ากับ 4.77 และ 16.24 % ตามลำดับ ซึ่งให้ผลเปอร์เซ็นต์เอส-เทอริฟิเคชันต่ำกว่า 20 % นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดโอเลอิกและเมธานอล จากการทดลองใช้กรดโอเลอิกเป็นสารตั้งต้นเพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* พบว่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเค-ชันที่ได้ไม่แตกต่างจากการใช้กรดไขมันอิสระจากน้ำมันปาล์มทั้งสองชนิดที่เตรียมได้เป็นสารตั้ง-ต้น ดังนั้นเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* จึงมีประสิทธิภาพไม่ดีในการเร่งปฏิกิริยาเอสเทอ-ริฟิเคชันระหว่างกรดไขมันกับเมธานอลภายใต้ภาวะที่ทำการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 น้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ตราหยก ผลิตโดยบริษัทล่ำสูง (ประเทศไทย) จำกัด (มหาชน)

3.1.2 เอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* มีแอคติวิตีเท่ากับ 70 ยูนิตต่อมิลลิกรัม ผลิตโดย Meito Sangyo Co. ประเทศญี่ปุ่น

3.1.3 เอนไซม์ไลเปสจาก *Candida antarctica* (Novozym 435) มีแอคติวิตีเท่ากับ 47 ยูนิตต่อมิลลิกรัม ผลิตโดย Novo Industri A/S ประเทศเดนมาร์ค

3.1.4 เอนไซม์ไลเปส QLM มีแอคติวิตีเท่ากับ 30 ยูนิตต่อมิลลิกรัม ได้รับความอนุเคราะห์จาก Osaka Municipal Technical Research Institute ประเทศญี่ปุ่น

3.2 อุปกรณ์

- เครื่องหมุนเหวี่ยง
- เครื่องเขย่า
- เครื่องชั่ง
- เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ
- ตู้อบลมร้อน
- ชุดรีฟลักซ์
- ชุดเครื่องมือสกัด
- magnetic stirrer
- เทอร์โมมิเตอร์
- โถดูดความชื้น
- พีเอชมิเตอร์
- Hot plate
- กระดาษกรองเบอร์ 4
- กรวยกรอง
- บิวเรตและขาตั้ง
- อลูมิเนียมฟอยด์
- เครื่องแก้ว
- ถุงมือ
- จุกยาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 สารเคมี

- เอธานอล 95%
- เมธานอล
- โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH)
- ฟีนอล์ฟทาลีน
- กรดไฮโดรคลอริก (HCl)
- เฮกเซน
- โซเดียมซัลเฟต แอนไฮดรัส (Na_2SO_4)
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaoH)
- กรดโอเลอิก
- โพแทสเซียมพาทาเลต ($KHC_8H_4O_4$)

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1วิธีหาค่า acid value (AV)

การติดตามความก้าวหน้าของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสและปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันจะใช้วิธีติดตามค่า AV ที่เพิ่มขึ้น หรือค่า AV ที่ลดลงตามลำดับ ซึ่งค่า AV หมายถึง จำนวนมิลลิกรัมของ KOH ที่ใช้ในการสะเทิน (neutrulize) กรดไขมันอิสระที่มีอยู่ในไขมันหรือน้ำมัน 1 กรัม โดยที่ตัวอย่างน้ำมันที่ TAG ถูกย่อยสลายและเปลี่ยนเป็นกรดไขมันอิสระมากขึ้น จะมีค่า AV สูงขึ้น และในกรณีที่ตัวอย่างของกรดไขมันอิสระเกิดปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันกับเมธานอลมากขึ้นก็จะมีค่า AV ลดลง

สำหรับการหาค่า AV นั้น ทำได้โดยชั่งตัวอย่างน้ำมัน หรือตัวอย่างของสารละลายปฏิกิริยามาประมาณ 1.5-2.0 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมเอธานอล 95% ปริมาตร 30 มิลลิลิตร หยดสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 3 หยด นำไปไตเตรตกับสารละลาย KOH ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล นำผลการทดลองที่ได้มาคำนวณหาค่า AV ดังนี้

$$\text{Acid value (AV)} = \frac{\text{ปริมาณ KOH ที่ใช้ (มิลลิลิตร) x ความเข้มข้นของ KOH (นอร์มอล) x 56.11}}{\text{ปริมาณตัวอย่างน้ำมันหรือสารละลายปฏิกิริยาที่ใช้ (กรัม)}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.2 การเตรียมกรดไขมันอิสระจากน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์

เตรียมสารละลายปฏิกิริยา คือ น้ำมันปาล์ม 250 กรัม ผสมกับสารละลาย NaOH ในแอลกอฮอล์ (ดูวิธีการเตรียมได้จากภาคผนวก) 500 มิลลิลิตร ลงในขวดก้นกลมขนาด 1 ลิตร นำไปรีฟลักซ์เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียสและกวนตลอดเวลา จากนั้นนำสารละลายปฏิกิริยามาปรับให้มี pH เท่ากับ 1 โดยใช้ HCl 6 นอร์มอล จะเห็นการแยกชั้นของกรดไขมันอย่างชัดเจน นำสารละลายปฏิกิริยาที่ได้ใส่ลงในกรวยแยกขนาด 1 ลิตร เติมเฮกเซนปริมาตร 100 มิลลิลิตร เขย่าเพื่อสกัดแยกกรดไขมัน จากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น ไขของเหลวชั้นล่างใส่ในกรวยแยกอีกอันหนึ่งเพื่อนำไปสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง (รวมปริมาณเฮกเซนที่ใช้เท่ากับ 300 มิลลิลิตร) เก็บรวบรวมชั้นกรดไขมัน (ชั้นบน) ที่สกัดได้ในแต่ละครั้งนำไปกรองผ่าน Na_2SO_4 (anhydrous) เพื่อกำจัดน้ำออกโดยใช้กระดาษกรองเบอร์ 4 นำของเหลวที่กรองได้ไประเหยเฮกเซนออกที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ เก็บตัวอย่างกรดไขมันที่ได้ในขวดสีชาที่ 5-8 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.4.3 ศึกษาชนิดของเอนไซม์ที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

ทำการทดลองโดยเตรียมขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตรที่มีน้ำหนักรวมของสารละลายปฏิกิริยาเท่ากับ 70 กรัม ซึ่งประกอบด้วยน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์และน้ำเท่ากับ 70 กรัม โดยใช้ปริมาณน้ำ 40 % โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยา แล้วเติมผงเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* , Novozyme 435 และ QLM ลงในแต่ละขวดในปริมาณ 200 ยูนิตต่อกรัมสารละลายปฏิกิริยา นำขวดรูปชมพู่ทั้งหมดเข้าเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างประมาณ 5 กรัม ที่เวลาของปฏิกิริยาเท่ากับ 2 , 5 และ 24 ชั่วโมง นำสารละลายปฏิกิริยาที่ได้ไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 40 นาที นำชั้นน้ำมัน (ชั้นบน) ไปวิเคราะห์หาค่า AV ตามวิธีในข้อ 3.4.1 คำนวณเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิส โดยใช้ค่า AV ของกรดไขมันอิสระของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์เป็นมาตรฐาน 100 % ไฮโดรไลซิส

เลือกชนิดของเอนไซม์ไลเปสที่เหมาะสมที่เร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มได้ดีมาทำการทดลองซ้ำ โดยเก็บตัวอย่างและวิเคราะห์ค่า AV ที่เวลาของปฏิกิริยาเท่ากับ 0.5 , 1 , 1.5 , 2 , 3 , 6 , 9 , 12 และ 24 ชั่วโมง เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการทำปฏิกิริยากับเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิส

3.4.4 ศึกษาชนิดของเอนไซม์ที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน

ทำการทดลองโดยเตรียมขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตรที่มีน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยาเท่ากับ 70 กรัม ซึ่งประกอบด้วยกรดโอเลอิก น้ำ และเมธานอล โดยใช้ปริมาณน้ำ 20 % และเมธานอล 40 % โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยา จากนั้นเติมผงเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa*,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Novozyme 435 และ QLM ลงในแต่ละขวดในปริมาณ 200 ยูนิตต่อกรัมสารละลายปฏิกิริยา นำขวดรูปชมพู่ทั้งหมดเข้าเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างประมาณ 5 กรัมที่เวลาของปฏิกิริยาเท่ากับ 5 และ 24 ชั่วโมง นำสารละลายปฏิกิริยาที่ได้ไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 40 นาที นำชั้นน้ำมัน (ชั้นบน) ไปวิเคราะห์หาค่า AV ตามวิธีในข้อ 3.4.1 คำนวณหาเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันโดยใช้ค่า AV เริ่มต้นของสารละลายปฏิกิริยาที่มีเมธานอล 40 % และไม่เติมผงเอนไซม์ในการคำนวณตามสมการต่อไปนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์เอสเทอร์ริฟิเคชัน} = \frac{\text{AV เริ่มต้น - AV สุดท้าย}}{\text{AV เริ่มต้น}} \times 100$$

พิจารณาชนิดของเอนไซม์ไลเปสที่เหมาะสมที่ทำให้เกิดเปอร์เซ็นต์เอสเทอร์ริฟิเคชันสูงที่สุด

3.4.5 ศึกษาปริมาณเมธานอลที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน

ทำการทดลองโดยเตรียมขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ที่มีน้ำหนักรวมของสารละลายปฏิกิริยา คือ กรดไขมันอิสระที่เตรียมได้จากข้อ 3.4.2 น้ำและเมธานอลเท่ากับ 30 กรัม โดยใช้น้ำ 20 % และแปรปริมาณเมธานอล 4 ระดับ คือ 20 , 30 , 40 และ 50 % โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยา จากนั้นเติมเอนไซม์ไลเปสที่เลือกได้จากผลการทดลองข้อ 3.4.4 ลงในแต่ละขวดปริมาณเท่ากันคือ 200 ยูนิตต่อกรัมสารละลายปฏิกิริยา นำขวดรูปชมพู่ทั้งหมดเข้าเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างประมาณ 5 กรัมที่เวลาของปฏิกิริยาเท่ากับ 2 , 4 , 6 และ 24 ชั่วโมง และทำการทดลองเหมือนข้อ 3.4.4 ทุกประการ แต่ในการคำนวณเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันใช้ค่า AV เริ่มต้นของสารละลายปฏิกิริยาในแต่ละระดับของปริมาณเมธานอลในการคำนวณ พิจารณาปริมาณเมธานอลที่เหมาะสมที่ทำให้เกิดการเร่งปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันดีที่สุด

3.4.6 ศึกษาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน

เตรียมขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตรที่มีน้ำหนักรวมของสารละลายปฏิกิริยาคือ กรดไขมันอิสระที่เตรียมได้จากข้อ 3.4.2 น้ำและเมธานอลเท่ากับ 30 กรัม โดยใช้น้ำ 20 % โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยา และเมธานอลในปริมาณที่เหมาะสมที่ได้จากผลการทดลองข้อ 3.4.5 โดยแปรปริมาณเอนไซม์ไลเปสที่เลือกได้จากผลการทดลองข้อ 3.4.4 เท่ากับ 100 , 200 และ 300 ยูนิตต่อกรัมสารละลายปฏิกิริยา นำขวดรูปชมพู่ทั้งหมดเข้าเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างประมาณ 5 กรัมที่เวลาของปฏิกิริยาเท่ากับ 2 , 4 , 6 และ 24 ชั่วโมง และทำการทดลองเหมือนข้อ 3.4.4 ทุกประการ แต่ในการคำนวณเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันใช้ค่า AV เริ่มต้นของสารละลายปฏิกิริยาตามสภาวะที่เหมาะสมของปริมาณเมธานอลซึ่งได้จากการทดลองข้อ 3.4.5 พิจารณาปริมาณเมธานอลที่เหมาะสมที่ทำให้เกิดการเร่งปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันดีที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.7 ศึกษาปริมาณน้ำที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน

ทำการทดลองโดยเตรียมขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตรที่มีน้ำหนักรวมของสารละลายปฏิกิริยาคือ กรดไขมันอิสระที่เตรียมได้จากข้อ 3.4.2 , น้ำและเมธานอลเท่ากับ 30 กรัม โดยใช้เมธานอลในปริมาณที่เหมาะสมซึ่งได้จากการทดลองข้อ 3.4.5 และแปรปริมาณน้ำ 3 ระดับ คือ 10 , 20 และ 30 % โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยา และเติมปริมาณเอนไซม์ไลเปสลงในแต่ละขวดในปริมาณที่เหมาะสมซึ่งได้จากการทดลองข้อ 3.4.6 นำขวดรูปชมพู่ทั้งหมดเข้าเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างประมาณ 5 กรัมที่เวลาของปฏิกิริยาเท่ากับ 2 , 4 , 6 และ 24 ชั่วโมง และทำการทดลองเหมือนข้อ 3.4.4 ทุกประการ แต่ในการคำนวณเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันใช้ค่า AV เริ่มต้นของสารละลายปฏิกิริยาในแต่ละระดับของปริมาณน้ำในการคำนวณ พิจารณาปริมาณน้ำที่เหมาะสมที่ทำให้เกิดเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันมากที่สุด

เลือกสภาวะที่เหมาะสมต่อการเร่งปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันมาทำการทดลองซ้ำ โดยเก็บตัวอย่างและวิเคราะห์ค่า AV ที่เวลาของปฏิกิริยาเท่ากับ 0.5 , 1 , 1.5 , 2 , 3 , 6 , 9 , 12 และ 24 ชั่วโมง นำค่าที่ได้มาเขียนกราฟระหว่างเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันกับเวลาในการทำปฏิกิริยา

3.4.8 ศึกษาการเตรียมเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันโดยใช้ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสร่วมกับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของน้ำมันปาล์ม

ทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสโดยเตรียมขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตรที่มีน้ำหนักรวมของสารละลายปฏิกิริยาเท่ากับ 150 กรัม ซึ่งประกอบด้วยน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์และน้ำ โดยใช้ปริมาณน้ำ 40 % โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยา จากนั้นเติมผงเอนไซม์ไลเปสที่เลือกได้จากการทดลองในข้อ 3.4.3 ในปริมาณ 200 ยูนิตต่อกรัมสารละลายปฏิกิริยา จากนั้นนำขวดรูปชมพู่เข้าเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างประมาณ 5 กรัมที่เวลาของปฏิกิริยาเท่ากับ 1 , 5 และ 24 ชั่วโมง และทำการทดลองเหมือนข้อ 3.4.3 ทุกประการ

นำสารละลายปฏิกิริยาที่ได้จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเมื่อครบ 24 ชั่วโมง มาให้ความร้อนในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส เพื่อให้ส่วนของกรดไขมันที่ได้หลอมเหลวและเกิดการแยกชั้นของสารละลายปฏิกิริยา เก็บรวบรวมส่วนของกรดไขมันอิสระ (ชั้นบน) ทั้งหมดที่แยกได้

สำหรับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันทำการทดลองโดยเตรียมขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตรที่ประกอบด้วยกรดไขมันอิสระทั้งหมดที่ได้จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส , เมธานอลและน้ำ โดยใช้ปริมาณเมธานอลและน้ำที่เหมาะสมซึ่งได้จากการทดลองในข้อ 3.4.5 และ 3.4.7 ตามลำดับ เติมผงเอนไซม์ไลเปสที่เลือกได้จากการทดลองข้อ 3.4.4 ในปริมาณที่เหมาะสมจากการทดลองข้อ 3.4.6 จากนั้นนำขวดรูปชมพู่เข้าเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างประมาณ 5 กรัมที่เวลาของปฏิกิริยาเท่ากับ 1 , 5 และ 24 ชั่วโมง และทำการทดลองเหมือนข้อ 3.4.4 ทุกประการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลอง

