สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การเลี้ยงเซลล์ยีสต์เพื่อเร่งปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์ม

T117173

นางสาว ธัญญารัตน์ ธรรมไพศาล

นางสาว อัจฉราภรณ์ จงมีสุข

นางสาว อุทัยวรรณ์ มากศิริ

สำหนู 117173
เลขทะเบียน
วัน,เดือน,ปี 19 ก.ค. 2554

b 123 ก.2 105
i

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พ.ศ. 2553

Culture of yeast cell for tranesterrification catalysis in the biodiesel production from palm oil

THANYARAT THAMPISAN

ATCHARAPORN JONGMEESUK

UTHAIWAN MARKSIRI

A Report Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement

for the Degree of Bachelor of Science

Industrial Microbiology Program

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2010

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การเลี้ยงเซลล์ยีสต์เพื่อเร่งปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์ม

Culture of yeast cell for tranesterrification catalysis in the biodiesel production from palm oil

ชื่อนักศึกษา ธัญญารัตน์ ธรรมไพศาล รหัส 50050823

อัจฉราภรณ์ จงมีสุข รหัส 50050890

อุทัยวรรณ์ มากศิริ รหัส 50050894

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.อารี ฤทธิบูรณ์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2553

คณะกรรมการตรวจสอบ		ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ	รศ.สุขใจ ชูจันทร์	
กรรมการ	รศ.อารี ฤทธิบูรณ์	
กรรมการ	ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

โครงงานพิเศษเรื่อง การเลี้ยงเซลล์ยีสต์เพื่อเร่งปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์ม

นักศึกษา ธัญญารัตน์ ธรรมไพศาล รหัส 50050823

อัจฉราภรณ์ จงมีสุข รหัส 50050890

อุทัยวรรณ์ มากศิริ รหัส 50050894

สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

ปีการศึกษา 2553

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ. อารี ฤทธิบูรณ์

บทคัดย่อ

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเอนไซม์ไลเปสของเชื้อยีสต์ต่อปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของน้ำมันปาล์มและเมทานอล โดยทดสอบผลของเวลาที่เหมาะสมในการเลี้ยงเซลล์ยีสต์ที่เวลา 6, 12, 18, 24 และ 30 ชั่วโมง ผลของปริมาณเซลล์ยีสต์ที่เหมาะสมในการเกิดกรดไขมันอิสระที่ปริมาณเซลล์ยีสต์ร้อยละ 2, 4, 6 และ 8 ผลของพีเอชที่เหมาะสมต่อการเกิดกรดไขมันอิสระที่พีเอช 6,7 และ 8 ในสภาวะอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียสและความเร็วการเขย่าที่ 200 รอบต่อนาที ผลการทดลองพบว่า ที่เวลา 24 ชั่วโมง ปริมาณเซลล์ยีสต์ร้อยละ 4 และพีเอช 7 ให้ผลผลิตกรดไขมันอิสระสูงสุดถึงร้อยละ 7.89, 7.52 และ 10.03 ตามลำดับและมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ถึงร้อยละ 635.0347, 647.0165 และ 694.9436 ยูนิตต่อกรัมตามลำดับ เมื่อทำการเปรียบเทียบปริมาณกรดไขมันอิสระหลังจากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ 24 ชั่วโมงและหลังเติมเมทานอลที่อัตราส่วนต่อโมลของน้ำมันปาล์มต่อเมทานอล 1:3, 1:4, 1:5 และ 1:6 โมล พบว่าที่อัตราส่วนต่อโมลของน้ำมันปาล์มต่อเมทานอลเท่ากับ 1:6 ให้ผลผลิตกรดไขมันอิสระลดลงจากร้อยละ 10.03 เป็นร้อยละ 5.01 และมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์เท่ากับ 694.9436 ยูนิตต่อกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title Culture of yeast cell for tranesterrification catalysis in the biodiesel production from palm oil

Students Thanyarat Thampisan 50050823

Atcharaporn Jongmeesuk 50050890

Uthaiwan Marksiri 50050894

Program Industrial Microbiology

Academic Year 2010

Advisor Assoc. Prof. Aree Rittiboon

ABSTRACT

The tranesterification of palm oil by enzymatic reaction of lipase from Yeast was studied for the optimization. The effects of time at 6, 12, 18, 24 and 30 hours , cell amout 2, 4, 6 and 8 percents , pH 6, 7 and 8 were testified by using 30 °C of reaction temperature and 200 rpm of shaking speed. The result showed that at 24 hours , cell amout 4 percents and pH 7 gave the maximum free fatty acid at 7.89, 7.52 and 10.03 percents respectively and gave enzyme activity at 635.0347, 647.0165 and 694.9436 unit/gram respectively. In comparison to the free fatty acid at 24 hours and after add methanol at the ratio of palm oil and methanol of 1:3, 1:4, 1:5 and 1:6 mol that at the ratio of palm oil and methanol of 1:6 mol gave the free fatty acid decrease from 10.03 percents remain 5.01 percents and gave enzyme activity at 694.9436 unit/gram

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดีโดยมีการให้คำปรึกษา และคำแนะนำในการดำเนินงานวิจัยจาก รศ. อารี ฤทธิบูรณ์ รศ.สุขใจ ชูจันทร์ ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณอาจารย์เป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้ ขอขอบพระคุณพี่ๆนักวิทย์ พี่นุ้ย พี่หนึ่ง ที่คอยให้คำปรึกษา และ สอนวิธีการใช้เครื่องมือเป็นประโยชน์ต่องานวิจัยเป็นอย่างมาก ขอบพระคุณบิดามารดา ขอบคุณ เพื่อนๆทุกคน ที่คอยเกื้อหนุนซึ่งกันและกันมาตลอด

ธัญญารัตน์ ธรรมไพศาล

อัจฉราภรณ์ จงมีสุข

อุทัยวรรณ์ มากศิริ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	I
สารบัญ	II
บทที่ 1 บทนำ	
ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย	1
วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
ขอบเขตของงานวิจัย	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ไบโอดีเซล	3
2.1.1 วัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซล	4
2.1.2 เทคโนโลยีการผลิตไบโอดีเซล	5
2.1.3 คุณสมบัติของน้ำมันพืช น้ำมันดีเซลและไบโอดีเซล	5
2.2 ปาล์มน้ำมัน	7
2.2.1 องค์ประกอบของน้ำมันปาล์มดิบ	8
2.2.2 คุณสมบัติของน้ำมันปาล์ม	8
2.2.3 ประโยชน์ของน้ำมันปาล์ม	9
2.3 กลีเซอรอล	9
2.4 ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน	10
2.4.1 ตัวเร่งปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน	11
2.4.2 ตัวแปรที่มีผลต่อปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน	12
2.5 เอนไซม์ไลเปส	13
2.5.1 แหล่งที่มาของเอนไซม์ไลเปส	13
2.5.2 การทำงานของไลเปส	13
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	14
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	16
3.1 สารเคมี	16
3.2 อุปกรณ์	16
3.3 ขั้นตอนการดำเนินการ	17
1.การเลี้ยงยีสต์	17
2.นับจำนวนเซลล์	17

