สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนโดยใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปจาก *Candida rugosa*

Biodiesel production from waste cooking oil using immobilized lipase from *Candida rugosa*

T117334

นางสาว ณัฐพร พูลธิเวทย์
นางสาว พจนีย์ มุมบ้านเซ่า
นางสาว ฉัตณทิตา แก้วคราม

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เลขหมู่
เลขทะเบียน 117334
วัน,เดือน,ปี 20 ก.ค. 2554

b 12340029
i

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2553

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

BIODIESEL PRODUCTION FROM WASTE COOKING OIL USING IMMOBILIZED LIPASE FROM *Candida rugosa*

NATTAPORN POONTIWADE

PHOTJANEE MUMBANSAO

CHATNATHITA KAEWKRAM

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIRMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE

IN BIOTECHNOLOGY

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2010

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนโดยใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปจาก *Candida rugosa*

Biodiesel production from waste cooking oil using immobilized lipase from *Candida rugosa*

ชื่อนักศึกษา นางสาว ณัฐพร พูลธิเวทย์

นางสาว พจนีย์ มุมบ้านเซ่า

นางสาว ฉัตณทิตา แก้วคราม

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.อารี ฤทธิบูรณ์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ประจำปีการศึกษา 2553

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.มาริสา จาตุพรพิพัฒน์	
ดร.วรภัทร สงวนไชยไผ่วงศ์	
รศ. อารี ฤทธิบูรณ์	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนโดยใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปจาก *Candida rugosa*
ชื่อนักศึกษา	ณัฐพร พูลธิเวทย์ พจนีย์ มุมบ้านเซ่า ฉัตณทิตา แก้วคราม
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา	2553
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ. อารี ฤทธิบูรณ์

บทคัดย่อ

การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนโดยใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปด้วยแคลเซียมอัลจิเนตเป็นตัวเร่งในปฏิกิริยา โดยมีการหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสและทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส คือ ใช้เอนไซม์ไลเปส 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในแคลเซียมอัลจิเนตร้อยละ1 ปริมาตร 8 มิลลิลิตรเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง ซึ่งจะทำให้ได้ปริมาณของกรดไขมันอิสระมากที่สุด คือ กรดโอเลอิกร้อยละ 34.27 และสภาวะที่เหมาะสมที่สุดของการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน คือที่อัตราส่วนโดยโมลของเมทานอลที่ 1:5 และทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ซึ่งจากผลการทดลองในสภาวะนี้จะทำให้ปริมาณของกรดไขมันอิสระเหลือน้อยที่สุด และเมื่อนำมาวิเคราะห์ความบริสุทธิ์ของน้ำมันด้วยวิธีธินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี (Thin Layer Chromatography -TLC) โดยทำการเทียบกับสารมาตรฐานซึ่งสามารถนำมาคำนวณหาค่า R_f ได้เท่ากับ 0.8667 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Biodiesel production from waste cooking oil using immobilized lipase from *Candida rugosa*
Students	Nattaporn Poontiwade
	Photjanee Mumbansao
	Chatnathita Kaewkram
Degree	Bachelor of Science
Major Program	Applied Biotechnology
Academic Year	2010
Advisor	Assisst. Prof. Aree Rittiboon

ABSTRACT

This project shows the method for producing biodiesel from waste cooking oil using immobilized lipase with calcium alginate and optimal conditions in the reaction. The method used optimal conditions of hydrolysis and transesterification reaction. Biodiesel yields and free fatty acid remained after that process and these were analyzed. The optimal conditions of hydrolysis reaction was carried out at 40 °c for 20 hours. which resulting in oleic acid 34.27 %. The results of this study provide the highest amounts of free fatty acids. The optimal conditions of transesterification was carried out at 50 °c and using the feedstock to methanol molar ratio of 1:5. The results in this condition provide the least amount of free fatty acids. Purity of product were analyzed by Thin Layer Chromatography (TLC) Technique by company with standard substances. The results showed that can be used to calculate R_f values equal to 0.8667 centimeters.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ อารี ฤทธิบูรณ์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษที่กรุณาให้คำปรึกษาระหว่างการค้นคว้าวิจัย และการเขียนโครงงานพิเศษฉบับนี้ รวมถึงการตรวจทานแก้ไขโครงงานพิเศษให้ถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ มาริสา จาตุพรพิพัฒน์ และ ดร. วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ ที่เป็นคณะกรรมการในโครงงานพิเศษ และช่วยในการตรวจทานแก้ไขโครงงานพิเศษให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณพี่ๆนักวิทยาศาสตร์ภาคชีววิทยาประยุกต์ที่ให้คำแนะนำ ให้คำปรึกษา และให้ความช่วยเหลือในการทำโครงงานพิเศษนี้

ขอขอบคุณพี่ๆนักศึกษาปริญญาโทภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ที่ให้คำแนะนำ ให้คำปรึกษา และให้ความช่วยเหลือในการทำโครงงานพิเศษนี้

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ด้วยความเคารพยิ่ง และขอขอบคุณเพื่อนๆและทุกท่านที่ไม่ได้กล่าวมา ณ ที่นี่ด้วย ที่ให้การสนับสนุน และให้กำลังใจในการศึกษามาตลอดรวมถึงมีส่วนช่วยให้โครงงานพิเศษฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ด้วยดี

ณัฐพร พูลธิเวทย์
พจนีย์ มุมบ้านเซ่า
ฉัตณทิตา แก้วคราม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VII
สารบัญรูป	X
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ไขมันและน้ำมัน	4
2.1.1 ลักษณะเฉพาะของน้ำมันและไขมัน	5
2.2 การทำน้ำมันให้บริสุทธิ์	6
2.2.1 สารไม่บริสุทธิ์ต่างๆที่ต้องกำจัดออก	6
2.2.2 การทำให้ไขมันบริสุทธิ์	7
2.3 น้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือน	9
2.3.1 การปรับสภาพ	13
2.3.2 การปรับสภาพวัตถุดิบโดยใช้กรด	17
2.4 ไบโอดีเซล	18
2.4.1 ประเภทของไบโอดีเซล	18
2.4.2 คุณสมบัติของไบโอดีเซล	19
2.4.3 ลักษณะเด่นของไบโอดีเซล	21
2.5 ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน	22
2.5.1 การใช้กรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา	23
2.5.2 การใช้ด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา	23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.5.3 การใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา	23
2.5.4 การใช้แอลกอฮอล์ในปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน	26
2.6 ตัวแปรที่มีผลต่อปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน	28
2.6.1 ความชื้นและกรดไขมันอิสระ	28
2.6.2 ชนิดและอัตราร้อยละของตัวเร่งปฏิกิริยา	28
2.6.3 อัตราส่วนโดยโมลระหว่างเอทานอลต่อน้ำมัน	28
2.6.4 อุณหภูมิ	29
2.6.5 เวลา	29
2.7 เอนไซม์ไลเปส	29
2.7.1 แหล่งที่มาของเอนไซม์ไลเปส	30
2.7.2 การทำงานของเอนไซม์ไลเปส	30
2.7.3 ความจำเพาะของไลเปสต่อสับสเตรท	30
2.7.4 ความจำเพาะต่อกรดไขมัน	32
2.7.5 เอนไซม์ตรึงรูป	32
2.7.6 ข้อควรคำนึงในการผลิตเอนไซม์ตรึงรูป	33
2.7.7 ประโยชน์ของเอนไซม์ไลเปสตรึงรูป	33
2.7.8 ลักษณะของพาหะที่นำมาใช้ในการตรึงรูปเอนไซม์	34
2.7.9 วิธีการตรึงรูปเอนไซม์	34
2.8 อัลจิเนต	36
2.9 การแยกสารด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแบบแผ่นบาง	37
2.10 เอกสารที่เกี่ยวข้อง	38
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	42
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์	42
3.2 ปรับสภาพน้ำมัน	42
3.3 ตรึงเอนไซม์ไลเปสในเม็ดแคลเซียมอัลจิเนต	42
3.4 การไฮโดรไลซิส (hydrolysis) ของน้ำมัน	43
3.5 ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของเอนไซม์	43
3.6 การวิเคราะห์ปริมาณของน้ำมันไบโอดีเซลในเชิงคุณภาพ	44
3.6.1 การวิเคราะห์ไบโอดีเซลในเชิงคุณภาพ	44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.7 วิธีการวิเคราะห์ค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ	45
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	46
4.1 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส	46
4.1.1 ผลของอุณหภูมิในการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกับปริมาณกรดไขมันอิสระ	46
4.1.2 ผลของเวลาการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกับปริมาณกรดไขมันอิสระ	47
4.1.3 ผลการแปรผันอัตราส่วนของความเข้มข้นเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปต่อปริมาณกรดไขมันอิสระ (กรดโอเลอิก) ที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส	48
4.2 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน	48
4.2.1 ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณกรดไขมันอิสระในปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน	48
4.2.2 ผลของอัตราส่วนต่อโมลของน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนต่อเมทานอลในปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน	49
4.3 ผลการวิเคราะห์ไบโอดีเซลในเชิงคุณภาพ	50
บทที่ 5 สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ	53
เอกสารอ้างอิง	54
ภาคผนวก ก	59
ภาคผนวก ข	65
ภาคผนวก ค	67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบกรดไขมันหลักของน้ำมันพืชชนิดต่างๆ 5

ตารางที่ 2.2 คุณสมบัติของน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือน 10

ตารางที่ 2.3 ส่วนประกอบของกรดไขมันในน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือน 11

ตารางที่ 2.4 วัตถุดิบและคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีเพื่อใช้ในการผลิตไบโอดีเซล 12

ตารางที่ 2.5 คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของน้ำมันทอดอาหารที่ใช้แล้ว (ยูเอฟโอ) และน้ำมันคาโนลา 15

ตารางที่ 2.6 คุณสมบัติและค่าความร้อนของน้ำมันพืชชนิดต่างๆ 20

ตารางที่ 2.7 กำหนดลักษณะและคุณภาพของไบโอดีเซลของประเทศสหรัฐอเมริกา 21

ตารางที่ 2.8 กำหนดลักษณะและคุณภาพของไบโอดีเซลของประเทศไทย 21

ตารางที่ 2.9 ข้อดีข้อเสียของตัวเร่งปฏิกิริยาที่แตกต่างกันที่ใช้ในการผลิตไบโอดีเซล 25

ตารางที่ 2.10 อุณหภูมิและความดันที่จุดวิกฤติของแอลกอฮอล์ชนิดต่าง ๆ 27

ตารางที่ 2.11 การเปรียบเทียบผลได้ของตัวเร่งด่าง ตัวเร่งกรดและการใช้เมทานอลที่เหนือจุดวิกฤติ 28

ตารางที่ 4.1.1 ผลของการแปรผันอุณหภูมิของการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสและปริมาณของกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นโดยใช้เอนไซม์ไลเปสที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรในแคลเซียมอัลจิเนต ปริมาตรร้อยละ 1 ปริมาตร 8 มิลลิลิตรเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาและทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 20 ชั่วโมง 47

ตารางที่ 4.1.2 ผลของช่วงเวลาในการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส(5, 10, 15, 20 และ 25 ชั่วโมง)ต่อปริมาณของกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นโดยใช้เอนไซม์ไลเปสที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรในแคลเซียมอัลจิเนตร้อยละ 1 ปริมาตร 8 มิลลิลิตรเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาและทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส 48

ตารางที่ 4.1.3 ผลของความเข้มข้นเอนไซม์ไลเปสอิสระ(ความเข้มข้น 30, 40, 50 และ60มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)ในการตรึงรูปเอนไซม์ และปริมาณกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้น โดยทำการทดลองที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 ชั่วโมง 49

ตารางที่ 4.2.1 ผลของอุณหภูมิของปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่นต่อปริมาณกรดไขมันอิสระโดยกำหนดปริมาณความเข้มข้นของเอนไซม์ไลเปส 50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรในแคลเซียมอัลจิเนตความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 8 มิลลิลิตรและอัตราส่วนของน้ำมันต่อเมทานอล 1:3

ตารางที่ 4.2.2 ผลของการแปรผันอัตราส่วนโดยโมลระหว่างน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนและเมทานอล(1:3, 1:5, 1:10, 1:15 และ 1:20)ต่อปริมาณของกรดโอเลอิก(ร้อยละ) 51

ตารางที่ 4.3.1 ตารางแสดงผลการคำนวณค่า R_f ของรูปที่ 4.1 52

ตารางภาคผนวกที่ 1 แสดงจำนวนมิลลิลิตรการเตรียมสารละลายทริส-ไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ 59

ตารางภาคผนวกที่ 2 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสที่เหลือจากการตรึงเอนไซม์ไลเปสด้วยแคลเซียมอัลจิเนตด้วยความเข้มข้นของเอนไซม์ไลเปสที่แตกต่างบ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที 65

ตารางภาคผนวกที่ 3 แสดงค่าความแตกต่างทางสถิติของปริมาณกรดโอเลอิกที่วัดได้จากการแปรผันอุณหภูมิที่ 30, 35 , 40 และ 45 องศาเซลเซียสในการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเป็นเวลา 20 ชั่วโมง โดยใช้เอนไซม์ไลเปส 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในอัลจิเนตร้อยละ1 ปริมาตร 8 มิลลิลิตรเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา 67

ตารางภาคผนวกที่ 4 แสดงค่าความแตกต่างทางสถิติของปริมาณกรดโอเลอิกที่วัดได้จากการแปรผันช่วงเวลาที่ 5 , 10 , 15 , 20 และ 25 ชั่วโมงในการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส โดยทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสใช้เอนไซม์ไลเปส 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในอัลจิเนตร้อยละ1 ปริมาตร 8 มิลลิลิตรเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา 67

ตารางภาคผนวกที่ 5 แสดงค่าความแตกต่างทางสถิติของปริมาณกรดโอเลอิกที่วัดได้จากการแปรผันอัตราส่วนความเข้มข้นของเอนไซม์ไลเปสที่ 30 , 40 , 50 และ 60 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในอัลจิเนตร้อยละ 1 ปริมาตร 8 มิลลิลิตร โดยทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 ชั่วโมง 68

ตารางภาคผนวกที่ 6 แสดงค่าความแตกต่างทางสถิติของปริมาณกรดโอเลอิกที่วัดได้จากการแปรผันอุณหภูมิที่ 30, 40 และ 50 องศาเซลเซียสในการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันโดยที่ควบคุมอัตราส่วนโดยโมลระหว่างน้ำมันและเมทานอล คือ 1:3 68

ตารางภาคผนวกที่ 7 แสดงค่าความแตกต่างทางสถิติของปริมาณกรดโอเลอิกที่วัดได้ 69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

จากการแปรผันอัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันกับเมทานอลที่ 1:3, 1:5, 1:10, 1:15 และ 1:20ในปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.1 โมเลกุลของน้ำมันและไขมัน 4

รูปที่ 2.2 สปอนนิฟิเคชันของไขมัน 6

รูปที่ 2.3 ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน 23

รูปที่ 2.4 กลไกการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันที่มีด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา 24

รูปที่ 2.5 การเปลี่ยนแปลงในอัตราร้อยละผลได้ของเอทิลเอสเทอร์ที่ปรับสภาพแล้วกับเอทานอลที่จุดวิกฤติที่อุณหภูมิที่แตกต่างกันในระยะเวลาการทำปฏิกิริยาโดยที่อัตราส่วนของน้ำมันพืชต่อเอทานอลคือ 1:40 27

รูปที่ 2.6 ปฏิกิริยาการย่อยสลายไตรกลีเซอไรด์โดยไลเปสที่มีความจำเพาะต่อตำแหน่งที่ 1 และ 3 บนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ 31

รูปที่ 2.7 ปฏิกิริยาการย่อยสลายไตรกลีเซอไรด์ โดยไลเปสที่ไม่มีความจำเพาะต่อตำแหน่งบนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ 31

รูปที่ 2.8 การตรึงรูปด้วยวิธีการเชื่อมยึดติดกับสารตัวกลางหรือตัวพยุง 34

รูปที่ 2.9 การตรึงรูปด้วยการเชื่อมแบบไขว้ 35

รูปที่ 2.10 การตรึงรูปโดยการห่อหุ้มเอนไซม์ไว้ในโครงตาข่าย 35

รูปที่ 2.11 การตรึงรูปโดยการห่อหุ้มเอนไซม์ไว้ในแคปซูลเล็ก 36

รูปที่ 2.12 โครงสร้างอัลจิเนตประกอบด้วย กรดแอล-กูลูโรนิก (L-guluronic acid) และกรดดี-แมนนูโรนิก (D-mannuronic acid) 36

รูปที่2.13 แสดงระยะทางการเคลื่อนที่ของน้ำมันเนยบนแผ่น TLC 41

รูปที่2.14 ตัวอย่างปริมาณ FAME ที่แยกบนแผ่น TLC 41

รูปที่ 4.1 การวิเคราะห์ความบริสุทธิ์ของผลิตภัณฑ์โดยเทคนิคThin Layer Chromatography 51

รูปภาคผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐานของสารละลายไนโตรฟีนอลที่ความเข้มข้น 0, 50 , 100, 150, 200 และ 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยทำการวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ 410 นาโนเมตร 65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

การสำรวจแหล่งทรัพยากรใหม่ ๆ ที่สามารถนำกลับมาใช้ได้อีกครั้งหนึ่งมีความสำคัญมาก เมื่อไม่นานมานี้ เพื่อตอบสนองต่อความต้องการทางด้านพลังงาน เนื่องจากราคาของน้ำมันดิบที่สูงขึ้น น้ำมันที่สะสมไว้ลดลงและการเสื่อมโทรมของสิ่งแวดล้อมที่เพิ่มขึ้น ไบโอดีเซล คือ ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน (transesterification) ของไขมัน โดยใช้แอลกอฮอล์ต่ำ (ที่มีหมู่คาร์บอนน้อยๆ) เช่น เมทานอล ซึ่งการผลิตไบโอดีเซลด้วยกระบวนการนี้กำลังจะได้รับความนิยมที่เพิ่มขึ้นทั้งในประเทศที่กำลังพัฒนาและประเทศที่พัฒนาแล้ว ใช้เป็นเชื้อเพลิงเครื่องยนต์โดยตรงหรือผสมไบโอดีเซลกับน้ำมันดีเซลในอัตราส่วนต่าง ๆ สามารถใช้ไบโอดีเซลได้โดยตรงทั้งในเครื่องยนต์ดีเซลที่ได้รับการดัดแปลงเล็กน้อยหรือไม่ได้ผ่านการดัดแปลงเลยกับระบบเชื้อเพลิงที่คล้ายกัน

จากปัญหาราคาน้ำมันปิโตรเลียมที่ปรับตัวสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง ได้ส่งผลกระทบอย่างรุนแรงต่อภาคเศรษฐกิจโดยรวม และอาจเป็นอุปสรรคต่อการขยายตัวทางเศรษฐกิจของประเทศในปัจจุบันและอนาคต ทั้งนี้เพราะประเทศไทยมีแหล่งน้ำมันดิบไม่เพียงพอกับความต้องการ ทำให้ต้องพึ่งพาการนำเข้าจากต่างประเทศ ขณะที่ความต้องการมีแนวโน้มสูงขึ้นเป็นลำดับ โดยเฉพาะน้ำมันดีเซลที่ใช้ในภาคขนส่งเป็นหลัก ดังนั้นจึงต้องเร่งพัฒนาพลังงานทดแทนน้ำมันปิโตรเลียม โดยเฉพาะพลังงานทดแทนน้ำมันดีเซล โดยการศึกษาวิจัยและพัฒนาวัตถุดิบภายในประเทศ เช่น น้ำมันพืชชนิดต่างๆ มาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ใช้แทนน้ำมันดีเซล เรียกว่า ไบโอดีเซล

ไบโอดีเซลเป็นเชื้อเพลิงดีเซลทางเลือกที่ผลิตจากแหล่งทรัพยากรหมุนเวียน เช่น น้ำมันจากพืชหรือไขมันจากสัตว์ โดยไบโอดีเซลมีคุณสมบัติที่สามารถย่อยสลายได้เองตามกระบวนการทางชีวภาพ (biodegradable) และไม่มีพิษ (nontoxic) ดังนั้นจึงไม่ส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม ไบโอดีเซลสามารถนำมาใช้เป็นเชื้อเพลิงกับยานพาหนะได้ ซึ่งมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซลโดยไม่ต้องดัดแปลงเครื่องยนต์แต่อย่างใด อีกทั้งยังช่วยรักษาสภาพเครื่องยนต์ให้ใช้งานได้นานกว่าอีกด้วย เนื่องจากออกซิเจนในไบโอดีเซลให้การสันดาปที่สมบูรณ์กว่าน้ำมันดีเซล ทำให้มีควันดำและก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์น้อย ช่วยลดมลพิษทางอากาศ รวมทั้งลดการอุดตันของระบบไอเสีย เนื่องจากองค์ประกอบของไบโอดีเซลไม่มีธาตุกำมะถัน แต่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบประมาณร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก จึงช่วยการเผาไหม้ได้ดีขึ้นและลดมลพิษซัลเฟอร์ไดออกไซด์ คาร์บอนมอนอกไซด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไฮโดรคาร์บอน และฝุ่นละออง ไบโอดีเซลจึงได้รับความสนใจอย่างยิ่ง

การใช้เอนไซม์ตรึงรูปเข้าร่วมกับการใช้ตัวเร่งทางเคมี สำหรับในปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน (transesterification) ของน้ำมัน เพื่อกำจัดปัญหาที่เกี่ยวข้องกับการใช้ตัวเร่งทางเคมีอย่างเดียว อย่างไรก็ตาม การใช้เอนไซม์ตรึงรูปทำให้สารประกอบที่มีขั้วอย่างเช่น น้ำ เมทานอล และกลีเซอรอล มีความสามารถในการถูกละลายได้ต่ำในชั้นของน้ำมัน ค่าใช้จ่ายของการผลิตไบโอดีเซลโดยการใช้เอนไซม์ตรึงรูปมีราคาสูงกว่าการผลิตไบโอดีเซลด้วยการใช้ตัวเร่งทางเคมี การใช้เอนไซม์ตรึงรูปซ้ำอีกและราคาของกลีเซอรอลบริสุทธิ์ที่สูง ที่ผลิตได้ระหว่างการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน (transesterification) ที่ใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาจะทำให้สามารถลดราคาของการผลิตไบโอดีเซลได้ การเร่งปฏิกิริยาโดยใช้เอนไซม์จะมีข้อดีเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาทางเคมีหลายประการอันได้แก่ มีความปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม และไม่จำเป็นต้องมีกระบวนการบำบัดของเสีย อีกทั้งยังสามารถผลิตไบโอดีเซลได้จากทั้งไตรกลีเซอไรด์ และกรดไขมันอิสระ ดังนั้นจึงสามารถใช้กับสารตั้งต้นที่มีคุณภาพด้อยกว่าน้ำมันบริสุทธิ์ได้ (เช่น มีกรดไขมันอิสระปนอยู่ในปริมาณที่มาก) อย่างไรก็ดีข้อเสียของตัวเร่งดังกล่าวคือ มีราคาแพงและปฏิกิริยาใช้เวลานาน

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนด้วยตัวเร่งปฏิกิริยาเอนไซม์ไลเปสตรึงรูป

1.2.2 ทำการทดสอบปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปโดยใช้น้ำมันที่ใช้แล้วจากครัวเรือนเป็นแหล่งคาร์บอนและทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมคืออุณหภูมิและอัตราส่วนที่เหมาะสมของเมทานอลต่อน้ำมันในการผลิตไบโอดีเซล

1.2.3 ทำการทดสอบความบริสุทธิ์ของไบโอดีเซลที่ผลิตได้จากเอนไซม์ไลเปสตึงรูปโดยวิธีการธินเลเยอร์ โครมาโทรกราฟี

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมที่ใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปจาก *Candida rugosa* ในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส โดยศึกษาสภาวะที่เหมาะสมดังนี้ คือ จะนำไปทดลองกับการแปรผันของอุณหภูมิที่แตกต่างกัน นั่นคือ อุณหภูมิที่ 30, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียสซึ่งช่วงของอุณหภูมิที่เหมาะสมจะนำไปใช้ทดลองในขั้นต่อไป คือ นำไปแปรผันเวลาแตกต่างกัน นั่นคือ ที่เวลา 5, 10, 15, 20 และ 25 ชั่วโมง เมื่อได้ชั่วโมงที่เหมาะสมจะนำไปใช้ทดลองขั้นต่อไป คือ ความเข้มข้นของเอนไซม์ไลเปส (30, 40, 50 และ 60 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ผสมกับสารละลายแคลเซียมอัลจิเนตร้อยละ 1 ปริมาตร 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือนำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มิลลิลิตร

1.3.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมที่ใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปจาก *Candida rugosa* ในปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันโดยศึกษาสภาวะที่เหมาะสมดังนี้ คือ นำสภาวะที่เหมาะสมจากขั้นตอนปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส นำมาแปรผันกับอุณหภูมิที่แตกต่างกัน คือ อุณหภูมิที่ 30, 40 และ 50 องศาเซลเซียส เมื่อได้อุณหภูมิที่เหมาะสมแล้วจึงนำมาแปรผันกับอัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันต่อเมทานอลที่อัตราส่วน 1:3, 1:5, 1:10, 1:15 และ 1:20 จากนั้นใช้วิธีวิเคราะห์ปริมาณของน้ำมันไบโอดีเซลในเชิงคุณภาพด้วยธินเลเยอร์ โครมาโทรกราฟีต่อไป

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบสภาวะที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสโดยใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

1.4.2 ทราบสภาวะที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันเพื่อการผลิตไบโอดีเซล

1.4.3 ทราบการทดสอบไบโอดีเซลที่ผลิตได้ในเชิงคุณภาพและทดสอบความบริสุทธิ์โดยวิธีธินเลเยอร์ โครมาโทรกราฟี

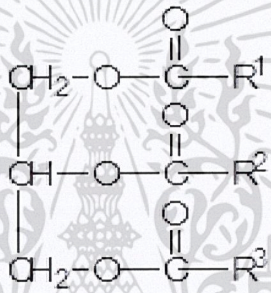
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไขมันและน้ำมัน

ไขมันและน้ำมันเป็นเอสเทอร์ที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติของกรดคาร์บอกซิลิกโซ่ยาว และกลีเซอรอล (glycerol) ซึ่งเรียกว่า ไตรกลีเซอไรด์ (triglycerides) น้ำมันจากพืชหรือสัตว์ก็ตามจะแตกต่างจากไขมันที่สถานะเท่านั้น โดยน้ำมันจะมีลักษณะเป็นของเหลวเหนียวๆที่อุณหภูมิห้อง แต่ไขมันจะเป็นของแข็งที่อ่อนและมีลักษณะคล้ายไข (เกสร, 2526)

ไขมันหรือน้ำมันโดยทั่วไปเป็นสารประเภทไตรกลีเซอไรด์ที่มีสูตรทั่วไปดังรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 โมเลกุลของน้ำมันและไขมัน

ที่มา : http://www.room601.ob.tc/Lipid.html

หน้าที่สำคัญของไขมันและน้ำมันคือ เป็นโครงสร้างที่สำคัญของเยื่อหุ้มเซลล์เป็นแหล่งพลังงานของสิ่งมีชีวิต ไขมันและน้ำมันพบได้ทั้งในสัตว์และพืช ในสัตว์พบสะสมอยู่ในเยื่อไขมัน เช่น ไขมันวัว ส่วนในพืชมักพบในผลและเมล็ด เช่น มะพร้าว ปาล์ม ถั่วเหลือง เมล็ดฝ้าย เมล็ดทานตะวัน รำข้าว เป็นต้น ซึ่งในไขมันและน้ำมันมีกรดไขมันหลายชนิดเป็นองค์ประกอบกรดไขมัน (fatty acid) ที่ได้จากไขมันอาจเป็นกรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acid) หรือกรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) ซึ่งกรดไขมันอิ่มตัวมีจุดหลอมเหลวสูงกว่ากรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีจำนวนคาร์บอนเท่ากันหรือใกล้เคียงกันและกรดไขมันไม่อิ่มตัวเมื่อมีจำนวนพันธะคู่เพิ่มขึ้นจะมีจุดหลอมเหลวลดลง (นฤมล และสาวิตรี, 2546)

เนื่องจากน้ำมันพืชและสัตว์มีกรดไขมันชนิดต่างกันเป็นองค์ประกอบโดยที่มีปริมาณของกรดไขมันอยู่ในโครงสร้างถึงร้อยละ 94-96 ของน้ำหนักโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ทำให้คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของน้ำมันแต่ละชนิดแตกต่างกันซึ่งคุณสมบัติและค่าความร้อนของน้ำมันพืชชนิดต่างๆ แสดงในตารางที่ 2.1 โมเลกุลส่วนใหญ่ของน้ำมันพืชมีกรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) มากกว่ากรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acid) ดังนั้น จึงสามารถเป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และทำให้ไขมันสัตว์มีลักษณะเฉพาะ คือมีจุดหลอมเหลวและมีความหนืดสูง

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบกรดไขมันหลักของน้ำมันพืชชนิดต่างๆ

น้ำมันชนิดดิบ	องค์ประกอบกรดไขมันหลัก (%)						
	C12:0	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	C 18:2	C 18:3
น้ำมันปาล์ม	0-0.5	0.5-2.0	39.3-47.5	3.5-6.0	36. 0-44.0	9.0-12.0	0-0.5
น้ำมันปาล์มโอลีน	0.1-0.5	1.5-1.5	38.0-43.5	3.5-5.0	39.8-46.0	10.0-13.5	0-0.6
น้ำมันสเตียรีน	0.1-0.5	1.0-2.0	48.0-74.0	3.9-6.0	15.5-36.0	3.0-10.0	0.5
น้ำมันเมล็ดในปาล์ม	45.0-55.0	14.0-18.0	6.5-10.0	1.0-3.0	12.0-19.0	1.0-3.5	0-0.2
น้ำมันมะพร้าว	45.1-53.2	16.8-21.0	7.5-10.2	2.0-4.0	5.0-10.0	1.0-2.5	0
น้ำมันถั่วลิสง	0-0.1	0-0.1	8.0-14.0	1.0-4.5	35.0-67.0	13.0-43.0	0-0.3
น้ำมันเมล็ดสบู่ดำ	0	0	14.9	6.0	41.2	37.4	0
น้ำมันเมล็ดเรฟ	0	0-0.2	1.5-6.0	0.5-3.1	8.0-60.0	11.0-23.0	5.0-13.0
น้ำมันถั่วเหลือง	0-0.1	0-0.2	8.0-13.5	2.0-5.4	17.7-28.0	49.8-59.0	5.0-11.0

ที่มา: พิสมัย, 2543

หมายเหตุ C12:0 คือ Lauric acid, C14:0 คือ Myristic acid, C16:0 คือ Plamitic acid, C18:0 คือ stearic acid, C18:1 คือ Oleic acid, C 18:2 คือ Linoleic acid, C 18:3 คือ limolenic acid

2.1.1 ลักษณะเฉพาะของน้ำมันและไขมัน

ไขมันมีลักษณะเฉพาะหลายประการที่เป็นลักษณะพิเศษ เช่น มีความหลากหลายในด้านสถานะ จุดหลอมเหลว กลิ่น รส และการเกิดปฏิกิริยาต่างๆเนื่องจากชนิดและขนาดของกรดไขมันมีองค์ประกอบที่แตกต่างกันออกไป ลักษณะดังกล่าวอาจสรุปได้ดังนี้ (สรรเสริญ, 2531)