4.1 การหาค่า Acid value (AV)

จากการทดลองหาค่า Acid value (AV) ซึ่งหมายถึงจำนวนมิลลิกรัมของ KOH ที่ใช้ในการสะเทิน (neutralize) กรดไขมันอิสระที่มีอยู่ในไขมันหรือน้ำมัน 1 กรัม โดยค่า AV ของกรดไขมันจากน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ที่ได้จากการเตรียมโดยวิธี saponification มีค่าเท่ากับ 212.86 $\pm$ 2.62 ซึ่งค่านี้จะนำไปใช้เป็นค่า AV เริ่มต้นในการคำนวณเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสของการศึกษาชนิดของเอนไซม์ที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์ม

4.2 ศึกษาชนิดของเอนไซม์ที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

จากการเตรียมสารละลายปฏิกิริยา คือ น้ำมันปาล์มบริสุทธิ์และน้ำเท่ากับ 70 กรัม โดยใช้ปริมาณน้ำ 40 %โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยา แล้วเติมผงเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* , Novozyme 435 และ QLM ลงในแต่ละขวดในปริมาณ 200 ยูนิตต่อกรัมสารละลายปฏิกิริยา จากนั้นติดตามปฏิกิริยาโดยการเก็บตัวอย่างที่เวลาของปฏิกิริยาเท่ากับ 2 ,5 และ 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างไปวิเคราะห์หาค่า AV และคำนวณเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิส ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 เปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสที่เกิดจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ เมื่อใช้เอนไซม์ไลเปสชนิดต่าง ๆ เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

เอนไซม์ไลเปส	เปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิส		
	2 ชั่วโมง	5 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
Candida rugosa	88.24	93.08	95.67
Novozyme	5.64	8.01	13.50
QLM	10.81	11.72	16.47

ตารางที่ 4.1 จะเห็นได้ว่าเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* สามารถเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มได้ดีที่สุด กล่าวคือเมื่อเวลาของปฏิกิริยา 24 ชั่วโมง ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเกิดขึ้นสูงสุดเท่ากับ 95.67% ในขณะที่เอนไซม์ไลเปส Novozyme 435 และ QLM เร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มได้เพียง 13.50 และ 16.47% ตามลำดับเท่านั้น ดังนั้นเอนไซม์ไลเปสที่เหมาะสมในการใช้เร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มให้ได้กรดไขมันอิสระคือเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
96809

เนื่องจากสุรัชนีและอภิสิทธิ์ (2548) ได้รายงานสภาวะที่เหมาะสมในการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มโดยใช้เอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* ไว้แล้ว คือปริมาณน้ำเริ่มต้นในสารละลายปฏิกิริยาเท่ากับ 40% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยา เอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* เท่ากับ 200 ยูนิตต่อกรัมของสารละลายปฏิกิริยา เขย่าสารละลายที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ดังนั้นในการทดลองนี้จึงใช้สภาวะที่เหมาะสมดังกล่าวในการศึกษาความสัมพันธ์ของเวลาในการเกิดปฏิกิริยากับเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มซึ่งผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 4.1

ภาพที่ 4.1 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสกับเวลาในการเกิดปฏิกิริยา เมื่อใช้เอนไซม์ไลเปส *Caddida rugosa* เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาภายใต้สภาวะที่เหมาะสม

จากภาพที่ 4.1 จะเห็นได้ว่าในช่วงเริ่มต้นอัตราการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์โดยใช้เอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาจะเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว คือที่เวลาของปฏิกิริยา 1.5 ชั่วโมง ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเกิดขึ้นสูงถึง 92.03% เมื่อเวลาของปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นเป็น 6 ชั่วโมง ปฏิกิริยาเกิดขึ้นสูงสุดเท่ากับ 94.50% และหลังจากนั้นเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสจะมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยและมีค่าเท่ากับ 92.73 % ที่เวลาของปฏิกิริยาเท่ากับ 24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสาร์ที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ศึกษาชนิดของเอนไซม์ที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน

จากการเตรียมสารละลายปฏิกิริยา คือ กรดโอเลอิก น้ำ และเมธานอล โดยใช้ปริมาณน้ำ 20 % และเมธานอล 40 % โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยา แล้วเติมผงเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* , Novozyme 435 และ QLM ลงในแต่ละปฏิกิริยาในปริมาณ 200 ยูนิตต่อกรัมสารละลายปฏิกิริยา จากนั้นติดตามปฏิกิริยาโดยการเก็บตัวอย่างที่เวลาของปฏิกิริยาเท่ากับ 5 และ 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างไปวิเคราะห์หาค่า AV และคำนวณเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชัน ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 เปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันที่เกิดจากปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดโอเลอิกกับเมธานอล เมื่อใช้เอนไซม์ไลเปสชนิดต่าง ๆ เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

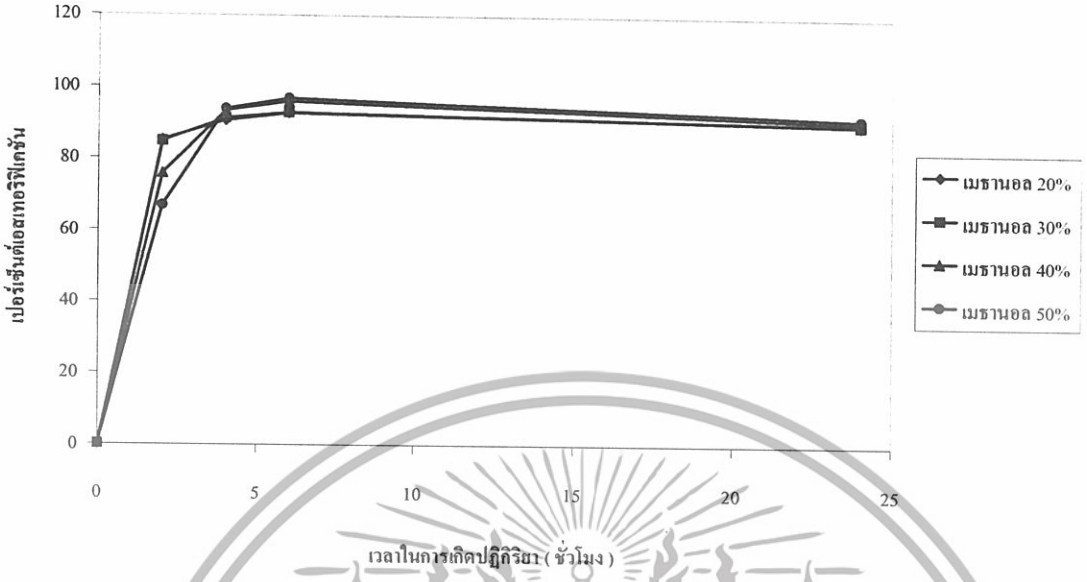
เอนไซม์ไลเปส	เปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชัน	
	5 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
Candida rugosa	0	0
Novozyme	1.83	0
QLM	89.34	94.21

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.2 จะเห็นได้ว่าเอนไซม์ไลเปส QLM สามารถเร่งปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดโอเลอิกกับเมธานอลได้ดีที่สุด กล่าวคือเมื่อเวลาของปฏิกิริยา 24 ชั่วโมง ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันเกิดขึ้นสูงสุดเท่ากับ 94.21% ในขณะที่เอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* และ Novozyme 435 ไม่สามารถเร่งปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันได้ดังจะเห็นได้จากค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันเท่ากับ 0 แม้ว่าเวลาของปฏิกิริยาเท่ากับ 24 ชั่วโมงก็ตาม