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสของเซลล์ยีสต์	17
3.1 ผลของเวลาที่เหมาะสมในการเลี้ยงเซลล์ยีสต์	17
3.2 ปริมาณเซลล์ยีสต์ที่เหมาะสมในการเกิดกรดไขมันอิสระ	17
3.3 ผลของพีเอชที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดไขมันอิสระ	17
4.การหาปริมาณเมทานอลที่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน	18
5.วิเคราะห์เชิงปริมาณของไบโอดีเซลที่ผลิตได้บนเพลทซิลิกาเจล	18
6. การวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ	18
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	19
4.1 ผลของเวลาที่เหมาะสมในการเลี้ยงเซลล์ยีสต์	19
4.2 ปริมาณเซลล์ยีสต์ที่เหมาะสมในการเกิดกรดไขมันอิสระ	19
4.3 ผลของพีเอชที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดไขมันอิสระ	21
4.4 ปริมาณเมทานอลที่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่น	21
4.5 ผลการวิเคราะห์เชิงปริมาณของไบโอดีเซลที่ผลิตได้บนเพลทซิลิกาเจล	23
บทที่ 5 สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ	26
เอกสารอ้างอิง	27
ภาคผนวก ก	30
ภาคผนวก ข	35
ภาคผนวก ค	36
ภาคผนวก ง	40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่ 4.1 แสดงผลของเวลาในการเลี้ยงเซลล์ยีสต์ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่เวลา 6, 12, 18, 24 และ 30 ชั่วโมง ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสและกรดไขมันอิสระ 20

รูปที่ 4.2 แสดงผลของปริมาณเซลล์ยีสต์ในการเลี้ยงยีสต์ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยการใช้ปริมาณเซลล์ร้อยละ 2, 4, 6 และ 8 ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสและกรดไขมันอิสระ 20

รูปที่ 4.3 แสดงผลของพีเอชในการเลี้ยงยีสต์ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาทีอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่พีเอช 6, 7 และ 8 ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสและกรดไขมันอิสระ 21

รูปที่ 4.4 แสดงผลของปริมาณเมทานอลต่อการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่นที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของน้ำมันปาล์มต่อเมทานอล 1:3, 1:4, 1:5 และ 1:6 โมล เป็นเวลา 96 ชั่วโมง 22

รูปที่ 4.5 แสดงผลการวิเคราะห์เชิงปริมาณของไบโอดีเซลที่ผลิตได้บนเพลทซิลิกาเจลของการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่นที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของน้ำมันปาล์มต่อเมทานอล 1:3, 1:4 1:5 และ 1:6 โมล เป็นเวลา 96 ชั่วโมง 24

รูปภาคผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐานของสารละลายพาราไนโตรฟีนอลโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตร ที่ระดับความเข้มข้น 500, 1000, 1500, 2000 และ 2500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบกรดไขมันของน้ำมันปาล์มดิบและน้ำมันเมล็ดในปาล์ม 10

ตารางภาคผนวกที่ 1 แสดงการผสมกันระหว่างสารละลาย ก และสารละลาย ข ให้ได้ค่ากรดด่างตามที่ต้องการ 30

ตารางภาคผนวกที่ 2 แสดงค่าปริมาณกรดไขมันอิสระที่วัดได้จากการศึกษาผลของเวลาในการเลี้ยงเซลล์ยีสต์ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่เวลา 6, 12, 18, 24 และ 30 ชั่วโมง 36

ตารางภาคผนวกที่ 3 แสดงค่ากิจกรรมของเอนไซม์วัดได้จากการศึกษาผลของเวลาในการเลี้ยงเซลล์ยีสต์ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่เวลา 6, 12, 18, 24 และ 30 ชั่วโมง 36

ตารางภาคผนวกที่ 4 แสดงค่าปริมาณกรดไขมันอิสระที่วัดได้จากการศึกษาผลของปริมาณเซลล์ยีสต์ในการเลี้ยงยีสต์ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยการใช้ปริมาณเซลล์ร้อยละ 2, 4, 6 และ 8 37

ตารางภาคผนวกที่ 5 แสดงค่ากิจกรรมของเอนไซม์วัดได้จากการศึกษาผลของปริมาณเซลล์ยีสต์ในการเลี้ยงยีสต์ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยการใช้ปริมาณเซลล์ร้อยละ 2, 4, 6 และ 8 38

ตารางภาคผนวกที่ 6 แสดงค่าปริมาณกรดไขมันอิสระที่วัดได้จากการศึกษาผลของพีเอชในการเลี้ยงยีสต์ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่พีเอช 6, 7 และ 8 38

ตารางภาคผนวกที่ 7 แสดงค่ากิจกรรมของเอนไซม์วัดได้จากการศึกษาผลของพีเอชในการเลี้ยงยีสต์ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่พีเอช 6, 7 และ 8 39

ตารางภาคผนวกที่ 8 แสดงค่าปริมาณกรดไขมันอิสระที่วัดได้จากการศึกษาปริมาณเมทานอลต่อการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่นที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของน้ำมันปาล์มต่อเมทานอล 1:3, 1:4, 1:5 และ 1:6 โมล เป็นเวลา 96 ชั่วโมง 39

ตารางภาคผนวกที่ 8 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าปริมาณกรดไขมันอิสระที่วัดได้จากการศึกษาผลของเวลาในการเลี้ยงเซลล์ยีสต์ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่เวลา 6, 12, 18, 24 และ 30 ชั่วโมง ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น และห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง(ต่อ)

หน้า

ตารางภาคผนวกที่ 9 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าปริมาณกรดไขมันอิสระที่วัดได้จากการศึกษาผลของปริมาณเซลล์ยีสต์ในการเลี้ยงยีสต์ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยการใช้ปริมาณเซลล์ร้อยละ 2, 4, 6 และ 8 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 40

ตารางภาคผนวกที่ 10 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าปริมาณกรดไขมันอิสระที่วัดได้จากการศึกษาผลของพีเอชในการเลี้ยงยีสต์ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่พีเอช 6, 7 และ 8 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ในปัจจุบันราคาน้ำมันเชื้อเพลิงได้มีการปรับตัวสูงขึ้น เนื่องมาจากการที่ทรัพยากรด้านปิโตรเลียมจำนวนลดลงอย่างต่อเนื่อง ประเทศไทยก็เป็นอีกประเทศหนึ่งที่มีการใช้และนำเข้าน้ำมันดีเซลเป็นจำนวนมาก จึงได้รับผลกระทบจากภาวะราคาน้ำมันแพงเป็นอย่างมาก ทำให้เริ่มมีการมองหาแหล่งพลังงานใหม่ขึ้นมาทดแทนโดยเน้นการใช้วัตถุดิบภายในประเทศเพื่อนำมาผลิตเป็นเชื้อเพลิงทดแทนซึ่งหนึ่งในนั้นก็คือ ไบโอดีเซล

ไบโอดีเซล คือ น้ำมันเชื้อเพลิงชีวภาพที่ผ่านการผลิตมาจากน้ำมันพืชหรือไขมันสัตว์ผสมกับเอทานอลหรือเมทานอล เพื่อให้ได้เชื้อเพลิงโมเลกุลเล็กลงซึ่งจะมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซลและสามารถใช้แทนกันได้ ในที่นี้จะมุ่งศึกษาน้ำมันปาล์มซึ่งเป็นพืชไม้ที่เกษตรกรไทยสามารถผลิตได้เป็นการช่วยเพิ่มมูลค่าของผลผลิตทางการเกษตร สามารถใช้ได้กับเครื่องยนต์หมุนช้า ใช้แทนน้ำมันดีเซลได้ร้อยละ 100 และเครื่องยนต์หมุนเร็ว ใช้แทนน้ำมันดีเซลได้ร้อยละ 5

วิธีที่พบมากที่สุดในการผลิตไบโอดีเซล คือ ทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน (transesterification) ซึ่งเกิดจากไขมันหรือน้ำมันทำปฏิกิริยากับแอลกอฮอล์โดยมีตัวเร่งปฏิกิริยา เพื่อผลิต fatty acid alkyl ester หรือไบโอดีเซลและกลีเซอรอล

ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน (transesterification) สามารถใช้กรด เบส และเอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Zhang, 2003) โดยเบสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาได้เร็วกว่ากรดแต่กรดไขมันอิสระจะถูกเปลี่ยนเป็นสบู่โดยปฏิกิริยาสปอนิฟิเคชัน (sponification) ทำให้ได้เอสเทอร์ลดน้อยลง รวมทั้งเกิดความยุ่งยากในการแยกกลีเซอรอล (Ma, 1999 และ Noureddini, 2004) แต่อย่างไรก็ตามถ้ากลีเซอไรด์มีส่วนประกอบของกรดไขมันอิสระและน้ำอยู่มาก การใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาที่เป็นกรดจะดีกว่า ดังนั้นเอนไซม์จึงเป็นทางเลือกที่น่าสนใจในการนำไปใช้เร่งปฏิกิริยา เพราะเป็นปฏิกิริยาที่สามารถควบคุมได้เกิดในสภาวะที่ไม่รุนแรง ไม่เหลือสารพิษในของเสียที่ได้จากปฏิกิริยา แต่เนื่องจากเอนไซม์ไลเปสมีราคาสูงจึงมีแนวคิดที่จะหันมาเลี้ยงเซลล์ยีสต์ที่มีความสามารถสร้างเอนไซม์ไลเปสโดยผ่านการตรึงเซลล์เพื่อนำเซลล์กลับมาใช้ใหม่ได้ง่ายยิ่งขึ้น

ดังนั้นในโครงงานพิเศษนี้จึงมุ่งศึกษาการเลี้ยงเซลล์ยีสต์เพื่อนำมาเร่งปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชันเพื่อผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์ม

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเซลล์ยีสต์ที่แยกได้จากธรรมชาติในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสโดยการใช้น้ำมันปาล์มเป็นแหล่งคาร์บอนโดยทำการศึกษาปัจจัยต่างๆดังนี้คือ ปริมาณเซลล์ยีสต์ เวลาที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อและพีเอช

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมกับการใช้เซลล์ยีสต์ในปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันเพื่อการผลิตไบโอดีเซล ได้แก่ อัตราส่วนของน้ำมันปาล์มต่อเอทนานอล

3.เพื่อผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์มโดยเซลล์ยีสต์อิสระ

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเซลล์ยีสต์ในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสโดยการใช้น้ำมันปาล์มเป็นแหล่งคาร์บอนโดยทำการศึกษาปัจจันต่างๆดังนี้คือ ปริมาณเซลล์ยีสต์ เวลาที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อและพีเอช

2.ทำการศึกษาผลที่ได้จากการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากเซลล์ยีสต์ในปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันเพื่อการผลิตไบโอดีเซล ได้แก่ อัตราส่วนของน้ำมันปาล์มต่อเอทนานอล

3.วิเคราะห์คุณภาพน้ำมันไบโอดีเซลอย่างคร่าวๆ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.ทราบสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเซลล์ยีสต์ที่แยกได้จากธรรมชาติในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสและปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันเพื่อการผลิตไบโอดีเซล

2.สามารถนำไปวิจัยในขั้นสูงต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไบโอดีเซล

ไบโอดีเซล (Biodiesel) เป็นเชื้อเพลิงดีเซลที่ผลิตจากแหล่งทรัพยากรหมุนเวียน เช่น น้ำมันพืช ไขมันสัตว์ หรือสาหร่าย ไบโอดีเซลเป็นเชื้อเพลิงดีเซลทางเลือก นอกเหนือจากดีเซลที่ผลิตจากปิโตรเลียม โดยมีคุณสมบัติการเผาไหม้ เหมือนกับดีเซลจากปิโตรเลียมมาก และสามารถใช้ทดแทนกันได้ คุณสมบัติสำคัญของไบโอดีเซลคือ สามารถย่อยสลายได้เองโดยตามกระบวนการชีวภาพในธรรมชาติ และไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม ไบโอดีเซลเป็นพลังงานทดแทนเชื้อเพลิงดีเซลจัดเป็นสารประเภทเอสเทอร์ทำจากน้ำมันพืชที่ผ่านกระบวนการทางเคมีที่เรียกว่า กระบวนการทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน (Transesterification Process) โดยให้น้ำมันพืชทำปฏิกิริยากับแอลกอฮอล์ เช่นเมทานอล หรือเอทานอล และมีด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา มีลักษณะเป็นเอสเตอร์ของกรดไขมัน เรียกว่า แฟททีแอซิสเมทิสเอสเทอร์ (Fatty Acid Methyl Ester)

การเรียกชื่อประเภทของไบโอดีเซลขึ้นกับชนิดของแอลกอฮอล์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาเช่น เมทิลเอสเตอร์ เป็นเอสเตอร์ที่ได้จากการใช้เมทานอลเป็นสารในการทำปฏิกิริยา หรือเอทิลเอสเตอร์ เป็นเอสเตอร์ที่ได้จากการใช้เอทานอลเป็นสารในการทำปฏิกิริยา เป็นต้น ไบโอดีเซลแบ่งได้เป็น 3 ชนิด คือ

1. ไบโอดีเซลที่ได้จากน้ำมันพืชหรือไขมันสัตว์ซึ่งสามารถนำมาใช้กับเครื่องยนต์ดีเซลได้เลย

2. ไบโอดีเซลแบบผสม เป็นการนำน้ำมันพืชหรือน้ำมันจากสัตว์มาผสมกับน้ำมันก๊าดหรือน้ำมันดีเซล ก่อนนำไปใช้เช่น โคโคดีเซล (Coco-diesel) และปาล์มดีเซล (Palm-diesel) เป็นต้น

3. ไบโอดีเซลแบบเอสเตอร์ ได้จากปฏิกิริยาเคมีที่เรียกว่า ทรานส์เอสเตอริฟิเคชัน (Transesterification process) ซึ่งนำแอลกอฮอล์มาทำปฏิกิริยากับน้ำมันจากพืชหรือสัตว์โดยใช้กรดหรือด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

ปัจจุบันมีการใช้น้ำมันพืชและไบโอดีเซลเป็นเชื้อเพลิงในเครื่องยนต์ดีเซลการใช้น้ำมันพืชเป็นเชื้อเพลิงโดยตรงในเครื่องยนต์นั้น จะใช้ได้ต่อเมื่อต้องดัดแปลงเครื่องยนต์ในส่วนของลูกสูบ ระบบหัวฉีดและห้องเผาไหม้ของเครื่องยนต์ให้เหมาะสมกับการใช้ หากใช้กับเครื่องยนต์ดีเซลธรรมดาที่ไม่มีการดัดแปลงชิ้นส่วนใด ต้องลดความหนืดของน้ำมันพืชลงให้ใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซลโดยผสมกับน้ำมันดีเซลหรือน้ำมันก๊าด จึงสามารถใช้น้ำมันพืชเป็นเชื้อเพลิงได้แต่ ใช้ได้เฉพาะกับเครื่องยนต์รอบต่ำและใช้งานอยู่กับที่ เช่น เครื่องยนต์ทางการเกษตรที่ใช้ในสวนเพื่อการสูบน้ำหรือใช้ในเครื่องเติมออกซิเจนให้กับน้ำในนากุ้ง เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับการใช้ในเครื่องยนต์รอบสูงหรือในรถยนต์ที่ใช้เครื่องยนต์ดีเซลที่ไม่มีการดัดแปลงเครื่องยนต์ ไม่สามารถใช้น้ำมันพืชเป็นเชื้อเพลิงได้โดยตรง ต้องใช้ไบโอดีเซลเป็นเชื้อเพลิงเท่านั้น