2.1.1.1 ความแข็ง

กรณีที่ไขมันมีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบ และกรณีที่กรดไขมันอิ่มตัวแต่มีจำนวนคาร์บอนตั้งแต่ 10 อะตอมลงมาจะมีจุดหลอมเหลวต่ำกว่าอุณหภูมิห้อง ดังนั้นจะมีสถานะเป็นของเหลว ส่วนไขมันที่มีกรดไขมันอิ่มตัวแต่มีคาร์บอนมากกว่า 10 อะตอมขึ้นไปจะมีจุดหลอมเหลวสูงกว่าอุณหภูมิห้องและมีสถานะเป็นของแข็ง เนื่องจากไขมันในธรรมชาติจะประกอบด้วยไขมันหลายชนิด และแต่ละชนิดก็ประกอบด้วยกรดไขมันต่างชนิดกัน จึงทำให้ไขมันแต่ละชนิดมีสถานะและลักษณะที่แตกต่างกันไป ซึ่งขึ้นอยู่กับองค์ประกอบ

2.1.1.2 การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation)

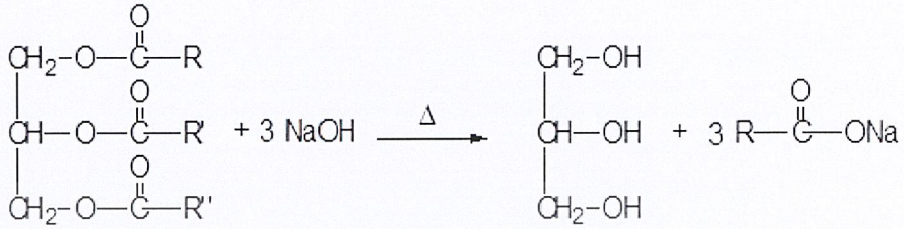
กรดไขมันที่มีพันธะคู่ที่ได้สัมผัสกับออกซิเจนในอากาศจะถูกออกซิไดซ์บริเวณพันธะคู่และเกิดอนุพันธ์อิสระ ซึ่งสามารถเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่จนกระทั่งได้สารประกอบคาร์บอนิล-อัลดีไฮด์และคีโตน ซึ่งทำให้ไขมันมีกลิ่นรสที่เปลี่ยนแปลงไป

2.1.1.3 สปอนนิฟิเคชัน (saponification)

ไขมันทำปฏิกิริยากับเบสแก่ เช่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) หรือโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) โดยการให้ความร้อนแก่ไตรกลีเซอไรด์จะเกิดการสลายโมเลกุล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้ผลิตภัณฑ์เป็นกลีเซอรอลและเกลือของกรดไขมัน ซึ่งก็คือสบู่ ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นแสดงดังรูปที่2.2 โดยถ้าใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ สบู่ที่เกิดขึ้นจะเป็นของเหลวที่สามารถขึ้นรูปได้ตามต้องการ แต่ถ้าใช้โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ จะทำให้ได้สบู่ที่มีลักษณะอ่อนตัวกว่าหรือสบู่เหลว น้ำมันที่มีพันธะคู่หลายตำแหน่งจะสามารถเกิดสบู่ที่อ่อนตัวได้ (นฤมลและสาวิตรี, 2546)



ไขมัน (triglyceride) กลีเซอรอล เกลือโซเดียมคาร์บอกซิเลต

รูปที่ 2.2 สปอนนิฟิเคชันของไขมัน

ที่มา : http://www.room601.ob.tc/Lipid2.html

2.2 การทำน้ำมันให้บริสุทธิ์

ไขมันและน้ำมันที่สกัดออกมาจากแหล่งน้ำมันจะมีสารประกอบชนิดอื่นเจือปนมาด้วย ซึ่งสารต่างเหล่านี้มีผลต่อสี กลิ่น และรสชาติของไขมันและน้ำมัน สารเจือปนบางชนิดมีสมบัติคล้ายไขมันและน้ำมัน ได้แก่ ฟอสโฟลิปิด สารประกอบเชิงซ้อนของไขมันและโปรตีน (fat-protein complex) กลีเซอไรด์ที่มีจุดหลอมเหลวสูง เม็ดสี กรดไขมันอิสระ และสารที่ให้กลิ่นต่างๆ เช่น อัล-ดีไฮด์ คีโตน และไฮโดรคาร์บอน (นิธิยา, 2529)

น้ำมันเหล่านี้หากบริโภคโดยไม่ผ่านการทำน้ำมันให้บริสุทธิ์ อาจเป็นอันตรายต่อร่างกายได้ และน้ำมันที่ใช้ตัวทำละลายสกัดออกมา อาจมีตัวทำละลายเหลือตกค้างอยู่ในน้ำมันที่ผลิตออกมาได้ ดังนั้นในการใช้อุณหภูมิเพื่อไล่ตัวทำละลายออกมาให้หมด อาจทำให้น้ำมันได้รับความร้อนสูงจนเกินไปจนเกิดการสลายตัวเป็นสารประกอบอื่นๆที่ไม่พึงประสงค์ได้ซึ่งสารต่างๆเหล่านี้จำเป็นต้องกำจัดออกให้หมด

2.2.1 สารไม่บริสุทธิ์ (impurities) ต่างๆ ที่ต้องกำจัดออกจากน้ำมันมีดังนี้

2.2.1.1 สารที่ไม่ละลายในไขมัน

การกำจัดสารที่ไม่ละลายในไขมัน ได้แก่ เมล็ด หรือเส้นใย หรือเนื้อเยื่อ เมือกต่างๆ เศษผ้าที่ใช้กรอง ฝุ่นละออง แร่ธาตุต่างๆ ความชื้น ทำได้โดยวิธีการทางกล เช่น การตกตะกอน หรือการปั่นเหวี่ยง

2.2.1.2 สิ่งที่เป็นสารแขวนลอยในน้ำมัน

สารแขวนลอยต่างๆส่วนใหญ่เป็นฟอสฟาไทด์ สารประกอบอินทรีย์จำพวกคาร์บอนไฮโดรเจน ไนโตรเจน ออกซิเจน และสารประกอบเชิงซ้อน สำหรับการกำจัดโดยการทปฏิกิริยากับไอน้ำ น้ำ อิเล็กโทรไลท์ และตามด้วยการตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน การปั่นเหวี่ยงหรือการ

เอกสารนี้ถือเป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรองเพื่อกำจัดพวกตะกอน

2.2.1.3 สารที่ละลายในไขมัน

สารที่ละลายในไขมัน ได้แก่ กรดไขมันอิสระ โมโนและไดกลีเซอไรด์ สารสีต่างๆ เช่น แคโรทีน คลอโรฟิลล์ คีโตน อัลดีไฮด์ สเตอรอล ไฮโดรคาร์บอน เรซิน

2.2.2 การทำให้ไขมันบริสุทธิ์จึงประกอบด้วยขั้นตอนต่างๆดังนี้

2.2.2.1 การกำจัดกัมหรือสารเหนียว (degumming)

สารเหนียวเป็นสารประกอบเชิงซ้อนซึ่งมีรูปแบบโมเลกุลที่หลากหลายในโมเลกุล แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ละลายในน้ำและกลุ่มที่ไม่ละลายในน้ำ เนื่องจากสารเหนียวนี้มีคุณสมบัติเป็นอิมัลซิฟายเออร์ (emulsifier) และบางตัวสามารถทำปฏิกิริยากับโลหะพวกแคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก และทองแดงได้ โลหะเหล่านี้ทำให้ความคงตัวต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันลดลง นอกจากนี้เมื่อถูกความร้อน น้ำมันจะเปลี่ยนเป็นสีที่เข้มขึ้นและกลายเป็นน้ำมันที่คุณภาพต่ำลง (อรดา, 2546) ดังนั้นจึงต้องกำจัดสารเหนียวเหล่านี้ออกไปโดยใช้น้ำหรือสารละลายของกรด คือ กรดฟอสฟอริกหรือเกลือของกรด ในปริมาณร้อยละ 2-3 ของปริมาณน้ำมัน ล้างที่อุณหภูมิปริมาณ 30-50 องศาเซลเซียส ซึ่ง (นิธิยา, 2529) ได้กล่าวไว้ในการทดลองกำจัดสารเหนียวโดยวิธีต่อเนื่อง น้ำมันจะถูกทำให้ร้อนถึงอุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียส แล้วจึงเติมน้ำลงไปผสมกับน้ำมันนาน 15-30 นาที หลังจากนั้นแยกสารเหนียวที่เกิดไฮเดรชันออกโดยการเหวี่ยงให้ตกตะกอน กระบวนการกำจัดสารเหนียวนี้อาจทำพร้อมกันกับขั้นตอนการแยกกรดไขมันอิสระ โดยการทำน้ำมันให้เป็นกลางด้วยด่างก็ได้ เนื่องจากในระบบที่มีด่างอยู่แล้วจะช่วยให้สารเหนียวละลายในน้ำได้ดีขึ้น (อรดา, 2546)

2.2.2.2 การสะเทินให้เป็นกลางด้วยกรด (neutralization)

เป็นการกำจัดกรดไขมันอิสระและสารที่มีฤทธิ์เป็นกรดโดยให้ทำปฏิกิริยาต่างๆที่อุณหภูมิที่เหมาะสม ซึ่งส่วนมากจะใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ทำให้ได้สบู่ซึ่งกำจัดออกได้โดยการเหวี่ยงแยก (อรดา, 2546) ปริมาณด่างที่ใช้ในการกำจัดกรดนี้ จะพิจารณาจากค่าปริมาณกรดไขมันอิสระที่วิเคราะห์ได้จากน้ำมันดิบ โดยสามารถหาได้จากปริมาณด่างที่จำเป็นในการทำให้เป็นกลาง ซึ่งทุกๆร้อยละ 1 ของกรดไขมันอิสระที่วิเคราะห์ได้จะต้องการด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3.18 ปอนด์ต่อน้ำหนัก 1 ตัน และควรใส่ด่างเพิ่มจากที่ใช้อีกปริมาณร้อยละ 1-10 (อรดา, 2546)

การใช้ด่างในปริมาณที่มากเกินไปอาจจะไฮโดรไลซ์ไตรกลีเซอไรด์ที่มีอยู่ทำให้ได้กรดไขมันอิสระซึ่งจำปฏิกิริยากับด่างได้สบู่มากขึ้น ทำให้สูญเสียน้ำมันบางส่วนไปได้(นิธิยา, 2529) วิธีทำให้เป็นกลางด้วยกรดที่ทำกันอาจแตกต่างกันไปตามปัจจัยที่แตกต่างกัน เช่น ชนิดของน้ำมัน ค่าความเป็นกรด เป็นต้น อธิบายถึงกระบวนการทำให้เป็นกลางว่าอาจใช้ด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ หรือโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้นร้อยละ 10-15 พ่นลงบนน้ำมันที่มีอุณหภูมิ 25.9-29.4 องศาเซลเซียส ซึ่งกวนตลอดเวลา แล้วเพิ่มอุณหภูมิจนถึง 54.4-85 องศาเซลเซียส ด่างจะทำปฏิกิริยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กับกรดไขมันอิสระในน้ำมันได้สบู่

2.2.2.3 การฟอกสี (bleaching)

การฟอกสีเป็นการแยกสารให้สีซึ่งเป็นรงควัตถุที่มีคุณสมบัติเป็นกลาง รวมทั้งสารแขวนลอย สบู่ โลหะหนัก สารประกอบพวกกำมะถัน สารพวกอัลดีไฮด์หรือคีโตนที่เกิดจากการสลายตัวของสารเปอร์ออกไซด์ที่ยังคงหลงเหลืออยู่ในน้ำมันที่ผ่านกรรมวิธีที่ทำให้เป็นกลางด้วยด่างโดยใช้สารฟอกสี (bleaching agent) (อรดา, 2546) เป็นต้น

สารฟอกสีที่นิยมใช้กัน ได้แก่ ดินฟอกสีที่เป็นกลาง ดินฟอกสีที่เป็นกรด และถ่านฟอกสีที่เป็นกรด (อรดา, 2546) เป็นต้น

สารฟอกสีที่ดีควรมีการดูดซับที่ดี มีเวลาที่ใช้ในการดูดซับต่ำ มีประสิทธิภาพการกรองที่ดีและราคาไม่แพง (อรดา, 2546)

วิธีการฟอกสีโดยทั่วไปจะปรับให้น้ำมันมีอุณหภูมิในช่วง 71.1-82.2 องศาเซลเซียส ก่อนการเติมสารฟอกสีลงไป หลังจากนั้นเร่งอุณหภูมิให้สูงขึ้นถึง 104.4-115.6 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-30 นาที จึงกรองแยกเอาสารฟอกสีออกไป (นิธิยา, 2529) การฟอกสีภายใต้สุญญากาศ (ความดัน 15 มิลลิเมตรปรอท) ใช้อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส และกรณีที่ไม่มีระบบสุญญากาศใช้อุณหภูมิเพิ่มขึ้นเป็น 99-110 องศาเซลเซียส กวนเป็นเวลา 30 นาที(Pigott, 1967 อ้างโดย อรดา, 2546) การทดลองฟอกสีน้ำมันปลาทูน่าได้ใช้ในดินฟอกสีชนิด Gallon's Earth,V ร้อยละ 3 ของน้ำหนักน้ำมันและใช้อุณหภูมิที่ 100 องศาเซลเซียส ความดัน 10 มิลลิเมตรปรอท เป็นเวลา 15 นาที (สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร, 2527)

2.2.2.4 การกำจัดกลิ่น (deodorization)

เป็นการแยกสารละลายที่เป็นสาเหตุของกลิ่นและรสชาติออกโดยใช้ไอน้ำยิ่งยวด(อุณหภูมิประมาณ 200 องศาเซลเซียส) ภายใต้ภาวะสุญญากาศเพื่อช่วยให้กรดไขมันอิสระลดลงเหลือร้อยละ 0.02-0.04 นอกจากนี้การกำจัดกลิ่นยังช่วยปรับปรุงคุณภาพด้านสีของน้ำมันได้ โดยทำให้รงควัตถุบางชนิดสลายตัวด้วยความร้อน สารให้กลิ่นในน้ำมัน ได้แก่ สารพวกอัลดีไฮด์ คีโตน และกรดไขมันที่มีมวลโมเลกุลต่ำกว่ากรดไมริสติก (C14) ซึ่งระเหยง่าย (อรดา, 2546) ปริมาณไอน้ำและเวลาที่ใช้ในการกำจัดกลิ่นขึ้นอยู่กับปริมาณน้ำมันแต่ละชุด และขนาดของสุญญากาศที่ใช้ โดยทั่วไปมักใช้สุญญากาศที่ความดัน 6-8 มิลลิเมตรปรอท ใช้ไอน้ำร้อยละ 2-3 ของน้ำหนักน้ำมัน นานประมาณ 2-5 ชั่วโมง (อรดา, 2546)

สิ่งที่ควรระมัดระวังในการกำจัดกลิ่น คือ การทำให้น้ำมันได้รับความร้อนที่ระดับ 200 องศาเซลเซียสเป็นเวลานานเกินไปอาจทำให้สายโซ่คาร์บอนของกรดไขมันในไตรกลีเซอไรด์เกิดเป็นโพลิเมอร์ชนิดวงแหวน ดังนั้นการใช้อุณหภูมิไอน้ำในการกำจัดกลิ่นที่ควรเลือกใช้ คือ อุณหภูมิสูงและเวลาที่สั้น โดยอุณหภูมิสูงที่สุดที่ใช้ไม่ควรเกิน 250 องศาเซลเซียส เนื่องจากที่ความร้อนระดับนี้อาจทำลายแคโรทีนอยด์ในน้ำมันได้ (อรดา, 2546)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2.5 การกำจัดพวกกลีเซอไรด์ที่มีจุดหลอมเหลวสูง (winterization)

เป็นกระบวนการที่ทำให้ไขมันและน้ำมันที่มีจุดหลอมเหลวสูงเกิดการแข็งตัวเกิดผลึกออกมาเนื่องจากไขมันและน้ำมันประกอบด้วยไตรกลีเซอไรด์หลายๆชนิดมารวมกัน บางชนิดมีจุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิสูง และบางชนิดก็มีจุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิต่ำ เมื่อลดอุณหภูมิถึง 5 องศาเซลเซียส พวกที่มีจุดหลอมเหลวสูงจะเกิดการแข็งตัวเป็นผลึกที่กรองออกได้ ทำได้โดยการนำน้ำมันใส่ในภาชนะที่มีขนาดใหญ่เก็บไว้ในห้องเย็นที่มีอุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิตู้เย็นเล็กน้อย น้ำมันหลังจากทำ winterization มีโอกาสเกิด oxidative rancidity ได้ง่ายควรมีการเติมสารต้านออกซิเดชัน (อรดา, 2546)

2.3 น้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือน

น้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนเป็นทางเลือกที่มีแนวโน้มในการนำมาใช้ผลิตไบโอดีเซลเพราะเป็นวัตถุดิบที่มีราคาถูกและเป็นการหลีกเลี่ยงค่าใช้จ่ายในการกำจัดและการบำบัดน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือน นอกจากนี้ยังช่วยลดความจำเป็นในการใช้พื้นที่เพาะปลูกพืชเพื่อนำมาผลิตไบโอดีเซล โดยการเก็บรวบรวมน้ำมันเหลือใช้จากการประกอบอาหารซึ่งในความเป็นจริงแล้วปริมาณน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนที่สามารถนำมาผลิตไบโอดีเซลในยุโรปมีปริมาณค่อนข้างสูง คุณสมบัติของน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนมีการนำมาตรวจวัดปริมาณกรดไขมันอิสระ ปริมาณน้ำ ค่าไอโอดีน ค่าสปอนนิฟิเคชัน และค่าเปอร์ออกไซด์ แสดงดังตารางที่ 2.2 ปริมาณน้ำมันเหลือใช้ที่เก็บรวบรวมในยุโรปเพื่อนำกลับมาใช้ใหม่นั้นมีประมาณ 0.7–1.0 ล้านตัน/ปี ซึ่งแต่เดิมน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนเหล่านี้ใช้เป็นสารเติมแต่งในอาหารสัตว์แต่เนื่องจากมีสารอันตรายเป็นจำนวนมากเกิดขึ้นในน้ำมันขณะทอดอาหาร ในปี ค.ศ.2002 สหภาพยุโรปจึงได้มีการสั่งห้ามไม่ให้นำน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนมาใส่ลงในอาหารสัตว์อีก ส่วนใหญ่สารพิษในน้ำมันเหลือใช้เกิดจากการออกซิเดชันของกรดไขมันโดยเฉพาะอย่างยิ่งกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว สารเหล่านี้เป็นองค์ประกอบที่มีขั้วเป็นส่วนที่ชอบน้ำซึ่งอยู่ในกลีเซอรอล ซึ่งในระหว่างขั้นตอนของการผลิตไบโอดีเซลจะมีความเข้มข้นขึ้นในระหว่างขั้นตอนการทำให้กลีเซอรอลบริสุทธิ์ ซึ่งส่วนประกอบของกรดไขมันของน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนแสดงดังตารางที่ 2.3 ดังนั้นการใช้น้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนเป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซลเป็นการลดสารตกค้างที่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมและยังเป็นการลดค่าใช้จ่ายในการบำบัดของเสียอีกด้วย

การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนได้มีการศึกษากันมาก่อนหน้านี้แล้ว ซึ่งได้มีการศึกษาการใช้ตัวเร่งด่างในปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน ตัวเร่งด่างซึ่งเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาพื้นฐาน เช่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ โพแทสเซียม และโซเดียมเมทอกไซด์ ซึ่งเป็นที่รู้จักกันดีในปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของน้ำมันพืชหรือไขมันสัตว์โดยทั่วไป อย่างไรก็ตามการใช้น้ำมันพืชในปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันจะทำให้เกิดผลิตภัณฑ์สบู่จึงต้องมีการกำจัดกรดไขมันอิสระในน้ำมันพืชก่อน ร้อยละของกรดไขมันอิสระที่เพิ่มขึ้นในน้ำมันพืชเกิดจากการทำปฏิกิริยาไฮโดร-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไลซิสของไตรกลีเซอไรด์ในระหว่างการทอดอาหาร และการเกิดสบู่นั้นเป็นปฏิกิริยาที่ไม่พึงประสงค์เนื่องจากทำปฏิกิริยากับตัวเร่ง ทำให้ลดผลได้ของไบโอดีเซลและเกิดความซับซ้อนในขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์อีกด้วย ด้วยเหตุนี้จึงมีการใช้ตัวเร่งกรดในปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสของน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือน ตัวเร่งกรดที่ใช้ในปฏิกิริยา เช่น กรดซัลฟูริก กรดไฮโดรคลอริก หรือกรดซัลโฟนิก ซึ่งสามารถหลีกเลี่ยงการเกิดสบู่ได้โดยการใช้ตัวเร่งเหล่านี้ จากงานวิจัยที่ใช้น้ำมันปาล์มเหลือใช้ในปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันเพื่อผลิตไบโอดีเซล นอกจากนี้ใช้ตัวเร่งกรดในกรดไขมันอิสระของปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันเพื่อผลิตเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันซึ่งเป็นการเพิ่มผลได้ของไบโอดีเซล แต่อย่างไรก็ตามตัวเร่งกรดนั้นเร่งการเกิดปฏิกิริยาได้ช้ากว่าตัวเร่งที่เป็นด่าง ซึ่งเป็นตัวเร่งพื้นฐานและยังต้องการอุณหภูมิและความดันที่สูง บางงานวิจัยมีการใช้ทั้งตัวเร่งกรดและตัวเร่งด่างในปฏิกิริยาเมทาโนไลซิส ในกรณีของตัวเร่งที่เป็นกรดนั้นนำมาใช้กับกรดไขมันอิสระในตอนเริ่มต้นของการปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันและในขั้นตอนต่อมาสามารถใช้ตัวเร่งที่เป็นด่างกับไตรกลีเซอไรด์ในปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน อย่างไรก็ตามกระบวนการ 2 ขั้นตอนนี้ยังมีปัญหาในการกำจัดตัวเร่งออกจากปฏิกิริยา(Bautista และคณะ, 2009)

ตารางที่ 2.2 คุณสมบัติของน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือน

Property	Unit	Value
Free fatty acid content	%wt	0.76
Water content	%wt	0.17
Saponification value	mg KOH g^{-1}	183.4
Iodine value	g 10^{-2} g^{-1}	108.4
Peroxide value	meq kg^{-1}	16.4
Boron content	mg kg^{-1}	3.7
Sodium content	mg kg^{-1}	2.6
Phosphorus content	mg kg^{-1}	4.8

ที่มา: Bautista และคณะ , 2009

น้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ใช้ในการผลิตไบโอดีเซลซึ่งเพื่อเป็นการลดต้นทุนในการผลิต การใช้น้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนเป็นวัตถุดิบนั้นเป็นตัวเลือกที่ดีเนื่องจากมีราคาถูกกว่าน้ำมันพืชบริสุทธิ์ กระบวนการที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือน คือใช้โพแทสเซียมฟลูออไรด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ราคาของน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนถูกว่าราคาน้ำมันพืชบริสุทธิ์ประมาณ 2-3 เท่า การเปลี่ยนน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนให้เป็นเมทิลเอสเทอร์นั้นใช้กระบวนการทรานส์เอสเทอริฟิเคชันเพื่อลดปริมาณของน้ำหนักโมเลกุลลง 1ใน3 สามารถลดความหนืดได้ 1ใน7 ช่วยลดจุดวาบไฟลงเล็กน้อย เพิ่มความผันผวนเล็กน้อย และช่วยลดจุดไหลเท การผลิตน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนเป็นสิ่งที่ท้าทายเนื่องจากประกอบด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดไขมันอิสระและน้ำ จำนวนน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนในแต่ละประเทศมีจำนวนมากและแตกต่างกันซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำมันพืชที่ใช้ในแต่ละประเทศซึ่งคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำมันก่อนที่จะนำมาใช้ แสดงดังตารางที่ 2.4 ความท้าทายในการจัดการกับปัญหาที่เกิดจากน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนเนื่องจากเกิดการปนเปื้อนกับสิ่งแวดล้อมในน้ำ และดิน ถึงแม้ว่าจะมีการนำน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนส่วนหนึ่งมาใช้ในการผลิตสบู่ซึ่งเป็นส่วนช่วยหลักในการไม่ต้องปล่อยลงในสิ่งแวดล้อม น้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนจำนวนมากถูกทิ้งลงในแม่น้ำและใช้การฝังกลบในดิน ก่อให้เกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม จึงได้มีการนำน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนมาใช้ในการผลิตไบโอดีเซลเพื่อเป็นเชื้อเพลิงทดแทนน้ำมันปิโตรเลียมที่ใช้ในเครื่องยนต์ดีเซลซึ่งมีข้อดีคือเป็นการลดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนได้มีการจดสิทธิบัตรในเชิงพาณิชย์เพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิงทดแทนน้ำมันดีเซลในยุโรปและสหรัฐอเมริกา ทุก ๆ ปีมีน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนหลายล้านตันถูกเก็บรวบรวมและนำมาใช้ได้หลากหลายรูปแบบที่แตกต่างกันทั่วโลก นี่คือที่มาของพลังงานที่ไม่มีที่สิ้นสุด จำนวนของน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนที่ถูกเก็บรวบรวมในยุโรปประมาณ 0.7-1.0 ล้านตันต่อปี ร้านอาหารในสหรัฐอเมริกาเก็บรวบรวมน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนประมาณ 3 พันล้านแกลลอนต่อปี ในประเทศแคนาดามีน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนประมาณ 135,000 ตันต่อปี ประเทศตุรกีมีน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนมากกว่า 350,000 ตันต่อปี และในประเทศจีนมีการเก็บรวบรวมน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนเพื่อนำมาผลิตไบโอดีเซลประมาณ 80,000 ตันต่อปี(Balat และ Balat, 2010)

ตารางที่ 2.3 ส่วนประกอบของกรดไขมันในน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือน

Fatty acid		Composition (%wt)
Lauric	(C12:0)	n.d.
Myristic	(C14:0)	0.13
Palmitic	(C16:0)	8.80
Stearic	(C18:0)	4.20
Oleic	(C18:1)	45.15
Linoleic	(C18:2)	39.74
Linolenic	(C18:3)	0.20
Arachidic	(C20:0)	0.43
Gadoleic	(C20:1)	n.d.
Behenic	(C22:0)	0.75
Erucic	(C22:1)	0.30
Lignoceric	(C24:0)	0.30

Note: n.d.: not detected.

ที่มา: Bautista และคณะ, 2009

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.4 คุณสมบัติของน้ำมันพืชและน้ำมันเชื้อเพลิงชีวภาพบางชนิดที่ใช้ในการผลิตไบโอดีเซล

Type of oil	Species	Main chemical composition (fatty acid composition wt.%)	Density (g/cm^3)	Flash point (°C)	Kinematic viscosity (cst, at 40 °C)	Acid value (mg KOH/g)	Heating value (MJ/kg)	References
Vegetable oil								
Edible oil	Soybean	C16:0, C18:1, C18:2	0.91	254	32.9	0.2	39.6	[6,15,18,19]
	Rapeseed	C16:0, C18:0, C18:1, C18:2	0.91	246	35.1	2.92	39.7	[3,8,15,18]
	Sunflower	C16:0, C18:0, C18:1, C18:2	0.92	274	32.6	–	39.6	[15,18,20]
	Palm	C16:0, C18:0, C18:1, C18:2	0.92	267	39.6[a]	0.1	–	[2,11,18]
	Peanut	C16:0, C18:0, C18:1, C18:2, C20:0, C22:0	0.90	271	22.72	3	39.8	[9,13,18,20]
	Corn	C16:0, C18:0, C18:1, C18:2, C18:3	0.91	277	34.9[a]	–	39.5	[17,18]
	Camelina	C16:0, C18:0, C18:1, C18:2 C18:3, C20:0, C20:1, C20:3	0.91	–	–	0.76	42.2	[5,21]
	Canola	C16:0, C18:0, C18:1, C18:2, C18:3			38.2	0.4		[8,10]
	Cotton	C16:0, C18:0, C18:1, C18:2	0.91	234	18.2		39.5	[17,18]
	Pumpkin	C16:0, C18:0, C18:1, C18:2	0.92	>230	35.8	0.55	39	[22]
Non-edible oil	Jatropha curcas	C16:0, C16:1, C18:0, C18:1, C18:2	0.92	225	29.4	38	38.5	[4,7,12]
	Pongamina pinnata	C16:0, C18:0, C18:1, C18:2, C18:3	0.91	205	27.8	5.05	34	[14]
	Sea mango	C16:0, C18:0, C18:1, C18:2	0.92		29.6	0.24	40.86	[11]
	Palanga	C16:0, C18:0, C18:1, C18:2	0.90	221	72.0	44	39.25	[14]
	Tallow	C14:0, C16:0, C16:1, C17:0, C18:0, C18:1, C18:2	0.92	–	–	–	40.05	[17,23]
	Nile tilapia	C16:0, C18:1, C20:5, C22:6, other acids	0.91	–	32.1[b]	2.81	–	[16]
	Poultry	C16:0, C16:1, C18:0, C18:1, C18:2, C18:3	0.90	–	–	–	39.4	[23,24]
Others	Used cooking oil	Depends on fresh cooking oil	0.90	–	44.7	2.5	–	[10]

[a] Kinematic viscosity at 38 °C, mm^2/s.
[b] Kinematic viscosity at 37 °C, mm^2/s.