4.4 ศึกษาปริมาณเมธานอลที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน

จากการเตรียมสารละลายปฏิกิริยา คือ กรดไขมันอิสระจากน้ำมันปาล์ม น้ำและเมธานอล โดยใช้น้ำ 20 % และแปรปริมาณเมธานอล 4 ระดับ คือ 20 , 30 , 40 และ 50 % โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยา และใช้ปริมาณเอนไซม์ไลเปส QLM เท่ากับ 200 ยูนิตต่อกรัมสารละลายปฏิกิริยา จากนั้นติดตามปฏิกิริยาโดยการเก็บตัวอย่างที่เวลาของปฏิกิริยาเท่ากับ 2 , 4 , 6 และ 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างไปวิเคราะห์หาค่า AV และคำนวณเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชัน ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันกับเวลาในการเกิดปฏิกิริยา เมื่อใช้ปริมาณเมธานอลต่าง ๆ กัน

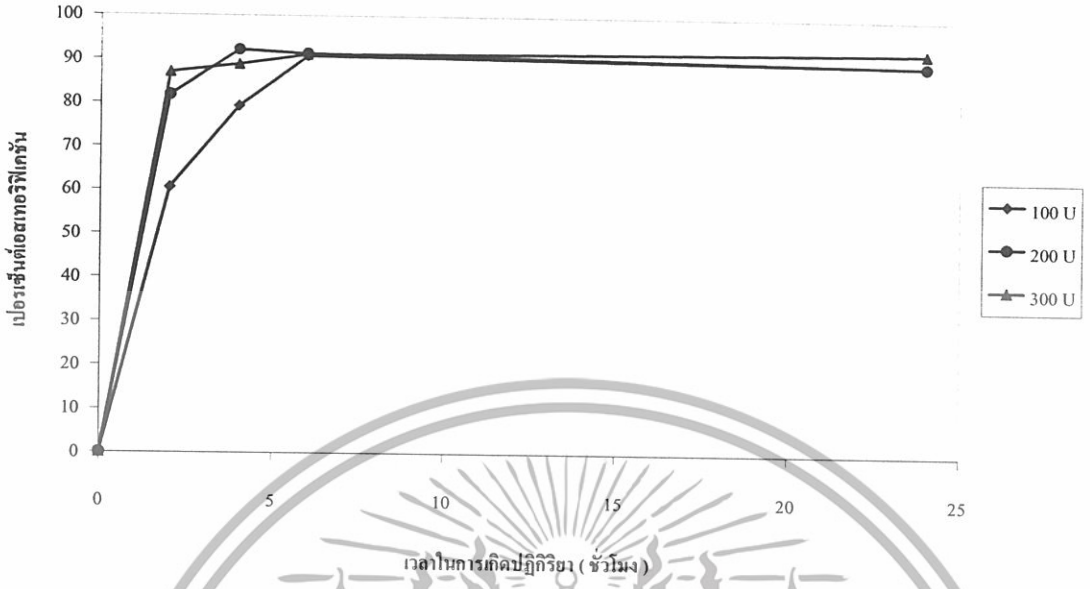
จากภาพที่ 4.2 จะเห็นได้ว่าเมื่อปริมาณเมธานอลในสารละลายปฏิกิริยาอยู่ในช่วง 20-50 % โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยา อัตราการเกิดเอสเทอริฟิเคชันมีลักษณะใกล้เคียงกันมาก อย่างไรก็ตามอัตราเร็วเริ่มต้นของปฏิกิริยาจะมีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อปริมาณเมธานอลในสารละลายปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารละลายปฏิกิริยาที่มีปริมาณเมธานอล 40 และ 50% ซึ่งจะมีอัตราการเกิดเอสเทอริฟิเคชันใกล้เคียงกันมาก แต่เนื่องจากปริมาณเมธานอลที่มากเกินไปอาจมีผลในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสได้ ดังนั้นจึงเลือกใช้ปริมาณเมธานอล 40% โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยาในการศึกษาขั้นตอนต่อไป

4.5 ศึกษาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน

จากการทดลองโดยเลือกสภาวะของปริมาณเมธานอลที่เหมาะสม ซึ่งได้จากการทดลองข้อ 4.4 โดยเตรียมขวดรูปชมพู่ที่มีสารละลายปฏิกิริยาคือ กรดไขมันอิสระ น้ำและเมธานอล โดยใช้เมธานอล 40 % ,น้ำ 20 % โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยา และแปรปริมาณเอนไซม์ QLM เท่ากับ 100 , 200 และ 300 ยูนิตต่อกรัมสารละลายปฏิกิริยา จากนั้นติดตามปฏิกิริยาโดยเก็บตัวอย่างที่เวลาของปฏิกิริยาเท่ากับ 2 , 4 , 6 และ 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างไปวิเคราะห์หาค่า AV และคำนวณเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชัน ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 4.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

21089



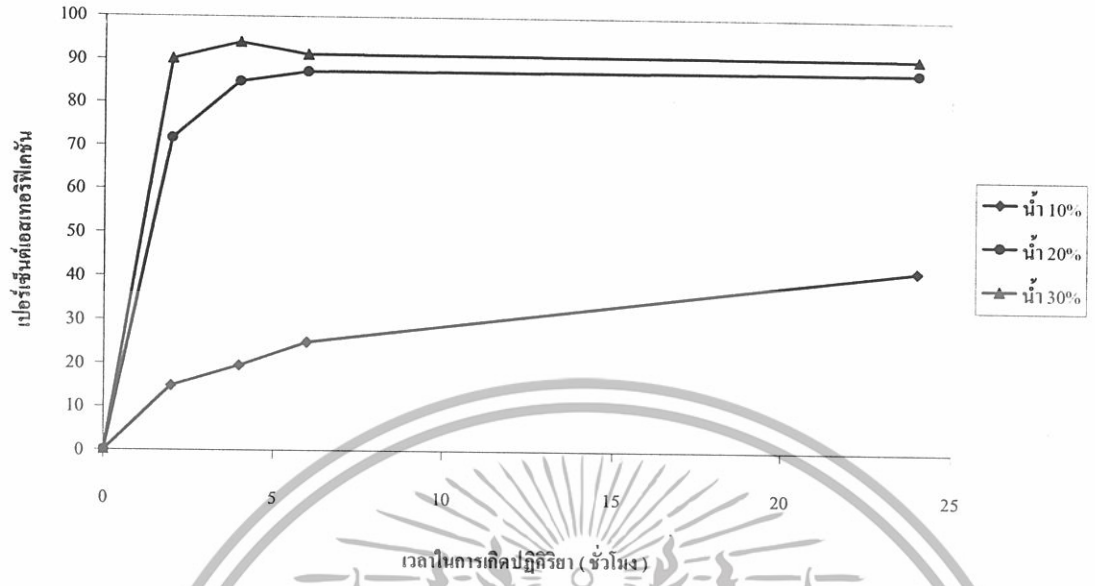
ภาพที่ 4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันกับเวลาในการเกิดปฏิกิริยา เมื่อใช้ปริมาณเอนไซม์ต่าง ๆ กัน

จากภาพที่ 4.3 จะเห็นได้ว่าในช่วงเริ่มต้นของการเกิดปฏิกิริยา สารละลายปฏิกิริยาที่มีปริมาณเอนไซม์ 200 และ 300 ยูนิต จะเกิดปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันได้สูงกว่าสารละลายปฏิกิริยาที่มีปริมาณเอนไซม์ 100 ยูนิต แต่เมื่อเวลาผ่านไปจนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 6 เปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันของสารละลายปฏิกิริยาทั้งสามระดับเอนไซม์จะมีค่าใกล้เคียงกันมาก ดังนั้นเพื่อเป็นการประหยัดปริมาณเอนไซม์จึงเลือกใช้ปริมาณเอนไซม์ 100 ยูนิตต่อกรัมสารละลายปฏิกิริยาในการศึกษาขั้นต่อไป