ไบโอดีเซลที่ผลิตได้จากน้ำมันพืชที่ผ่านกระบวนการทางเคมีแล้ว จะมีโครงสร้างโมเลกุลที่เล็กลงกว่าน้ำมันพืช มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซลและมีความเสถียรมากกว่าน้ำมันพืชซึ่งทำให้เกิดการเผาไหม้ได้อย่างสมบรูณ์ ไม่ก่อให้เกิดการอุดตันและเกิดเขม่าในห้องเผาไหม้

2.1.1 วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตไบโอดีเซล

การผลิตไบโอดีเซลเป็นอุตสาหกรรมในโลก มีการใช้เมล็ดเรพเป็นวัตถุดิบในปริมาณสูงสุด มีส่วนแบ่งในการผลิตถึงร้อยละ 80 รองลงมาได้แก่ น้ำมันเมล็ดทานตะวันและน้ำมันถั่วเหลืองในส่วนแบ่งชนิดละร้อยละ 10 ในสหภาพยุโรปน้ำมันเมล็ดเรพนับว่าเป็นวัตถุดิบหลักที่ใช้ในการผลิตไบ โอดีเซล ไบโอดีเซลที่ผลิตได้เป็นที่รู้จักกันในชื่อเรพซีดเมทิลเอสเทอร์(Rapeseed Methyl Ester)หรืออาร์เอ็มอี รองลงมาได้แก่ น้ำมันเมล็ดทานตะวัน ซึ่งทำการผลิตในประเทศฝรั่งเศส ขณะที่สหรัฐอเมริกาใช้น้ำมันใช้แล้วและน้ำมันจากเมล็ดถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตไบโอดีเซล นอกจากน้ำมันทั้ง 3 ชนิดนี้แล้วยังมีการใช้ปาล์มและไขสัตว์เป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซลเป็นเชื้อเพลิงทดแทนด้วย นอกจากนั้นยังมีการใช้น้ำมันจากแหล่งต่างๆ คือ

1. ปาล์มน้ำมัน

น้ำมันเป็นส่วนที่ได้จากผลปาล์มซึ่งจะให้น้ำมันอยู่ 2 ชนิด คือ น้ำมันปาล์มที่สกัดจากส่วนเปลือกและน้ำมันเมล็ดในปาล์มที่สกัดจากเมล็ด น้ำมันทั้งสองมีคุณสมบัติทางเคมีที่แตกต่างกัน โดยน้ำมันปาล์มมีกรดไขมันที่มีคาร์บอน 16 ตัว เป็นองค์ประกอบหลัก ในขณะที่น้ำมันในเมล็ดปาล์มมีกรดไขมันที่มีคาร์บอน 12 ตัว การผลิตไบโอดีเซลสามารถใช้น้ำมันทุกส่วนที่ได้จากปาล์มน้ำมันมาเป็นวัตถุดิบ เช่น น้ำมันปาล์มดิบ น้ำมันปาล์มโอลีน ไซสเตียรีน กรดไขมันปาล์มกลั่น และน้ำมันเมล็ดในปาล์มแต่ที่นิยมใช้กันมากสุดคือ น้ำมันปาล์มดิบ

2. มะพร้าว

การผลิตน้ำมันมะพร้าวในเชิงอุตสาหกรรมเป็นการสกัดน้ำมันจากเนื้อมะพร้าวแห้ง โดยมีกรดไขมันลอริกที่มีคาร์บอน 12 ตัวเป็นองค์ประกอบหลัก โดยทั่วไปมีการใช้น้ำมันมะพร้าวในการบริโภคและอุตสาหกรรม

3. ถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองเป็นพืชน้ำมัน ประกอบด้วยโปรตีนและน้ำมัน น้ำมันถั่วเหลืองมีกรดไขมันลิเลอิก เป็นกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวที่มีคาร์บอน 18 ตัว จำนวนสองคู่เป็นองค์ประกอบหลัก การสกัดน้ำมันถั่วเหลืองทำได้โดยใช้เครื่องบีบอัดหรือสกัดด้วยตัวทำละลาย ในปัจจุบันการผลิตในระดับอุตสาหกรรมจะใช้วิธีสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพการสกัดสูงสุดและได้น้ำมันถั่วเหลืองดิบที่มีคุณภาพ

4. สบู่ดำ

เมล็ดสบู่ดำมีน้ำมันเป็นองค์ประกอบในปริมาณสูง ไม่นิยมนำมาบริโภคเพราะทำให้เกิดอาการท้องเดิน คลื่นไส้ อาเจียน น้ำมันสบู่ดำมีศักยภาพสูงในการนำมาเป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตพลังงานทดแทนโดยไม่ต้องเข้าไปแย่งพืชอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ ... ไม่ว่ากรณีใดๆ ... ห้ามมิให้ ... ใช้ ... เพื่อการค้า

5. น้ำมันพืชและสัตว์ที่ใช้แล้ว

เป็นแหล่งวัตถุดิบอีกแหล่งหนึ่งที่ใช้ในการผลิตไบโอดีเซล เนื่องจากน้ำมันที่ผ่านทอดซ้ำหลายครั้งจะมีการเกิดสารใหม่ขึ้น เป็นสารที่ทำให้เป็นอันตรายต่อสุขภาพ การนำมาใช้ในการผลิตไบโอดีเซลมีปัญหาในการรวบรวม และในเรื่องของคุณภาพน้ำมัน เนื่องจากอาจมีการปนเปื้อนจากกระบวนการทำอาหารจึงต้องควบคุมคุณภาพเพื่อให้ผลิตไบโอดีเซลที่มีคุณภาพตามมาตรฐานกำหนด

6. พืชน้ำมันชนิดอื่น

สาหร่าย บางสายพันธุ์มีองค์ประกอบของน้ำมันอยู่ในเซลล์สูง จึงสามารถเป็นแหล่งวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซลได้

2.1.2 เทคโนโลยีการผลิตไบโอดีเซล

แบ่งได้ 3 กระบวนการ ได้แก่

2.1.2.1 กระบวนการทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน (Transterification process) ที่ใช้เบสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาและเมทานอล ข้อดี คือเป็นเทคโนโลยีที่มีการลงทุนไม่สูงนัก เนื่องจากเป็นกระบวนการที่ใช้อุณหภูมิต่ำและความดันต่ำ ผลได้ของปฏิกิริยาสูง แต่ไม่เหมาะกับวัตถุดิบที่มีกรดไขมันอิสระสูง เนื่องจากจะเกิดสบู่และส่งผลให้ได้ผลได้ของกระบวนการผลิตลดลง

2.1.2.2 กระบวนการเอสเทอริฟิเคชัน (esterification process) ที่ใช้กรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาและเมทานอล จะสามารถใช้ได้กับวัตถุดิบทุกชนิดและค่ากรดไขมันอิสระทุกระดับ แต่ข้อด้อย คือ ใช้เวลาในการทำปฏิกิริยานานและใช้อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาสูงกว่าการใช้เบสเป็นสารเร่งปฏิกิริยาจึงทำให้ต้นทุนต่อหน่วยสูงกว่า

2.1.2.3 กระบวนการสองขั้นตอน (Two-stage process) ขั้นตอนที่ 1 เป็นปฏิกิริยาเอส-เทอริฟิเคชันและขั้นตอนที่ 2 เป็นปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน เป็นการแก้ปัญหาของจุดด้อยของ 2 กระบวนการข้างต้น ใช้กรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เปลี่ยนกรดไขมันอิสระที่มีน้ำมันเป็นสารเอสเทอร์ก่อน จากนั้นจึงใช้เบสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา หากใช้วัตถุดิบที่มีค่ากรดสูงมากๆจะใช้เวลาในขั้นตอนแรกมาก ส่งผลให้ต้นทุนการผลิตต่อหน่วยของไบโอดีเซลสูงขึ้นตามไปด้วย