ที่มา: Leung และคณะ , 2009

2.3.1 การปรับสภาพ

น้ำมันพืชได้มาจากเมล็ดพืชน้ำมันที่นำมาใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารซึ่งสามารถบริโภคได้ ปัจจุบันได้มีการนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการแปลงเป็นพลังงานเนื่องจากความต้องการของพลังงานที่สูงขึ้น สามารถให้ค่าพลังงานประมาณร้อยละ 90 ของน้ำมันดีเซลและมีการปล่อยก๊าซไนโตรเจนและกำมะถันลดลง การใช้พื้นที่ดินมาใช้ในการเพาะปลูกพืชน้ำมันนั้นจะส่งผลให้ราคาอาหารเพิ่มขึ้นและแหล่งอาหารลดน้อยลง มีรายงานว่าร้อยละ 80 ของน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนจะถูกกำจัดโดยการปล่อยลงในท่อระบายน้ำมีน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนเพียงแค่ร้อยละ 20 เท่านั้นที่ถูกนำมาใช้ใหม่เพื่อผลิตเชื้อเพลิงทางชีวภาพ

ในประเทศญี่ปุ่นน้ำมันพืชจากพืชน้ำมันต่าง ๆ ที่มีการนำมาบริโภคกันมากคือน้ำมันคาโนลาหรือน้ำมันเมล็ดเรฟเป็นน้ำมันหลักที่ใช้ในการบริโภคประมาณร้อยละ 40 ตามมาด้วยน้ำมันถั่วเหลืองร้อยละ 30 และน้ำมันปาล์มร้อยละ 15 และยังมีน้ำมันอื่น ๆ อีกที่นำมาบริโภค เช่น ข้าวโพด ข้าว งา มะพร้าว คำฝอย และน้ำมันมะกอก น้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนส่วนใหญ่จะกำจัดทิ้งโดยตรงโดยการปล่อยลงในท่อระบายน้ำ อย่างไรก็ตามในปัจจุบันได้มีการรับรู้แล้วว่าเป็นการทำลายสิ่งแวดล้อมจึงได้มีการอาศัยความร่วมมือจากชุมชนในการเก็บรวบรวมน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนเพื่อนำมาพัฒนาและประยุกต์ใช้ น้ำมันพืชที่เหลือใช้จากครัวเรือนจะถูกรวบรวมเก็บลงในถังขยะโดยใช้กระดาษหนังสือพิมพ์เป็นตัวดูดซับหรือใช้ตัวดักจับน้ำมันอื่นๆ ได้มีการแปลงน้ำมันพืชเหลือใช้จากครัวเรือนเพื่อใช้ในการผลิตไบโอดีเซลสำหรับใช้ในยานพาหนะของรัฐบาล ใช้ในรถบรรทุกเก็บขยะและรถโดยสารของเมืองอีกด้วย การผลิตพลังงานทดแทนโดยใช้น้ำมันเหลือใช้เป็นวัตถุดิบเป็นทางออกในการแก้ไขปัญหาสิ่งแวดล้อมและการจัดการในการกำจัดของเสีย

น้ำมันพืชเป็นทรัพยากรชีวมวลที่ได้มีการศึกษาและใช้เป็นวัตถุดิบทางเลือกที่เป็นไปได้ในการใช้แปลงเป็นพลังงานหมุนเวียนนับตั้งแต่สมัยสงครามโลกครั้งที่ 1 แต่เนื่องจากความผันผวนต่ำและความหนืดสูงจึงถูกใช้ในเครื่องยนต์ดีเซลได้จำกัด มีการแนะนำ 4 วิธีในการแก้ปัญหาเรื่องความหนืด คือ 1. การเจือจาง 2. ไมโครอิมัลซิไฟเออร์ 3. ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน 4. ไพโรไลซิส ถึงแม้ว่ากระบวนการทางเคมีปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันจะเป็นที่ยอมรับและนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายเพื่อใช้ในการผลิตเชื้อเพลิงที่มีคุณสมบัติเหมือนดีเซลหรือไบโอดีเซล การใช้อุณหภูมิที่สูงในการทำปฏิกิริยาสามารถให้รูปแบบผลิตภัณฑ์ที่หลากหลาย เช่น ของเหลว ก๊าซ และของแข็ง ทำให้เป็นทางเลือกที่น่าสนใจในการผลิตพลังงานที่มีความหนาแน่นสูง ดังนั้นกระบวนการทางเคมีที่ใช้อุณหภูมิสูงโดยเฉพาะอย่างยิ่งไพโรไลซิสจึงได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก

วัตถุประสงค์หลักของการศึกษาคือการประเมินผลทั้ง 2 ระบบทางเลือกเพื่อหาสภาวะและระบบที่เหมาะสมเพื่อเก็บรวบรวมและใช้ประโยชน์จากน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนสำหรับการเปลี่ยนเป็นเชื้อเพลิงดีเซลเพื่อเป็นแหล่งพลังงานในการผลิตไฟฟ้า (Singhabhandhu และ Tezuka,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2010)

คุณสมบัติของน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนจะมีความแตกต่างกันบ้างจากน้ำมันพืชสดแต่ละชนิดเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและทางเคมี (สาเหตุหลักจากปฏิกิริยาออกซิเดชันและปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส) ที่เกิดขึ้นระหว่างการทอด (Cvengros และ Cvengrosova, 2004 ; Tomasevic และ Siler-Marinkovic, 2003).และในงานวิจัยต่าง ๆ (Cvengros และ Cvengrosova, 2004 ;Van Kasteren และ Nisworo, 2007) มีการรายงานจำนวนมากว่าน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนมีองค์ประกอบของกรดไขมันอิสระเป็นจำนวนมากพร้อมกับค่าความชื้นที่ต้องการการกำจัดออกเพื่อป้องกันการเกิดสบู่เนื่องจากกรดไขมันอิสระของน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนมีความไวต่อตัวเร่งปฏิกิริยาที่เป็นด่าง (Leung และคณะ, 2006)

การวิเคราะห์และการเปรียบเทียบคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของน้ำมันคาโนลาและน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนที่มีการนำมาปรับสภาพโดยการกรองและการกำจัดน้ำ ดังตารางที่ 2.5 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนมีค่าความเป็นกรดสูงกว่าน้ำมันคาโนลาเนื่องจากประกอบด้วยกรดไขมันอิสระขนาดใหญ่ แสดงให้เห็นว่าค่าความชื้นของแอลคิลเอสเทอร์สุดท้าย (ไบโอดีเซล) อาจก่อให้เกิดการกัดกร่อนของเครื่องยนต์ ดังนั้นการปรับสภาพน้ำมันจึงมีความจำเป็นต่อน้ำมันที่มีค่ากรดไขมันอิสระและค่าความชื้นสูง ในระหว่างการสังเคราะห์ไบโอดีเซล (Freeman และPryde, 1982 อ้างโดย อัชญณา, 2545) ผลของค่ากรดไขมันอิสระและปริมาณความชื้นในกระบวนการผลิตและมีรายงานว่าค่าของกรดของน้ำมันควรจะน้อยกว่า 1 มิลลิกรัมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์/กรัมของน้ำมัน และน้ำมันควรจะไม่มีน้ำ(ความชื้นน้อยกว่าร้อยละ0.3) (Cvengros และ Cvengrosova , 2004) การใช้ประโยชน์ของน้ำมันและไขมันจากการทอดอาหารในการผลิตเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน ชีวมวลพลังงานชีวภาพ การใช้น้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนที่ควรได้รับการปรับสภาพเพื่อให้มีคุณภาพ ต้องมีจำนวนความเป็นกรดมากกว่า 3 มิลลิกรัมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์/กรัมของน้ำมัน และควรมีปริมาณน้ำมากถึงร้อยละ 0.1 (โดยน้ำหนัก) เพื่อประสบความสำเร็จในกระบวนการผลิตเมทิลเอสเทอร์ โดยใช้วิธีการมาตรฐานในการใช้ตัวเร่งด่างในปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน ดังนั้นปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน โดยการใช้ด่างเป็นตัวเร่งสามารถใช้ได้กับน้ำมันที่มีค่าความเป็นกรดต่ำ (น้อยกว่า 2) และมีปริมาณความชื้นจำนวนน้อยมาก มิฉะนั้นปฏิกิริยาเอสเทอร์ริฟิเคชันที่เป็นกรดจะดำเนินการตามปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันที่เป็นด่าง

การใช้ประโยชน์ของน้ำมันหรือไขมันที่ใช้ทอดอาหารนั้นในการผลิตเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน กระบวนการทั่วไปของการปรับสภาพน้ำมันที่ใช้ทอดอาหาร (ยูเอฟโอ) ประกอบด้วยการรวมกันของการทำความสะอาดเชิงกลด้วยน้ำและการปรับสภาพทางเคมีเพื่อลดกรดและนำเรซินออก ในกระบวนการนี้น้ำมันจากการทอดอาหารจะถูกแยกออกครั้งแรกในรูปของของแข็งและของเหลว(จำนวนค่าความเป็นกรดลดลง) ส่วนกระบวนแยกอื่น ๆ นั้นแยกต่างหาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนที่เป็นของเหลวของน้ำมันจากการทอดอาหาร (ยูเอฟโอ) นำมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสและล้างด้วยน้ำหรือไอน้ำที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส (ร้อยละ 5 โดยน้ำหนักของน้ำมันยูเอฟโอ) มีการรายงานว่าการปรับสภาพด้วยไอน้ำจะช่วยในการลดความเป็นกรด จำนวนเปอร์ออกไซด์และปริมาณน้ำในน้ำมันยูเอฟโอ เนื่องจากการผสมสิ่งเจือปนที่ละลายน้ำและไม่ละลายในน้ำจะได้รับการแยกออกจากกันในขั้นตอนนี้ การลดลงของค่ากรดไขมันอิสระและจำนวนฟอสโฟลิปิดในน้ำมันยูเอฟโอซึ่งจะเป็นกลางกับตัวเร่งที่เป็นด่างทำให้เกิดรูปของสบู่จึงต้องมีการกำจัดฟอสโฟลิปิดออก การกลั่นคือกระบวนการที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดกรดไขมันอิสระออกจากน้ำมันยูเอฟโอ ควรมีค่าระหว่าง 0.5-1 มิลลิกรัมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์/กรัม นอกจากการกรองแล้วยังได้มีการพัฒนาโดยใช้วิธีการอื่นเนื่องจากไม่สามารถใช้การกรองได้ เช่น การสกัด โดยใช้ความมีขั้วของของเหลวโดยใช้ปฏิกิริยาหรือตัวเร่งกรดในปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของน้ำมันเหลือใช้กับเมทานอลภายใต้สภาวะของการปรับสภาพน้ำมันยูเอฟโอที่มีจำนวนกรดมากกว่า 30 มิลลิกรัมโพแทสเซียม/กรัม และประกอบด้วยน้ำเป็นจำนวนมาก ก่อนที่จะนำมาทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันกับด่าง โพลีเมอร์ในน้ำมันยูเอฟโอสามารถกำจัดได้โดยการดูดซับกับดินหรือผงถ่านและนำไปทำแห้งโดยการกรองแบบสุญญากาศ (Cvengros และ Cvengrosova , 2004)

ตารางที่ 2.5 คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของน้ำมันทอดอาหารที่ใช้แล้ว (ยูเอฟโอ) และน้ำมันคาโนลาซึ่งตัวอย่างน้ำมันที่นำมาทดลองนั้นได้รับการปรับสภาพโดยการกรองและการกำจัดน้ำก่อนนำมาทำการวิเคราะห์

Property	UFO[a]	Neat canola oil
Acid value (mg KOH/g)	2.1	<0.5
Kinematic viscosity at 40 °C (cSt)	35.3	30.2
Fatty acid composition (wt%)		
Myristic(C14:0)	0.9	0.1
Palmitic(C16:0)	20.4	5.5
Palmitoleic(C16:1)	4.6	1.1
Stearic(C18:0)	4.8	2.2
Oleic(C18:1)	52.9	55
Linoleic(C18:2)	13.5	24
Linolenic(C18:3)	0.8	8.8
Arachidic(C20:0)	0.12	0.7
Eicosenic(C20:1)	0.84	1.4
Behenic(C22:0)	0.03	0.5
Erucic(C22:1)	0.07	0.4
Tetracosanic(C24:0)	0.04	0.3
Mean molecular weight (g/mol)	856	882

ที่มา: Banerjee และ Chakraborty , 2009

ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องปรับสภาพทางกายภาพของน้ำมันโดยการกรองเพื่อกำจัดสารแขวนลอยต่าง ๆ ออกและทำการล้างซ้ำด้วยน้ำเพื่อเป็นการแยกสารเจือปนที่สามารถละลายในน้ำได้ การใช้กระบวนการทางเคมีในปฏิกิริยาเอสเทอร์ริฟิเคชันในสภาวะที่เป็นกรดและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การกรองเพื่อเป็นการลดขนาดของกรดไขมันอิสระให้มีขนาดเล็กลง การทำน้ำมันให้แห้งสมารถทำได้โดยการดูดซึมที่เหมาะสมหรือใช้การดูดซับ หรือการกรองโดยใช้เครื่องกรองสุญญากาศที่มีคุณภาพระดับอุตสาหกรรม (Banerjee และ Chakraborty, 2009)

น้ำมันพืช ไขมันสัตว์ หรือจาระบีที่สมารถนำกลับมาใช้ได้สามารถใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซลซึ่งประกอบไปด้วย ไตรกลีเซอไรด์ กรดไขมันอิสระ น้ำ และสารปนเปื้อนอื่น ๆ ในสัดส่วนที่แตกต่างกัน น้ำมันพืชบางชนิดมีฟอสโฟลิปิดที่ต้องถูกกำจัดออก ฟอสโฟลิปิดสามารถผลิตเลซิตินและสารอิมัลซิฟายเออร์ มีวิธีการกำจัดฟอสโฟลิปิดคือการแยกยางเหนียว (degumming) สามารถใช้วิธีที่แตกต่างกัน เช่น การกรองโดยใช้เมมเบรน วิธีไฮเดรชัน การใช้กรดในการแยกยางเหนียว (acid micelles deguming) และการสกัด ควรทำการศึกษาลักษณะของน้ำมันก่อนนำมาทำการกำจัดฟอสโฟลิปิดเพื่อจะได้เลือกวิธีการให้เหมาะสมกับลักษณะของน้ำมัน สามารถแยกน้ำมันโดยการกรองผ่านเมมเบรนตามน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยหรือตามขนาดอนุภาคของฟอสโฟลิปิด วิธีการแยกสารเหนียวสามารถแก้ปัญหานี้ได้โดยกระบวนการ 2 ขั้นตอนที่ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ วิธีการนี้จึงดีกว่าเนื่องจากกระบวนการไม่ซับซ้อนมาก ในกระบวนการไฮเดรชันนั้น ฟอสโฟลิปิดมีคุณสมบัติในการชอบน้ำสามารถทำได้โดยการเติมน้ำร้อนในขณะที่มีการกวนน้ำมัน การละลายของฟอสโฟลิปิดจะลดลงดังนั้นจึงสามารถแยกฟอสโฟลิปิดออกจากน้ำมันได้โดยวิธีธรรมชาติ วิธีไฮเดรชันเป็นกระบวนการอย่างง่าย ใช้งานง่ายและให้ค่าผลได้สูง แต่ไม่สามารถนำฟอสโฟลิปิดที่ไม่ละลายน้ำออกได้โดยวิธีการนี้ การนำฟอสโฟลิปิดที่ไม่ละลายน้ำออกนั้น โดยการเติมกรดซิตริกหรือกรดฟอสฟอริกในน้ำมันที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เรียกว่าวิธีการไมเซลล์ ดีกัมมิ่ง (micelles degumming) วิธีนี้ใช้เวลาในการทำปฏิกิริยาประมาณ 5 นาที ตามด้วยวิธีการ neutralization คือการทำให้เป็นกลางโดยการเจือจางน้ำด่าง วิธีการสกัดที่จุดวิกฤติ คือ การแยกฟอสโฟลิปิดออก นอกจากนี้อาจใช้การกลั่นกับคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการแยกกรดไขมันอิสระและเปอร์ออกซิเดชันที่อยู่ในน้ำมัน แต่อย่างไรก็ตามกระบวนการนี้ต้องการความดันสูงและประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมขนาดใหญ่

กรดไขมันอิสระสามารถกำจัดออกในขั้นตอนการกลั่นและกรดไขมันอิสระส่วนเกินสามารถกำจัดออกได้ในรูปของสบู่ในขั้นตอนการปรับสภาพ นอกจากนี้วิธีการทำให้บริสุทธิ์ด้วยไอน้ำ (deoderization) ก็เป็นอีกขั้นตอนหนึ่งที่มีความสำคัญ ขั้นตอนคือ ไอน้ำที่ความดัน 1-6 มิลลิเมตรปรอทถูกฉีดในน้ำมันที่อุณหภูมิ 490-550 เควิน เพื่อเป็นการกำจัดกรดไขมันอิสระ แอลดีไฮด์ ไฮโดรคาร์บอนไม่อิ่มตัว และคีโตน ซึ่งทั้งหมดนี้ก่อให้เกิดกลิ่นและรสชาติที่ไม่พึงประสงค์ในน้ำมัน ต่อไปมีการกำหนดอัตราร้อยละของกรดไขมันอิสระในน้ำมันหรือไขมันตรวจสอบโดยการไทเทรต ถ้าร้อยละของกรดไขมันอิสระมากกว่า 2.5 ขั้นตอนของการปรับสภาพน้ำมันเพื่อลดกรดไขมันอิสระนั้นจึงมีความสำคัญ ขั้นตอนการปรับสภาพน้ำมันเพื่อลดกรดไขมันอิสระได้มีการกำหนดปริมาณของโซดาไฟในขั้นตอนการทำให้เป็นกลาง (neutralization)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

2.3.2 การปรับสภาพวัตถุดิบโดยใช้กรด

วิธีการปรับสภาพน้ำมันจำนวนมากเพื่อเป็นการลดปริมาณกรดไขมันอิสระที่มีจำนวนมากในน้ำมันรวมทั้งการกลั่นด้วยไอน้ำ การสกัดโดยการใช้แอลกอฮอล์และการใช้ตัวเร่งกรดในปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน อย่างไรก็ตามวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำเพื่อเป็นการลดจำนวนกรดไขมันอิสระซึ่งเป็นวิธีการที่ต้องการอุณหภูมิสูงและได้ประสิทธิภาพต่ำ เนื่องจากข้อจำกัดความสามารถของกรดไขมันที่ละลายในแอลกอฮอล์วิธีการสกัดโดยแอลกอฮอล์เป็นกระบวนการที่ต้องการตัวทำละลายจำนวนมากและเป็นกระบวนการที่มีความซับซ้อน เมื่อเปรียบเทียบกับ 2 วิธี วิธีการใช้ตัวเร่งกรดในปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันนั้นเป็นวิธีการที่ดีที่สุดในการเปลี่ยนกรดไขมันอิสระเป็นไบโอดีเซล การปรับสภาพทั่วไปโดยใช้ตัวเร่งที่เป็นกรด (กรดซัลฟูริก) ในปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมันอิสระและเมทานอลนั้น ตัวเร่งสามารถใช้ตัวเร่งกรดที่เป็นเนื้อเดียวและตัวเร่งกรดในรูปของของแข็ง ตัวเร่งกรดในรูปของของแข็งจะมีข้อได้เปรียบในขั้นตอนการขจัดโดยใช้การแยก ความเป็นพิษ และปัญหาต่อสิ่งแวดล้อมแต่ปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นได้ช้ามาก ตามที่ได้กล่าวไว้ก่อนหน้านี้กรดไขมันอิสระจะถูกแปลงเป็นไบโอดีเซลได้โดยตรงโดยใช้ตัวเร่งกรดในปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันและต้องการการกำจัดน้ำออก ถ้าค่ากรดในน้ำมันหรือไขมันมีค่าสูง เพียงแค่ขั้นตอนเดียวของการเกิดปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันในการปรับสภาพน้ำมันไม่สามารถลดกรดไขมันอิสระได้เพราะเกิดน้ำเป็นจำนวนมากในระหว่างการทำปฏิกิริยา ในกรณีของการผสมแอลกอออล์และกรดซัลฟิวริกเพิ่มลงไปในน้ำมันหรือไขมันจำนวน 3 ครั้ง (3 ขั้นตอนก่อนปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน) กระบวนการนี้ต้องการเวลาประมาณ 2 ชั่วโมงและต้องกำจัดน้ำออกโดยใช้กรวยแยกก่อนที่จะเพิ่มส่วนผสมลงในน้ำมันหรือไขมันสำหรับการเกิดปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันอีกครั้ง นอกจากนี้บางงานวิจัยได้มีการลดอัตราร้อยละของกรดไขมันอิสระโดยใช้เรซินในการแลกเปลี่ยนไอออนที่เป็นกรด การใช้เรซินในการแลกเปลี่ยนไอออนที่เป็นกรดแก่สามารถใช้ในปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมันอิสระในน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนแต่อาจเกิดปัญหาในการสูญเสียกิจกรรมของตัวเร่ง

วิธีการลดกรดไขมันอิสระโดยใช้ไอโอดีนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเพื่อเปลี่ยนกรดไขมันอิสระเป็นไบโอดีเซลนั้น มีข้อได้เปรียบคือตัวเร่ง (ไอโอดีน) สามารถนำกลับมาใช้ได้อีกหลังปฏิกิริยา เอสเทอริฟิเคชัน พบว่าการทดสอบภายใต้สภาวะที่เหมาะสม คือ ปริมาณไอโอดีนร้อยละ 1.3 โดยน้ำหนักของน้ำมัน อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของเมทานอลต่อน้ำมันคือ 1:75 ระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาคือ 3 ชั่วโมง ซึ่งสามารถลดกรดไขมันอิสระให้มีค่าน้อยกว่าร้อยละ 2

วิธีการใหม่อีกวิธีในการปรับสภาพน้ำมันคือการเพิ่มกลีเซอรอลในวัตถุดิบที่เป็นกรดและให้ความร้อนอุณหภูมิสูงประมาณ 200 องศาเซลเซียส ใช้ตัวเร่ง เช่น ซิงค์คลอไรด์ กลีเซอรอลจะทำปฏิกิริยากับกรดไขมันอิสระในรูปของโมโน- และไดกลีเซอไรด์ จากนั้นค่าของกรดไขมันอิสระจะลดต่ำลงและสามารถผลิตไบโอดีเซลได้โดยใช้ตัวเร่งที่เป็นด่าง ข้อได้เปรียบของวิธีการนี้คือไม่จำเป็นต้องใช้แอลกอฮอล์ในระหว่างการปรับสภาพและน้ำที่เกิดจากปฏิกิริยาสามารถระเหย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

117334

ออกได้ทันที อย่างไรก็ตามวิธีการนี้ต้องการอุณหภูมิสูงและใช้เวลานานในการเกิดปฏิกิริยา (Leung และคณะ,2009)

2.4 ไบโอดีเซล

ไบโอดีเซลเป็นที่รู้จักกันมานานมากแล้ว ก่อนสงครามโลกครั้งที่ 2 แอฟริกาใต้ได้ใช้เชื้อเพลิงชนิดขับเคลื่อนยานยนต์หนัก ภายหลังจากวิกฤตน้ำมันเมื่อปลายทศวรรษที่ 70 หลายหน่วยงานในภาครัฐและสถาบันการศึกษาของกลุ่มประเทศผู้ใช้น้ำมัน ได้ทำการวิจัยและพัฒนาคุณภาพเชื้อเพลิงชนิดนี้ จนกระทั่งสามารถผลิตในเชิงพาณิชย์ได้ (กรมทรัพยากรธรณี, 2547)

ด้วยเหตุผลทางสิ่งแวดล้อมและเศรษฐกิจภายในประเทศ ทำให้มีการใช้ไบโอดีเซลไปทั่วโลกในปี 2534 กลุ่มอียูเสนอลดภาษี ร้อยละ 90 สำหรับการใช้เชื้อเพลิงชีวภาพ ซึ่งรวมทั้งไบโอดีเซลด้วย ปัจจุบันมีโรงงานผลิตไบโอดีเซลขนาดกำลังผลิตปีละ 5.7 ล้านลิตรขึ้นแล้วหลายแห่งทั้งยุโรปและอเมริกา

พร็อคเตอร์แอนด์แกมเบิล เป็นผู้ผลิตไบโอดีเซลของสหรัฐซึ่งส่วนใหญ่มาจากน้ำมันถั่วเหลือง และมีโปรแกรมสาธิตการใช้ไบโอดีเซลหลากหลายในยานพาหนะมากกว่า 200 ชนิด เช่น รถโดยสาร รถบรรทุกเครื่องจักรกลในการก่อสร้างและการบำรุงรักษา และเรือยนต์ (กรมทรัพยากรธรณี, 2547)

ในประเทศทางยุโรปและสหรัฐอเมริกา ได้ใช้น้ำมันดีเซลชีวภาพในรูปแบบของไบโอดีเซลเกือบทั้งหมด เพราะไม่ต้องปรับแต่งเครื่องยนต์ สามารถนำไปผสมกับน้ำมันดีเซลจากปิโตรเลียมได้ในทุกสัดส่วนเนื่องจากสมบัติทางกายภาพคล้ายคลึงกันมากและสามารถรักษามาตรฐานและคุณภาพได้ดีกว่าน้ำมันดีเซลชนิดอื่นๆ นอกจากนั้นยังมีผลต่อสภาพแวดล้อม เช่น ไม่เพิ่มภาวะแก๊สเรือนกระจก (คาร์บอนไดออกไซด์) เพราะพืชมีการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในการสังเคราะห์จึงมีการใช้มากกว่าการปลดปล่อยเมื่อถูกนำไปเป็นเชื้อเพลิง การเผาไหม้จะสมบูรณ์กว่าน้ำมันดีเซล ซึ่งนำไปสู่การลดเขม่าและควันดำ การลดปริมารสารไฮโดรคาร์บอนที่เผาไหม้ไม่หมด การลดปริมาณคาร์บอนมอนอกไซด์และการลดสารซัลเฟอร์ไดออกไซด์ซึ่งเป็นที่มาของการเกิดของฝนกรด (กรมทรัพยากรธรณี, 2547)

ไบโอดีเซล จัดเป็นเชื้อเพลิงประเภทชีวภาพชนิดเหลว ซึ่งผลิตได้จากน้ำมันพืช ไขมันสัตว์และสาหร่ายขนาดเล็ก โดยกระบวนการที่เรียกว่า “ทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน” ในเมทานอล (methanol) โดยมีโซเดียมหรือโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี (catalyst) เปลี่ยนไขมันให้เป็นเมทิลเอสเทอร์ (methyl ester) และกลีเซอรอล (glycerol) ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับน้ำมันดีเซล สามารถใช้แทนน้ำมันดีเซลหรือเติมเป็นส่วนผสมในดีเซลเพื่อใช้กับเครื่องยนต์ได้โดยไม่ต้องปรับแต่งเครื่องยนต์แถมยังให้พลังงานได้เหมือนกับดีเซลปกติด้วย (มุทิตาและคณะ, 2545)

2.4.1 ประเภทของไบโอดีเซล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไบโอดีเซลที่นำมาใช้เป็นเชื้อเพลิงในเครื่องยนต์ดีเซลที่นำมาใช้มีหลายรูปแบบและได้

จากหลากหลายวัตถุดิบ สามารถแบ่งได้ 3 รูปแบบใหญ่ๆ คือ (ป๋วยและสยาม, 2544)

2.4.1.1 น้ำมันพืชหรือน้ำมันสัตว์

ไบโอดีเซลประเภทนี้ คือน้ำมันพืชแท้ๆ หรือน้ำมันจากสัตว์ ซึ่งสามารถเอามาใช้เป็นเชื้อเพลิงในเครื่องยนต์ดีเซลโดยไม่ต้องผสมหรือมีการเติมสารเคมี ซึ่งไม่ต้องนำมาเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของน้ำมันแต่อย่างใด เนื่องจากคุณสมบัติของน้ำมันพืชหรือน้ำมันสัตว์ต่างกับดีเซลค่อนข้างมากจึงมีปัญหาเรื่องการสันดาปไม่สมบูรณ์ เครื่องสะดุด มีผลต่อลูกสูบและวาล์วมีความหนืดสูงที่อุณหภูมิต่ำลง ทำให้สตาร์ทติดยากในที่อากาศเย็นๆ แต่ก็มีข้อดีคือ ราคาถูก ใช้ได้กับเครื่องยนต์รอบต่ำ แต่ไม่เป็นที่นิยม

2.4.1.2 ไบโอดีเซลแบบลูกผสม

ไบโอดีเซลประเภทนี้เป็นการผสมระหว่างน้ำมันพืชหรือน้ำมันสัตว์กับน้ำมันก๊าดหรือน้ำมันดีเซล เพื่อให้ไบโอดีเซลที่ได้มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซลมากที่สุด เนื่องจากไบโอดีเซลประเภทนี้ จะมีการลดปัญหาเรื่องความหนืดไปได้บ้าง แต่จะมีปัญหาเรื่องการอุดตันของเครื่องยนต์คือ ไส้กรองจะอุดตันเร็วกว่าปกติ คุณสมบัติส่วนมากจะเหมือนกับน้ำมันดีเซล เครื่องจะเดินเรียบไม่มีปัญหาเรื่องสะดุดเหมือนแบบแรก เครื่องสตาร์ทติดง่าย เหมาะสำหรับการใช้เครื่องยนต์รอบต่ำ หรือเครื่องจักรกลการเกษตร

2.4.1.3 ไบโอดีเซลแบบเอสเทอร์

ไบโอดีเซลประเภทนี้เป็นการนำน้ำมันพืชหรือน้ำมันสัตว์มาผ่านกระบวนการทางเคมี โดยใช้แอลกอฮอล์ (เมทิลแอลกอฮอล์หรือเอทิลแอลกอฮอล์) กับกรดหรือด่างที่เรียกว่ากระบวนการทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน เพื่อเปลี่ยนรูปของน้ำมันให้เป็นเอสเทอร์ (ester) ซึ่งเรียกว่าเมทิลเอสเทอร์หรือเอทิลเอสเทอร์ ขึ้นอยู่กับแอลกอฮอล์ที่ใช้ ซึ่งเอสเทอร์นี้มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซล นอกจากนี้ยังได้กลีเซอรอลเป็นผลพลอยได้ซึ่งสามารถนำมาทำสบู่และอุตสาหกรรมต่อเนื่องประเภทเครื่องสำอาง ไบโอดีเซลประเภทนี้มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซลมากที่สุด ข้อดีคือ ค่าซีเทน (ค่าดัชนีการจุดติดไฟ) สูงกว่าน้ำมันดีเซล นั่นคือ จุดติดไฟได้ง่ายกว่าน้ำมันดีเซล ทำให้การจุดระเบิดทำได้ดี การสันดาปสมบูรณ์ทำให้เกิดคาร์บอนมอนอกไซด์และซัลเฟอร์ไดออกไซด์น้อย ความหนืดคงที่ นอกจากนี้ไบโอดีเซลแบบเอสเทอร์นี้ยังสามารถใช้กับเครื่องยนต์รอบสูง ข้อเสียคือ มีราคาแพง ต้นทุนการผลิตสูงกว่าไบโอดีเซลแบบอื่นๆ เครื่องยนต์ให้กำลังต่ำกว่าน้ำมันดีเซล มีการสร้างแก๊สไนโตรเจนออกไซด์ (NO_x) เพิ่มขึ้น

2.4.2 คุณสมบัติของไบโอดีเซล

คุณสมบัติของไบโอดีเซลเมื่อเทียบกับน้ำมันดีเซล ไบโอดีเซลเป็นสารประกอบไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) มีโครงสร้าง C_3H_5 เชื่อมต่อกับกรดไขมัน ที่มีจำนวนคาร์บอนตั้งแต่ 10 ถึง 30 ตัว ทำให้มีคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของน้ำมันแต่ละชนิดแตกต่างกันไปตามคุณสมบัติของกรดไขมันนั้น ๆ ที่เป็นองค์ประกอบอยู่ มีปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวแตกต่างกัน น้ำมันจากพืชที่มีกรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไขมันอิ่มตัวสูง ค่าไอโอดีนจะสูงขึ้นตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 2.6 (กองบรรณาธิการ, 2544)

น้ำมันพืชเป็นสารที่ไม่อยู่ตัวถูกออกซิไดซ์ และเกิดปฏิกิริยาโพลิเมอไรซ์ได้ที่อุณหภูมิสูง เมื่อเกิดปฏิกิริยาโพลิเมอรไรซ์แล้ว น้ำมันจะเกิดเป็นสารเหนียวขึ้น โดยทั่วไปค่าไอโอดีนของน้ำมันพืชจะเป็นดัชนีชี้บอกถึงการเกิดปฏิกิริยาโพลิเมอไรซ์ได้มากหรือน้อย ฉะนั้นการเลือกใช้น้ำมันพืชที่มีค่าไอโอดีนต่ำเป็นเชื้อเพลิง จะเป็นการป้องกันการเกิดสารเหนียวที่เกิดจากปฏิกิริยาโพลิเมอไรซ์ในเครื่องยนต์ได้ในเบื้องต้น (พิสมัย, 2543)

ในมุมมองของการใช้เป็นเชื้อเพลิงในเครื่องยนต์ดีเซล น้ำมันพืชมีค่าความร้อนประมาณร้อยละ 83-85 ของน้ำมันดีเซล แต่มีความหนืดสูงกว่าน้ำมันดีเซลเป็น 10 เท่า ที่อุณหภูมิต่ำลง น้ำมันพืชยิ่งมีความหนืดสูงขึ้นเป็นลำดับ จนเกิดเป็นไข เช่น น้ำมันปาล์ม และน้ำมันมะพร้าว สำหรับน้ำมันมะพร้าว จะเริ่มเป็นไขที่อุณหภูมิ 24-26 องศาเซลเซียส และมีปริมาณไขถึงร้อยละ 36 ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุปสรรคต่อการป้อนเชื้อเพลิง และใช้งานในพื้นที่และบางฤดูกาลที่มีอุณหภูมิต่ำ นอกจากนั้นแล้ว น้ำมันพืชมีคุณสมบัติที่ระเหยตัวได้น้อยมาก (low volatility) ทำให้เมื่อป้อนเข้าสู่ห้องเผาไหม้ จุดระเบิดได้ช้ากว่า และมีกากคาร์บอนหลงเหลือหลังการเผาไหม้สูงกว่าน้ำมันดีเซล