4.6 ศึกษาปริมาณน้ำที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน

จากการเตรียมสารละลายปฏิกิริยาคือ กรดไขมันอิสระ น้ำและเมธานอล โดยใช้ปริมาณเมธานอล 40 % โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยา และแปรปริมาณน้ำ 3 ระดับ คือ 10 , 20 และ 30 % โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยา และใช้ปริมาณเอนไซม์ไลเปส QLM เท่ากับ 100 ยูนิตต่อกรัมสารละลายปฏิกิริยา จากนั้นติดตามปฏิกิริยาโดยการเก็บตัวอย่างที่เวลาของปฏิกิริยาเท่ากับ 2 , 4 , 6 และ 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างไปวิเคราะห์หาค่า AV และคำนวณเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชัน ผลการทดลองดังแสดงภาพที่ 4.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

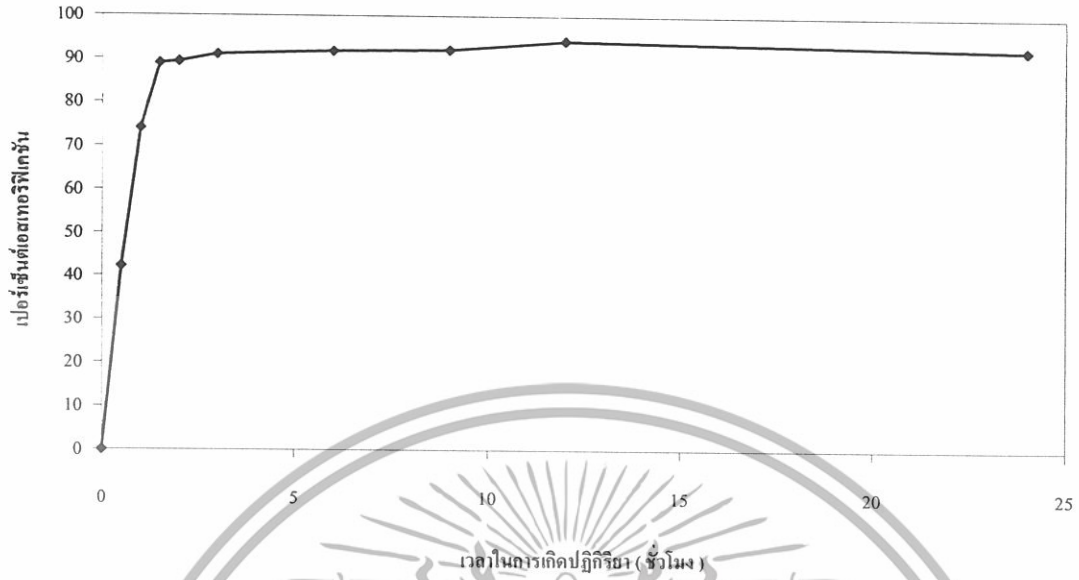


ภาพที่ 4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันกับเวลาในการเกิดปฏิกิริยา เมื่อใช้ปริมาณน้ำต่าง ๆ กัน

จากภาพที่ 4.4 จะเห็นได้ว่าเมื่อเวลาของปฏิกิริยาเท่ากับ 24 ชั่วโมง สารละลายปฏิกิริยาที่มีน้ำเริ่มต้น 10% โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยาจะเกิดเอสเทอริฟิเคชัน 41.94% ในขณะที่เมื่อมีน้ำเริ่มต้น 20 และ 30% โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยาอัตราการเกิดปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันจะสูงกว่ามาก โดยมีค่าเท่ากับ 87.65 และ 90.99% ตามลำดับ และเนื่องจากสารละลายปฏิกิริยาที่มีน้ำเริ่มต้น 30% ให้เปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันสูงสุด ดังนั้นปริมาณน้ำเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันมากที่สุดคือ 30% โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยา

จากการทดลองสามารถสรุปได้ว่า สภาวะที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันคือ ปริมาณเมธานอล 40 % และน้ำ 30 % โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยา และใช้ปริมาณเอนไซม์ QLM 100 ยูนิตต่อกรัมสารละลายปฏิกิริยา ซึ่งเมื่อนำมาทำการทดลองซ้ำโดยเก็บตัวอย่างที่เวลาของปฏิกิริยาเท่ากับ 0.5 ,1 , 1.5 , 2 , 3 , 6 , 9 , 12 และ 24 ชั่วโมง นำค่าที่ได้มาเขียนกราฟระหว่างเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันกับเวลาในการเกิดปฏิกิริยา ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 4.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



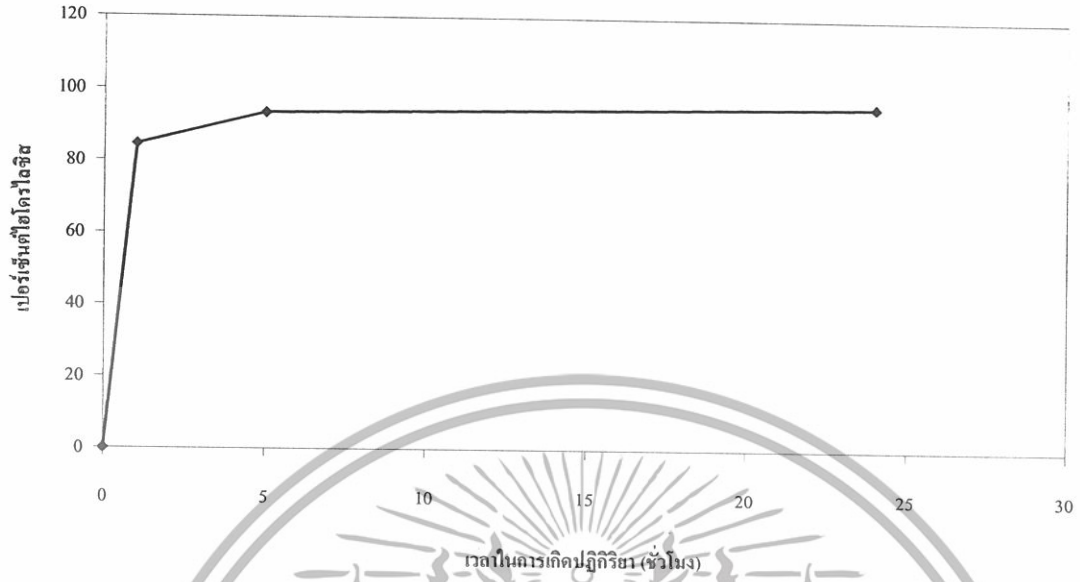
ภาพที่ 4.5 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันกับเวลาในการเกิดปฏิกิริยา เมื่อใช้เอนไซม์ไลเปส QLM เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาภายใต้สภาวะที่เหมาะสม

จากภาพที่ 4.5 จะเห็นได้ว่าอัตราการเกิดปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันจะเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วจนกระทั่งถึงเวลาของปฏิกิริยาเท่ากับ 1.5 ชั่วโมง และหลังจากนั้นปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันจะเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย โดยค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันที่สูงสุดเท่ากับ 94.36% ที่เวลาของปฏิกิริยาเท่ากับ 12 ชั่วโมง และมีเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันเท่ากับ 92.64 % ที่เวลาของปฏิกิริยาเท่ากับ 24 ชั่วโมง

4.7 ศึกษาการเตรียมเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันโดยใช้ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสร่วมกับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของน้ำมันปาล์ม

จากการเตรียมสารละลายปฏิกิริยาคือ น้ำมันปาล์มบริสุทธิ์และน้ำเท่ากับ 150 กรัม โดยใช้ปริมาณน้ำ 40 % โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยา แล้วเติมผงเอนไซม์ไลเปสจาก *Caddida rugosa* ในปริมาณ 200 ยูนิตต่อกรัมสารละลายปฏิกิริยา ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 4.6