ปัจจุบันมีการนำเอาระบบเอนไซม์มาใช้ในการผลิตไบโอดีเซล ที่ใช้เอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

2.1.3 คุณสมบัติของน้ำมันพืช น้ำมันดีเซลและไบโอดีเซล

2.1.3.1 การเปรียบเทียบคุณสมบัติของน้ำมันพืชและน้ำมันดีเซลในการใช้เป็นเชื้อเพลิงในเครื่องยนต์ดีเซล

พืชน้ำมันเป็นแหล่งวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซล ถั่วเหลือง ถั่วลิสง งาและทานตะวันเป็นพืชน้ำมันที่ให้น้ำมันในส่วนที่เป็นเมล็ด ส่วนปาล์มน้ำมันและมะพร้าวจะให้น้ำมันในส่วนที่เป็นผล ซึ่งปริมาณน้ำมันที่เป็นองค์ประกอบจะแตกต่างกันไปตามชนิดของพืชน้ำมันนั้นๆ กล่าวคือ ถั่วเหลืองมีปริมาณน้ำมันเป็นองค์ประกอบร้อยละ 20 ส่วนทานตะวันมีปริมาณน้ำมันอยู่ร้อยละ 40 เป็นต้น

น้ำมันดีเซลเป็นน้ำมันที่กลั่นระเหยได้จากน้ำมันปิโตรเลียม โดยกำหนดปริมาณการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ แสวงหาประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลั่นได้ร้อยละ 90 ให้มีอุณหภูมิไม่สูงกว่า 357 องศาเซลเซียส น้ำมันดีเซลมีเฉพาะธาตุคาร์บอนและไฮโดรเจนเป็นองค์ประกอบในโครงสร้างโมเลกุล ไม่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ ขณะที่น้ำมันพืชมีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบถึงร้อยละ 10 – 12 และมีพันธะคู่ในโครงสร้างโมเลกุล น้ำมันพืชและน้ำมันสัตว์เป็นสารประกอบไตรกลีเซอไรด์มีจำนวนคาร์บอนตั้งแต่ 10 – 30 ตัว มีโครงสร้างเป็น C_3H_5 เชื่อมต่อกับกรดไขมัน จากการที่มีกรดไขมันอยู่ในโครงสร้างของไตรกลีเซอไรด์ถึงร้อยละ 94 – 96 ของน้ำหนักโมเลกุล ทำให้คุณสมบัติของน้ำมันแต่ละชนิดทั้งทางเคมีและกายภาพของน้ำมันพืชนั้นๆ มีคุณสมบัติเป็นไปตามกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบอยู่ ส่วนใหญ่แล้วน้ำมันพืชมีองค์ประกอบของกรดไขมันประกอบด้วยธาตุคาร์บอนระหว่าง 12 – 18 ตัว โดยมีกรดไขมันทั้งประเภทอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวในปริมาณที่แตกต่างกัน

เนื่องจากน้ำมันดีเซลและน้ำมันพืชมีโครงสร้างโมเลกุลที่แตกต่างกัน ทำให้น้ำมันทั้ง 2 ประเภทมีคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีที่แตกต่างกันอย่างมาก กล่าวคือ น้ำมันพืชที่ความหนืดสูงกว่าน้ำมันดีเซล 6 – 7 เท่า การระเหยเป็นไอได้น้อยกว่าน้ำมันดีเซลรวมถึงคุณสมบัติที่น้ำมันพืชรวมตัวเป็นก้อนที่อุณหภูมิสูงหรือที่เรียกว่า เกิดปฏิกิริยาพอลิเมอไรซ์ซึ่งน้ำมันดีเซลไม่มีคุณสมบัติดังกล่าว

จากการที่น้ำมันพืชมีพันธะคู่ในโครงสร้างโมเลกุลทำให้น้ำมันพืชไม่อิ่มตัว ไม่เสถียร ไม่สามารถเก็บรักษาไว้ได้นาน ค่าไอโอดีนของน้ำมันพืชจะเป็นดัชนีบอกถึงปริมาณพันธะคู่ที่มีอยู่ในโครงสร้างของน้ำมันพืชชนิดนั้นๆ ที่ชี้บอกว่าน้ำมันพืชชนิดนั้นๆ สามารถเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอไรซ์ได้มากหรือน้อย ซึ่งน้ำมันพืชที่มีค่าไอโอดีนสูงจะเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอไรซ์ได้มากและเร็วกว่าน้ำมันพืชที่มีค่าไอโอดีนต่ำกว่า

น้ำมันพืชสามารถแบ่งชนิดตามค่าไอโอดีนได้เป็น 3 พวกใหญ่ๆ คือน้ำมันพืชที่มีค่าไอโอดีนระหว่าง 160 – 230 เป็นน้ำมันที่เกิดปฏิกิริยาพอลิเมอไรซ์ได้มากหรือเรียกว่า เป็นน้ำมันซักแห้ง เช่น น้ำมันลินซีด น้ำมันมะกอก เป็นต้น น้ำมันพืชที่มีค่าไอโอดีนระหว่าง 125 – 150 เป็นน้ำมันกึ่งซักแห้ง เช่น น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันเมล็ดยางพารา น้ำมันพืชที่มีค่าไอโอดีนต่ำกว่า 120 เป็นน้ำมันไม่ซักแห้ง เช่น น้ำมันมะพร้าว น้ำมันเมล็ดในปาล์ม น้ำมันสบู่ดำและน้ำมันปาล์ม

น้ำมันพืชมีความหนืดสูงกว่าน้ำมันดีเซลทำให้ฉีดน้ำมันได้เป็นฝอยได้ยาก เกิดเป็นอุปสรรคต่อการป้อนน้ำมันเชื้อเพลิงและเกิดการสันดาปไม่สมบูรณ์ นอกจากนั้นแล้วจากการที่ระเหยเป็นไอได้น้อยกว่าน้ำมันดีเซลมาก ทำให้เกิดการจุดระเบิดได้ยาก เครื่องยนต์ติดยากและหลงเหลือคราบเขม่าเกาะที่หัวฉีด แหวนและวาล์ว ซึ่งคุณสมบัติที่แตกต่างกันนี้ทำให้ไม่สามารถใช้น้ำมันพืชเป็นเชื้อเพลิงทดแทนน้ำมันดีเซลได้โดยตรงกับเครื่องยนต์ดีเซลที่ไม่มีการดัดแปลงส่วนของเครื่องยนต์

อย่างไรก็ตามจากการที่น้ำมันพืชมีค่าความร้อนสูงที่สามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงได้ จึงได้มีความพยายามนำน้ำมันพืชมาใช้เป็นเชื้อเพลิงโดยตรงในเครื่องยนต์ดีเซล โดยทำการดัดแปลงเครื่องยนต์ให้เหมาะสมกับคุณสมบัติของน้ำมันพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น

2.1.3.2 การเปรียบเทียบคุณสมบัติของน้ำมันดีเซลและไบโอดีเซลในการใช้เป็นเชื้อเพลิง ในเครื่องยนต์ดีเซล

ไบโอดีเซลเป็นผลผลิตที่ได้จากน้ำมันพืชที่ผ่านกระบวนการทางเคมี ให้มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซล อย่างไรก็ตามเนื่องจากน้ำมันดีเซลและไบโอดีเซลมีองค์ประกอบและมีโครงสร้างที่แตกต่างกัน ทำให้ไบโอดีเซลยังคงมีคุณสมบัติที่แตกต่างจากน้ำมันดีเซล ซึ่งบางคุณสมบัติเป็นข้อได้เปรียบและบางคุณสมบัติเป็นข้อเสียเปรียบ เมื่อนำไบโอดีเซลมาใช้เป็นเชื้อเพลิงเปรียบเทียบกับน้ำมันดีเซล เช่น ไบโอดีเซลมีจุดวาบไฟสูงกว่าน้ำมันดีเซล ทำให้มีความปลอดภัยในการขนส่งมากกว่า เป็นต้น โดยทั่วไปแล้วสามารถเปรียบเทียบคุณสมบัติของไบโอดีเซลกับน้ำมันดีเซลได้ดังนี้