ตารางที่ 2.6 คุณสมบัติและค่าความร้อนของน้ำมันพืชชนิดต่างๆ

น้ำมัน	ค่าไอโอดีน	ค่าถ่วงจำเพาะที่ 21 องศาเซลเซียส (กรัมต่อมิลลิลิตร)	ความหนืดที่ 21 องศาเซลเซียส (เซนติพอยส์)	ค่าความร้อน (กิโลจูลต่อกิโลกรัม)
ถั่วเหลือง	124-139	0.918	57.2	39,350
มะพร้าว	6-11	0.915	51.9	37,540
ถั่วลิสง	86-100	0.914	67.1	39,470
ปาล์ม	14-21	0.898	88.6	39,550
เมล็ดในปาล์ม	50-55	0.904	66.3	39,720
เมล็ดสบู่ดำ	101	0.915	36.9 ที่ 38°C	39,000
น้ำมันดีเซล	ND	0.845	3.8	46,800

ที่มา :กองบรรณาธิการ, 2544

ปัจจุบันน้ำมันไบโอดีเซลมีการผลิตจำหน่ายเป็นการค้าในสหภาพยุโรปและประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งต้องมีคุณภาพมาตรฐานที่กำหนด เช่น ประเทศเยอรมันได้กำหนดมาตรฐาน DINE 51606 และประเทศสหรัฐอเมริกาได้ประกาศใช้มาตรฐาน ASTM D 6751 เป็นมาตรฐานการซื้อขายไบโอดีเซล เป็นต้น ซึ่งตัวอย่างคุณสมบัติของน้ำมันไบโอดีเซลในประเทศสหรัฐอเมริกาได้แสดงไว้ใน ตารางที่ 2.7 แล้วสำหรับในประเทศไทยได้มีการกำหนดมาตรฐานสำหรับไบโอดีเซล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้แสดงไว้ในตารางที่ 2.8

ตารางที่ 2.7 กำหนดลักษณะและคุณภาพของไบโอดีเซลของประเทศสหรัฐอเมริกา

คุณสมบัติ	มาตรฐานที่กำหนด	อัตราสูงต่ำ	หน่วย
จุดวาบไฟ	ASTM D93	ไม่ต่ำกว่า 100	องศาเซลเซียส
น้ำ	ASTM D 1796	ไม่สูงกว่า 0.05	ร้อยละโดยปริมาตร
กากคาร์บอน	ASTM D 4530	ไม่สูงกว่า 0.05	ร้อยละโดยน้ำหนัก
ปริมาณเถ้า	ASTM D 874	ไม่สูงกว่า 0.02	ร้อยละโดยน้ำหนัก
ความหนืดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส	ASTM D 445	1.9-6.0	เซนติสโตรก
ปริมาณกำมะถัน	ASTM D 2622	ไม่สูงกว่า 0.05	ร้อยละโดยน้ำหนัก
ค่าซีเทน	ASTM D 613	ไม่ต่ำกว่า 40	-
จุดไหลเท	ASTM D 2500	-	องศาเซลเซียส

ที่มา : ธราพงษ์ และคณะ, 2546

ตารางที่ 2.8 กำหนดลักษณะและคุณภาพของไบโอดีเซลของประเทศไทย

คุณสมบัติ	มาตรฐานที่กำหนด	อัตราสูงต่ำ	หน่วย
จุดวาบไฟ	ASTM D 93	ไม่ต่ำกว่า 120	องศาเซลเซียส
น้ำ	ASTM D 2709	ไม่สูงกว่า 0.05	ร้อยละโดยปริมาตร
กากคาร์บอน	ASTM D 874	ไม่สูงกว่า 0.02	ร้อยละโดยน้ำหนัก
ความหนืด ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส	ASTM D 445	3.5-5.0	เซนติสโตรก
ปริมาณกำมะถัน	ASTM D 2622	ไม่สูงกว่า 0.001	ร้อยละโดยน้ำหนัก
ค่าซีเทน	ASTM D 613	ไม่ต่ำกว่า 51	-
ความหนาแน่นที่ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส	ASTM D 1298	860-900	กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เมตร

ที่มา : ธนาพงษ์ และคณะ, 2546

2.4.3 ลักษณะเด่นของไบโอดีเซล (ปิยะ และประพฤติ, 2538)

2.4.3.1 ไบโอดีเซลสามารถเผาไหม้ได้สะดวกกว่าน้ำมันดีเซลถึงร้อยละ 75 ทำให้ลดปริมาณสารไฮโดรคาร์บอนที่เผาไม่หมด เช่น ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ และ เขม่าที่ออกจากท่อไอเสีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.3.2 ไบโอดีเซลไม่ปล่อยสารประกอบของกำมะถัน เช่น ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ เพราะไบโอดีเซลเป็นตัวหล่อลื่นที่ดีจึงไม่ต้องผสมกำมะถัน ขณะที่น้ำมันดีเซลจำเป็นต้องผสมกำมะถันเพื่อเป็นตัวหล่อลื่นในเชื้อเพลิง

2.4.3.3 ไบโอดีเซลเป็นเชื้อเพลิงที่สกัดจากสิ่งมีชีวิต ไอเสียที่เกิดขึ้นจึงไม่ทำให้เกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สะสมในชั้นบรรยากาศเหมือนการใช้น้ำมันดีเซล เป็นการลดปฏิกิริยาเรือนกระจกที่ทำให้อุณหภูมิของโลกสูงขึ้น และยังทำให้สารบางตัวของชั้นโอโซนในบรรยากาศลดลงเกือบครึ่งหนึ่งของการใช้น้ำมันดีเซล

2.4.3.4 ไบโอดีเซล เป็นเชื้อเพลิงที่สามารถทำให้ลดก๊าซไนโตรเจนออกไซด์

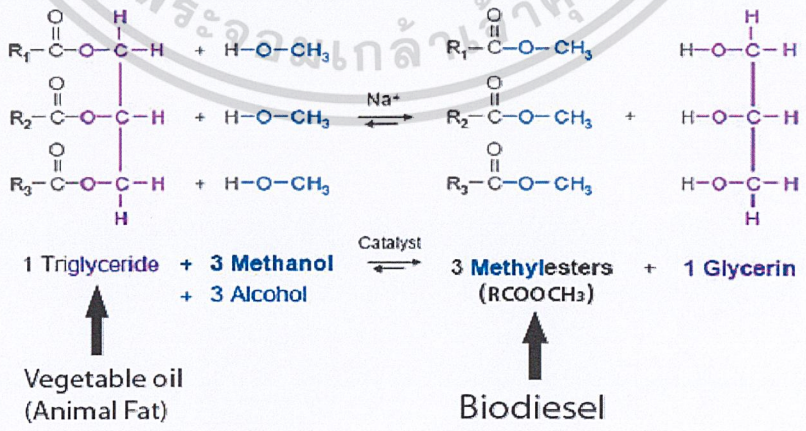
2.4.3.5 กลิ่นไอเสียของเครื่องยนต์ที่ใช้ไบโอดีเซลไม่น่ารังเกียจ และไม่ทำให้เกิดการระคายเคือง

2.4.3.6 ไบโอดีเซลสามารถใช้ได้กับเครื่องยนต์ดีเซลทุกชนิด ความสิ้นเปลืองเชื้อเพลิงเท่าๆกับการใช้ดีเซลปกติ

2.5 ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน

เนื่องจากน้ำมันพืชทั่วไปเป็นสารประกอบประเภทไตรกลีเซอไรด์ ซึ่งตามธรรมชาติจะมีความหนืดสูงโดยมีผลมาจากการที่มวลโมเลกุลใหญ่ สามารถนำมาทำให้มีมวลโมเลกุลเล็กลงเพื่อให้ความหนืดลดลงได้ โดยใช้กระบวนการที่เรียกว่า ทรานส์เอสเทอริฟิเคชันซึ่งจะได้น้ำมันที่มีความหนืดลดลง (กรมทรัพยากรธรณี, 2547)

การเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันคือ ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของไตรกลีเซอไรด์ ทำให้ได้แอลคิลเอสเทอร์ของกรดไขมันและกลีเซอรอล และเมื่อตั้งผลิตภัณฑ์ทิ้งไว้เพื่อให้เกิดการแยกชั้น กลีเซอรอลที่ได้จะอยู่ชั้นล่าง ไดกลีเซอไรด์ และโมโนกลีเซอไรด์เป็นตัวกลางในการทำปฏิกิริยา กลไกการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน แสดงดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน

ที่มา : http://www.thailandinone.com/biodiesel/images/chemproc.jpg

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.1 การใช้กรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

การทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันโดยใช้กรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา จะเกิดช้ากว่าการใช้ด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา และต้องใช้ที่อุณหภูมิที่สูงกว่า 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลามากกว่า 3 ชั่วโมงถึงจะเกิดปฏิกิริยาอย่างสมบูรณ์ อย่างไรก็ตามถ้ากลีเซอไรด์มีส่วนประกอบของกรดไขมันอิสระและน้ำอยู่มาก การใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาที่เป็นกรดจะดีกว่า กรดที่ใช้ควรเป็นกรดซัลฟูริก กรดฟอสโฟริก กรดไฮโดรคลอริก หรือกรดซัลโฟนิกของสารอินทรีย์

2.5.2 การใช้ด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

การเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันโดยใช้ด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ด่างที่ใช้กันประกอบด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ โซเดียมเมทอกไซด์ โซเดียมเอไมด์ โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ เป็นต้น พบว่าโซเดียมไฮเมทอกไซด์มีประสิทธิภาพมากกว่าโซเดียมไฮดรอกไซด์ เพราะข้อสมมติฐานที่ว่ามีน้ำเกิดขึ้นเล็กน้อยระหว่างการผสมโซเดียมไฮดรอกไซด์กับเมทานอล แต่กลับได้ผลที่ตรงกันข้ามคือ ในระหว่างการผสมโซเดียมไฮดรอกไซด์และโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ที่มีราคาถูกจะมีน้ำเกิดขึ้นจำนวนมาก ซึ่งจะเกิดการกัดกร่อนน้อยกว่ากรด และนิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในระดับอุตสาหกรรม

เอสเทอร์ของกรดไขมันสามารถเตรียมได้จากแอลกอฮอล์ประเภทโมโนไฮดรอกซีโมเลกุลเล็ก เช่น เมทานอล และเอทานอล ซึ่งจะทำให้เกิดเมทิลเอสเทอร์ (methyl ester) และเอทิลเอสเทอร์ (ethyl ester) ของกรดไขมัน ในปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันอาจใช้กรดหรือด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาก็ได้ แต่โดยทั่วไปแล้วมักใช้ด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เช่น NaOH หรือ KOH เป็นต้น เนื่องจากด่างจะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ดีกว่าในแง่ของความเร็วในการเกิดปฏิกิริยา และให้ผลผลิตที่สูงกว่าที่ใช้กรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา น้ำมันหรือไขมันที่ทำปฏิกิริยาเป็นชนิดใดก็ได้แต่ต้องทำให้บริสุทธิ์ ปราศจากน้ำและเป็นกลางก่อนทำปฏิกิริยา (นฤมล และสาวิตรี, 2546)

ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของไขมันหรือน้ำมันที่ใช้อัลคาไลน์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาและแอลกอฮอล์ที่ใช้ควรเป็นแอลกอฮอล์ที่มีโมเลกุลเล็ก โดยเฉพาะเมทานอลซึ่งเป็นแอลกอฮอล์ที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันได้ง่ายที่สุด สำหรับแอลกอฮอล์ตัวอื่นๆที่มีโมเลกุลใหญ่ขึ้นจะเกิดปฏิกิริยาได้กับน้ำมันบางชนิดเท่านั้น ข้อสำคัญของแอลกอฮอล์ที่จะใช้ในปฏิกิริยาจะต้องมีน้ำปนเปื้อนน้อยที่สุดหรือไม่มีเลยซึ่งจะทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ดีและไม่มีผลเสียต่อตัวเร่งปฏิกิริยาที่เป็นเบส โดยที่ไขมันหรือน้ำมันจะต้องเป็นกลาง ซึ่งถ้าไม่สามารถทำตามได้จะทำให้เกิดสบู่จากปฏิกิริยาสปอนนิฟิเคชัน (saponification) ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้อยู่ในรูปของอิมัลชั่น (emulsion) เกิดการแยกเอสเทอร์ออกจากกลีเซอรอลทำได้ยากขึ้น กลไลการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันที่มีด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังแสดงในรูปที่ 2.4

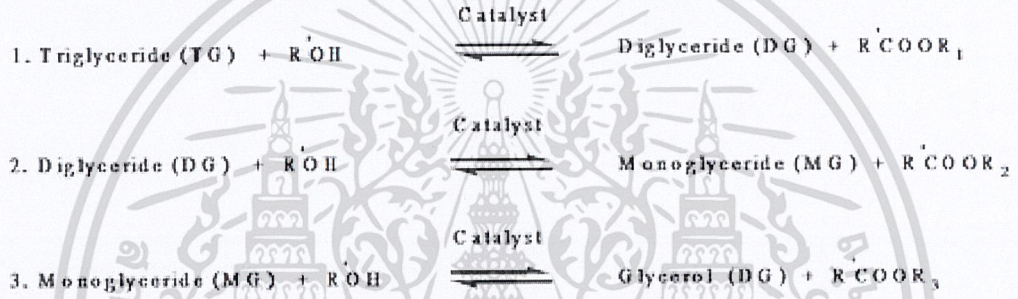
2.5.3 การใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

ไฮโดรไลติกเอนไซม์ถูกนำมาประยุกต์ใช้อย่างกว้างขวางในการสังเคราะห์สารอินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แต่ในกระบวนการทรานส์เอสเทอริฟิเคชันยังใช้เอนไซม์กันไม่แพร่หลาย ปัจจัยที่ศึกษาโดยทั่วไป เช่น ตัวทำละลาย อุณหภูมิ และชนิดของเอนไซม์ ปัจจัยเหล่านี้ต้องศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม แต่อย่างไรก็ตามเวลาที่ใช้ทำปฏิกิริยาและปริมาณผลผลิตที่ได้ยังด้อยกว่าการใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาชนิดด่าง สังเคราะห์เอสเทอร์มีหลายกระบวนการ แต่ที่นิยมที่สุดคือการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่ได้มีสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซล และก่อปัญหาต่อเครื่องยนต์น้อยที่สุด เอสเทอร์ที่ได้เรียนตามชนิดของแอลกอฮอล์ที่ใช้ เช่น เมทิลเอสเทอร์ เอทิลเอสเทอร์ เป็นต้น ตัวเร่งปฏิกิริยาที่นิยมใช้คือ โซเดียมไฮดรอกไซด์และโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ นอกจากได้เอสเทอร์เป็นผลิตภัณฑ์แล้ว ยังได้กลีเซอรอลเป็นผลิตภัณฑ์

นอกจากนี้การใช้ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน สามารถทำปฏิกิริยาที่ความดันสูงโดยไม่ต้องใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา เกิดเป็นเอสเทอร์และกลีเซอรอลเช่นกัน



รูปที่ 2.4 กลไกการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันที่มีด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา
ที่มา : นฤมล และสาวิตรี , 2546

ส่วนการใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการเกิดทรานส์เอสเทอริฟิเคชันยังไม่เป็นที่นิยมโดยมีปัจจัยที่ศึกษากัน โดยทั่วไป เช่น ตัวทำละลาย อุณหภูมิ และชนิดของเอนไซม์ ซึ่งต้องศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม แต่ข้อดีของการใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาก็คือ เป็นปฏิกิริยาที่สามารถควบคุมได้ เกิดในสภาวะที่ไม่รุนแรง ไม่เหลือสารพิษในของเสียที่ได้จากปฏิกิริยา สามารถแยกกลีเซอรอลซึ่งเป็นส่วนของผลพลอยได้ออกได้ง่ายกว่าและถ้าใช้เอนไซม์ตรึงรูปในการทำปฏิกิริยาก็สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้อีก

ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของน้ำมันและไขมันตามธรรมชาติเป็นกระบวนการที่นิยมที่สุดในการผลิตไบโอดีเซล วัตถุประสงค์ของกระบวนการนี้คือการลดความหนืดของน้ำมันหรือไขมันลง แม้ว่าวิธีไมโครอิมัลชันและวิธีการผสมน้ำมันด้วยตัวทำละลายสามารถลดความหนืดลงได้แต่ยังเกิดปัญหาในเรื่องประสิทธิภาพกับเครื่องยนต์และการเกิดคราบคาร์บอน ส่วนวิธีไพโรไลซิสนั้นจะผลิตก๊าซโซลีนออกมามากกว่าน้ำมันดีเซลชีวภาพ ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันสามารถอธิบายการเกิดปฏิกิริยาได้ดังนี้คือ ในตอนแรกไตรกลีเซอไรด์จะถูกทำให้เป็นไดกลีเซอไรด์และโมโนกลีเซอไรด์ จากนั้นในขั้นสุดท้ายโมโนกลีเซอไรด์จะถูกทำให้เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมัน อันดับของปฏิกิริยาจะขึ้นอยู่กับสภาวะของปฏิกิริยา การใช้ด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการผลิตไบโอดีเซล ก่อให้เกิดผลกระทบหลายประการ เช่น เป็นปฏิกิริยาที่รุนแรง แยกกลีเซอรอลและเกลือของด่างออกได้ยาก แต่การใช้เอนไซม์ไลเปสในปฏิกิริยาเมทาโลไลซิสทำให้แก้ปัญหาเหล่านี้ได้ การเกิดปฏิกิริยาแอลกอฮอล์ไลซิสโดยการใช้เอนไซม์ไลเปสชนิดต่าง ๆ ในเฮกเซน พบว่าปริมาณของเมทิลเอสเทอร์เกิดขึ้นร้อยละ 77.8 จากการใช้เอนไซม์ไลเปสจาก *Mucor miehei* เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ในมุมมองทางเศรษฐศาสตร์ในการผลิตไบโอดีเซลระดับอุตสาหกรรม ระบบที่ไม่เติมตัวทำละลายอินทรีย์ดีกว่าระบบที่เติมตัวทำละลายอินทรีย์ (Ma และ Hanna, 1999)

โดยทั่วไปมีตัวเร่ง 3 ประเภทที่ใช้ในการผลิตไบโอดีเซล เช่น ด่าง กรด และเอนไซม์ ตัวเร่งปฏิกิริยาที่เป็นเอนไซม์ได้รับความสนใจเพิ่มขึ้นเมื่อเร็ว ๆ นี้เนื่องจากเนื่องจากสามารถหลีกเลี่ยงการเกิดสบู่และสามารถทำให้บริสุทธิ์ได้ง่าย แต่อย่างไรก็ตามก็ยังมีการใช้ที่น้อยอยู่ เนื่องจากค่าใช้จ่ายสูงและใช้เวลาในการเกิดปฏิกิริยานานจึงได้มีการพัฒนาตัวเร่งทางชีวภาพเมื่อไม่กี่ปีที่ผ่านมา ตัวอย่างเช่นการนำตัวเร่งทางชีวภาพมาอยู่ในรูปของการตรึงเซลล์ ข้อได้เปรียบคือการใช้ตัวเร่งทางชีวภาพไม่จำเป็นต้องมีขั้นตอนของการทำให้บริสุทธิ์ เมื่อเปรียบเทียบตัวเร่งที่เป็นเอนไซม์กับตัวเร่งที่เป็นด่างและตัวเร่งที่เป็นกรดจะมีการนำมาใช้มากกว่าในการผลิตไบโอดีเซล ตัวเร่งที่เป็นด่างจะมีการนำมาใช้กันมากในปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันเนื่องจากราคาที่ถูกของโซเดียมไฮดรอกไซด์และโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ และข้อดีข้อเสียของตัวเร่งปฏิกิริยาทั้ง 3 ประเภทดังแสดงในตารางที่ 2.9 (Leung และคณะ, 2009)

ตารางที่ 2.9 ข้อดีข้อเสียของตัวเร่งปฏิกิริยาที่แตกต่างกันที่ใช้ในการผลิตไบโอดีเซล

Type	Example	Advantages	Disadvantages	References
Alkali				
Homogeneous	NaOH, KOH	High catalytic activity, low cost, favorable kinetics, modest operation conditions	Low FFA requirement, anhydrous conditions, saponification, emulsion formation, more wastewater from purification, disposable	[97,101-104]
Heterogeneous	CaO, $CaTiO_3$, $CaZrO_3$, CaO–CeO_2, $CaMnO_3$, $Ca_2Fe_2O_5$, KOH/Al_2O_3, KOH/NaY, Al_2O_3/KI, ETS-10 zeolite, alumina/silica supported K_2CO_3	Noncorrosive, environmentally benign, recyclable, fewer disposal problems, easily separation, higher selectivity, longer catalyst lifetimes	Low FFA requirement, anhydrous conditions, more wastewater from purification, high molar ratio of alcohol to oil requirement, high reaction temperature and pressure, diffusion limitations, high cost	[33,99-101,103,104]
Acid				
Homogeneous	Concentrated sulphuric acid	Catalyze esterification and transesterification simultaneously, avoid soap formation	Equipment corrosion, more waste from neutralization, difficult to recycle, higher reaction temperature, long reaction times, weak catalytic activity	[97,102,103]
Heterogeneous	ZnO/I_2, ZrO_2/SO_4^{2-}, TiO_2/SO_4^{2-}, carbon-based solid acid catalyst, carbohydrate-derived catalyst, Vanadyl phosphate, niobic acid, sulphated zirconia, Amberlyst-15, Nafion-NR50	Catalyze esterification and transesterification simultaneously, recyclable, eco-friendly	Low acid site concentrations, low microporosity, diffusion limitations, high cost	[82,98,103,104]
Enzymes	Candida antarctica fraction B lipase, Rhizomucor mieher lipase	Avoid soap formation, nonpolluting, easier purification	Expensive, denaturation	[27,82,104]

ที่มา: Leung และคณะ , 2009

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.4 การใช้แอลกอฮอล์ในปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน

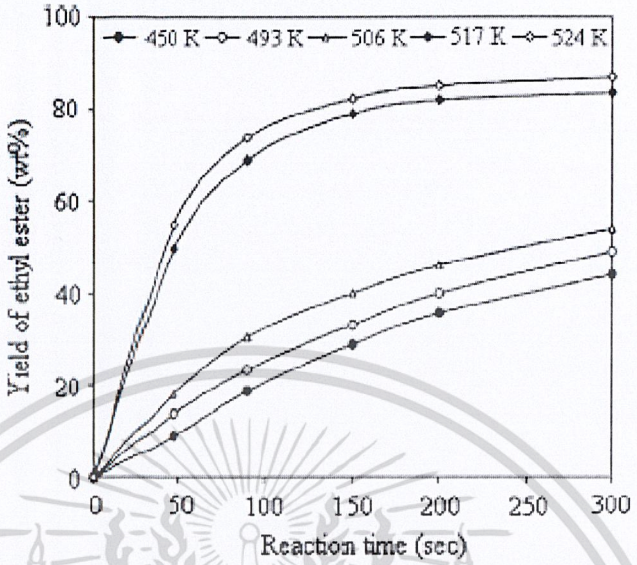
แอลกอฮอล์ที่สามารถนำมาใช้ในกระบวนการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันประกอบด้วยเมทานอล เอทานอล โพรพานอล บิวทานอล และเอมิลแอลกอฮอล์ ในบรรดาแอลกอฮอล์ทั้งหมด เมทานอล และเอทานอลนิยมใช้มากที่สุด โดยเฉพาะเมทานอลเพราะมีราคาถูกและมีข้อได้เปรียบทางกายภาพและทางเคมี จากงานวิจัยพบว่าเมทานอลสามารถทำปฏิกิริยากับไตรกลีเซอไรด์ได้อย่างรวดเร็วและสามารถละลายได้ง่ายในตัวเร่งปฏิกิริยาที่เป็นด่าง แต่อย่างไรก็ตามเมทานอลเป็นสารอันตรายที่มีจุดเดือดต่ำและไอระเหยของเมทานอลนั้นมีความเสี่ยงมากเนื่องจากไม่มีสีและไม่มีกลิ่น ทั้งเมทานอลและเมทอกไซด์ซึ่งเป็นอันตรายอย่างยิ่งสมควรได้รับการกำจัดอย่างระมัดระวังและไม่ควรสัมผัสกับสารเคมีเหล่านี้ในระหว่างการผลิตไบโอดีเซล (Leung และคณะ,2009)

ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของไตรกลีเซอไรด์โดยการใช้เมทานอล เอทานอล โพรพานอลและบิวทานอล ซึ่งเป็นกระบวนการที่มีแนวโน้มมากที่สุด ทฤษฎีแรกเชื้อเพลิงไบโอดีเซลที่เตรียมจากน้ำมันพืชที่ไม่มีการใช้ตัวเร่งในปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันกับเมทานอลนั้นมีการนำเสนอว่าปฏิกิริยาของน้ำมันจากเมล็ดเรฟนั้นเสร็จสมบูรณ์ที่เวลา 240 นาที ที่อุณหภูมิ 623 เคลวิน ความดัน 19 เมกะปาสคาล และอัตราส่วนของเมทานอลต่อน้ำมันคือ 42 เพื่อให้เกิดการประสบความสำเร็จที่เพิ่มขึ้นจึงได้มีการใช้วิธีการเตรียม 2 ขั้นตอน ในขั้นตอนนี้ ขั้นตอนแรกคือการใช้ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสในไขมันหรือน้ำมันเพื่อผลิตกรดไขมัน หลังจากเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสแล้วสามารถแยกชั้นของน้ำมันและน้ำออกจากกันโดยการทำให้ตกตะกอน ชั้นของน้ำมัน (ส่วนบน) ประกอบด้วยกรดไขมันเป็นส่วนใหญ่ และชั้นของน้ำ(ส่วนล่าง) ประกอบด้วยกลีเซอรอลและน้ำแยกส่วนที่เป็นน้ำมันออกนำมาผสมกับเมทานอลทำปฏิกิริยาในสภาวะที่เหมาะสมเพื่อผลิตเมทิลเอสเทอร์ในปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน ทำการกำจัดเมทานอลและน้ำที่ผลิตขึ้นจากการทำปฏิกิริยาจะได้เป็นเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันหรือไบโอดีเซล ในปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันเป็นปฏิกิกิริยาที่ใช้ในการผลิตเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันในวิธีการใช้เมทานอล 2 ขั้นตอน ในปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของไตรกลีเซอไรด์เป็นวิธีการที่สำคัญในการใช้ตัวเร่งด่างหรือตัวเร่งกรด ดังนั้นปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันเป็นปฏิกิริยาที่สำคัญในการผลิตไบโอดีเซลคุณภาพสูง

การศึกษาปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันโดยใช้เมทานอล ในน้ำมันพืชที่แตกต่างกัน 6 สภาวะโดยการใช้อัตราส่วนที่แตกต่างกันของแอลกอฮอล์ต่อน้ำมันพืช และอุณหภูมิ พบว่าอัตราส่วนโดยโมลของเมทานอลต่อน้ำมันพืชที่24 และอุณหภูมิ 523 เคลวิน และเวลาการเกิดปฏิกิริยา 300 นาที ผลได้ที่ดีที่สุดของเมทิลเอสเทอร์คือร้อยละ 95 ผลได้ของปฏิกิริยาทรานส์-เอสเทอริฟิเคชันโดยการใช้นำมันพืชกับเอทานอล อุณหภูมิที่ใช้คือ 516.2 เคลวินและความดัน 6.4 เมกะปาสคาล ซึ่งพบว่าถ้าอุณหภูมิในปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นโดยเพาะอย่างยิ่งอุณหภูมิที่จุดวิกฤติจะมีผลที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดีต่อการเปลี่ยนเป็นเป็นเอสเทอร์ดังรูปที่ 2.5 อุณหภูมิและความดันของแอลกอฮอล์ชนิดต่าง ๆ ที่สำคัญแสดงในตารางที่ 2.10



รูปที่ 2.5 การเปลี่ยนแปลงในอัตราร้อยละผลได้ของเอทิลเอสเทอร์ที่ปรับสภาพแล้วกับเอทานอลที่จุดวิกฤติที่อุณหภูมิที่แตกต่างกันในระยะเวลาการทำปฏิกิริยาโดยที่อัตราส่วนของน้ำมันพืชต่อเอทานอลคือ 1:40

ที่มา: Balat และ Balat , 2010

ตารางที่ 2.10 อุณหภูมิและความดันที่จุดวิกฤติของแอลกอฮอล์ชนิดต่าง ๆ

Alcohol	Critical temperature (K)	Critical pressure (MPa)
Methanol	512.2	8.1
Ethanol	516.2	6.4
1-Propanol	537.2	5.1
1-Butanol	560.2	4.9

ที่มา: Balat และ Balat , 2010

จากงานวิจัยต่าง ๆ การไม่ใช้ตัวเร่งในปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันนั้นที่อุณหภูมิสูงและสภาวะความดันที่เพิ่มการละลาย อัตราการถ่ายโอนมวลที่ลดลง อัตราการเกิดปฏิกิริยาที่สูงขึ้น ซึ่งจะทำให้ง่ายต่อขั้นตอนการแยกและการทำให้บริสุทธิ์ นอกจากนี้การเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันเหนือจุดวิกฤติเป็นการเพิ่มความทนที่มีต่อกรดไขมันอิสระและน้ำมากกว่าวิธีการใช้ตัวเร่งด่าง นอกจากนี้ความทนต่อชนิดของน้ำมันพืชที่แตกต่างเมื่อนำไปทอดหรือน้ำมันจากการเหลือใช้ การเปรียบเทียบผลได้ของตัวเร่งด่าง ตัวเร่งกรดและการใช้เมทานอลเหนือจุดวิกฤติ (Balat และ Balat , 2010) ดังแสดงในตารางที่ 2.11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.11 การเปรียบเทียบผลได้ของตัวเร่งด่าง ตัวเร่งกรดและการใช้เมทานอลที่เหนือจุดวิกฤติ

Raw material	FFA[a] content (wt.%)	Water content (wt.%)	Yields of methyl esters (wt.%)		
			Alkaline-catalyzed	Acid-catalyzed	SCM[b]
Rapeseed oil	2.0	0.02	97.0	98.4	98.5
Palm oil	5.3	2.1	94.4	97.8	98.9
Frying oil	5.6	0.2	94.1	97.8	96.9
Waste palm oil	>20.0	>61.0	-	-	95.8

[a] FFA - free fatty acid.
[b] SCM - supercritical methanol

ที่มา: Balat และ Balat , 2010

2.6 ตัวแปรที่มีผลต่อปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน

2.6.1 ความชื้นและกรดไขมันอิสระ

น้ำในกรดไขมันอิสระซึ่งเป็นวัตถุดิบควรมีปริมาณไม่สูงกว่าร้อยละ 3 ถ้ามีปริมาณสูงกว่าจะทำให้กรดไขมันอิสระทำปฏิกิริยากับด่างเกิดเป็นเกิดเป็นสบู่ ดังนั้นในการใช้น้ำมันที่ใช้แล้วจึงจำเป็นต้องลดปริมาณกรดไขมันอิสระให้น้อยกว่าร้อยละ 1 ก่อนที่จะทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน เพื่อผลิตน้ำมันไบโอดีเซลต่อไป (พินิจ, 2551)

การที่มีความชื้นในไขมันจะทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของไขมันหรือน้ำมัน โดยน้ำจะเป็นสาเหตุให้เกิดสบู่ และสบู่ที่เกิดขึ้นจะปนกับเอสเทอร์และกลีเซอรีนที่ได้ทำให้สารละลายผสมทั้ง 2 มีความหนืดสูงขึ้น ส่งผลให้การแยกกลีเซอรีนออกจากเอสเทอร์ทำได้ยากขึ้น วิธีป้องกัน คือ แอลกอฮอล์ ไขมัน หรือ น้ำมันควรมีน้ำหรือความชื้นปนเปื้อนน้อยที่สุดหรือไม่มีเลยเพื่อทำให้ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันได้สมบูรณ์

2.6.2 ชนิดและอัตราร้อยละของตัวเร่งปฏิกิริยา

ตัวเร่งปฏิกิริยาสามารถใช้ได้ทั้งเบส กรด และเอนไซม์ ในการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันที่มีเบสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เบสที่ใช้โดยทั่วไปคือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ โซเดียมเมทอกไซด์ โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ แต่ถ้าน้ำมันมีปริมาณกรดไขมันอิสระอยู่สูงควรใช้กรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ได้แก่ กรดไฮโดรคลอริก กรดซัลโฟนิกของสารอินทรีย์ หรือ กรดซัลฟูริก กรดฟอสโฟริก

ปริมาณโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ในช่วงอัตราร้อยละ 1–5 โดยน้ำหนัก ทำให้อัตราโดยน้ำหนักของผลิตภัณฑ์ที่ได้ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นแต่ไม่แตกต่างกันมาก อย่างไรก็ตามถ้าปริมาณโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์มากกว่าอัตราร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก กลับทำให้อัตราร้อยละโดยน้ำหนักของผลิตภัณฑ์ของผลิตภัณฑ์ที่ได้มีแนวโน้มลดลง ทั้งนี้เนื่องจากการเพิ่มปริมาณเบสมากเกินไปจะทำให้เกิดอิมัลชันจนกระทั่งก่อตัวเป็นเจล และเกิดปัญหาในการแยกชั้นกลีเซอรอลออกจากเอสเทอร์ ทำให้ปริมาณเอสเทอร์ลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.3 อัตราส่วนโดยโมลระหว่างเอทานอลกับน้ำมัน

อัตราส่วนโดยโมลระหว่างเอทานอลกับน้ำมันเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุด ผลของการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนโดยโมลระหว่างเอทานอลกับน้ำมัน จากการทำมวลสารสัมพันธ์ของปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน ต้องการแอลกอฮอล์ 3 โมลและไตรกลีเซอไรด์ 1 โมลเพื่อให้ได้เอสเทอร์ของกรดไขมัน 3 โมล กับกลีเซอรอล 1 โมล เพื่อให้ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันเข้าสู่สมดุลต้องใช้แอลกอฮอล์มากเกินพอเพื่อผลักดันให้เกิดปฏิกิริยาไปข้างหน้า ซึ่งการใช้อัตราส่วนโดยโมลสูงกว่า 3 โมลของแอลกอฮอล์ จะทำให้เกิดผลิตภัณฑ์มากขึ้น หากมีอัตราส่วนโดยโมลระหว่างเอทานอลกับน้ำมันสูง ๆ จะมีผลต่อการแยกชั้น เนื่องจากปริมาณแอลกอฮอล์มากทำให้มีน้ำอยู่ในปฏิกิริยามากตามไปด้วย ไม่ว่าจะเป็นน้ำที่มีอยู่ในแอลกอฮอล์อยู่แล้วหรือน้ำที่เกิดจากการทำปฏิกิริยา ซึ่งน้ำจะทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกับไตรกลีเซอไรด์ กรดไขมันอิสระ หรือผลิตภัณฑ์เอสเทอร์ และเกิดปฏิกิริยาสปอนนิฟิเคชันตามมา ทำให้ได้เกลือของกรดไขมันหรือสบู่ขึ้น ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์เอสเทอร์ลดลง และเกิดการแยกชั้นยากขึ้นด้วย (ธนาทิพย์ , 2547)

2.6.4 อุณหภูมิ

ในปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันอุณหภูมิมีผลต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยา เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นอัตราการเกิดปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นด้วย เนื่องจากอุณหภูมิสูงทำให้แอลกอฮอล์ทำปฏิกิริยาได้ง่ายขึ้น (ธราพงษ์และคณะ, 2546) แต่ถ้าอุณหภูมิที่ใช้สูงเกินจุดเดือดของแอลกอฮอล์จะทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาลดลง เนื่องจากมีการสูญเสียแอลกอฮอล์ในระหว่างที่ทำปฏิกิริยา ถ้าอุณหภูมิของการทำปฏิกิริยาต่ำลงจะทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาลดลง อย่างไรก็ดีการศึกษาถึงอุณหภูมิที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันมีความสำคัญอย่างยิ่ง (อัชญา, 2545)

อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา อัตราเร็วในการเปลี่ยนน้ำมันเป็นน้ำมันไบโอดีเซลสูงขึ้นตามอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา โดยทั่วไปมักใช้อุณหภูมิประมาณ 60 องศาเซลเซียส ซึ่งไม่เกินจุดเดือดของเมทานอล

2.6.5 เวลา

ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา อัตราเร็วในการเปลี่ยนน้ำมันเป็นน้ำมันไบโอดีเซลสูงขึ้นตามระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (พินิจ, 2551)

อัตราการเกิดปฏิกิริยาจะมีค่าสูงในระยะแรกของปฏิกิริยาและจะลดลงเมื่อเวลามากขึ้น ดังนั้นระยะเวลาที่เหมาะสมจึงจำเป็นในการผลิตไบโอดีเซล

2.7 เอนไซม์ไลเปส

เอนไซม์ไลเปส (triacylglycerol acylhydrolase, EC.3.1.1.3) เป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่พันธะเอสเทอร์ (ester bond) ของไตรกลีเซอไรด์ ซึ่งมีกรดไขมันสายยาวเป็นส่วนประกอบได้ผลผลิต คือ กรดไขมันอิสระ ไดกลีเซอไรด์ โมโนกลีเซอไรด์ และกลีเซอรอล การเกิดปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นบริเวณผิวสัมผัสระหว่างชั้นของสับสเตรทกับชั้นน้ำ (oil – water interface)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้ไลเปสยังสมารถเร่งปฏิกิริยาย้อนกลับได้ โดยเร่งการสร้างพันธะเอสเทอร์ระหว่างกลีเซอรอลกับกรดไขมันอิสระ

2.7.1 แหล่งที่มาของเอนไซม์ไลเปส

เอนไซม์ไลเปสพบได้ทั้งในสัตว์ พืช และจุลชีพ ในสัตว์พบในน้ำนมและตับอ่อน ส่วนพืชพบในเมล็ดที่กำลังงอก เช่น เมล็ดข้าวสาลี ข้าวโอ๊ต ข้าวไรย์ ฝ้าย ถั่วเหลือง และละหุ่ง เป็นต้น ไลเปสจากพืชและสัตว์มีความคงตัวต่ำกว่าจุลินทรีย์ ไลเปสจากจุลินทรีย์จะพบทั้งที่สร้างอยู่ในเซลล์และขับออกมานอกเซลล์ นอกจากนี้ยังมีข้อดีคือ เจริญเติบโตเร็ว เลี้ยงง่าย ไม่ต้องการพื้นที่มากในการเลี้ยง ไม่ขึ้นกับฤดูกาล และนอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มผลผลิตได้โดยวิธีการปรับปรุงพันธุกรรมของจุลินทรีย์

ในปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้เอนไซม์ไลเปสจากเชื้อจุลินทรีย์ในทางเทคโนโลยีชีวภาพอย่างกว้างขวางเนื่องจากมีข้อดีหลายประการ เช่น เอนไซม์มีความคงตัวในตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent)เอนไซม์ไม่ต้องการโคแฟกเตอร์ (co-factors) เอนไซม์มีความจำเพาะต่อสารตั้งต้นน้อย(broad substrate specificity) ประยุกต์ใช้ประโยชน์มากมายในการสังเคราะห์สารอินทรีย์ (organic synthesis) ใช้เติมในผงซักฟอกเพื่อช่วยประสิทธิภาพการซักล้าง เพิ่มรสชาติในอาหาร ใช้ในอุตสาหกรรมกระดาษ และในอนาคตอาจมีการนำมาใช้เพื่อการบำบัดน้ำเสีย ตลอดจนนำมาเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันในการผลิตไบโอดีเซล

2.7.2 การทำงานของไลเปส

ไลเปสสามารถเร่งปฏิกิริยาได้ 3 ชนิด คือ

2.7.2.1 ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (hydrolysis) ปฏิกิริยานี้ต้องการน้ำในการทำปฏิกิริยา ผลิตภัณฑ์สุดท้ายของการย่อยสลายไตรกลีเซอไรด์ จะได้กลีเซอรอล และกรดไขมัน

2.7.2.2 ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน (esterification) เป็นปฏิกิริยาย้อนกลับของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส คือ การสร้างพันธะเอสเทอร์ระหว่างแอลกอฮอล์กับกรดไขมัน ปฏิกิริยานี้ต้องการน้ำน้อย ๆ และผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้เป็นไตรกลีเซอไรด์

2.7.2.3 ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน (transesterification) เป็นปฏิกิริยาการสับเปลี่ยนหมู่จากสารชนิดหนึ่งไปยังสารอีกชนิดหนึ่งซึ่งเป็นสารเคมีประเภทเดียวกัน เช่น การแลกเปลี่ยนกรดไขมันระหว่างโมโนเอสเทอร์หรือโพลีเอสเทอร์ การแลกเปลี่ยนหมู่ของแอลกอฮอล์ในกรดไขมันเอสเทอร์ (คนึงณัฐและปิยนาถ, 2550)

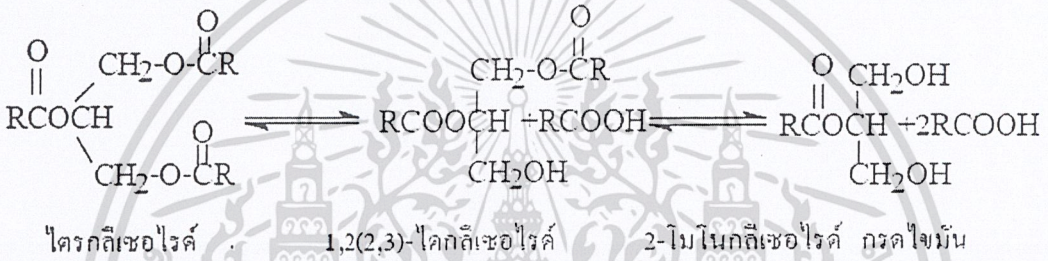
2.7.3 ความจำเพาะของไลเปสต่อสับสเตรท

เอนไซม์ไลเปสมีความจำเพาะต่อสับสเตรท สามารถแบ่งได้ 3 กลุ่ม คือ

2.7.3.1 ความจำเพาะต่อตำแหน่งบนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ (position specificity) แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อย คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

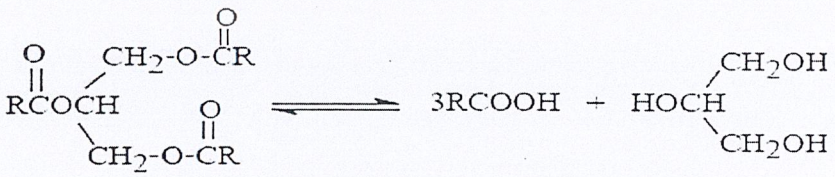
1. ไลเปสที่มีความจำเพาะที่ตำแหน่ง1- และ 3- บนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ (1,3 – specific lipase)ไลเปสในกลุ่มนี้จะเร่งปฏิกิริยาการตัดกรดไขมันเฉพาะตำแหน่งที่อยู่ด้านนอกของโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ ได้กรดไขมันอิสระ 1,2 (2,3)-ไดกลีเซอไรด์ และ 2-โมโนกลีเซอไรด์ แต่เนื่องจากโมเลกุลของ1,2(2,3)-ไดกลีเซอไรด์ และ 2-โมโนกลีเซอไรด์ไม่คงตัว ถ้าปล่อยให้ปฏิกิริยาเกิดต่อไป จะเกิดการย้ายกรดไขมัน(acyl migration) จากตำแหน่งที่ 2 ไปยังตำแหน่งที่ 1 และ 3 ได้เป็น 1,3-ไดกลีเซอไรด์ และ1-โมโนกลีเซอไรด์ ซึ่งจะถูกย่อยสลายอย่างสมบูรณ์ได้เป็นกลีเซอรอลและกรดไขมันอิสระ เอนไซม์กลุ่มนี้ได้แก่ ไลเปสจากตับอ่อน (Brockerhoff, 1968), *Bacillus subtilis* 168 (Lesuisse และคณะ, 1993) , *Mucor javanicus* (Lipase M), *Rhizomucor michei*(Lipozyme IM20), *Aspergillus niger* (Lipase A) , *Rhizopus javanicus* (Lipase F) ปฏิกิริยาของเอนไซม์กลุ่มนี้แสดงไว้ในรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 ปฏิกิริยาการย่อยสลายไตรกลีเซอไรด์โดยไลเปสที่มีความจำเพาะต่อตำแหน่งที่ 1 และ 3 บนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์

ที่มา : Macrae , 1983

2. ไลเปสที่ไม่มีความจำเพาะต่อตำแหน่งบนโมเลกลุไตรกลีเซอไรด์ (non-specific lipase) ไลเปสในกลุ่มนี้ สามารถตัดกรดไขมันบนโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ได้ทั้งสามตำแหน่งโดยไม่มีความจำเพาะต่อตำแหน่งของกรดไขมัน เมื่อมีการย่อยสลายสมบูรณ์จะได้กรดไขมันอิสระและกลีเซอรอล เอนไซม์ในกลุ่มนี้ ได้แก่ ไลเปสจาก *Candida rugosa*, *Pseudomonas sp.*P (Ghazali และคณะ,1995) *Chromobacterium viscosum* (Tanaka และคณะ, 1992), *Corynebacterium acnes* ปฏิกิริยาของเอนไซม์กลุ่มนี้แสดงไว้ในรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.7 ปฏิกิริยาการย่อยสลายไตรกลีเซอไรด์ โดยไลเปสที่ไม่มีความจำเพาะต่อตำแหน่งบน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โมเลกุลไตรกลีเซอไรด์

ที่มา : Macrae , 1983

2.7.4 ความจำเพาะต่อกรดไขมัน (fatty acid specificity)

ไลเปสในแหล่งต่าง ๆ จะมีความจำเพาะต่อชนิดของกรดไขมัน โดยจะสามารถเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายกรดไขมันชนิดใดชนิดหนึ่งด้วยอัตราเร็วสูง ๆ ซึ่งบางชนิดมีความจำเพาะต่อกรดไขมันที่มีความยาวโมเลกุลขนาดสั้น (ต่ำกว่า C8) เช่น ไลเปสจาก *Penicillium cyclopium* แยกได้เป็นไลเปส A และ B (pI 4.96 4.15 น้ำหนักโมเลกุล 27,000 และ 36,000 ตามลำดับ) โดยไลเปส A แสดงความสามารถที่สูงในการย่อยสลายไตรบิวทีลีน (tributyrin (C4) ในขณะที่ไลเปส B ย่อยสลายไตรกลีเซอไรด์ที่มีกรดไขมัน C8 และ C10 และทั้งสองตัวไลเปส A และ B ย่อยสลายน้ำมันมะกอกได้ดีเหมือนกัน ซึ่งน้ำมันมะกอกมีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวคือ C18:1 ไลเปสจาก *Bacillus* sp. เป็นไลเปสที่ทนอุณหภูมิสูง (thermostable lipase)โดยที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ไลเปสจะย่อยสลายไตรกลีเซอไรด์ที่มีกรดไขมันสายยาวกว่า C12 ได้ต่ำ ไตรลอรีน(trilaurin)) C12:0, ไตรไมริสติน (trimyristin) C14:0, ไตรปาล์มมิติน (tripalmitin) C16:0 และไตรสเตียริน(tristearin) C18:0) และจะทำปฏิกิริยาได้ดีขึ้นที่ 50 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่สูงขึ้นมีผลให้ไตรกลีเซอไรด์เหล่านี้เป็นของเหลว (Sugihara และคณะ, 1991) ไลเปสจาก *Geotrichum candidum* มีความจำเพาะต่อกรดไขมันสายยาวที่มีพันธะคู่ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 9 (cis-9double bond) ถ้าเป็นกรดไขมันอิ่มตัวและกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่ไม่มีพันธะคู่ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 9 เอนไซม์จะทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสช้าลง ไลเปสจาก *Aspergillus niger* สามารถไฮโดรไลซ์ไตรกลีเซอไรด์ที่ทำการทดสอบยกเว้นพวกที่มีกรดไขมันสายสั้น(tributyrin C4:0)(Macris และคณะ, 1996) ไลเปสจาก *Aspergillus niger* ย่อยสลายไตรโอลิอิน(triolein) ซึ่งกรดไขมันไม่อิ่มตัวพันธะคู่ 1 ตำแหน่ง (C18:1) ได้ดีกว่าไตรสเตียรินที่มีกรดไขมันอิ่มตัวชนิดกรดสเตียริก (stearic acid C18:0) ไลเปสจาก *Aspergillus sp.* (lipase 8901) สามารถย่อยสลายน้ำมันมะกอกและน้ำมันถั่วเหลืองได้อย่างรวดเร็วในน้ำมันทั้งสองชนิดนี้มีกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวในปริมาณมาก ส่วนน้ำมันปาล์ม น้ำมันมะพร้าว และน้ำมันหมูจะแข็งตัวได้ง่าย เพราะมีกรดไขมันอิ่มตัวในปริมาณสูง แก้ไขโดยละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ จะสามารถทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสได้ที่ 37 องศาเซลเซียส (Fu และคณะ, 1995) ใช้ไลเปสจาก *Candida rugosa* ทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสไขมันวัวและน้ำมันหมูที่ละลายในไอโซออกเทนทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่ 37 องศาเซลเซียสใน 24 ชั่วโมง ย่อยสลายได้ร้อยละ 94 และ 96 ตามลำดับ (Virto และคณะ, 1991)

2.7.5 เอนไซม์ตรึงรูป

การนำเอนไซม์มาใช้ในอุตสาหกรรมทั่ว ๆ ไปจะอยู่ในรูปของเอนไซม์อิสระและยังสามารถนำมาใช้ได้อีกลักษณะหนึ่ง คือใช้ในแบบของเอนไซม์ตรึงรูป ซึ่งจะเป็นการเปลี่ยนสถานะของเอนไซม์จากสารเร่งปฏิกิริยาที่เป็นของเหลวให้กลายมาเป็นสารเร่งปฏิกิริยาที่เป็นของแข็งที่ไม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ละลายน้ำ หรือละลายได้น้อยมาก โดยการนำเอาเอนไซม์อิสระมาจำกัดอยู่ในขอบเขตที่กำหนดหรือจัดไว้ หรือนำมาจับยึดไว้กับตัวกลางที่ไม่ละลายน้ำ หรือทำให้โมเลกุลเอนไซม์จับเชื่อมกันเองจนมีขนาดใหญ่

เอนไซม์ตรึงรูปนี้เมื่อใช้งานแล้ว สามารถแยกนำกลับมาใช้งานได้อีกหลายครั้ง จนกว่ากิจกรรมของเอนไซม์หรือความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ลดต่ำลงมาก ทำให้ประหยัดกว่าการใช้ในรูปเอนไซม์อิสระ เอนไซม์ตรึงรูปค่อนข้างจะมีเสถียรรูปที่ดีกว่าเอนไซม์ในรูปอิสระ สามารถใช้งานในระบบที่มีเอนไซม์หลาย ๆ ตัวได้ และใช้ได้ทั้งในลักษณะแบบต่อเนื่องหรือเป็นครั้งคราว เอนไซม์ที่จะนำมาตรึงรูปไม่จำเป็นต้องทำให้บริสุทธิ์มากนัก ก็สามารถทำงานได้ดีเหมือนเอนไซม์บริสุทธิ์ สำหรับเครื่องปฏิกรณ์ที่จะใช้กับเอนไซม์ตรึงรูปก็ไม่มีปัญหา เพราะสามารถเลือกใช้ให้เหมาะสมได้ขึ้นอยู่กับรูปแบบของการตรึงรูป และสารที่เป็นสับสเตรท

2.7.6 ข้อควรคำนึงในการผลิตเอนไซม์ตรึงรูป

2.7.6.1 ในการผลิตเอนไซม์ตรึงรูป มีข้อควรคำนึงดังนี้คือ ความปลอดภัย เนื่องจากการเตรียมเอนไซม์ตรึงรูปบางครั้งจะใช้สารเคมีที่มีความจำเป็นพิษสูงหรือมีอันตราย

2.7.6.2 กรรมวิธีที่ใช้ในการเตรียมควรเป็นอย่างง่าย ๆ ไม่ซับซ้อน

2.7.6.3 ประสิทธิภาพของเอนไซม์ตรึงรูป ประสิทธิภาพจะต้องไม่ลดลงหรือเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม

2.7.6.4 ประหยัดค่าใช้จ่าย ในการผลิตเอนไซม์ตรึงรูป จะต้องไม่มีราคาสูงเกินไป (อารี,2550)

2.7.7 ประโยชน์ของเอนไซม์ไลเปสตรึงรูป

เอนไซม์ตรึงรูปมีประโยชน์หลายประการด้วยกัน เช่น

2.7.7.1 สามารถนำเอนไซม์กลับมาใช้ได้อีก เป็นการลดปริมาณการใช้เอนไซม์และลดค่าใช้จ่าย

2.7.7.2 สามารถใช้กับกระบวนการหมักแบบต่อเนื่องอย่างได้ผล เช่นเดียวกับการใช้จุลินทรีย์ในกระบวนการ

2.7.7.3 ผลิตภัณฑ์ที่ได้ไม่มีเอนไซม์ปนออกมา ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความบริสุทธิ์คุณภาพคงที่

2.7.7.4 สามารถควบคุมกระบวนการผลิตได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการควบคุมอัตโนมัติจะทำได้ง่ายและช่วยลดค่าแรง

2.7.7.5 ช่วยให้เอนไซม์มีความเสถียรมากขึ้น

2.7.7.6 สามารถใช้เอนไซม์ได้หลายชนิดในกระบวนการหมัก

2.7.7.7 ใช้ประโยชน์ได้ดีในทางอุตสาหกรรมและทางการแพทย์

2.7.7.8 ช่วยลดปัญหาการกำจัดของเสียจากกระบวนการผลิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถึงแม้ว่าการใช้เอนไซม์ตรึงรูปจะมีประโยชน์มากกว่าการใช้เอนไซม์โดยทั่วไป แต่มีข้อเสีย คือ เมื่อเอนไซม์มาตรึงกับสารพยุง (support material) เอนไซม์อาจสูญเสียประสิทธิภาพได้ เอนไซม์ตรึงรูปบางชนิดไม่มีความเสถียรเมื่อเก็บไว้เป็นเวลานาน ๆ เนื่องจากประสิทธิภาพการตรึงต่ำและบางชนิดไม่สามารถย่อยสลายสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ๆ ได้ นอกจากนี้กระบวนการผลิตอาจยุ่งยากและวับซ้อนกว่าเดิม เช่น กระบวนการผลิตแบบต่อเนื่องอาจจำเป็นต้องใช้เครื่องมือที่ซับซ้อนมากขึ้น (อารี, 2550)

2.7.8 ลักษณะของพาหะที่นำมาใช้ในการตรึงรูปเอนไซม์

2.7.8.1 มีความเสถียร และทนทานต่อสารเคมี ความร้อนและแรงกระทบ

2.7.8.2 สามรถใช้ได้กับเอนไซม์ที่ต้องการนำมาตรึง

2.7.8.3 ไม่ละลายน้ำและมีลักษณะการชอบน้ำ

2.7.8.4 ไม่ถูกทำลายหรือย่อยสลายโดยจุลินทรีย์

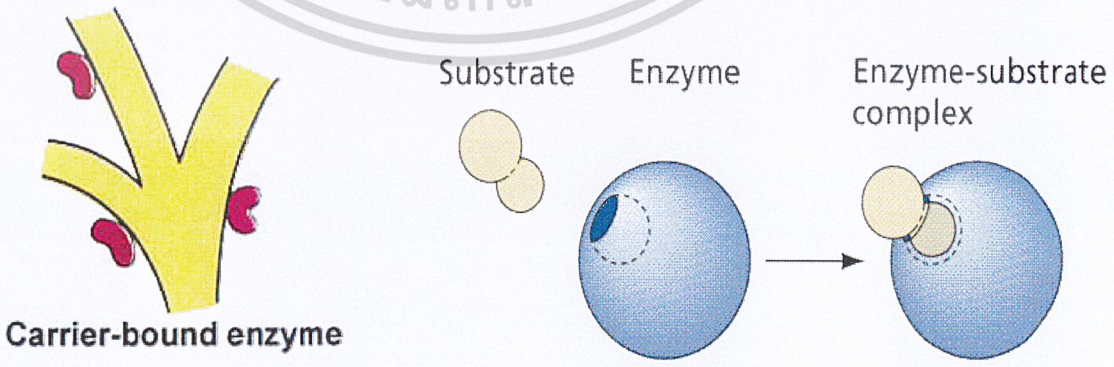
2.7.8.5 พาหะต้องอยู่ในวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการได้

2.7.8.6 การตรึงเอนไซม์เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหารจะต้องใช้สารพยุงที่ไม่มีคุณสมบัติเป็นสารก่อมะเร็ง

2.7.9 วิธีการตรึงรูปเอนไซม์

วิธีการหลัก ๆ ในการตรึงรูปเอนไซม์ แบ่งได้ 3 วิธี คือ

2.7.9.1 การตรึงรูปด้วยวิธีการเชื่อมยึดติดกับสารตัวกลาง หรือตัวพยุง (carrier binding) ไม่ละลายน้ำอาจทำการเชื่อมเอนไซม์เข้ากับผิวของตัวพยุง ด้วยพันธะไอออนิก หรือเชื่อมด้วยพันธะโคเวเลนต์ ปฏิกิริยาการเกิดพันธะจะมีผลต่อโครงสร้างและ ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ หรือจะเชื่อมเอนไซม์เข้ากับผิวของตัวพยุงด้วยวิธีการดูดซับทางกายภาพก็ได้ การตรึงรูปเอนไซม์วิธีนี้จะต้องพิจารณาเลือกตัวพยุงให้เหมาะสมกับชนิดของเอนไซม์ และวัตถุดิบที่ใช้เป็นสับสเตรท ซึ่งมีทั้งสารธรรมชาติและสารสังเคราะห์ ดังรูปที่2.8

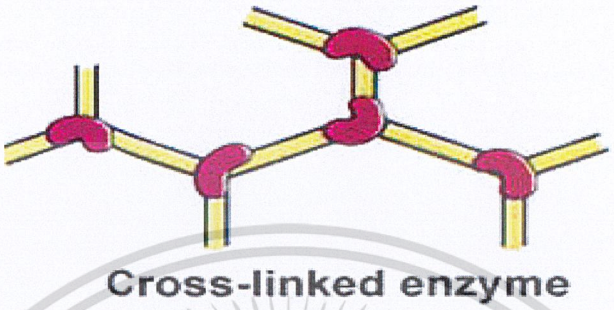


รูปที่ 2.8 การตรึงรูปด้วยวิธีการเชื่อมยึดติดกับสารตัวกลางหรือตัวพยุง

ที่มา : agri.npu.ac.th/publication/Aj.../Immobilized%20Enzyme.ppt

เอกสารนี้ผลิตขึ้นเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7.9.2 การตรึงรูปด้วยการเชื่อมแบบไขว้ (cross linking method) การตรึงรูปวิธีนี้ไม่ต้องใช้ตัวพยุง แต่จะอาศัย สารเชื่อมไขว้ระหว่างโมเลกุลของเอนไซม์ด้วยพันธะโคเวเลนต์ ทำให้โมเลกุลเอนไซม์ตั้งแต่ 2 โมเลกุลขึ้นไปเชื่อมเกาะกันเป็นกลุ่มที่มีขนาดใหญ่ขึ้น และทำให้ละลายน้ำได้น้อยลง ดังรูปที่2.9

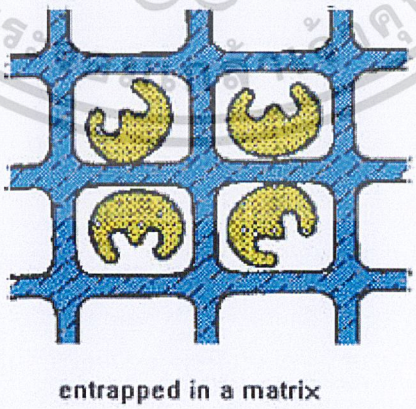


รูปที่ 2.9 การตรึงรูปด้วยการเชื่อมแบบไขว้

ที่มา : agri.npu.ac.th/publication/Aj.../Immobilized%20Enzyme.ppt

2.7.9.3 การตรึงรูปด้วยการห่อหุ้มเอนไซม์เอาไว้ (entrapping method) การตรึงรูปเอนไซม์วิธีนี้เป็นที่นิยม เพราะเอนไซม์ไม่ได้สร้างพันธะเคมีใดๆ กับสารห่อหุ้ม และเอนไซม์ไม่ได้จับยึดกับตัวพยุง หรือ จับยึดกันเอง แต่จะถูกขังให้อยู่ในบริเวณที่จำกัด ซึ่งมีอยู่ 2 แบบ คือ

1. เอนไซม์จะถูกขังหรือห่อหุ้มไว้ ภายในช่องตาข่าย ของสารโพลีเมอร์ที่ไม่ละลายน้ำ สารที่ใช้ห่อหุ้มเอนไซม์วิธีนี้อาจเป็นสารโพลีเมอร์ธรรมชาติ หรือ สังเคราะห์ก็ได้ การเตรียมเอนไซม์วิธีนี้จะต้องเลือกชนิดของสารโพลีเมอร์ให้เหมาะสมกับเอนไซม์ที่ใช้ เนื่องจากสารบางชนิดขณะเกิดเป็นโพลีเมอร์ จะมีปฏิกิริยารุนแรงจนทำให้ เสถียรภาพของเอนไซม์เสียหายไปได้ ดังรูปที่ 2.10

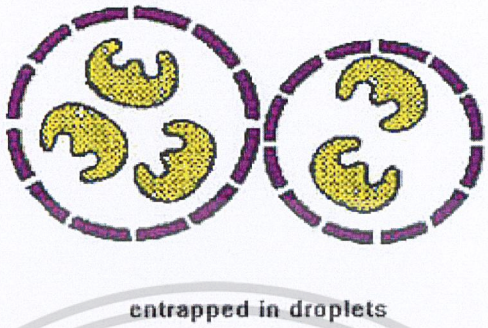


รูปที่ 2.10 การตรึงรูปโดยการห่อหุ้มเอนไซม์ไว้ในโครงตาข่าย

ที่มา: agri.npu.ac.th/publication/Aj.../Immobilized%20Enzyme.ppt

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

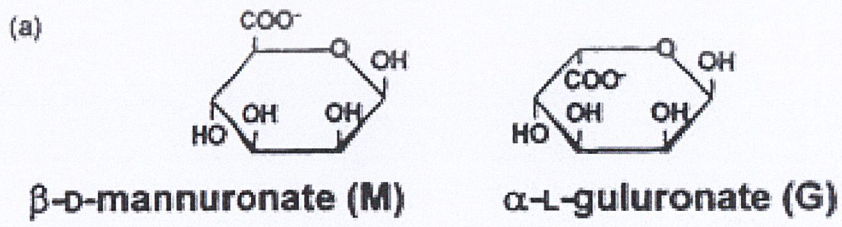
2. เอนไซม์จะถูกห่อหุ้มไว้ในแคปซูลเล็กที่มีคุณสมบัติยอมให้สารบางชนิดผ่าน เข้า-ออกได้ แต่เอนไซม์ผ่านออกมาไม่ได้ การเตรียมเอนไซม์วิธีนี้จะต้องควบคุมสภาวะที่ใช้ทำปฏิกริยา ขณะเกิดสารโพลีเมอร์ให้ดี มิฉะนั้นจะมีผลต่อค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่ได้ ดังรูปที่ 2.11



รูปที่ 2.11 การตรึงรูปโดยการห่อหุ้มเอนไซม์ไว้ในแคปซูลเล็ก
ที่มา: agri.npu.ac.th/publication/Aj.../Immobilized%20Enzyme.ppt

2.8 อัลจิเนต (alginate)