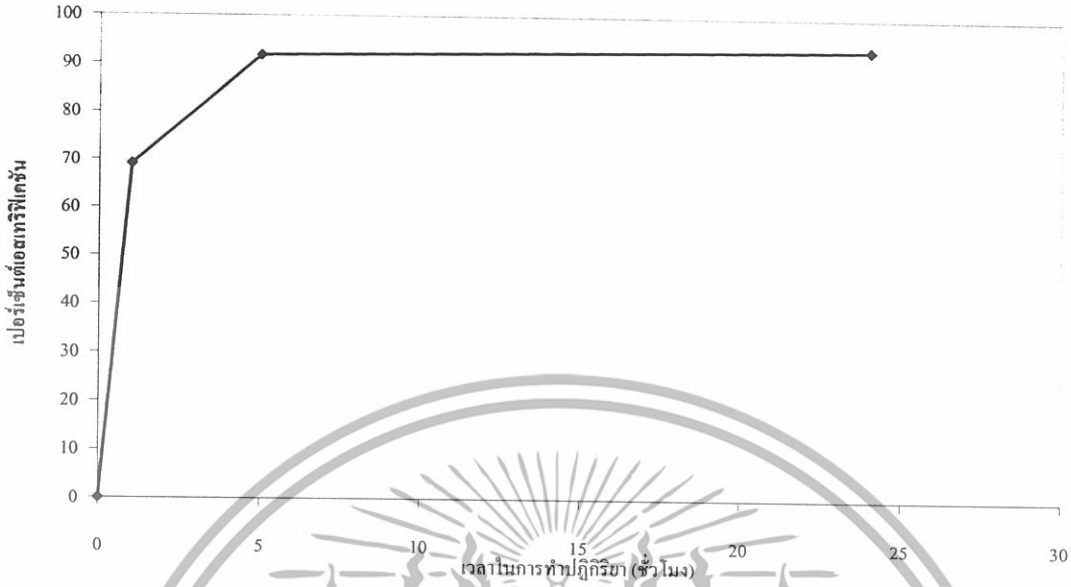
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.6 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสกับเวลาในการเกิดปฏิกิริยา เมื่อใช้เอนไซม์ไลเปสจาก *Caddida rugosa* เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาภายใต้สภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมกรดไขมันอิสระจากน้ำมันปาล์ม

จากภาพที่ 4.6 จะเห็นได้ว่าหลังจากเวลาของปฏิกิริยา 24 ชั่วโมง ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มเกิดขึ้น 95.91 % เมื่อแยกกรดไขมันอิสระที่ได้จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์ม ซึ่งมีปริมาณทั้งหมด กรัม มาใช้เป็นสารตั้งต้นของปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน โดยใช้เอน-ไซม์ไลเปส QLM ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมตามการทดลองในข้อ 4.4 - 4.6 ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 4.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.7 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันกับเวลาในการเกิดปฏิกิริยา เมื่อใช้เอนไซม์ไลเปส QLM เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ในการเตรียมเมธิล-เอสเทอร์ของกรดไขมันจากน้ำมันปาล์ม

จากภาพที่ 4.7 จะเห็นได้ว่าหลังจากเวลาของปฏิกิริยา 24 ชั่วโมง ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันเกิดขึ้นเกิด 93.58 % ดังนั้นในการผลิตเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันสามารถทำได้โดยใช้ปฏิกิริยา 2 ขั้นตอน คือ ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสซึ่งจะใช้เอนไซม์ไลเปสจาก *Caddida rugosa* เป็นตัวเร่ง และปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันซึ่งใช้เอนไซม์ไลเปส QLM เป็นตัวเร่ง โดยเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสและเอสเทอริฟิเคชันที่เวลาของปฏิกิริยาเท่ากับ 24 ชั่วโมงมีค่าเท่ากับ 95.91 % และ 93.58 % ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาชนิดของเอนไซม์ที่เหมาะสมสำหรับเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มและปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดโอเลอิกกับเมธานอล โดยเอนไซม์ไลเปสที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ *Candida rugosa* , Novozyme 435 และ QLM พบว่าเอนไซม์ไลเปสที่เหมาะสมสำหรับเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ได้แก่เอนไซม์ไลเปสจาก*Caddida rugosa* และเอนไซม์ไลเปสที่เหมาะสมสำหรับเร่งปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดโอเลอิกกับเมธานอล ได้แก่เอนไซม์ไลเปส QLM

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมันอิสระจากน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์กับเมธานอล โดยใช้เอนไซม์ไลเปส QLM เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ซึ่งทำการแปรปริมาณเมธานอล 4 ระดับ คือ 20 , 30 , 40 และ 50 % โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยา , ปริมาณเอนไซม์ 3 ระดับ เท่ากับ 100 , 200 และ 300 ยูนิตต่อกรัมสารละลายปฏิกิริยา และปริมาณน้ำ 3 ระดับ คือ 10 , 20 และ 30 % โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยา พบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันคือ ปริมาณเมธานอล 40 % โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยา , ปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ 100 ยูนิตต่อกรัมสารละลายปฏิกิริยา และปริมาณน้ำ 30 % โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยา ซึ่งทำให้ได้เปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันเท่ากับ 92.64 % เมื่อเวลาของปฏิกิริยาเท่ากับ 24 ชั่วโมง

เมื่อทดลองเตรียมเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันจากน้ำมันปาล์มโดยใช้ปฏิกิริยา 2 ขั้นตอน คือ ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์โดยใช้เอนไซม์ไลเปสจาก *Caddida rugosa* ตามด้วยปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมันอิสระที่ได้จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกับเมธานอลโดยใช้เอนไซม์ไลเปส QLM พบว่าปฏิกิริยา 2 ขั้นตอนดังกล่าวสามารถใช้ในการเตรียมเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันจากน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสและเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันที่เกิดขึ้นที่เวลา 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 95.91 % และ 93.58 % ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

สุรัชนี หิมารัตน์ และอภิสิทธิ์ กลั่นบางแก้ว. 2548. " ไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มและเอสเทอริฟิเคชันของ กรดไขมันจากน้ำมันปาล์มกับเมธานอลโดยอาศัยเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* " ปัญหาพิเศษ. โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

Fukuda , H. , A. Kondo , and H. Noda , . 2001. Biodiesel Fuel Production by Transesterification of Oil . *Journal of Bioscience and Bioengeneering*.92(5) : 405-416

Labtoday.com. 2548. การสังเคราะห์ Structured triglycerides แบบ 2 ขั้นตอนด้วยเอนไซม์ไลเปส [online]. เข้าถึงได้จาก : http://www.thaiscience.com/lab_vol/p13/p13structure%20triglycerides.htm

Watanabe, Y., Y. Shimada, B. Takashi, N. Ohyaki, and A. Sukihara. 2002. Methyl Esterification of Waste Fatty Acids with Immobilized *Candida antarctica* Lipase. *J .Oleo Sci.* 51(10) :655-661.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.
การเตรียมสารเคมีต่างๆ ที่ใช้ในการทดลอง

1. สารละลาย KOH

เตรียมสารละลาย KOH 0.1 นอร์มอล (โดยประมาณ) โดยชั่ง KOH 5.6110 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร จากนั้นนำไป standardize ด้วยสารละลายมาตรฐาน potassium phthalate ($KHC_8H_4O_4$)