ไบโอดีเซลเป็นเชื้อเพลิงสะอาด ไม่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ ทำให้ไอเสียที่ปล่อยออกจากเครื่องยนต์ไม่ก่อให้เกิดภาวะฝนกรด เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันดีเซลที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ เมื่อถูกเผาไหม้แล้วกำมะถันในน้ำมันดีเซลจะเปลี่ยนรูปเป็นซัลเฟอร์ไดออกไซด์และกรดซัลฟิวริกหรือกรดกำมะถันตามลำดับ เกิดเป็นมลพิษทางอากาศ เมื่อฝนตกจะชะล้างมลพิษเหล่านี้เกิดเป็นฝนกรดได้

น้ำมันดีเซลไม่มีออกซิเจนอยู่ในโครงสร้างของโมเลกุลและมีองค์ประกอบของสารประกอบอะโรมาติก (Aromatic compound) ถึงร้อยละ 20 – 40 ขณะที่ไบโอดีเซลไม่มีสารประกอบอะโรมาติก แต่มีออกซิเจนอยู่ในโครงสร้างโมเลกุลถึงร้อยละ 10 – 20 ทำให้เมื่อใช้ไบโอดีเซลเป็นเชื้อเพลิง ไอเสียที่เกิดขึ้นมีปริมาณฝุ่นละอองขนาดเล็กและมีควันดำต่ำกว่าการใช้น้ำมันดีเซล

ไบโอดีเซลมีจุดวาบไฟสูงกว่าน้ำมันดีเซล จึงมีค่าการจุดระเบิดในเครื่องยนต์ช้ากว่า ไบโอดีเซลมีคุณสมบัติในการหล่อลื่นเครื่องยนต์ดีกว่าน้ำมันดีเซล ทำให้ช่วยลดการสึกหรอของเครื่องยนต์ได้ดี

น้ำมันดีเซลไม่มีพันธะคู่ในโครงสร้างโมเลกุล ขณะที่ไบโอดีเซลมีพันธะคู่ในน้ำมันพืชซึ่งมีปริมาณที่แตกต่างกันตามชนิดของน้ำมันพืช ทำให้ไบโอดีเซล ไม่เสถียร เกิดออกซิเดชันได้เร็วกว่าน้ำมันดีเซลและมีระยะการเก็บรักษาหลังการผลิตสั้นกว่าน้ำมันดีเซล

ไบโอดีเซลที่ผลิตจากน้ำมันพืชต่างชนิดกันจะมีคุณสมบัติแตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจากน้ำมันพืชเป็นสารประกอบไตรกลีเซอไรด์ที่มีกรดไขมันอยู่ในโครงสร้างของไตรกลีเซอไรด์ถึงร้อยละ 94 – 96 ของน้ำหนักโมเลกุล ทำให้คุณสมบัติของน้ำมันมีคุณสมบัติทั้งทางเคมีและกายภาพ เป็นไปตามกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบอยู่ ดังนั้นเมื่อนำน้ำมันพืชชนิดนั้นๆ มาเป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซล ไบโอดีเซลที่ผลิตได้จะมีคุณสมบัติตามกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบนั้นๆ ด้วย

2.2 ปาล์มน้ำมัน

ปาล์มน้ำมันเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่ง ซึ่งเหมาะสมกับภาพอากาศร้อนชื้น จัดอยู่บริเวณใกล้เคียงกับเส้นศูนย์สูตร ดังนั้นปาล์มน้ำมันจึงเจริญเติบโตได้ดีในภาคใต้ของประเทศบริเวณพื้นที่ที่ปลูกมากที่สุด คือจังหวัดกระบี่ สุราษฎร์ธานี ชุมพร สตูลและตรัง โดยจังหวัดกระบี่ ปลูกมากที่สุดจำนวน 537,637 ไร่ คิดเป็นร้อยละ 39.40 และรองลงมาได้แก่จังหวัดสุราษฎร์ธานี 405,213 ไร่ และจังหวัดชุมพร 216798 ไร่ คิดเป็นร้อยละ 29.70 และ 15.89 ของพื้นที่ปลูกทั้งประเทศตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากผลตอบแทนการปลูกปาล์มน้ำมันดีกว่าการปลูกพืชชนิดอื่นเช่นยางพาราและการทำนาข้าว จึง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นแรงจูงใจให้เกษตรกรขยายพื้นที่ปลูกประกอบกับมีโครงการเปลี่ยนพื้นที่ปลูกปาล์มทั่วประเทศ คาดว่าปริมาณความต้องการน้ำมันปาล์มภายในเพิ่มขึ้นมากทั้งนี้เพราะราคาน้ำมันปาล์มในตลาดโลกมีแนวโน้มสูงขึ้น ทำให้ความแตกต่างของราคาภายในและภายนอกประเทศไม่จูงใจให้มีการลักลอบเข้ามาบริโภคทั้งหมดเพิ่มขึ้นสูงเช่นกัน โดยในปี 2539 ส่วนแบ่งของน้ำมันปาล์มต่อการบริโภครวมของโลก เท่ากับร้อยละ 15.42 เพิ่มขึ้นเป็น ร้อยละ 17.81, 22.00 และ 25.39 ในปี 2543, 2553 และ 2563 ตามลำดับ

2.2.1 องค์ประกอบของน้ำมันปาล์มดิบ

กลีเซอไรด์ประมาณร้อยละ 95 กรดไขมันประมาณร้อยละ 3 - 5 Minor & Trace component ประมาณร้อยละ1 ซึ่งประกอบไปด้วย phytonutrient ที่มีคุณค่าทางอาหารสูงและสารอื่น ๆ เช่น carotenoid, tocopherols, tocotrienols, sterols, triterpene alcohols, phospholipids, glycolipids, terpenic hydrocarbons, waxes และ สารเจือปน จากกระบวนการสกัดปาล์มน้ำมัน สามารถแบ่งน้ำมันปาล์มตามวัตถุดิบที่ใช้สกัดเป็น 2 ชนิด คือ น้ำมันปาล์มดิบ และน้ำมันเมล็ดในปาล์มดิบ ซึ่งมีองค์ประกอบกรดไขมันที่แตกต่างกัน โดยน้ำมันปาล์มดิบและน้ำมันเมล็ดในปาล์ม มีองค์ประกอบของกรดไขมันอิ่มตัว:กรดไขมันไม่อิ่มตัว ในสัดส่วนประมาณ 50:50 และ 82:18 ตามลำดับ

2.2.2 คุณสมบัติของน้ำมันปาล์ม

น้ำมันปาล์มเป็นน้ำมันที่มีคุณสมบัติเหมาะสมสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายอย่าง เนื่องจากความแตกต่างระหว่างองค์ประกอบของกรดไขมัน ลักษณะทางเคมีและกายภาพ และคุณสมบัติอื่น ๆ ดังนี้

1. มีความคงตัวต่อการเกิดออกซิเดชั่น
2. มีปริมาณไขมันแข็งตามธรรมชาติ
3. ราคาถูก หาได้ง่าย และมีการผลิตเพิ่มมากขึ้นในแต่ละปี
4. มีคุณค่าทางโภชนาการ