เป็นพอลิแซคคาไรด์ที่สกัดจากสาหร่ายสีน้ำตาล โครงสร้างประกอบด้วย กรดแอล-กูลูโรนิก (L-guluronic acid) และกรดดี-แมนนูโรนิก (D-mannuronic acid) ดังรูปที่ 2.11การที่จะให้อัลจิเนตฟอร์มตัวเป็นเจลต้องใช้ Ca^{+2} หรือไอออนอื่นร่วม เช่น BA^{+2}, Al^{+3} ใช้ตรึงรูปเอนไซม์แบบห่อหุ้มหรือจับแบบพันธะโควาเลนต์ก็ได้ อัลจิเนตจะเสถียรมากในช่วงพีเอชระหว่าง 5-10 ถ้าความเข้มข้นของกรดสูง (พีเอชน้อยกว่า 5) หรืออุณหภูมิสูง อัลจิเนตจะเกิดกระบวนการดีคาร์บอกซีเลชันสลายตัวให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และจะไม่เสถียรถ้ามีสารที่ทำให้เกิดการออกซิไดซ์ หรือรีดิวซ์ (oxidizing, reducing agent) หรือมีโปแตสเซียม ไอออน (K^+) แมกนีเซียม ไอออน (Mg^+) ฟอสเฟตซิเทรต หรือสารที่จับโลหะ การตรึงเอนไซม์ในอัลจิเนตนั้นปลอดภัย รวดเร็ว ง่าย ราคาถูก และใช้สภาวะการตรึงอย่างอ่อน แต่อาจมีข้อเสียอยู่บ้างถ้าเกิดการรั่วไหล (leakage) ของเอนไซม์ (อารี , 2550)



รูปที่ 2.12 โครงสร้างอัลจิเนตประกอบด้วย กรดแอล-กูลูโรนิก (L-guluronic acid) และกรดดี-แมนนูโรนิก (D-mannuronic acid)
ที่มา: http://eu.lib.kmutt.ac.th/elearning/Courseware/BCT611/Chap4/chapter4_2.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9 การแยกสารด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแบบแผ่นบาง (thin layer chromatography)

คำว่า chromatography มาจากภาษากรีก chromatos แปลว่า สี ความหมายเดิมของ chromatography หมายถึงการแยกของผสมที่มีสี ในปัจจุบันหมายถึงเทคนิคที่ใช้แยกสารผสมออกจากกัน โดยอาศัยความสัมพันธ์ระหว่างสารกับเฟสคงที่ (stationary phase) และเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) เฟสคงที่อาจเป็นของแข็งหรือของเหลว ถ้าเป็นของแข็งการแยกจะเป็นแบบดูดซับ (adsorption) ถ้าเป็นของเหลวการแยกสารจะเป็นแบบแบ่งละลาย (partition) เฟสเคลื่อนที่อาจจะเป็นของเหลวหรือแก๊สทำหน้าที่พาสารแต่ละชนิดในสารผสมให้เคลื่อนที่ด้วยอัตราเร็วแตกต่างกัน จึงทำให้สารแยกออกจากกันได้ กระบวนการโครมาโตกราฟีเกิดขึ้น เนื่องจากสารที่ต้องการแยกมีการเคลื่อนที่ในอัตราที่แตกต่างกัน ซึ่งเนื่องมาจากแรง 2 แรง คือ

1. แรงผลักดัน (propelling forces) เกิดเนื่องจากการไหลของตัวเฟสเคลื่อนที่หรือความสามารถในการละลายของสารในตัวเฟสเคลื่อนที่

2. แรงดึง (retarding forces) หมายถึงแรงที่เฟสคงที่ดึงดูดสารไว้ เช่น แรงวานเดอวาลส์ แรงพันธะไฮโดรเจน เป็นต้น

Thin Layer Chromatography

เป็นโครมาโตกราฟีแบบดูดซับ Solid-liquid chromatography ของผสมที่ถูกแยกจะถูกดูดซับโดยเฟสคงที่ที่เป็นของแข็ง เฟสคงที่ที่ที่นิยมใช้คือ silica gel ($SiO_2.XH_2O$) และ alumina (Al_2O_3) ในขณะเดียวกันเฟสเคลื่อนที่ซึ่งเป็นของเหลวก็จะพาสารให้เคลื่อนที่ไป เนื่องจากสารที่มีโครงสร้างต่างกันจะได้รับแรงดึงและแรงผลักดันต่างกันด้วย ดังนั้นสารแต่ละชนิดจึงเคลื่อนที่ในอัตราที่แตกต่างกัน สารที่ถูกดูดซับได้ดีกว่าจะเคลื่อนที่ได้ช้ากว่าสารที่ถูกดูดซับน้อย จึงทำให้เกิดการแยกของสารขึ้นเป็นแถบๆ เรียกว่า โครมาโทรแกรม เฟสคงที่จะทำหน้าที่ 2 ลักษณะ คือ รับโมเลกุลของสารเข้ามาสัมผัสกับตัวมัน เรียกว่าเกิด adsorption และปล่อยให้โมเลกุลของสารเคลื่อนที่ต่อไป เรียกว่าเกิด desorption

เฟสคงที่มีหลายชนิด ในการเลือกใช้จึงต้องเลือกให้เหมาะสมกับสารที่ต้องการแยกตัวอยู่กับที่ที่ดีจะต้องไม่ละลายในเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการแยกและต้องไม่เป็นตัวเร่งของปฏิกิริยา

เฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ในขบวนการโครมาโตกราฟีมีหลายชนิด ซึ่งเรียงลำดับความเป็นขั้วจากต่ำไปหาสูง ดังนี้ คือเฮกเซน < คาร์บอนเตตราคลอไรด์ < เบนซีน < อีเทอร์ < คลอโรฟอร์ม < เอทิลอะซิเตต < อะซีโตน < เอทานอล < น้ำ

ในบางกรณีเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้มีความเป็นขั้วไม่พอ และเฟสคงที่มีความเป็นขั้วสูงกว่า ไม่ก็มีความเป็นขั้วมากเกินไป จึงไม่สามารถจะใช้ตัวเคลื่อนที่ชนิดเดียวได้ จำเป็นต้องใช้ตัวทำละลายผสมเพื่อที่จะได้ตัวทำละลายที่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.10 เอกสารอ้างอิงที่เกี่ยวข้อง

Ma และคณะ, 1998 ได้ทำการสังเคราะห์ไบโอดีเซลจากไขมันวัว โดยใช้เมทานอลเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ปัจจัยที่ใช้ในการศึกษาคือ ตัวเร่งปฏิกิริยา ปริมาณกรดไขมันอิสระ น้ำ และเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา โดยพบว่าโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่มีประสิทธิภาพมากกว่าโซเดียมเมธ็อกไซด์ เนื่องจากโซเดียมเมธ็อกไซด์จะให้ผลผลิตไบโอดีเซลมากที่สุดที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ในขณะที่โซเดียมไฮดรอกไซด์เพียงร้อยละ 0.3 นอกจากนี้ยังพบว่าไขมันหรือน้ำมันมีปริมาณกรดไขมันอิสระมาก ปริมาตรของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ต้องมากด้วย และเกิดเอสเทอร์น้อยกว่าร้อยละ 5 และทำให้ผลิตภัณฑ์กลายเป็นของแข็งที่อุณหภูมิห้อง และพบว่าไขมันหรือน้ำมันมีน้ำปนก็ทำให้เอสเทอร์เกิดน้อยเช่นกัน ดังนั้นก่อนที่จะนำไขมัน หรือน้ำมันมาใช้ควรกำจัดกรดไขมันอิสระก่อน หรืออาจจะใช้กรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทนโซเดียมไฮดรอกไซด์ จากการศึกษาผลของเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา พบว่า ที่เวลามากขึ้นเอสเทอร์ที่เกิดจะมากขึ้น โดยในช่วง 5 นาทีแรกปฏิกิริยาจะดำเนินไปอย่างช้าๆ แต่จะเกิดสมบูรณ์ที่เวลา 15 นาที

Nimcevic และคณะ, 2000 ได้ศึกษาการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันจากน้ำมันเรฟกับแอลกอฮอล์ที่มีจำนวนคาร์บอนต่ำ (C_1-C_4) คือ เมทานอล, เอทานอล, เอ็น-โพรพานอล, ไอ-โพรพานอล , เอ็น-บิวทานอล, ไอ-บิวทานอล และ ที-บิวทานอล ใช้โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์และกรดซัลฟูริกเป็นตัวเร่ง พบว่าสามารถเตรียมเมทิลและเอทิลเอสเทอร์ได้ เมื่อใช้โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาและเตรียมโพพิลและบิวทิลเอสเทอร์ได้ เมื่อใช้กรดซัลฟูริกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา พบว่าแอลกอฮอล์ที่มีโซ่กิ่งจะเกิดปฏิกิริยาช้ากว่าแอลกอฮอล์ที่มีโซ่ตรง ในขณะที่ ที-บิวทานอล ไม่เกิดปฏิกิริยา

Kaieda และคณะ, 2001 ได้ศึกษาผลของเมทานอลและน้ำที่มีอยู่ในไบโอดีเซลจากน้ำมันพืช โดยใช้ตัวเร่งไลเปสต่างๆในระบบปราศจากตัวทำละลาย ซึ่งเมทิลเอสเทอร์ที่ถูกสังเคราะห์จากน้ำมันพืชและเมทานอลโดยปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสได้เป็นไบโอดีเซล เมทาโนไลซิสของน้ำมันถั่วเหลืองโดยไลเปสจากเชื้อจุลินทรีย์ที่หลากหลายนำไลเปสไปเป็นตัวเร่งในปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสในระบบ water-containing ปราศจากตัวทำละลาย ตัวเร่งปฏิกิริยาไลเปสจาก *Candida rugosa*, *Pseudomonas cepacia* และ *Pseudomonas fluorescens* มีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาอย่างสูง โดยอัตราการเกิดปฏิกิริยาของเมทาโนไลซิสที่เร่งปฏิกิริยาด้วยไลเปส *C.rugosa* และ *P. fluorescens* ปฏิกิริยาจะถูกยับยั้งเมื่อมีน้ำในปฏิกิริยา โดยน้ำจะหยุดยั้งปฏิกิริยาของไลเปส ส่วนอัตราการเกิดปฏิกิริยาของเมทาโนไลซิสที่เร่งปฏิกิริยาโดยไลเปส *P. cepacia* ปฏิกิริยาจะสูงขึ้นเมื่อน้ำน้อยก็ตาม ไลเปส *P. cepacia* จะให้เมทิลเอสเทอร์ที่สูงในปฏิกิริยาโดยใช้ 2 หรือ 3 ร์ของเมทานอลต่อน้ำมัน ซึ่งไลเปส *P. cepacia* จะถูกยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาเมื่อมีเมทานอลมากเกินไป และไลเปสที่เหมาะสมในปฏิกิริยาเมทาโนไลซิส คือ ไลเปส *P. cepacia*

เอกสารนี้สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kinney และClemente, 2004 ได้ศึกษาการปรับปรุงน้ำมันถั่วเหลืองเพื่อยกระดับในการผลิตไบโอดีเซลพบว่าน้ำมันถั่วเหลือง (Glycine max Merr.) จะประกอบด้วยกรดไขมัน 5 ชนิด คือ กรดปาล์มมิติกร้อยละ 13 กรดสเตียริกร้อยละ 4 กรดโอเลอิกร้อยละ 18 กรดลิโนเลอิกร้อยละ 55 และ กรดลิโนเลนิกร้อยละ 10 ประเทศสหรัฐอเมริกาผลิตน้ำมันถั่วเหลืองจาก ปี 1993 ถึง 1995 โดยเฉลี่ยคือ 6,800,000,000 กิโลกรัมและในปี 2002 ประเทศสหรัฐอเมริกาเก็บเกี่ยวถั่วเหลืองมากกว่า 30,000,000 เฮกต้า ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 40 ของผลรวมทั้งหมดของถั่วเหลืองทั้งโลก โดยการผลิตน้ำมันพืชในอุตสาหกรรมจะมีมากกว่าร้อยละ 50 ซึ่งความสามารถในการผลิตน้ำมันถั่วเหลืองทั้งหมดถึง 1,900,000,000 แกลลอน ปี 1996 ประมาณร้อยละ 6.9 ของน้ำมันดีเซลที่ถูกใช้สหรัฐอเมริกาเพื่อการขนส่งใน ข้อดีของการใช้ไบโอดีเซล คือ การเพิ่มจุดวาบไฟ ลดความเป็นพิษ การคายลดลง และการหล่อลื่นเพิ่มขึ้น แต่จะมีอยู่ 2 คุณสมบัติที่เป็นปัญหาคือ ความไม่เสถียรภาพของการเกิดออกซิเดชัน และการไหลที่อากาศเย็น ดังนั้นการปรับปรุงน้ำมันถั่วเหลืองจะปรับปรุงมาเพื่อการใช้ในเครื่องยนต์มากที่สุด โดยการใช้ทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพเพื่อการปรับปรุงโครงสร้างกรดไขมันของถั่วเหลืองเพื่อเพิ่มการดึงดูดการใช้ไบโอดีเซล

Han และคณะ, 2005 ได้ทำการศึกษาการเตรียมไบโอดีเซลจากน้ำมันถัวเหลืองโดยใช้เมทานอลและคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวทำละลายร่วมกัน พบว่าปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของน้ำมันถั่วเหลืองในเมทานอลโดยปราศจากตัวเร่งปฏิกิริยาแต่จะใช้ตัวทำละลายร่วมโดยจะเติมในปฏิกิริยาเพื่อลดอุณหภูมิ ความดันและอัตราส่วนของเมทานอลกับน้ำมันพืช ซึ่งใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวทำละลายร่วมในปฏิกิริยาจะช่วยลดความรุนแรงในปฏิกิริยาอย่างยิ่งยวด การทดลองพบว่า ปฏิกิริยาจะใช้อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 280 องศาเซลเซียส อัตราส่วนน้ำมันต่อเมทานอลคือ 1:24 อัตราส่วนของเมทานอลกับคาร์บอนไดออกไซด์ คือ 1:10 ผลผลิตของเมทิลเอสเทอร์ คือร้อยละ 98 ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา 10 นาที และความดันของปฏิกิริยาคือ 14.3 เมกะ-ปาสคาลเป็นกระบวนการที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

Ting และคณะ, 2006 ได้ทำการทดลองเพื่อพัฒนากระบวนการผสมตัวเร่งเอนไซม์และตัวเร่งกรดเพื่อการผลิตไบโอดีเซล โดยใช้น้ำมันถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบ การใช้เอนไซม์เร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสนั้น ร้อยละ88ของน้ำมัน ถูกย่อยครั้งแรกเมื่อใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูป 2 ขั้นตอนเป็นเวลา 5 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม นำสารที่ได้จากจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสนั้นไปใช้ต่อไปในปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันโดยการใช้ตัวเร่งที่เป็นกรดเพื่อผลิตไบโอดีเซลและมีการทดลองอิทธิพลของอุณหภูมิ ความเข้มข้นของตัวเร่ง อัตราส่วนโดยโมลของวัตถุดิบต่อเมทานอลและช่วงเวลาของปฏิกิริยาการเกิดไบโอดีเซล อัตราส่วนโดยโมลของวัตถุดิบต่อเมทานอลที่ใช้ 1:15 และความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก ร้อยละ2.5 เกิดการเปลี่ยนแปลงของไบโอดีเซลได้ถึงร้อยละ99 หลังจากเกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 50 องศา กระบวนการผสมตัวเร่งนี้อาจจะเป็นอีกหนทางเพื่อใช้ในการผลิตไบโอดีเซลด้วยการใช้น้ำมันที่ไม่บริสุทธิ์เป็นวัตถุดิบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Maceiras และคณะ, 2009 การศึกษาการใช้เอนไซม์ในการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนจากการทอดอาหาร ศึกษาโดยใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูป Novozym 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา สภาวะที่เหมาะสมของการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่นมีดังนี้คือ อัตราส่วนโดยโมลของเมทานอลต่อน้ำมันคือ 25:1 ปริมาณของเอนไซม์ตรึงรูปที่ใช้คือ ร้อยละ 10 ของน้ำหนักของน้ำมันเหลือใช้ และระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา คือ 4 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เกิดไบโอดีเซลได้ถึงร้อยละ 89.1

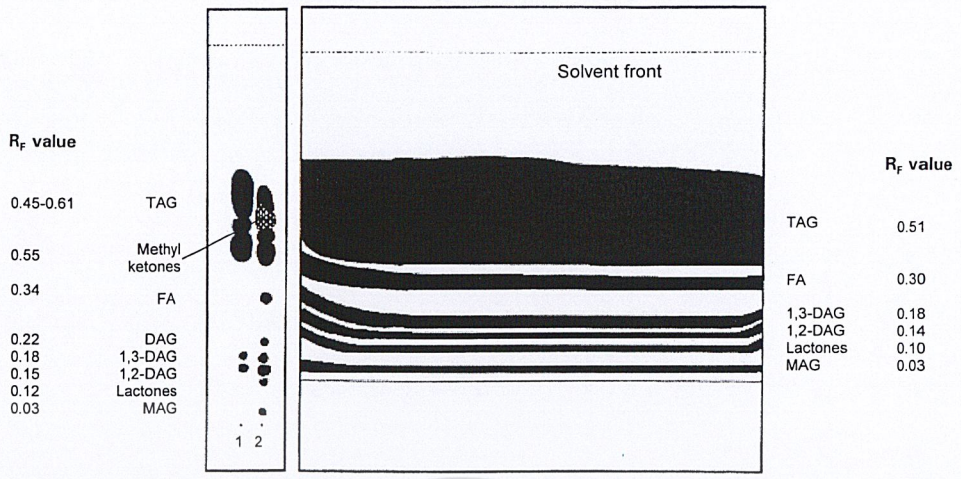
Iso และคณะ, 2001 การเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่นโดยใช้ไตรกลีเซอไรด์ทำปฏิกิริยากับแอลกอฮอล์สายสั้นและเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปในสภาวะที่ไม่มีน้ำ ซึ่งตรึงเอนไซม์ไลเปสจาก *Pseudomonas fluorescens* ซึ่งพบว่าเมื่อใช้ 1-โพรพานอล และ1-บิวทานอล ซึ่งเป็นแอลกอฮอล์สายสั้นในการทำปฏิกิริยาซึ่งจะทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปเพิ่มขึ้นอย่างมาก

Du และคณะ, 2004 การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันถั่วเหลืองโดยใช้เอนไซม์ไลเปสNovozym 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา พบว่าอัตราส่วนโดยโมลระหว่างเมทานอลต่อน้ำมัน คือ 12:1 จะทำให้เกิดไบโอดีเซลได้ถึงร้อยละ 92 โดยที่อัตราส่วนนี้ยังไม่ส่งผลกระทบต่อกิจกรรมของเอนไซม์

Chen และคณะ, 2009 การผลิตไบโอดีเซลโดยใช้น้ำมันเหลือใช้จากครัว ใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปจาก *Candida sp.* เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาซึ่งดำเนินปฏิกิริยาในถังปฏิกรณ์ทำให้เกิดไบโอดีเซลถึงร้อยละ 91.08 โดยใช้ไลเปส:เมทานอล:น้ำ:น้ำมันเหลือใช้จากครัวเรือนอัตราส่วนคือ 25:15:10:100 ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสและจากการทดลองพบว่าผลกระทบที่ส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปสคือน้ำ เมทานอล และอุณหภูมิ โดยที่ปริมาณน้ำในปฏิกิริยาไม่ควรมากเกินร้อยละ 10 เนื่องจากน้ำจะมีผลต่อการถ่ายโอนมวลของเฟสน้ำมันของปฏิกิริยาและยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่น กิจกรรมเอนไซม์ไลเปสเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจาก 35 องศาเซลเซียส ถึง 40 องศาเซลเซียสและค่อย ๆเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจาก 40 องศาเซลเซียสถึง 50 องศาเซลเซียส เวลาในการทำปฏิกิริยาเมื่อใช้เวลามากกว่า 30 ชั่วโมง ปริมาณเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันจะค่อย ๆลดลงเนื่องจากอาจเป็นไปได้ว่ากลีเซอรอลดูดซึมบนพื้นผิวของเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปทำให้เกิดข้อจำกัดในการที่สับสเตรทจะสัมผัสกับโมเลกุลของเอนไซม์และอาจเกิดจากความเป็นพิษของเมทานอลต่อเอนไซม์

Liu และKinderlerer, 1999 พบว่าสารแต่ละชนิดที่เกิดการเคลื่อนที่บนแผ่นกระจกที่เคลือบด้วยซิลิกาเจลนั้นมีระยะทางที่แตกต่างกัน ระยะทางการเคลื่อนที่ของน้ำมันเนยบนแผ่นซิลิกานั้นสามารถนำมาคำนวณค่า R_f ได้ดังนี้คือ ค่า R_f ของไตรอัลคิลกลีเซอรอล (triacylglycerols) คือ 0.45-0.61 เซนติเมตร ค่า R_f ของกรดไขมันอิสระคือ 0.34 ค่า R_f ของไดอัลคิลกลีเซอรอล (diacylglycerol) คือ 0.22 เซนติเมตร และค่า R_f ของโมโนอัลคิลกลีเซอรอล (monoacylglycerol) คือ 0.03 เซนติเมตร ดังรูปที่ 2.13

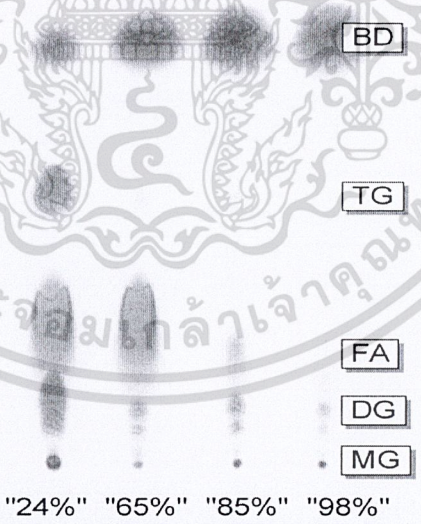
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่2.13 แสดงระยะทางการเคลื่อนที่ของน้ำมันเนยบนแผ่น TLC

ที่มา : Liu และ Kinderlerer , 1999

Fedosov และคณะ, 2011 การเคลื่อนที่บนแผ่นกระจกที่เคลือบด้วยซิลิกาของไบโอดีเซลนั้น แถบของสารที่เคลื่อนที่ด้านบนสุด คือ ไบโอดีเซล แถบที่ 2 คือไตรกลีเซอไรด์ แถบที่ 3 คือ กรดไขมัน แถบที่ 4 คือ ไดกลีเซอไรด์ และแถบด้านล่างสุด คือ โมโนกลีเซอไรด์ ไบโอดีเซลที่มีปริมาณเมทิลเอสเทอร์ร้อยละ 98 จะมีความยาวของแถบสารด้านบนสุดในระยะทางที่มาก และ แทบจะไม่มีแถบของไตรกลีเซอไรด์และกรดไขมันปรากฏอยู่เลย ดังรูปที่2.14



รูปที่2.14 ตัวอย่างปริมาณ FAME ที่แยกบนแผ่น TLC

ที่มา : Fedosov และคณะ, 2011

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

3.1.1 น้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือน

3.1.2 เมทานอล

3.1.3 เอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Candida rugosa*

3.1.4 แคลเซียมอัลจิเนต

3.1.5 แคลเซียมคลอไรด์

3.1.6 เฮกเซน

3.1.7 ไฮโดรคลอริก

3.1.8 โซเดียมไฮดรอกไซด์

3.1.9 พารา – ไนโตรฟีนิลปาล์มิเตรท

3.1.10 ฟีนอล์ฟทาลีน

3.1.11 โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์

3.1.12 เอทานอล

3.1.13 ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์

3.1.14 โทลูอีน

3.2 ปรับสภาพน้ำมัน

นำน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนมาปรับสภาพน้ำมันโดยการกรองเพื่อขจัดสิ่งสกปรกที่ไม่อาจสังเคราะห์แยกออกจากกันได้ โดยการใช้เครื่องกรองแบบสุญญากาศและกระดาษกรองอย่างหยาบเบอร์ 4 น้ำมันที่ได้จากการกรองนำมาทำการกวนอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 10 นาทีกับร้อยละ 1 ของ H_3PO_4 ร้อยละ 85 โดยเครื่องกวนแม่เหล็กกวนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสและกวนอีก 30 นาทีกับน้ำกลั่น หลังจากนั้นนำส่วนผสมที่ได้มาใส่ในกรวยแยก (separatory funnel) เป็นเวลา 0.5-1 ชั่วโมง เพื่อเอาคอลลอยด์และน้ำออก (Chen และคณะ, 2009)

3.3 ตรึงเอนไซม์ไลเปสในเม็ดแคลเซียมอัลจิเนต

เอนไซม์ไลเปส *C. rugosa* 50 มิลลิกรัม / มิลลิลิตร ผสมกับ สารละลายแคลเซียมอัลจิเนต ร้อยละ 1 ปริมาตร 8 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน จากนั้นใช้เข็มฉีดยาดูดสารละลายที่ผสมเข้ากันดีแล้วหยดลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (50 มิลลิโมลาร์)ปริมาตร10 มิลลิลิตร โดยเข็มฉีดยาจะทำให้เกิดการขึ้นรูปของเม็ดแคลเซียมอัลจิเนต ทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที แยกเม็ดแคลเซียมอัลจิเนตออกจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ เมื่อกรองเสร็จจึงทำการล้างเม็ดอัลจิเนต 2 ครั้งด้วยทริส-ไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ (pH 7.2) ความเข้มข้น50 มิลลิโมลาร์ (Won และคณะ , 2005)

3.4 การไฮโดรไลซิส (hydrolysis) ของน้ำมัน

ทำการไฮโดรไลซ์ (hydrolyze) น้ำมัน ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม (อัตราส่วนคือ น้ำมัน 10 ส่วน (โดยน้ำหนัก) ในทริส-ไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ (pH8) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ 5 ส่วน (โดยน้ำหนัก) เอนไซม์ไลเปส 3 ส่วน (โดยน้ำหนัก)) ควบคุมความเข้มข้นของเอนไซม์ไลเปส 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในแคลเซียมอัลจิเนต ร้อยละ1 ปริมาตร 8 มิลลิลิตร กำหนดเวลาในการเกิดปฏิกิริยาที่ 20 ชั่วโมง จากนั้นทำการแปรผันของอุณหภูมิที่แตกต่างกัน ดังนี้ อุณหภูมิที่ 30, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าแบบปรับอุณหภูมิได้ ที่มีอัตราการเขย่า 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 20 ชั่วโมง และนำน้ำมันที่ได้ไปกรองเอาเอนไซม์ตรึงรูปออก แล้วปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาการแยกชั้นเป็น 3 ชั้นของกลีเซอรอล น้ำ และน้ำมัน โดยนำส่วนน้ำมันที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงไปหาค่ากรดไขมันอิสระ (FFA) ด้วยการไทเทรต รายละเอียดการเตรียมสารเคมีแสดงในภาคผนวก ก ผลของอุณหภูมิที่ไทเทรตได้ค่ากรดไขมันอิสระสูงสุดจะนำไปทำการทดลองขั้นต่อไป คือ นำไปแปรผันกับเวลาที่ชั่วโมงแตกต่างกัน ได้แก่ ที่เวลา 5, 10, 15, 20 และ 25 ชั่วโมง จากนั้นนำไปแปรผันโดยการทดลองกับความเข้มข้นของเอนไซม์ไลเปสที่ความเข้มข้นต่างกันดังนี้ เอนไซม์ไลเปส (30, 40, 50 และ 60 มิลลิกรัม / มิลลิลิตร) ผสมกับ สารละลายแคลเซียมอัลจิเนต ร้อยละ 1 ปริมาตร 8 มิลลิลิตร โดยที่อุณหภูมิเท่าเดิม(Ting และคณะ , 2008) จากนั้นนำผลที่ได้จากการทดลองในขั้นตอนนี้ไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง แล้วนำไปหาค่ากรดไขมันอิสระโดยการไทเทรตซึ่งน้ำมันจากสภาวะการทดลองที่ได้ค่ากรดไขมันอิสระสูงสุดจะนำไปทดลองในขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของเอนไซม์ต่อไป

3.5 ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของเอนไซม์

นำน้ำมันที่ได้จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสใส่ในฟลาสก์ปริมาตร 50 ลูกบาศก์เซนติเมตรพร้อมกับเอนไซม์ไลเปส 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในแคลเซียมอัลจิเนต ร้อยละ1 ปริมาตร 8 มิลลิลิตร บนเครื่องเขย่าแบบปรับอุณหภูมิได้ที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีโดยใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปผสมกับน้ำมันอัตราส่วนร้อยละ 4 โดยน้ำหนัก จากนั้นกำหนดสภาวะอื่น ๆ คือ กำหนดปริมาณของน้ำมันต่อเมทานอลอัตราส่วน 1:3 โดยที่เมทานอลนั้นให้ค่อย ๆ แบ่งเมทานอลเติม 3 ครั้ง ครั้งละ1.8 มิลลิลิตรโดยให้เติมเมทานอลครั้งแรกหลังจากที่บ่มน้ำมันกับเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปแล้วเป็นเวลา 10 ชั่วโมง หลังจากนั้นเติมเทานอลครั้งที่ 2 ที่ชั่วโมงที่ 14 และเติมเมทานอลครั้งสุดท้ายที่ชั่วโมงที่ 24 จากนั้นให้ทำปฏิกิริยาต่อไปจนถึงชั่วโมงที่ 48 โดยทำการแปรผันอุณหภูมิที่ 30, 40 และ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นนำน้ำมันที่ได้ไปใส่ในเครื่องระเหยสารแบบหมุนเพื่อระเหยเอาเมทานอลออกและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำน้ำมันที่ได้ไปหาค่ากรดไขมันอิสระโดยการไทเทรตกับโซเดียมไฮดรอกไซด์เพื่อหาอุณหภูมิที่
นำน้ำมันที่ได้ไปหาค่ากรดไขมันอิสระโดยการไทเทรตกับโซเดียมไฮดรอกไซด์เพื่อหาอุณหภูมิที่เหมาะสม แล้วจึงนำอุณหภูมิที่เหมาะสมไปทำการทดลองกับการแปรผันของอัตราส่วนน้ำมันต่อเมทานอลที่แตกต่างกัน ดังนี้ 1:3, 1:5, 1:10, 1:15 และ 1:20 โดยจะค่อยๆแบ่งเมทานอลเติม 3 ครั้ง (อัตราส่วนน้ำมันต่อเมทานอล 1:3 เติมเมทานอลครั้งละ 1.8 มิลลิลิตร อัตราส่วนน้ำมันต่อเมทานอล 1:5 เติมเมทานอลครั้งละ 3 มิลลิลิตร อัตราส่วนน้ำมันต่อเมทานอล 1:10 เติมเมทานอลครั้งละ 6 มิลลิลิตร อัตราส่วนน้ำมันต่อเมทานอล 1:15 เติมเมทานอลครั้งละ 9 มิลลิลิตร อัตราส่วนน้ำมันต่อเมทานอล 1:20 เติมเมทานอลครั้งละ 12 มิลลิลิตร) ในครั้งแรกจะเติมเมทานอลหลังจากที่บ่มน้ำมันกับเอนไซม์ไลเปสที่ตรึงรูปแล้วในชั่วโมงที่ 10 ครั้งที่ 2 เติมเมทานอลที่ชั่วโมงที่ 14 และเติมครั้งสุดท้ายที่ชั่วโมงที่ 24 จากนั้นให้ทำปฏิกิริยาต่อไปจนถึงชั่วโมงที่ 48 เมื่อการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันเสร็จสมบูรณ์ให้กรองแยกเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปออก(Tan และคณะ , 2010)และนำน้ำมันไบโอดีเซลที่ได้ไปแยกเมทานอลที่เหลือออกด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุน (rotary evaporator) ตั้งอุณหภูมิอ่างน้ำร้อนที่ 40 องศาเซลเซียส การหมุน 20 รอบต่อนาที ภายใต้ความดันจาก 520 มิลลิเมตรปรอทเหลือ 320 มิลลิเมตรปรอท