วิธี standardize สารละลาย KOH ทำโดย

1. ละลาย $KHC_8H_4O_4$ ที่ผ่านการอบแห้งที่ 120 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมงและทำให้เย็นใน desicator ปริมาณ 0.6000-0.7000 กรัม ในน้ำกลั่น 50-75 มิลลิลิตรในขวดรูปชมพู่
2. หยดสารละลาย phenolpthalein 1% (ใน 95% ethanol) ในสารละลาย $KHC_8H_4O_4$ จำนวน 2 หยด
3. นำไปไทเทรตกับสารละลาย KOH ที่บรรจุอยู่ในบิวเรตจนกระทั่งสารละลายปฏิกิริยาเปลี่ยนจากไม่มีสีเป็นสีชมพูอ่อนที่คงตัว โดยทำการไทเทรต 3 ครั้ง บันทึกปริมาตรของสารละลาย KOH ที่ใช้ และคำนวณค่า Normality ของ KOH โดย

$$\text{ความเข้มข้นของ KOH (นอร์มอล)} = \frac{\text{จำนวนกรัมของ } KHC_8H_4O_4 \times 1000}{\text{มิลลิลิตรของ KOH} \times 204.229}$$

2. สารละลาย NaOH ในแอลกอฮอล์

ชั่ง NaOH ปริมาณ 120 กรัม และ EDTA 1.25 กรัม นำสารทั้งสองมาละลายในน้ำกลั่นที่ผสมอยู่กับแอลกอฮอล์ 95% อย่างละ 400 มิลลิลิตร คนจนละลายหมดเก็บไว้ในขวดพลาสติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

การศึกษาชนิดของเอนไซม์ที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

ตารางที่ ข 1 ค่าเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเมื่อมีปริมาณน้ำ 40% โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยา

เวลา (ชั่วโมง) / ชนิดเอนไซม์ไลเปส	2					5					24				
	น้ำมัน (g)	KOH (ml)	AV (mg/g)	AVเฉลี่ย (mg/g)	% Hyd	น้ำมัน (g)	KOH (ml)	AV (mg/g)	AVเฉลี่ย (mg/g)	% Hyd	น้ำมัน (g)	KOH (ml)	AV (mg/g)	AVเฉลี่ย (mg/g)	% Hyd
Candida rugosa	0.17	6.9	186.75	187.82	88.24	0.35	14.9	195.87	198.12	93.08	0.33	14.5	202.17	203.65	95.67
	0.19	7.8	188.88			0.31	13.5	200.37			0.24	10.7	205.13		
Novozyme 435	0.57	1.5	12.11	12.01	5.64	0.54	2.0	17.04	17.04	8.01	0.54	3.3	28.12	28.74	13.50
	0.58	1.5	11.90			0.54	2.0	17.04			0.58	3.7	29.35		
QLM	0.50	2.5	23.00	23.00	10.81	0.57	3.1	25.02	24.94	11.72	0.57	4.3	34.71	35.05	16.47
	0.50	2.5	23.00			0.50	2.7	24.85			0.52	4.0	35.39		

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ห้องสมุดกลาง ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การคำนวณ

ค่า Acid value (AV)

สูตรการคำนวณค่า Acid value (AV)

$$\text{Acid value (AV)} = \frac{\text{ปริมาณ KOH ที่ใช้ (ml) x ความเข้มข้นของ KOH (N) x 56.11}}{\text{ปริมาณตัวอย่างน้ำมันหรือสารละลายปฏิกิริยาที่ใช้ (g)}}$$

ตัวอย่างการคำนวณ

ความเข้มข้นของ KOH = 0.0823 นอร์มอล

ปริมาณตัวอย่างน้ำมันที่ใช้ = 0.58 กรัม

ปริมาณ KOH ที่ใช้ = 19.0 มิลลิลิตร

แทนค่าสูตร

$$\text{Acid value (AV)} = \frac{19.0 \times 0.0823 \times 56.11}{0.58}$$

$$= 151.27 \text{ มิลลิกรัม/กรัม}$$

ค่าเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิส

ค่า AVเริ่มต้นของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ = 212.86 มิลลิกรัม/กรัม

ค่า AV ที่เวลา 2 ชั่วโมง เมื่อเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ไลเปสจาก *C. rugosa*

= 187.82 มิลลิกรัม/กรัม

ตัวอย่างการคำนวณ

ค่า Avเริ่มต้นของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ = 212.86 มิลลิกรัม/กรัม มีค่า = 100% ไฮโดรไลซิส

ดังนั้นค่าเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสที่เวลา 2 ชั่วโมงเมื่อเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ไลเปสจาก *C .rugosa* $= \frac{187.82 \times 100}{212.86}$

$$= 88.24\ \%$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค.

การเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเอนไซมไลเปสจาก *Candida rugosa*

ตารางที่ ค 1 ค่าเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์เมื่อใช้เอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม

เวลา (ชั่วโมง)	AV (mg/g)			% Hydrolysis
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	เฉลี่ย	
0.5	164.52	166.45	165.49	77.75
1	181.06	184.05	182.56	85.77
1.5	195.19	196.59	195.83	92.03
2	195.24	197.11	196.18	92.16
3	199.38	198.99	199.19	93.58
6	200.64	202.17	201.15	94.50
9	196.98	199.14	198.06	93.05
12	201.30	199.86	200.58	94.23
24	196.98	197.79	197.39	92.73

หมายเหตุ การคำนวณเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสใช้ค่า AV เริ่มต้นของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ และคำนวณเหมือนภาคผนวก ข. ที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น

- เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง.

การศึกษาชนิดของเอนไซม์ที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน

ตารางที่ ง 1 ค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันของกรดโอเลอิกกับเมธานอลเมื่อใช้เอนไซม์ไลเปสชนิดต่าง ๆ

เวลา (ชั่วโมง) / ชนิดเอนไซม์	5					24				
	น้ำมัน (g)	KOH (ml)	AV (mg/g)	AVเฉลี่ย (mg/g)	% est	น้ำมัน (g)	KOH (ml)	AV (mg/g)	AVเฉลี่ย (mg/g)	% est
Candida rugosa	0.60	19.7	151.62	151.89	0	0.60	19.7	151.62	152.01	0
	0.61	20.1	152.16			0.60	19.8	152.34		
Novozyme 435	0.62	19.8	147.47	148.22	1.83	0.57	19.0	153.93	153.00	0
	0.62	20.0	148.96			0.58	19.1	152.07		
QLM	0.59	1.5	11.74	16.09	89.34	0.55	1.0	8.40	8.74	94.21
	0.61	2.7	20.44			0.56	1.1	9.07		

การคำนวณ

สูตรการคำนวณค่าเอสเทอริฟิเคชัน

$$\text{เปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชัน} = \frac{\text{AVเริ่มต้น} - \text{AVที่เวลาใดๆ}}{\text{AVเริ่มต้น}} \times 100$$

ตัวอย่างการคำนวณ

ความเข้มข้นของ KOH = 0.0823 นอร์มอล

ค่า AV เริ่มต้นของสารละลายปฏิกิริยา = 150.98 มิลลิกรัม/กรัม

ค่า AV ที่เวลา 5 ชั่วโมง = 16.09 มิลลิกรัม/กรัม

แทนค่าสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชัน} = \frac{150.98 - 16.09}{150.98} \times 100$$

$$= 89.34\ \%$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ.
การศึกษาปริมาณเมธานอลที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน

ตารางที่ จ 1 ค่า AV เริ่มต้นของปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันที่ปริมาณเมธานอลแตกต่างกันของกรดไขมันจากน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ เมื่อมีน้ำ 20% โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยา

ปริมาณเมธานอล (%)	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			AV เริ่มต้นเฉลี่ย
	น้ำมัน (g)	KOH (ml)	AV (mg/g)	น้ำมัน (g)	KOH (ml)	AV (mg/g)	
20	0.35	12.4	168.77	0.37	12.6	162.22	165.50
30	0.37	12.2	157.07	0.40	13.2	157.20	157.14
40	0.36	11.2	148.21	0.35	10.8	147.00	147.61
50	0.17	4.7	131.70	0.13	3.6	131.92	131.81