จากคุณสมบัติเหล่านี้ของน้ำมันปาล์ม จึงได้รับการยอมรับจากภาคอุตสาหกรรมในการนำไปใช้ผลิตผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ มากมายโครงสร้างอุตสาหกรรมปาล์มน้ำมัน ปัจจุบันการแปรรูปน้ำมันปาล์มส่วนใหญ่ยังคงเน้นที่การแปรรูปเป็นน้ำมันพืชสำหรับบริโภคประมาณร้อยละ 85 - 87 และระบบการผลิตน้ำมันพืชในประเทศไทยมีการผลิตน้ำมันพืชหลายชนิดด้วยกัน ต้นทุนการผลิตน้ำมันพืชดิบ 1 กิโลกรัมของประเทศไทย พบว่า การผลิตน้ำมัน ปาล์มดิบมีต้นทุนต่ำสุด และการผลิตน้ำมันงามีต้นทุนสูงสุด และจากการสำรวจของกรมการค้าภายใน เกี่ยวกับผลผลิตน้ำมันพืชบริสุทธิ์ พบว่าในปี พ.ศ. 2550 น้ำมันปาล์มบริสุทธิ์มีส่วนแบ่งในตลาดสูงถึง ร้อยละ 66

2.2.3 ประโยชน์ของน้ำมันปาล์ม

น้ำมันปาล์มสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย และแบ่งกลุ่มการนำไปใช้ประโยชน์ได้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3.1 อุตสาหกรรมด้านอาหาร น้ำมันปาล์มและน้ำมันเมล็ดในปาล์ม ประมาณร้อย

ละ 80 นำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารหลายประเภท เช่น น้ำมันทอด น้ำมันปรุงอาหาร มาการีน วานาสปาติ ไอศครีม ครีมเทียม นมเทียม เนยขาว เนยโกโก้ ขนมเค้ก ขนมปัง ฯลฯ รวมถึงผลิตภัณฑ์อาหารเสริมเพื่อสุขภาพ เช่น วิตามินอี วิตามินเอ

2.2.3.2 อุตสาหกรรมโอลิโอเคมิคอล น้ำมันปาล์มและน้ำมันเมล็ดในปาล์ม ประมาณร้อยละ 20 นำไปใช้ประโยชน์ในการผลิตสินค้าอุปโภคโดยผ่านกระบวนการทางเคมี ดังนี้ การผลิตกรดไขมันประเภทต่างๆ ทั้งกรดไขมันอิ่มตัวและกรดไขมันไม่อิ่มตัว เพื่อนำไปใช้ในอุตสาหกรรมหลายประเภท เช่น กรดลอริก ใช้ทำเป็นเรซินในอุตสาหกรรมสี กรดปาล์มมิติก ใช้ในการเลี้ยงเชื้อราเพื่อสกัดเป็นยาปฏิชีวะนะ ผสมกับกรดสเตียติดเพื่อทำเทียนไข กรดโอเลอิก ใช้ในอุสาหกรรมสิ่งทอ กรดสเตียริก ใช้ในการผลิตเครื่องสำอางค์ สบู่เด็ก ผสมกับกรดปาล์มมิติกเพื่อทำเทียนไข กรดลิโนเลอิก ใช้เป็นยาฉีดสำหรับลดไขมันในเส้นเลือด การผลิตเมทิลเอสเทอร์เป็นสารที่ได้จากการทำปฏิกิริยาเคมี ระหว่างน้ำมันปาล์มและเมทิลแอลกอฮอล์ โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ หรือโซดาไฟเป็นสารเร่งปฏิกิริยาและมีผลพลอยได้ที่สำคัญและมีมูลค่าสูงคือ กลีเซอรอล เมทิลเอสเทอร์ สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลายทั้งในด้านพลังงาน (ไบโอดีเซล) หรือใช้เป็นสารสำหรับผลิตอนุพันธ์ของกรดไขมันประเภทต่างๆ Fatty Alcohol ใช้ประโยชน์ในการผลิต Sodium Alkyl Sulphates และ Surfactant ที่ใช้ผลิตผงซักฟอก Fatty Acid Amides มีคุณสมบัติช่วยกันน้ำ นิยมใช้ในอุตสาหกรรมสิ่งทอ การผลิตกระดาษ ไม้อัด โลหะ ยางฯ และ Fatty Amines ที่มีความสำคัญนิยมใช้ในอุตสาหกรรมสิ่งทอ การผลิตพลาสติก น้ำมันหล่อลื่น สารควบคุมเชื้อราและแบคทีเรีย

2.3 กลีเซอรอล

กลีเซอรอลหรือกลีเซอรีน มีจุดหลอมเหลว 17.8 องศาเซลเซียสและจุดเดือด 290 องศาเซลเซียส สามารถติดไฟได้ เป็นสารประเภท trihydric alcohol เนื่องจากสูตรโครงสร้างมีหมู่ไฮดรอกซิลละลายได้ดีในน้ำ แอลกอฮอล์และละลายได้บ้างในตัวทำละลายอื่นๆ ยกเว้นสารจำพวก ไฮโดรคาร์บอน กลีเซอรอลมีลักษณะใส ไม่มีสี ไม่มีพิษ หนืด ค่อนข้างคงตัวต่อการเกิดออกซิเดชัน ทำให้สามารถเก็บรักษาได้โดยไม่มีกลิ่น รส สี ได้นาน กลีเซอรอลที่จะนำไปจำหน่ายต้องผ่านการทำให้เป็นกลาง ซึ่งในการผลิตดีเซลชีวภาพโดยใช้เบสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา กลีเซอรอลที่ได้สามารถ ทำให้เป็นกลางโดยใช้กรดไฮโดรคลอริก กรดฟอสฟอริก หรือ โซเดียมคลอไรด์สำหรับสีของกลีเซอรอลสามารถขจัดออกได้โดยการกรองผ่านถ่าน (Ma และคณะ, 1999)

กลีเซอรอลสามารถทำปฏิกิริยาเคมีและให้สารอนุพันธ์หลายชนิด จึงมักนิยมนำไปใช้ในอุตสาหกรรมหลายประเภท เมื่อทำให้เย็นจะมีอุณหภูมิต่ำกว่าจุดหลอมเหลวแต่ไม่แข็งตัว กลีเซอรอลสามารถละลายได้ดีทั้งในน้ำและแอลกอฮอล์จึงมีคุณสมบัติเป็นตัวทำละลายที่ดีสำหรับองค์ประกอบในอุตสาหกรรมต่างๆและเนื่องจากเป็นสารมีความหนืดสูงจึงมักใช้เป็น thickening agent หรือ bodying agent หรือสารเพิ่ม body สำหรับผลิตภัณฑ์ที่เป็นของเหลวและผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นเจล กลีเซอรอลจะมีรสหวานเล็กน้อย ไม่มีกลิ่นรุนแรง สามารถใช้เป็นสารให้ความหวานแทนน้ำตาลได้ กลีเซอรอลส่วนใหญ่ที่ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่มจะเป็นตัวทำละลายและเป็นสารดูดความชื้น โมโน

เอกสารนี้เป็น ... ไม่อนุญาตให้ ... ใช้

กลีเซอไรด์ที่ได้จากกลีเซอรอลนำไปใช้เป็นสารอิมัลชันและสารเพิ่มความคงตัวในผลิตภัณฑ์ประเภทมาการีน น้ำสลัดและลูกกวาด ในผลิตภัณฑ์ยาสูบ บุหรี่จะใช้กลีเซอรอลเพื่อรักษาความชื้นให้กับใบยาสูบและใช้เป็นส่วนผสมในไส้กรอง ในอุตสาหกรรมยาใช้กลีเซอรอลเป็นสารให้ความหวานและเป็นสารให้ความนุ่ม ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางค์ใช้เป็นสารอิมัลชัน (เฉลิมพร, 2549)