3.6 การวิเคราะห์ปริมาณของน้ำมันไบโอดีเซลในเชิงคุณภาพ

3.6.1 การวิเคราะห์ไบโอดีเซลในเชิงคุณภาพ

น้ำมันหรือไขมันที่พบในพืชเป็นสารประกอบที่ไม่ละลายน้ำ ประกอบด้วยไตรกลีเซอไรด์ (triglycerides) เป็นองค์ประกอบหลัก ประมาณร้อยละ 90-98 มีไดกลีเซอไรด์ (diglycerides) และโมโนกลีเซอไรด์ (monoglrcerides) อยู่เพียงเล็กน้อย มีกรดไขมันอิสระร้อยละ 1-5 นอกจากนี้ยังประกอบด้วยฟอสโฟลิปิด (phospholipids) ฟอสฟาไทด์ (phosphatides) และน้ำจำนวนอีกเล็กน้อย การวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันด้วยวิธีทางโครมาโทกราฟี เป็นเทคนิคทางเคมีที่สำคัญที่ช่วยจำแนกส่วนประกอบของสารตัวอย่าง โดยใช้หลักการคือ สารประกอบต่างชนิดที่อยู่ในน้ำมันมีความสามารถในการละลายในตัวทำละลายชนิดหนึ่งๆที่แตกต่างกัน

การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคธินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี(thin layer chromatography) เป็นการวิเคราะห์เชิงคุณภาพในเบื้องต้น เพื่อให้ทราบว่าเมทิลเอสเทอร์ที่ได้มีความบริสุทธิ์มากน้อยเพียงใด และมีน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนที่ไม่ได้ถูกทำปฏิกิริยาเหลืออยู่มากน้อยเพียงใด โดยใช้ซิลิกาเจลซึ่งเคลือบอยู่บนแผ่นกระจกเป็นเฟสอยู่กับที่ (stationary phase) และใช้นอร์มัลเฮกเซน ผสมกับไดเอ-ธิลอีเทอร์และกรดอะซิติก ในอัตราส่วน 80: 20: 1 โดยปริมาตร เป็นเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) เทเฟสเคลื่อนที่ใส่โหลแก้วสี่เหลี่ยมให้มีความสูงประมาณ 1 เซนติเมตร ปิดฝาและทิ้งไว้ให้อิ่มตัวที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที

หยดตัวอย่างของเมธิลเอสเตอร์ น้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว และตัวอย่างน้ำมันที่ต้องการศึกษาในสภาวะต่าง ๆ ให้เป็นจุดเล็กๆขนาด 1 ไมโครลิตร บนแผ่นกระจก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่เคลือบซิลิกาเจล แล้วจุ่มแผ่นกระจกที่เคลือบซิลิกาเจลในโหลแก้วที่มีเฟสเคลื่อนที่อยู่ ทิ้งไว้ให้อิ่มตัว สารตัวอย่างจะมีการแยกจากกันตาม retention time จากนั้นทิ้งแผ่นกระจกที่เคลือบซิลิกาเจลให้แห้ง แล้วนำมาส่องภายในตู้อุลตราไวโอเลต โดยใช้ความยาวคลื่นที่ 254 นาโนเมตรซึ่งจะพบโครมาโทแกรมปรากฏบนแผ่นกระจกที่เคลือบซิลิกาเจล (ณิชรัตน์, 2550)

3.7 วิธีการวิเคราะห์ค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ทำการวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) และนำผลการทดลองมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป *SPSS vesion* 18 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของตัวแปรที่ศึกษาโดยวิธี Duncans New Multiple Range Test (DMRT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

จากการศึกษาการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนโดยใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาสามารถทำได้โดยการใช้แคลเซียมอัลจิเนต และใช้แคลเซียมคลอไรด์เป็นตัวช่วยในการทำให้เจลคงรูปได้ดียิ่งขึ้น จากนั้นเม็ดเจลของเอนไซม์ตรึงรูปที่ได้จะถูกนำมาล้างโดยทริส-ไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์พีเอช 7.2 และนำเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปที่ได้ใช้เพื่อเป็นตัวเร่งในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส โดยทดลองดังนี้ คือ นำน้ำมันที่ปรับสภาพ 10 ส่วน (โดยน้ำหนัก) ผสมกับทริส-ไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์พีเอช 8 5 ส่วน (โดยน้ำหนัก) และเอนไซม์ไลเปสที่ตรึงรูป 3 ส่วน (โดยน้ำหนัก) วัดอัตราส่วนโดยใช้เครื่องชั่ง(ชั่งน้ำมันที่ปรับสภาพแล้ว 30 กรัม ทริส-ไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ 15 กรัมและเอนไซม์ไลเปสที่ตรึงรูปแล้ว 9 กรัม) แล้วควบคุมสภาวะอื่น ๆ เหมือนกันคือทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง โดยทำการทดลองบนเครื่องเขย่าแบบปรับอุณหภูมิได้ที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที จากนั้นนำน้ำมันที่ได้มากรองเอาเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปออกและนำน้ำมันไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที และแยกเอาเฉพาะน้ำมันส่วนใสมาทำการวิเคราะห์กรดไขมันอิสระโดยวิธีการไทเทรตด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N โดยใช้ฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ ไทเทรตจนได้สารละลายสีชมพูอ่อนเมื่อถึงจุดยุติแล้วนำมาคำนวณหาค่ากรดไขมันอิสระ

4.1.1 ผลของอุณหภูมิในการเกิดปฏิกิริยากับปริมาณกรดไขมันอิสระ

การศึกษาอุณหภูมิของการเกิดปฏิกิริยาที่เหมาะสมต่อการเกิดปริมาณกรดไขมันอิสระในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสนั้น จากผลการทดลองพบว่าปริมาณของกรดไขมันอิสระที่ได้หลังจากการทำปฏิกิริยานั้นพบว่าที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสมีปริมาณกรดโอเลอิกเกิดขึ้นมากที่สุดและเมื่อทำการวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติพบว่า ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสมีปริมาณกรดโอเลอิกมากที่สุด คือร้อยละ 34.2467

ปริมาณของกรดไขมันอิสระที่ได้หลังจากการทำปฏิกิริยานั้นพบว่าที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสมีความเหมาะสมที่สุด เอนไซม์ไลเปสอิสระจะมีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่อุณหภูมิประมาณ 35 องศาเซลเซียส แต่เมื่อนำเอนไซม์ไลเปสมาตรึงรูปโดยใช้ไคโตซานเป็นตัวพยุงพบว่าเอนไซม์ไลเปสมีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปจะสามารถทำปฏิกิริยาในอุณหภูมิที่สูงกว่าเอนไซม์อิสระ เนื่องจากเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปจะมีความต้านทานกับความร้อนได้ดีกว่าเอนไซม์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อิสระ (Ting และคณะ, 2006) การใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเอนไซม์ไลเปสจะมีความต้านทานต่อความร้อน เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปแต่ละชนิดก็จะมีความต้านทานต่อความร้อนที่แตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับชนิดของตัวพยุงที่นำมาใช้ในการตรึงเอนไซม์และจากการทดลองโดยใช้แคลเซียมอัลจิเนตเป็นตัวพยุง พบว่าที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเกิดปริมาณกรดโอเลอิกมากที่สุด คือ ร้อยละ 34.2467 แต่เมื่อทำการเพิ่มอุณหภูมิเป็น 45 องศาเซลเซียสพบว่าปริมาณกรดโอเลอิกลดน้อยลงเหลือร้อยละ 27.29 และการตรึงเอนไซม์จะช่วยยึดดึงน้ำให้อยู่กับโมเลกุลเอนไซม์ซึ่งน้ำจำนวนนี้มีความสำคัญในการคงรักษาสภาพธรรมชาติและความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาเอาไว้ (พิษณุ , 2541)

ตารางที่ 4.1.1 ผลของการแปรผันอุณหภูมิของการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสและปริมาณของกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นโดยใช้เอนไซม์ไลเปสที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรในแคลเซียมอัลจิเนต ปริมาตรร้อยละ 1 ปริมาตร 8 มิลลิลิตรเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาและทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 20 ชั่วโมง

อุณหภูมิ(องศาเซลเซียส)	ปริมาณกรดโอเลอิก(ร้อยละ)
30	29.5600^{c}
35	30.9267^{b}
40	34.2467^{a}
45	27.2900^{d}

อักษรต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.1.2 ผลของเวลาการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกับปริมาณกรดไขมันอิสระ

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิที่เหมาะสมที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีสภาวะที่เหมาะสมที่สุด จึงนำเอาอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียสนี้มาศึกษาช่วงเวลาของการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่ 5, 10, 15, 20 และ 25 ชั่วโมง จากนั้นนำน้ำมันที่ได้หลังจากการเกิดปฏิกิริยาไปวัดปริมาณกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นโดยวิธีการเดียวกับข้อที่ 4.1.1 และนำมาทำการวิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.1.2 จากผลการทดลองพบว่าปริมาณของกรดไขมันอิสระที่ได้หลังจากการทำปฏิกิริยานั้น พบว่าที่ช่วงเวลา 20 ชั่วโมงมีความเหมาะสมที่สุด ซึ่งมีความแตกต่างจากการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในเวลา 0-5 ชั่วโมง หลังจากเวลา 5 ชั่วโมง กรดไขมันอิสระไม่ได้มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นอีกปริมาณเกือบร้อยละ 88 ของน้ำมันที่ถูกย่อยครั้งแรกใช้เวลามากกว่า 5 ชั่วโมง (Tingและคณะ, 2006) เนื่องจากจากการทดลองนั้นใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเพียงอย่างเดียวซึ่งอาจจะทำให้ปริมาณของกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นไม่ได้เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วภายใน 5 ชั่วโมงเท่ากับการใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาแบบผสมคือการใช้ตัวเร่งกรดร่วมกับเอนไซม์ตรึงรูปซึ่งการใช้ตัวเร่งกรดร่วม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้วยนั้นจะทำให้การย่อยเกิดขึ้นได้รวดเร็วกว่า และปริมาณกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นนั้นมีประโยชน์ต่อการนำมาผลิตไบโอดีเซลซึ่งการเกิดไบโอดีเซลเพิ่มขึ้นร้อยละ 60 -70 เมื่อมีปริมาณของกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้นร้อยละ 70-100 (Ting และคณะ , 2008)

ตารางที่ 4.1.2 ผลของช่วงเวลาในการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส(5, 10, 15, 20 และ 25ชั่วโมง) ต่อปริมาณของกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นโดยใช้เอนไซม์ไลเปสที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรในแคลเซียมอัลจิเนตร้อยละ 1 ปริมาตร 8 มิลลิลิตรเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาและทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณกรดโอเลอิก (ร้อยละ)
5	24.8500^{c}
10	24.3300^{c}
15	30.2367^{b}
20	33.8400^{a}
25	28.5167^{b}

อักษรต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.1.3 ผลการแปรผันอัตราส่วนของความเข้มข้นเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปต่อปริมาณกรดไขมันอิสระ (กรดโอเลอิก) ที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

การศึกษาอัตราส่วนความเข้มข้นของเอนไซม์ไลเปสที่มีการแปรผันความเข้มข้นที่ 30, 40, 50 และ 60 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในแคลเซียมอัลจิเนต ปริมาตร 8 มิลลิลิตรซึ่งแสดงผลการทดลองในตารางที่ 4.1.3 จะพบว่าอัตราส่วนความเข้มข้นของเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปที่ความเข้มข้น 60มิลลิกรัมมีความเหมาะสมที่สุดและเมื่อทำการวิเคราะห์การวิเคราะห์ค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติพบว่าที่อัตราส่วนความเข้มข้นของเอนไซม์ไลเปสที่ 60 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในแคลเซียมอัลจิ-เนต ปริมาตร 8 มิลลิลิตร จะให้ผลของปริมาณร้อยละของกรดโอเลอิกร้อยละ 17.72 และ Fu และคณะ, 1995 พบว่าเอนไซม์ไลเปสสามารถย่อยสลายน้ำมันมะกอกและน้ำมันถั่วเหลืองได้อย่างรวดเร็วในน้ำมันทั้งสองชนิดนี้มีกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวในปริมาณมากซึ่งในน้ำมันถั่วเหลืองมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเป็นส่วนประกอบในปริมาณมากที่สุด คือกรดโอเลอิก

4.2 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน

4.2.1 ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณกรดไขมันอิสระในปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน

ในการศึกษาสภาวะของอุณหภูมิที่เหมาะสมนี้ ทำได้โดยการนำส่วนของน้ำมันจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส มาผสมกับเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรในแคลเซียมอัลจิเนตความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 8 มิลลิลิตร โดยใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปผสมกับ

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำมันอัตราส่วนร้อยละ 4 โดยน้ำหนักและกำหนดปริมาณของน้ำมันต่อเมทานอลและทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันที่อุณหภูมิ 30, 40 และ 50 องศาเซลเซียสซึ่งผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.2.1 จากผลการทดลองพบว่าการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันคือที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เนื่องจากจากการตรวจสอบโดยการไทเทรตพบว่ามีปริมาณกรดไขมันอิสระเหลือน้อยที่สุด ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่าปริมาณกรดไขมันอิสระที่ลดลงได้เกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเมทิล-เอสเทอร์ซึ่งจากการทดลองใช้เมทานอลในการทำปฏิกิริยาซึ่งอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา อัตราเร็วในการเปลี่ยนน้ำมันเป็นน้ำมันไบโอดีเซลสูงขึ้นตามอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา โดยทั่วไปมักใช้อุณหภูมิประมาณ 60 องศาเซลเซียส ซึ่งไม่เกินจุดเดือดของเมทานอล (พินิจ, 2551)

ตารางที่ 4.1.3 ผลของความเข้มข้นเอนไซม์ไลเปสอิสระ(ความเข้มข้น 30, 40, 50 และ 60 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)ในการตรึงรูปเอนไซม์ และปริมาณกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้น โดยทำการทดลองที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง

ความเข้มข้นเอนไซม์ไลเปส (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ในแคลเซียมอัลจิเนต ร้อยละ1 ปริมาตร 8 มิลลิลิตร	**ปริมาณกรดโอเลอิก (ร้อยละ)**
30	14.8633[d]
40	15.6700[c]
50	17.6467[b]
60	17.7200[a]

อักษรต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.2.2 ผลของอัตราส่วนต่อโมลของน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนต่อเมทานอลในปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน

ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของอัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันต่อเมทานอลและทำการแปรผันอัตราส่วนโดยโมลระหว่างน้ำมันและเมทานอลเป็น 1:3, 1:5, 1:10, 1:15 และ1:20 ซึ่งผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.2.2 จากผลการทดลองพบว่าอัตราส่วนโดยโมลระหว่างน้ำมันต่อเมทานอลที่ 1:5 มีความเหมาะสมที่สุดเนื่องจาก การใช้น้ำมันเหลือใช้ในการทำปฏิกิริยาต้องใช้ปริมาณเมทานอลมากเพื่อไปละลายน้ำมันและทำให้เกิดการสัมผัสกันของน้ำมันและเมทานอล และจากการตรวจสอบโดยการไทเทรตพบว่าเหลือปริมาณกรดไขมันอิสระน้อยที่สุด ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ว่าการที่เหลือกรดไขมันอิสระในปริมาณที่น้อยลงเนื่องจากเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นปริมาณของเมทิลเอสเทอร์ในทางทฤษฎีพบว่าต้องใช้เมทานอล 3 โมลต่อไตรกลีเซอไรด์ 1 โมลเพื่อให้ได้เมทิล-

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง หรือนำไปใช้เพื่อการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอสเทอร์ 3 โมลและกลีเซอรอล 1 โมล หมายถึง ต้องใช้อัตราส่วนของเมทานอลต่อน้ำมันเป็น 3:1 เมื่อใช้น้ำมันบริสุทธิ์ และเมื่อทำการทดลองกับน้ำมันที่ใช้แล้วจะใช้อัตราส่วนของเมทานอลต่อน้ำมันเป็น 6:1 จะทำให้เกิดผลิตภัณฑ์มากที่สุดเพราะน้ำมันที่ใช้แล้วมีความหนืดสูงกว่าทำให้ต้องใช้ปริมาณเมทานอลมากเพื่อไปละลายน้ำมันและทำให้เกิดการสัมผัสกันของน้ำมันและเมทานอล ปริมาณตัวเร่งปฏิกิริยาและอัตราส่วนของเมทานอลต่อน้ำมันมีผลมากกว่าอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ (Meher.และคณะ, 2006) หากมีอัตราส่วนโดยโมลระหว่างเอทานอลกับน้ำมันสูง ๆ จะมีผลต่อการแยกชั้น เนื่องจากปริมาณแอลกอฮอล์มากทำให้มีน้ำอยู่ในปฏิกิริยามากตามไปด้วย ไม่ว่าจะเป็นน้ำที่มีอยู่ในแอลกอฮอล์อยู่แล้วหรือน้ำที่เกิดจากการทำปฏิกิริยา ซึ่งน้ำจะทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกับไตรกลีเซอไรด์ กรดไขมันอิสระ หรือผลิตภัณฑ์เอสเทอร์ และเกิดปฏิกิริยาสปอนนิฟิเคชันตามมา ทำให้ได้เกลือของกรดไขมันหรือสบู่ขึ้น ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์เอสเทอร์ลดลง และเกิดการแยกชั้นยากขึ้นด้วย (คนึงณัฐ และปิยนาถ, 2550) ซึ่งการเติมแอลกอฮอล์นั้นควรเติมให้พอดีถ้ามีการใช้เมทานอลในจำนวนที่มากเกินพอจะส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์ตรึงรูปทำให้มีประสิทธิภาพลดลง ทำให้เร่งปฏิกิริยาได้น้อยลง แอลกอฮอล์สายสั้นจะยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ไลเปส จึงต้องมีการแบ่งเติมเมทานอลเพื่อแก้ปัญหาการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาถ้าหากมีการใช้เมทานอลจำนวนน้อยเกินไปอาจทำให้ไตรกลีเซอไรด์ในน้ำมันไม่ถูกเปลี่ยนเป็นเมทิลเอสเทอร์มากเท่าที่ควรและกลายเป็นกรดไขมันอิสระแทนและทำให้เกิดผลพลอยได้ (กลีเซอรอล และกรดไขมันอิสระ) มากยิ่งขึ้น (Tan และคณะ, 2010)

ตารางที่ 4.2.1 ผลของอุณหภูมิของปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่นต่อปริมาณกรดไขมันอิสระโดยกำหนดปริมาณความเข้มข้นของเอนไซม์ไลเปสที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรในแคลเซียมอัลจิเนตความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 8 มิลลิลิตรและอัตราส่วนของน้ำมันต่อเมทานอล 1:3

อุณหภูมิ(องศาเซลเซียส)	ปริมาณกรดโอเลอิก(ร้อยละ)
30	31.3467[a]
40	29.1500[b]
50	26.4467[c]

อักษรต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.3 ผลการวิเคราะห์ไบโอดีเซลในเชิงคุณภาพ

เมื่อนำไบโอดีเซลที่ได้มาทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคธินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี (thin layer chromatography)ผลการวิเคราะห์ปริมาณไบโอดีเซลในเชิงคุณภาพ พบว่าสามารถนำมาคำนวณหาค่า R_f ดังแสดงในตารางที่ 4.3.1 ซึ่งสามารถคำนวณค่า R_f เฉลี่ยของเมทิลเอสเทอร์มาตรฐานได้ คือ 0.98 เซนติเมตร น้ำมันที่ปรับสภาพแล้วสามารถคำนวณค่า R_f ได้ คือ 0.7782 เซนติเมตร และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันต่อเมทานอลที่ 1:5 สามารถคำนวณค่า R_f ได้คือ 0.8667 เซนติเมตร ซึ่งมีค่า R_f สูงที่สุดในอัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันต่อเมทานอลที่สภาวะอื่นๆ แสดงได้ดังรูปที่ 4.1

ตารางที่ 4.2.2 ผลของการแปรผันอัตราส่วนโดยโมลระหว่างน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนและเมทานอล (1:3, 1:5, 1:10,1:15 และ1:20) ต่อปริมาณของกรดโอเลอิก (ร้อยละ)

อัตราส่วนโดยโมลระหว่างน้ำมันและเมทานอล	ปริมาณกรดโอเลอิก(ร้อยละ)
1:3	20.8167[b]
1:5	18.5567[e]
1:10	19.6700[d]
1:15	20.1567[c]
1:20	21.6733[a]

อักษรต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

1 2 3 4 5 6 7 8 9

รูปที่ 4.1 การวิเคราะห์ความบริสุทธิ์ของผลิตภัณฑ์โดยเทคนิคธินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี (Thin Layer Chromatography -TLC)

หมายเหตุ :
1 = เมทิลเอสเทอร์
2 = น้ำมันที่ปรับสภาพแล้ว
3 = อัตราส่วนโดยโมลน้ำมันต่อเมทานอล 1:3 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส
4 = เมทิลเอสเทอร์
5 = อัตราส่วนโดยโมลน้ำมันต่อเมทานอล 1:5 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส
6 = อัตราส่วนโดยโมลน้ำมันต่อเมทานอล 1:10 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส
7 = เมทิลเอสเทอร์
8 = อัตราส่วนโดยโมลน้ำมันต่อเมทานอล 1:15 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9 = อัตราส่วนโดยโมลน้ำมันต่อเมทานอล 1:20 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4.3.1 ตารางแสดงผลการคำนวณค่า R_f ของรูปที่ 4.1

สารตัวอย่าง	ค่า R_f แถบบนสุด (ซม.)
FAME(ชุดควบคุม)	0.9812
น้ำมันปรับสภาพ	0.7782
อัตราส่วนโดยโมลน้ำมันต่อเมทานอล 1:3 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส	0.8496
FAME(ชุดควบคุม)	0.9720
อัตราส่วนโดยโมลน้ำมันต่อเมทานอล 1:5 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส	0.8667
อัตราส่วนโดยโมลน้ำมันต่อเมทานอล 1:10 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส	0.8659
FAME(ชุดควบคุม)	0.9812
อัตราส่วนโดยโมลน้ำมันต่อเมทานอล 1:15 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส	0.8516
อัตราส่วนโดยโมลน้ำมันต่อเมทานอล 1:20 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส	0.8083

เมื่อวิเคราะห์ความบริสุทธิ์ของเมทิลเอสเทอร์ด้วยเทคนิคธินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี(thin layer chromatography) โดยเปรียบเทียบเมทิลเอสเทอร์กับน้ำมันตัวอย่างที่นำไปทำปฏิกิริยาทรานส์-เอสเทอริฟิเคชั่น ซึ่งจากการทดลองพบว่าสารแต่ละชนิดที่เกิดการเคลื่อนที่บนแผ่นกระจกที่เคลือบซิลิกาเจลนั้นมีระยะทางที่แตกต่างกันซึ่ง Liu และ Kinderlerer , 1999 พบว่าระยะทางการเคลื่อนที่ของน้ำมันเนยบนแผ่นซิลิกานั้นระยะทางการเคลื่อนที่สูงสุดคือไตรอัลคิลกลีเซอรอลและสามารถนำมาคำนวณหาค่า R_f ได้คือ 0.45-0.61 เซนติเมตรซึ่งมีความแตกต่างจากการทดลองเนื่องจากระยะทางการเคลื่อนที่ของสารไบโอดีเซลจะมีระยะการเคลื่อนที่ได้มากกว่าซึ่ง Fedosov และคณะ , 2011 พบว่าการเคลื่อนที่บนแผ่นกระจกที่เคลือบซิลิกาเจลของไบโอดีเซลนั้น แถบของสารที่เคลื่อนที่ด้านบนสุด คือ ไบโอดีเซล แถบที่ 2 คือไตรกลีเซอไรด์ แถบที่ 3 คือ กรดไขมัน แถบแถบที่ 4 คือ ไดกลีเซอไรด์ และแถบด้านล่างสุด คือ โมโนกลีเซอไรด์ ไบโอดีเซลที่มีปริมาณเมทิล-เอสเทอร์ร้อยละ 98 จะมีความยาวของแถบสารด้านบนสุดในระยะทางที่มาก และแทบจะไม่มีแถบของไตรกลีเซอ-ไรด์และกรดไขมันปรากฏอยู่เลยซึ่งวิธีการวิเคราะห์ด้วยธินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี (thin layer chromatography) เป็นเพียงการวิเคราะห์เชิงคุณภาพแบบหยาบ ๆ เท่านั้นซึ่งไม่สามารถทราบถึงองค์ประกอบที่แน่นอนของน้ำมันและกรดไขมัน

เอกสารนี้ใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองสรุปได้ว่าสามารถนำน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนมาผลิตเป็นไบโอดีเซลได้ โดยใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปด้วยแคลเซียมอัลจิเนตเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาโดยในการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา คือ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 20 ชั่วโมงซึ่งจะทำให้เกิดค่ากรดไขมันอิสระสูงที่สุด คือ มีปริมาณกรดโอเลอิกร้อยละ 34.25 และความเข้มข้นที่เหมาะสมของเอนไซม์ไลเปสคือ 60 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรในแคลเซียมอัลจิเนตร้อยละ 1 ปริมาตร 8 มิลลิลิตร และในการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันนั้นสภาวะที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันนั้นคือ การทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสโดยใช้อัตราส่วนโดยโมลระหว่างน้ำมันกับเมทานอล คือ 1:5 ซึ่งจะให้ผลของกรดไขมันอิสระเหลือน้อยที่สุดคือมีปริมาณกรดโอเลอิกร้อยละ 18.56 และจากการวิเคราะห์ปริมาณของน้ำมันไบโอดีเซลในเชิงคุณภาพด้วยวิธีธินเลเยอร์โครมาโทกราฟี(thin layer chromatography) พบว่า อัตราส่วนโดยโมลระหว่างน้ำมันต่อเมทานอลที่ 1:5 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสมีค่า R_f สูงที่สุดเท่ากับ 0.8667 เซนติเมตร

ข้อเสนอแนะ

จากการทดลองในขั้นตอนการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ วิธีการทดลองที่ถูกต้องควรนำเอนไซม์ไปทำการวิเคราะห์โดยทันที เพื่อให้ได้สภาวะที่เหมาะสมและค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่แน่นอน และจากผลการทดลองพบว่าความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ 60 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรนั้นมีสภาวะที่เหมาะสมเนื่องจากให้ค่ากรดไขมันอิสระเป็นปริมาณมากที่สุดแต่จากการทดลองเลือกใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรเนื่องจากขั้นตอนในการทดลองนั้นควรที่จะทำการทดลองหาค่าความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสมก่อนแล้วจึงนำมาทดลองหาสภาวะของอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมซึ่งในการวางแผนการทดลองควรที่จะเรียงลำดับขั้นตอนการทดลองให้ถูกต้องก็อาจจะทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ดีขึ้น อาจทำให้ค่าผลได้ของไบโอดีเซลสูงขึ้นเนื่องจากที่ความเข้มข้นดังกล่าวให้อัตราร้อยละของค่ากรดโอเลอิกที่สูงซึ่งจะมีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาและค่าผลได้ของไบโอดีเซล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กรมทรัพยาธรณี. 2547. น้ำมันไบโอดีเซล. โลกพลังงาน. 78(22), 42-45.

กองบรรณาธิการ. 2544. ไบโอดีเซลจะเป็นทางเลือกของไทยหรือไม่. เทคนิค. 18(200):128-132.

เกสร พะลัง. 2526. เคมีอินทรีย์เบื้องต้น. กรุงเทพฯ: ไทยวัฒนาพานิช. 278 หน้า.

คนึงณัฐ จุมปา และปิยนาถ ลอประยูร. 2550. การตึงเอนไซม์ไลเปสเพื่อผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันสบู่ดำ. วิทยานิพนธ์หลักสูตรวิทยาศาตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ณิชรัตน์ มะลิมาศ. 2550. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันจากเมล็ดสบู่ดำด้วยตัวทำละลาย. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (การจัดการสิ่งแวดล้อม) คณะพัฒนาสังคมและสิ่งแวดล้อม สถาบันบัณฑิตพัฒนบริหารศาสตร์.

ธนาทิพย์ อัศวผดุงสิทธิ์. 2547. การสังเคราะห์เอทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์มเมล็ดในและเอทานอลด้วยตัวเร่งปฏิกิริยาด่าง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ธราพงษ์ วิทิตศาสตร์, สุชญา นิติวัฒนานนท์, นุจรี เลาห์ประเสริฐ และธนาทิพย์ อัศวผดุงสิทธิ์. 2546. การศึกษาความเป็นไปได้ ในการนำน้ำมันพืชที่ประกอบอาหารมาใช้ประโยชน์ทดแทนในด้านพลังงาน(ส่วนที่2). กรุงเทพฯ. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 66 หน้า.

นฤมล จันทร์ชื่น และสาวิตรี พงษ์ไพบูลย์. 2546. การผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากที่น้ำมันเมล็ดมัสตาร์ดโดยปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน. เชียงใหม่. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 37หน้า.

นิธิยา รัตนาปนนท์. 2529. วิทยาศาสตร์การอาหารของไขมันและน้ำมัน. เชียงใหม่:คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 128 หน้า

ปิยะ ศรีรักษา และประพฤติ พรหมสมบูรณ์. 2538. ไบโอดีเซล: พลังงานทดแทนน้ำมันดีเซลของประเทศไทย. วารสารศูนย์บางพระ. 38(4), 57-61.

ป๋วย อุ่นใจ และสยาม ภพลือชัย. 2544. ไบโอดีเซลเชื้อเพลิงแห่งยุคสมัย.[ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มาhttp://www.navy.mi.th/dockyard/biodiesel.html.(29 เมษายน 2554)

มุทิตา ยันบูรพา. ลักษณ์ศักดิ์ พอดีงาม และกัญจนา บุญยเกียรติ. 2545. ไบโอดีเซล(Biodiesel)จากน้ำมันพืช 3 ชนิด. วารสารวิทยาศาสตร์. 56(2):75-84.

พิษณุ รัตนรักษ์. 2541. การทำงานของเอนไซม์ไลเปสจาก *Aspergillus niger* บนขี้เถ้าแกลบในตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำละลายอินทรีย์. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

พิสมัย เจนวนิชปัญจกุล. 2543. ไบโอดีเซล: พลังงานทางเลือก.[ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.tistr.or.th.(22 ตุลาคม 2553)

พินิจ จันทร. 2551. ชี้ทางรวยด้วยพืชพลังงานทดแทน. กรุงเทพฯ:สำนักพิมพ์นาคา. 140 หน้า.

สรรเสริญ ทรัพย์โตษก. 2531. โภชนาการเชิงชีวเคมี. กรุงเทพฯ. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 550หน้า.

สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร. 2527. ถั่วเหลืองและการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย. กรุงเทพฯ. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร. 212 หน้า.

อัชญณา ยอดเรือนวงศ์. 2545. คุณสมบัติของเชื้อเพลิงดีเซลชีวภาพจากน้ำมันพืชดิบโดยกระบวนการทรานซ์เอสเทอริฟิเคชัน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 136 หน้า.

อรดา สถาพร. 2546. การศึกษาการสกัดน้ำมันจากเมล็ดแมคคาเดเมีย. เชียงใหม่:บัณฑิตมหาวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

อารี ฤทธิบูรณ์. 2550. เทคโนโลยีของเอนไซม์. ภาควิชาวิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

Balat, M. and Balat, H. 2010. Progress in biodiesel processing. Sila Science and Energy Unlimited Company, Trabzon, Turkey. Applied Energy. 87, 1815–1835.

Banerjee, A. and Chakraborty, R. 2009. Parametric sensitivity in transesterification of waste cooking oil for biodiesel production:a review. Conservation and Recycling. 53, 490–497.

Bautista, L.F., Vicente, G., Rodrı´guez, R. and Pacheco, M. 2009. Optimisation of FAME production from waste cooking oil for biodiesel use. Biomass and Bioenergy. 33, 862 – 872.

Brockerhoff, H. 1968. Substrate specificity of pancreatic lipase. Biochimica et Biophysica Acta(BBA)-Enzymology. 159, 296-303.