หมายเหตุ คำนวณค่า AV เหมือนภาคผนวก ข. ที่กล่าวแล้วในข้างต้น

ตารางที่ จ 2 ค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมันจากน้ำมันปาล์มกับเมธานอลที่ปริมาณเมธานอลแตกต่างกัน เมื่อมีน้ำ 20% โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยา

ปริมาณเมธา - นอล (%) / เวลา (ชม.)	20		30		40		50	
	AV (mg/g)	% est	AV (mg/g)	% est	AV (mg/g)	% est	AV (mg/g)	% est
2	24.50	85.20	23.82	84.84	35.73	75.79	43.73	66.82
4	15.41	90.68	13.54	91.38	9.53	93.54	7.94	93.98
6	11.89	92.82	10.96	93.03	5.75	96.10	3.91	97.03
24	16.36	90.11	15.41	90.19	13.41	90.92	10.7	91.88

หมายเหตุ การคำนวณเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันใช้ค่า AV เริ่มต้นที่ปริมาณน้ำ 20% โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยา และคำนวณเหมือนภาคผนวก ง. ที่ได้กล่าวมาแล้วในข้างต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฉ.
การศึกษาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน

ตารางที่ ฉ 1 ค่า AV เริ่มต้นของปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมันจากน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ เมื่อมีปริมาณเมธานอล 40% และน้ำ 20% โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยา

ครั้งที่	น้ำมัน (g)	KOH (ml)	AV (mg/g)	AVเริ่มต้น เฉลี่ย (mg/g)
1	0.20	5.8	138.15	138.13
2	0.21	6.0	138.11	

หมายเหตุ คำนวณค่า AV เหมือนภาคผนวก ข. ที่กล่าวแล้วในข้างต้น

ตารางที่ ฉ 2 ค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันที่ปริมาณเอนไซม์แตกต่างกัน เมื่อมีปริมาณเมธานอล 40% และน้ำ 20% โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยา

ปริมาณเอนไซม์ (unit) / เวลา (ชม.)	100		200		300	
	AV (mg/g)	% est	AV (mg/g)	% est	AV (mg/g)	% est
2	54.44	60.59	25.07	81.85	17.86	87.07
4	28.58	79.31	10.74	92.22	15.36	88.88
6	12.70	90.81	11.91	91.38	12.29	91.10
24	14.29	89.65	14.30	89.65	10.33	92.52

หมายเหตุ การคำนวณเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันใช้ค่า AV เริ่มต้นที่ปริมาณเมธานอล 40% และน้ำ 20% โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยา และคำนวณเหมือนภาคผนวก ง. ที่ได้กล่าวมาแล้วในข้างต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ช.
การศึกษาปริมาณน้ำที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน

ตารางที่ ช 1 ค่า AV เริ่มต้นของปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมันอิสระจากน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ที่ปริมาณน้ำแตกต่างกัน เมื่อมีปริมาณเมธานอล 40% โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยา

ปริมาณน้ำ (%)	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			AV เริ่มต้น เฉลี่ย (mg/g)
	น้ำมัน (g)	KOH (ml)	AV (mg/g)	น้ำมัน (g)	KOH (ml)	AV (mg/g)	
10	0.36	10.3	136.30	0.34	10.0	140.11	138.21
20	0.40	12.2	145.29	0.32	9.8	145.89	145.59
30	0.26	9.2	168.56	0.28	9.8	166.73	167.65

หมายเหตุ คำนวณค่า AV เหมือนภาคผนวก ข. ที่กล่าวแล้วในข้างต้น

ตารางที่ ช 2 ค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมันอิสระจากน้ำมันปาล์มที่ปริมาณน้ำแตกต่างกัน เมื่อมีปริมาณเมธานอล 40% โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยา

ปริมาณน้ำ (%) / เวลา (ชม.)	10		20		30	
	AV (mg/g)	% est	AV (mg/g)	% est	AV (mg/g)	% est
2	117.73	14.83	41.02	71.77	16.57	90.12
4	111.16	19.57	21.94	84.90	10.06	94.00
6	103.75	24.93	18.53	87.25	14.66	91.26
24	80.24	41.94	17.94	87.65	15.11	90.99

หมายเหตุ การคำนวณเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันใช้ค่า AV เริ่มต้นที่ปริมาณเมธานอล 40% โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยา และคำนวณเหมือนภาคผนวก ง. ที่ได้กล่าวมาแล้วในข้างต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ซ.
การเร่งปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของเอนไซม์ QLM

ตารางที่ ซ 1 ค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมันอิสระจากน้ำมันปาล์มเมื่อใช้เอนไซม์ไลเปสจาก QLM ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม

เวลา (ชั่วโมง)	AV (mg/g)			% esterification
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	เฉลี่ย	
0.5	102.80	95.27	98.75	42.18
	91.61	105.30		
1	42.03	50.44	44.33	74.00
	44.23	40.00		
1.5	19.02	19.05	19.01	88.87
	20.42	17.55		
2	17.32	19.62	18.27	89.30
	19.62	16.50		
3	13.34	15.41	15.41	90.98
	17.01	15.88		
6	12.35	14.29	13.88	91.87
	12.99	15.88		
9	12.54	14.29	13.29	92.22
	12.70	13.61		
12	9.53	9.53	9.63	94.36
	9.92	9.53		
24	9.92	15.88	12.57	92.64
	12.55	11.91		

หมายเหตุ การคำนวณเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันใช้ค่า AV เริ่มต้นที่ปริมาณเมธานอล 40% และน้ำ 30% โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยา และคำนวณเหมือนภาคผนวก ง. ที่ได้กล่าวมาแล้วในข้างต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฌ.
การศึกษาการเตรียมเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันโดยใช้ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ร่วมกับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของน้ำมันปาล์ม

ตารางที่ ฌ 1 ค่าเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์โดยเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม

เวลา (ชั่วโมง)	AV (mg/g)			% hydolysis
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	เฉลี่ย	
1	180.25	180.02	180.14	84.63
5	199.48	198.90	199.19	93.58
24	208.24	200.08	204.16	95.91

หมายเหตุ การคำนวณเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสใช้ค่า AVเริ่มต้นของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ และคำนวณเหมือนภาคผนวก ข. ที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น

ตารางที่ ฌ 2 ค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันของของกรดไขมันอิสระจากน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ ซึ่งได้จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสโดยใช้เอนไซม์ไลเปสจาก QLM ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม

เวลา (ชั่วโมง)	AV (mg/g)			% esterification
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	เฉลี่ย	
1	52.53	53.08	52.80	69.09
5	13.61	14.29	13.95	91.83
24	10.59	11.34	10.97	93.58

หมายเหตุ การคำนวณเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันใช้ค่า AV เริ่มต้นที่ปริมาณเมธานอล 40% และน้ำ 30% โดยน้ำหนักสารละลายปฏิกิริยา และคำนวณเหมือนภาคผนวก ง. ที่ได้กล่าวมาแล้วในข้างต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

1. นางสาววรรณา อยู่ดี
เกิดเมื่อวันที่ 3 ธันวาคม พ.ศ.2526
ภูมิลำเนา จังหวัดนครราชสีมา
การศึกษา จบการศึกษาระดับปริญญาตรี วุฒิวิทยาศาสตร์บัณฑิต ปี พ.ศ. 2549
จากโครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เบอร์โทรศัพท์ 07-0720749

2. นางสาวสุวรรณี สีคุณเมือง
เกิดเมื่อวันที่ 29 ตุลาคม พ.ศ.2526
ภูมิลำเนา จังหวัดมหาสารคาม
การศึกษา จบการศึกษาระดับปริญญาตรี วุฒิวิทยาศาสตร์บัณฑิต ปี พ.ศ. 2549
จากโครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เบอร์โทรศัพท์ 07-8328816

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้