Chen, Y., Xiao, B. Chang, J., Fu, Y., Lv, P. and Wang, X. 2009. Synthesis of biodiesel from waste cooking oil using immobilized lipase in fixed bed reactor. Energy Conversion and Management. 50, 668–673.

Cvengros, J.J. and Cvengrosova, Z. 2004. Used frying oil and fats and their utilization in the production of methyl esters of higher fatty acids. Biomass and Bioenergy. 27, 173-181.

Du, W., Xu, Y., Liu, D. and Zeng, J. 2004. Comparative study on lipase-catalyzed transformation

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

of soybean oil for biodiesel production with different acyl acceptors. Journal of Molecular Catalysis B:Enzymatic. 30,125-129.

Fedosov, S.N., Brask, J. and Xu, X. 2011. Analysis of biodiesel conversion using thin layer chromatography and nonlinear calibration curves. Journal of Chromatography A. 1218, 2785-2792.

Freeman, B. and Pryde, E.H. 1982. Fatty ester from vegetable oils for use as a diesel fule. อ้างโดย อัชญณา ยอดเรือนวงศ์. 2545. คุณสมบัติของเชื้อเพลิงดีเซลชีวภาพจากน้ำมันพืชดิบโดยกระบวนการทรานซ์เอสเทอริฟิเคชัน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 136 หน้า.

Fu X., Zhu X., Gao K. and Duan J. 1995. Oil and fat hydrolysis with lipase from *Aspergillus sp.* JAOCS. 72, 527-531.

Ghazali H.M., Hamidah S. and Man Y.B.C. 1995. Enzymatic tranesterification of palm olein with nonspecific and 1,3-specific lipases. JAOCS. 72, 633-639.

Han, H., Cao, W. and Zhang, J. 2005. Preparation of biodiesel from soybean oil using supercritical methanol and co-solvent. Fuel. 84, 347-351.

Iso, M., Chenb, B., Eguchi, M., Kudo, T. and Shrestha, S. 2001. Production of biodiesel fuel from triglycerides and alcohol using immobilized lipase. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic. 16, 53-58.

Kaieda, M., Samukawa, T., Kondo, A. and Fukuda, H. 2001. Effect of methanol and water contents on production of biodiesel fuel from plant oil catalyzed by various lipase in a solvent-free system. Journal of Bioscience and Bioengineering. 91, 12-15.

Kinney, A.J. and Clemente, T.E. 2004. Modifying soybean oil for enhanced performance in biodiesel blends. Fuel Processing Technology. 86, 1137-1147.

Leung, D.Y.C., Koo, B.C.P. and Guo, Y. 2006. Degradation of biodiesel under different storage conditions. Bioresource Technology. 97,250-256.

Leung, D.Y.C., Wu, X. and Leung, M.K.H. 2009. A review on biodiesel production using catalyzed transesterification. Applied Energy. 87, 1083–1095.

Lesuisse, E., Schanck, K. and Colson, C. 1993. Purification and preliminary characterization of the extracellular lipase of *Bacillus subtilis* 168, an extremely basic pH-tolerant enzyme. Eur.J. Biochem. 216, 155-160.

Liu, Q.T. and Kinderlerer, J.L. 1999. Preparative thin-layer chromatographic separation and subsequent gas chromatographic-mass spectrometric analysis of monoacylglycerols

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

derived from butter oil by fungal degradation. Journal of Chromatography A. 855, 617-624.

Ma, F., Clements, L.D. and Hanna, M. 1998. The effect of catalyst, free fatty acid and water on transesterification of beef tallow. [Online].Available:http://agproducts.unl.edu/tallowarticle.pdf. (29 April 2011)

Ma, F. and Hanna, M. 1999. Biodiesel production : a review. Bioresource Technology. 70, 1-15.

Maceiras, R., Vega, M., Costa, C., Ramos, P. and Mcrquez, M.C. 2009. Effect of methanol content on enzymatic production of biodiesel from waste frying oil. Fuel. 88, 2130-2134.

Macrae, A. R. 1983. Lipase-catalyzed inter esterification of oils fats. JAOCS. 60, 291-294.

Macris, J.B., Kourentzi, E. and Hatzinikolaou, D.G. 1996. Studied on location and regulation of lipase production by *Aspergillus niger*. Process Biochemistry. 31, 807-812.

Meher, L.C., Dharmagadda, V.S.S. and Naik, S.N. 2006. Optimization of alkali-catalyzed transesterification of *Pongamia pinnata* oil for production of biodiesel. Bioresource Technology. 97, 1392-1397.

Nimcevic, D., Puntigam, R., Worgetter, M. and Gapes, J.R. 2000. Preparation of rapeseed oil ester of lower aliphatic alcohols. Journal of the American oil Chemists Society. 37, 275-280.

Pigott, G.M. 1967. Production of fish oil. อ้างโดย อรดา สถาพร. 2546. การศึกษาการสกัดน้ำมันจากเมล็ดแมคคาเดเมีย. เชียงใหม่:บัณฑิตมหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

Singhabhandhu, A. and Tezuka, T. 2010. Prospective framework for collection and exploitation of waste cooking oil as feedstock for energy conversion. Japan. Energy. 35, 1839–1847.

Stoll, V.S. and Blanchard, J.S. 1990. Methods Enzymmol. 182, 24-38.

Sugihara, A., Shimada, Y. and Tominaga, Y. 1991. Comparative study on primary structures of two lipase from *Geotrichum candidum*. Journal of Fermentation and Bioengineering. 72, 316.

Tan, T., Lu, J., Nie, K., Deng, L. and Wang, F. 2010. Biodiesel production with immobilized lipase: A-review. Biotechnology Advances. 28, 628-634.

Tanaka, Y., Hiran, J. and Funada, T. 1992. Concentration of docosahexaenoic acid in glyceride by hydrolysis of fish oil with *Candida cylindracea* lipase. JAOS. 69, 1210-1214.

Ting, W.J., Huang, C.M., Giridhar, N. and Wu, W.T. 2008. An enzymatic/acid-catalyzed hybrid

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

process for biodiesel production from soybean oil. Journal of Chinese Institute of Chemical Engineers. 39, 203-210.

Ting, W.J., Tung, K.Y., Giridhar, R. and Wu,W.T. 2006. Application of binary immobilized *Candida rugosa* lipase for hydrolysis of soybean oil. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic. 42, 32-38.

Tomasevic, A.V. and Siler-Marinkovic, S.S. 2003. Methanolysis of used frying oil. Fuel Processing Technology. 81, 1-6.

Van Kasteren, J.M.N. and Nisworo, A.P. 2007. A process model to estimate the cost of industrial scale biodiesel production from waste cooking oil by supercritical transesterification resource. Casservation and Recycling. 50, 442-458.

Virto, M.D., Lascaray, J.M., Solozabal, R. and Renobales, M.D. 1991. Enzymic hydrolysis of animal fats in organic solvent at temoeratures below their meltingpoints. JAOC. 68, 324-327.

Won, K., Kim, S., Kim, K.J., Park, H.W. and Moon, S.J. 2005. Optimization of lipase entrapment in Ca-alginate gel beads. Process Biochemistry. 40, 2149-2154.

[Online].Available:http://eu.lib.kmutt.ac.th/elearning/Courseware/BCT611/Chap4/chapter4_2.html (22ตุลาคม2553)

[Online].Available:http://www.thailandinone.com/biodiesel/images/chemproc.jpg(22ตุลาคม2553)

[Online].Available: http://www.tistr.or.th/t/publication/page_area_show_bc.asp (22 ตุลาคม 2553)

[Online].Available: http://www.room601.ob.tc/Lipid.html (22 ตุลาคม 2553)

[Online].Available: http://www.room601.ob.tc/Lipid2.html (22 ตุลาคม 2553)

[Online].Available:http://agri.npu.ac.th/publication/Aj.../Immobilized%20Enzyme.ppt(22 ตุลาคม 2553)

[Online].Available: http://www.vcharkarn.com/varticle/38494 (23 มีนาคม 2554)

[Online].Available: http://www.mwit.ac.th/~itipol/lab/lab8.doc (22 มีนาคม 2554)

[Online].Available:http://www.purebiodiesel.co.th/htmlth/faq/index.php?valueID =oGE3ZHk CosOaEUEWnI94HKOOoHM3WxkkoJSaMaECnsO4paOyoJE3oRkio HMaqKEhnJI4oDo7o3Qo7o3Q (23 มีนาคม 2554)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

1. การเตรียมสารละลายทริส-ไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ (Tris – HCL buffer)(Stoll and Blanchard, 1990)

ตารางภาคผนวกที่ 1 แสดงจำนวนมิลลิลิตรการเตรียมสารละลายทริส-ไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์

pH	X	pH	X
7.00	46.6	8.00	29.2
7.10	45.7	8.10	26.2
7.20	44.7	8.20	22.9
7.30	43.4	8.30	19.9
7.40	42.0	8.40	17.2
7.50	40.3	8.50	14.7
7.60	38.5	8.60	12.4
7.70	36.6	8.70	10.3
7.80	34.5	8.80	8.5
7.90	32.0	8.90	7.0

ทำการเตรียมสารละลาย 0.1 โมลาร์ทริส–ไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์โดยการเตรียมสารละลาย Tris (hydroxmethyl) aminomethane ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จากนั้นผสมกับสารละลาย 0.1 โมลาร์ ไฮโดรคลอริก ปริมาตร x มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

2. การวิเคราะห์หา Free Fatty Acid โดยวิธี Titrimetric Method

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. ปิเปต ขนาด 50 มิลลิลิตร
3. บิวเรต ขนาด 50 มิลลิลิตร

สารเคมี

1. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัล (0.1 N NaOH
2. เอทานอลร้อยละ 95
3. สารละลายฟีนอล์ฟทาลีน เป็นอินดิเคเตอร์ (ร้อยละ 1 ในเอทานอลร้อยละ 95)

วิธีการวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. ชั่งตัวอย่างน้ำมัน 7.05 มิลลิกรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่

2. เติมเอทานอล 75 มิลลิลตร และ ฟีนอล์ฟทาลีน 2 มิลลิลิตร

3. ไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัล เขย่าจนกระทั่งเกิดสีชมพู บันทึกปริมาตรที่ใช้

4. คำนวณค่ากรดไขมันกรดไขมันอิสระจากสูตร

การคำนวณ

ร้อยละของ Free fatty acid as oleic $= \frac{\text{ปริมาตรโซเดียมไฮดรอกไซด์ (มล.)} \times N \times 28.2}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$

3. วิธีวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส (Hoshiro และ คณะ, 1992)

การเตรียมสารละลาย

สารละลาย A : ละลายพาราไนโตรฟีนิลปาล์มิเตรท 30 มิลลิกรัม ใน 2 โพรพานอลให้ได้ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

สารละลาย B : ละลายไตรตรอนเอ็กซ์ – 100 400 มิลลิกรัม และ กัมอาราบิค 100 มิลลิกรัมในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 มิลลิโมลาร์ ที่ค่าความเป็นกรดด่าง 8 ให้ได้ปริมาตร 90 มิลลิลิตร

สารละลาย C : ละลายโซเดียมคาร์บอเนต 211.0 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร นำสารละลายเอนไซม์ที่ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เติมสารละลาย D ปริมาตร 2 มิลลิลิตร (ผสมสารละลาย A ปริมาตร 10 มิลลิลิตรกับสารละลาย B ปริมาตร 90 มิลลิลิตร) บ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หยุดปฏิกิริยาด้วยการเติมสารละลาย C ปริมาตร 2.9 มิลลิลิตร แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตร คำนวณค่ากิจกรรมเอนไซม์เพื่อเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานพาราไนโตรฟีนอล

สารละลาย D: ผสมสารละลาย A ปริมาตร 10 มิลลิลิตรกับสารละลาย B ปริมาตร 90 มิลลิลิตร

4. ผลของการศึกษาองค์ประกอบของน้ำมันไบโอดีเซล

4.1 การศึกษาองค์ประกอบของน้ำมันไบโอดีเซล

4.1.1 วิเคราะห์วิเคราะห์ปริมาณของน้ำมันไบโอดีเซลในเชิงคุณภาพโดยวิธี ธินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี (thin layer chromatography) ดังนี้

4.1.1.1 เตรียมเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) โดยการผสมนอร์มัลเฮกเซน, ไดเอธิล-อีเทอร์ และกรดอะซิติกในอัตราส่วน 80: 20: 1 โดยปริมาตร ตามลำดับ

4.1.1.2 เทใส่โหลแก้วสี่เหลี่ยม (TLC Developing Tank) ให้มีความสูงประมาณ 1 เซนติเมตร ปิดฝาแล้วทิ้งไว้ให้อิ่มตัวที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที

4.1.1.3 หยดตัวอย่างของเมทิลเอสเทอร์ น้ำมันที่ปรับสภาพแล้วและน้ำมันที่สภาวะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่าง ๆที่ต้องการศึกษา ปริมาตรละ 1 ไมโครลิตร ให้เป็นจุดเล็กๆบนแผ่น TLC ที่เคลือบด้วยซิลิกา

4.1.1.4 จุ่มแผ่น TLC ลงในโหลแก้วที่มีเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ทิ้งไว้ให้อิ่มตัว จากนั้นนำแผ่น TLC ออกมา และตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง

4.1.1.5 นำแผ่น TLC มาส่องภายใต้แสงอุลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร

4.1.1.6 แถบของโครมาโทรแกรมจะแสดงตามองค์ประกอบที่มีอยู่ในสารประกอบซึ่งถูกแยกออกมาที่ระยะทางต่างๆกัน

น้ำมันหรือไขมันที่พบในพืชเป็นสารประกอบที่ไม่ละลาย ประกอบด้วยไตรกลีเซอไรด์ (triglycerides) เป็นองค์ประกอบหลัก ประมาณร้อยละ 90-98 มีไดกลีเซอไรด์ (diglycerides) และโมโนกลีเซอไรด์ (monoglycerides) อยู่เพียงเล็กน้อย มีกรดไขมันอิสระร้อยละ 1-5 นอกจากนั้นยังประกอบด้วยฟอสโฟลิปิด (phospholipids) ฟอสฟาไทด์ (phosphatides) และน้ำจำนวนอีกเล็กน้อย การวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันด้วยวิธีทางโครมาโทกราฟีเป็นเทคนิคทางเคมีที่สำคัญที่ช่วยจำแนกส่วนประกอบของสารตัวอย่าง โดยใช้หลักการ คือ สารประกอบต่างชนิดที่อยู่ในน้ำมัน มีความสามารถที่แตกต่างกันในการละลายในตัวทำละลายชนิดหนึ่งๆ

การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ธินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี (thin layer chromatography) เป็นการวิเคราะห์เชิงคุณภาพในเบื้องต้น เพื่อให้ทราบว่าเมทิลเอสเทอร์ที่ได้มีความบริสุทธิ์มากน้อยเพียงใด และมีน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนที่ไม่ได้ถูกทำปฏิกิริยาเหลืออยู่มากน้อยเพียงใด โดยใช้ซิลิกาเจลที่เคลือบอยู่บนแผ่นกระจกเป็นเฟสอยู่กับที่ (stationary phase) และใช้นอร์มัลเฮกเซน ผสมกับไดเอธิลอีเทอร์และกรดอะซิติก ในอัตราส่วน 80: 20: 1 โดยปริมาตร เป็นเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) เทเฟสเคลื่อนที่ใส่โหลแก้วสี่เหลี่ยมให้มีความสูงประมาณ 1 เซนติเมตร ปิดฝาแล้วทิ้งไว้ให้อิ่มตัวที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที

หยดตัวอย่างของเมทิลเอสเทอร์ น้ำมันที่ปรับสภาพแล้ว และน้ำมันที่สภาวะต่างๆที่ต้องการศึกษาปริมาตรละ 1 ไมโครลิตร ให้เป็นจุดเล็กๆบนแผ่นกระจกที่เคลือบด้วยซิลิกาเจล แล้วจุ่มแผ่นแผ่นกระจกที่เคลือบซิลิกาเจลลงในโหลแก้วที่มีเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ทิ้งไว้ให้อิ่มตัว สารตัวอย่างจะมีการแยกจากกันตาม Retention Time จากนั้นนำแผ่นกระจกที่เคลือบซิลิกาเจลออกมาและตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง แล้วนำมาส่องภายใต้แสงอุลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ผลการวิเคราะห์ที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.1

การเคลื่อนที่ของสารและเกิดแถบต่าง ๆ บนแผ่นของซิลิกาซึ่งระยะทางที่เกิดแถบต่างๆ ดังรูป ซึ่งทำให้สามารถนำมาวิเคราะห์ความบริสุทธิ์ของน้ำมันไบโอดีเซลที่เกิดขึ้นได้โดยการคำนวณค่า R_f (rate of flow) เป็นค่าเฉพาะตัวของสาร ขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลายและตัวดูดซับ ดังนั้นการบอกค่า R_f ของสารแต่ละชนิดจึงต้องบอกชนิดของตัวทำละลาย และตัวดูดซับเสมอค่า R_f สามารถคำนวณได้จากสูตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น และห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$R_f = \frac{\text{ระยะทางที่สารเคมีเคลื่อนที่ (เซนติเมตร)}}{\text{ระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ (เซนติเมตร)}}$$

สารต่างชนิดกันจะมีค่า R_f แตกต่างกัน เพราะฉะนั้นเราจึงสามารถใช้ค่า R_f มาใช้ในการวิเคราะห์ชนิดของสารได้ กล่าวคือ ถ้าสารใดมีความสามารถในการละลายสูงจะมีค่า R_f มาก เนื่องจากตัวทำละลายจะเคลื่อนที่เร็วกว่าสารที่จะแยก ค่า $R_f < 1$ เสมอ

ถ้าใช้ตัวทำละลายและตัวดูดซับชนิดเดียวกันปรากฏว่ามีค่า R_f เท่ากัน อาจสันนิษฐานได้ว่า สารดังกล่าวเป็นสารชนิดเดียวกัน หรือนำสารตัวอย่างมาทำโครมาโทกราฟีคู่กับสารจริงก็ได้

5. การคำนวณอัตราส่วนโดยโมลระหว่างน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนต่อเมทานอล

น้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนมาจากน้ำมันถั่วเหลือง ดังนั้นส่วนประกอบของน้ำมันถั่วเหลืองจึงมี กรดปาล์มมิติก กรดสเตียริก กรดโอเลอิก กรดลิโนเลอิก และกรดไลโนเลนิก

สูตรคำนวณ

$$MW_{TG} = (3R_{av} + MW_G) - MW_{water}$$

$$R_{av} = \text{(ผลรวมของ\%F x MW)/100}$$

$$R_{av} = \frac{((236 \times 11)+(260 \times 4)+(282 \times 24)+(282 \times 24)+(278 \times 7))}{100}$$

$$R_{av} = \frac{2{,}596 + 1{,}040 + 6{,}768 + 6{,}768 + 1{,}946}{100}$$

$$R_{av} = 191.18$$

แทนค่าใน

$$MW_{TG} = (3R_{av} + MW_G) - MW_{water}$$

จะได้

$$MW_{TG} = [3(191.18) + 92] - 54$$

$$= (573.54 + 92) - 54$$

$$= 611.54 \text{ กรัมต่อโมล}$$

ดังนั้น น้ำหนักโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือน คือ 611.54 กรัมต่อโมล

หมายเหตุ : R_{av} = ผลรวมร้อยละของกรดไขมันอิสระทั้งหมด

MW_{TG} = น้ำหนักโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์

MW_{water} = น้ำหนักโมเลกุลของน้ำ

MW_G = น้ำหนักโมเลกุลของกลีเซอรอล

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การคำนวณปริมาตรของน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนและเมทานอล

เมทานอล 1 โมล (มวลโมเลกุลของเมทานอล เท่ากับ 32.04 กรัมต่อโมล)

จาก $n = \frac{m}{MW}$

$1 \text{ โมล} = \frac{m}{32.04}$

$m = 32.04$ กรัม

จาก

$P = \frac{m}{v}$

P ของเมทานอลเท่ากับ 0.792 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร

$V = \frac{32.04}{0.792}$

$V = 40.45$ ลูกบาศก์เซนติเมตร

ดังนั้นปริมาณเมทานอล 1 โมล เท่ากับ 40.45 ลูกบาศก์เซนติเมตร

<u>ปริมาตรน้ำมัน</u>

ปริมาณน้ำมัน 1 โมล (มวลโมเลกุลของน้ำมันเท่ากับ 611.54 กรัมต่อโมล)

จาก

$n = \frac{m}{MW}$

$1 \text{ โมล} = \frac{m}{611.54}$

จะได้น้ำหนักของน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือน เท่ากับ 611.54 กรัม

จาก

$P = \frac{m}{v}$

P ของน้ำมันเท่ากับ 0.904 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร

$V = \frac{611.54}{0.904}$

$V = 676.48$ ลูกบาศก์เซนติเมตร

ดังนั้นปริมาณน้ำมัน 1 โมล เท่ากับ 676.48 ลูกบาศก์เซนติเมตร

หมายเหตุ: n = จำนวนโมล V = ปริมาตร (มิลลิลิตร)

P = ความหนาแน่น m = มวล (กรัม)

<u>แสดงการคำนวณอัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันกับเมทานอลที่ใช้ในการทดลอง</u>

จากปริมาณน้ำมัน 676.48 ลูกบาศก์เซนติเมตร เท่ากับ 1 โมล ดังนั้นเทียบบัญญัติไตรยางศ์ ได้ว่า

น้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือน 10 มิลลิลิตร จะเท่ากับ $\frac{10 \times 1}{676.48} = 0.0148$ โมล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>อัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนต่อเมทานอล 1:3</u>

จำนวนโมลของเมทานอลที่ใช้จะเป็น 0.0148 x 3 = 0.0444 โมล

เมทานอล 1 โมล มีปริมาตร 40.45 ลูกบาศก์เซนติเมตร

เมทานอล 0.0069 โมล มีปริมาตร $\frac{40.45 \times 0.0444}{1}$ = 1.7959 ลูกบาศก์เซนติเมตร

อัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนต่อเมทานอล 1:5

จำนวนโมลของเมทานอลที่ใช้จะเป็น 0.0148 x 5 = 0.074 โมล

เมทานอล 1 โมล มีปริมาตร 40.45 ลูกบาศก์เซนติเมตร

ดังนั้นเมทานอล 0.0092 โมล มีปริมาตร $\frac{40.45 \times 0.074}{1}$ = 2.9933 ลูกบาศก์เซนติเมตร

อัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนต่อเมทานอล 1:10

จำนวนโมลของเมทานอลที่ใช้จะเป็น 0.0148 x 10 = 0.148 โมล

เมทานอล 1 โมล มีปริมาตร 40.45 ลูกบาศก์เซนติเมตร

ดังนั้นเมทานอล 0.0115 โมล มีปริมาตร $\frac{40.45 \times 0.148}{1}$ = 5.9866 ลูกบาศก์เซนติเมตร

อัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนต่อเมทานอล 1:15

จำนวนโมลของเมทานอลที่ใช้จะเป็น 0.0148 x 15 = 0.222 โมล

เมทานอล 1 โมล มีปริมาตร 40.45 ลูกบาศก์เซนติเมตร

ดังนั้นเมทานอล 0.0138 โมล มีปริมาตร $\frac{40.45 \times 0.222}{1}$ = 8.9799 ลูกบาศก์เซนติเมตร

อัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันเหลือใช้ในครัวเรือนต่อเมทานอล 1:20

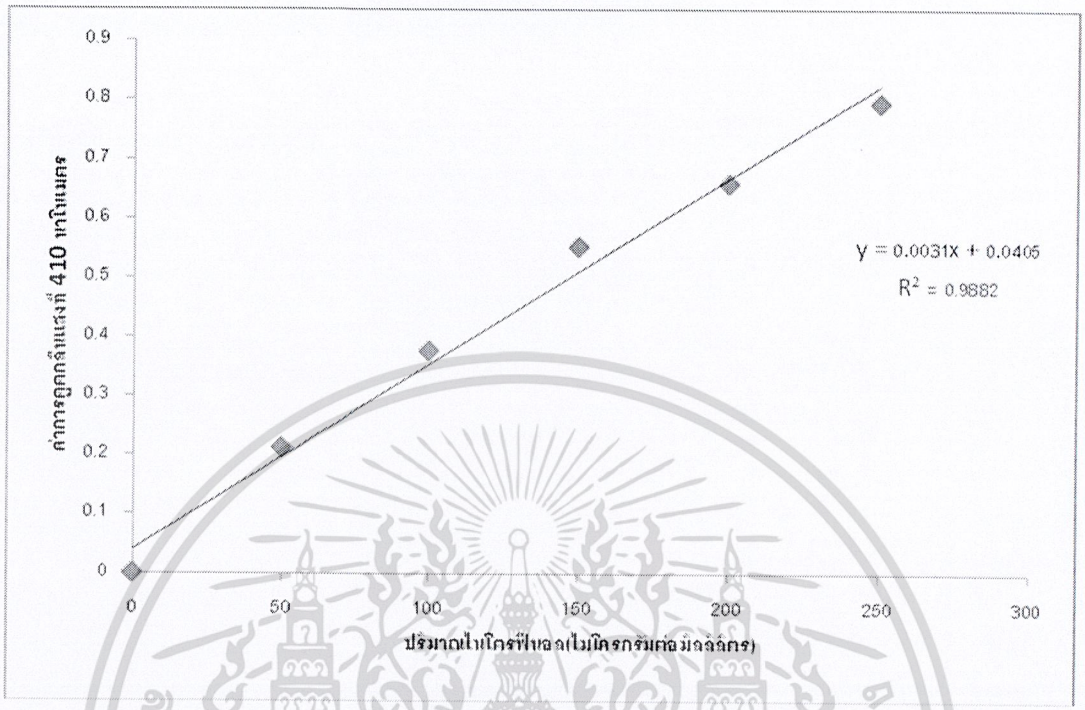
จำนวนโมลของเมทานอลที่ใช้จะเป็น 0.0148 x 20 = 0.296 โมล

เมทานอล 1 โมล มีปริมาตร 40.45 ลูกบาศก์เซนติเมตร

ดังนั้นเมทานอล 0.0138 โมล มีปริมาตร $\frac{40.45 \times 0.296}{1}$ = 11.9732 ลูกบาศก์เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข



รูปภาคผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐานของสารละลายไนโตรฟีนอลที่ความเข้มข้น 0, 50, 100, 150, 200 และ 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตร

ตารางภาคผนวกที่ 2 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสที่เหลือจากการตรึงเอนไซม์ไลเปสด้วยแคลเซียมอัลจิเนตด้วยความเข้มข้นของเอนไซม์ไลเปสที่แตกต่าง บ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ความเข้มข้นของเอนไซม์ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ซ้ำที่	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตร	กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร)	กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสเฉลี่ย (ยูนิตต่อมิลลิลิตร)
30	1	0.269	0.3041	0.3071
	2	0.274	0.3097	
	3	0.272	0.3075	
40	1	0.439	0.4962	0.4962
	2	0.444	0.5019	
	3	0.434	0.4906	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

50	1	0.816	0.9223	0.9302
	2	0.828	0.9359	
	3	0.825	0.9325	
60	1	1.583	0.8500	0.8545
	2	1.656	0.8591	
	3	1.579	0.8545	

สูตรคำนวณค่ากิจกรรมของเอนไซม์

$$\text{กิจกรรมของเอนไซม์} = \frac{\text{ปริมาณพาราไนโตรฟีนอล}(\mu g/ml) \times \text{ค่าการเจือจาง}}{\text{มวลโมเลกุลพาราไนโตรฟีนอล} \times \text{เวลาที่บ่ม} \times \text{ปริมาณเอนไซม์}(ml)}$$

*ยูนิตของเอนไซม์ หมายถึง ปริมาณของเอนไซม์ที่สามารถทำปฏิกิริยาย่อยสลายสารละลายพาราไนโตรฟีนิลปาล์มิเตรทให้พาราไนโตรฟีนอล 1 ไมโครโมลในสภาวะที่ทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ตารางภาคผนวกที่ 3 แสดงค่าความแตกต่างทางสถิติของปริมาณกรดโอเลอิกที่วัดได้จากการแปรผันอุณหภูมิที่ 30, 35 , 40 และ 45 องศาเซลเซียสในการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเป็นเวลา 20 ชั่วโมง โดยใช้เอนไซม์ไลเปส 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในอัลจิเนตร้อยละ1 ปริมาตร 8 มิลลิลิตรเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

อุณหภูมิ	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
45*	3	27.2900			
30	3		29.5600		
35	3			30.9267	
40	3				34.2467
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	76.221	3	25.407	105132.908	.000
Within Groups	.002	8	.000		
Total	76.223	11			

*หมายถึง อุณหภูมิ 30, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส ในการทำปฏิกิริยา ไฮโดรไลซิส

ตารางภาคผนวกที่ 4 แสดงค่าความแตกต่างทางสถิติของปริมาณกรดโอเลอิกที่วัดได้จากการแปรผันช่วงเวลาที่ 5 , 10 , 15 , 20 และ 25 ชั่วโมงในการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส โดยทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสใช้เอนไซม์ไลเปส 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในอัลจิเนตร้อยละ1 ปริมาตร 8 มิลลิลิตรเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

เวลา	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
10*	3	24.3300		
5	3	24.8500		
25	3		28.5167	
15	3		30.2367	
20	3			33.8400
Sig.		.691	.206	1.000

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	186.413	4	46.603	19.222	.000
Within Groups	24.244	10	2.424		
Total	210.657	14			

*หมายถึง เวลา 5, 10, 15, 20 และ 25 ชั่วโมง ในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 5 แสดงค่าความแตกต่างทางสถิติของปริมาณกรดโอเลอิกที่วัดได้จากการแปรผันอัตราส่วนความเข้มข้นของเอนไซม์ไลเปสที่ 30 , 40 , 50 และ 60 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในอัลจิเนตร้อยละ 1 ปริมาตร 8 มิลลิลิตร โดยทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 ชั่วโมง

เอนไซม์ไลเปสตรึงรูป			Subset for alpha = 0.05			
		N	1	2	3	4
	30.00*	3	14.8633			
	40.00	3		15.6700		
--	50.00	3			17.6467	
	60.00	3				17.7200
	Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	18.505	3	6.168	21148.533	.000
Within Groups	.002	8	.000		
Total	18.507	11			

*หมายถึง อัตราส่วนความเข้มข้นของเอนไซม์ไลเปส 30, 40 ,50 และ 60 มิลลิกรัมในแคลเซียมอัลจิเนต ร้อยละ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร 8 มิลลิลิตร

ตารางภาคผนวกที่ 6 แสดงค่าความแตกต่างทางสถิติของปริมาณกรดโอเลอิกที่วัดได้จากการแปรผันอุณหภูมิที่ 30, 40 และ 50 องศาเซลเซียสในการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน โดยที่ควบคุมอัตราส่วนโดยโมลระหว่างน้ำมันและเมทานอล คือ 1:3

อุณหภูมิ		Subset for alpha = 0.05		
	N	1	2	3
50*	3	26.4467		
40	3		29.1500	
30	3			31.3467
Sig.		1.000	1.000	1.000

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	36.143	2	18.072	62555.808	.000
Within Groups	.002	6	.000		
Total	36.145	8			

*หมายถึง อุณหภูมิ 30, 40 และ 50 องศาเซลเซียส ในการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 7 แสดงค่าความแตกต่างทางสถิติของปริมาณกรดโอเลอิกที่วัดได้จากการแปรผันอัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันกับเมทานอลที่ 1:3, 1:5, 1:10, 1:15 และ 1:20ในปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน

เมทานอล	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
1.05*	3	18.5567				
1.10	3		19.6700			
1.15	3			20.1567		
1.03	3				20.8167	
1.20	3					21.6733
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	16.593	4	4.148	3681.947	.000
Within Groups	.011	10	.001		
Total	16.605	14			

*หมายถึง อัตราส่วนโดยโมล 1:3, 1:5, 1:10, 1:15 และ 1:20 ระหว่างน้ำมันต่อเมทานอลในปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้