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบกรดไขมันของน้ำมันปาล์มดิบและน้ำมันเมล็ดในปาล์ม

กรดไขมัน	น้ำมันปาล์มดิบ (Crude Palm Oil)	น้ำมันเมล็ดในปาล์ม (Palm Kernel Oil)
กรดไขมันอิ่มตัว	50 %	82 %
C 6:0 (caproic acid)	-	0.1 - 0.5
C 8:0 (caprylic acid)	-	3.4 - 5.9
C10:0 (capric acid)	-	3.3 - 4.4
C12:0 (lauric aid)	0.1 - 0.4	46.3 - 51.1
C14:0 (myristic acid)	1.0 - 1.4	14.3 - 16.8
C16:0 (palmitic acid)	40.9 - 47.5	6.5 - 8.9
C18:0 (stearic acid)	3.8 - 4.8	1.6 - 2.6
C20:0 (arachidic acid)	0 - 0.8	-
กรดไขมันไม่อิ่มตัว	50 %	18 %
C16:1 (palmitoleic acid)	0 - 0.6	-
C18:1 (oleic acid)	36.4 - 41.2	13.2 - 16.4
C18:2 (linoleic acid)	9.2 - 11.6	2.2 - 3.4
C18:3 (linolenic acid)	0 - 0.5	-
Others	-	tr – 0.9

ที่มา : ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี

2.4 ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน

ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันประกอบด้วยปฏิกิริยา 3 ขั้นตอน ขั้นตอนแรก น้ำมันพืช หรือไตรกลีเซอรอล(TG) ทำปฏิกิริยากับเมทานอล(ROH) เกิดเป็นเมทิลเอสเทอร์(ME) หรือไบโอดีเซลกับไดกลีเซอไรด์(DG) จากนั้นไดกลีเซอรอล(DG) ทำปฏิกิริยาต่อกับเมทานอลเกิดเป็นเมทิลเอสเทอร์กับโมโนกลีเซอไรด์ ในขั้นตอนสุดท้ายโมโนกลีเซอไรด์(MG) ปฏิกิริยาต่อกับเมทานอลเกิดเป็นเมทิลเอสเทอร์กับกลีเซอรอล ฉะนั้นในการผลิตไบโอดีเซล เมื่อทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันได้อย่างสมบูรณ์ จะสามารถควบคุมปริมาณไตรกลีเซอไรด์ ไดกลีเซอไรด์และโมโนกลีเซอไรด์ ไม่ให้หลงเหลือในไบโอดีเซลเกินที่มาตรฐานกำหนดได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$TG + ROH \Longrightarrow ME + DG$$

$$DG + ROH \Longrightarrow ME + MG$$

$$MG + ROH \Longrightarrow ME + GL$$

2.4.1 ตัวเร่งปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน

2.4.1.1 การใช้กรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

การทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันโดยใช้กรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาจะเกิดช้ากว่าเมื่อใช้เบสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาและต้องใช้อุณหภูมิที่สูงกว่า 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลามากกว่า 3 ชั่วโมงถึงจะเกิดปฏิกิริยาอย่างสมบรูณ์ (Schuchardt และคณะ, 1998) อย่างไรก็ตามถ้ากลีเซอไรด์มีส่วนประกอบของกรดไขมันอิสระและน้ำอยู่มาก การใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาที่เป็นกรดจะดีกว่ากรดที่ใช้ควรเป็นกรดซัลฟูริก กรดฟอสฟอริก หรือกรดซัลโฟนิกของสารอินทรีย์

2.4.1.2 การใช้เบสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

การเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันโดยใช้เบสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เบสที่ใช้กันประกอบด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ โซเดียมเมทอกไซด์ โซเดียมเอไมด์โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ เป็นต้น พบว่าโซเดียมเมทอกไซด์มีประสิทธิภาพมากกว่าโซเดียมไฮดรอกไซด์เพราะข้อสมมติฐานที่ว่ามีน้ำเกิดขึ้นเล็กน้อยระหว่างการผสมโซเดียมไฮดรอกไซด์กับเมทานอล แต่กลับนำเสนอผลที่ตรงกันข้าม คือในระหว่างการผสมโซเดียมไฮดรอกไซด์และโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ที่มีราคาถูกจะมีน้ำเกิดขึ้นจำนวนมาก ซึ่งจะเกิดการกัดกร่อนน้อยกว่ากรดและนิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในระดับอุตสาหกรรม การใช้เบสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการผลิตไบโอดีเซล ก่อให้เกิดผลกระทบหลายประการ เช่น เป็นปฏิกิริยาที่รุนแรงแยกกลีเซอรอลและเกลือของเบสออกได้ยาก

2.4.1.3 การใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

การนำไฮโดรไลติกส์เอนไซม์มาประยุกต์ใช้อย่างกว้างขวางในการสังเคราะห์ สารอินทรีย์แต่ในกระบวนการทรานส์เอสเทอริฟิเคชันยังใช้เอนไซม์กันไม่แพร่หลาย ปัจจัยที่ศึกษาโดยทั่วไป เช่น ตัวทำละลาย อุณหภูมิและชนิดของเอนไซม์ ปัจจัยเหล่านี้ต้องศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม แต่อย่างไรก็ตามเวลาที่ใช้ทำปฏิกิริยาและปริมาณผลผลิตที่ได้ยังด้อยกว่าการใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาชนิดเบส (Schuchardt และคณะ, 1998)

การใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการเกิดทรานส์เอสเทอริฟิเคชันยังไม่เป็นที่นิยม โดยมีปัจจัยที่ศึกษากันโดยทั่วไป เช่น ตัวทำละลาย อุณหภูมิและชนิดของเอนไซม์ ซึ่งต้องศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม แต่ข้อดีของการใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา คือเป็นปฏิกิริยาที่สามารถควบคุมได้ เกิดในสภาวะที่ไม่รุนแรง ไม่เหลือสารพิษในของเสียที่ได้จากในการปฏิกิริยา สามารถแยกกลีเซอรอลซึ่งเป็นส่วนของผลพลอยได้ออกได้ง่ายกว่าและถ้าใช้เอนไซม์ตรึงรูปทำปฏิกิริยาก็สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 ตัวแปรที่มีผลต่อปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน

2.4.2.1 ความชื้นและกรดไขมันอิสระ

สมบัติของสารตั้งต้นที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันที่มีเบสเป็นตัวเร่ง ปฏิกิริยาควรมีค่ากรดต่ำกว่า 1 และสารตั้งต้นไม่ควรมีน้ำเจือปน ถ้าค่ากรดมากกว่า 1 จะต้องใช้เบสมากขึ้น เพราะต้องใช้ในการทำปฏิกิริยาและสะเทินกรดไขมันอิสระ น้ำและเบสเป็นสาเหตุทำให้เกิดสบู่ สบู่ที่เกิดขึ้นทำให้น้ำมันมีความหนืดสูงขึ้น เกิดเป็นเจลและทำให้การแยกชั้นของกลีเซอรอลยากขึ้น (ธนาทิพย์, 2547)

2.4.2.2 ชนิดและร้อยละของตัวเร่งปฏิกิริยา

ตัวเร่งปฏิกิริยาสามารถใช้ได้ทั้งเบส กรดและเอนไซม์ ในการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันที่มีเบสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เบสที่ใช้โดยทั่วไป คือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ โซเดียมเมทอกไซด์ โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ โพแทสเซียมเมทอกไซด์ แต่ถ้าน้ำมันมีปริมาณกรดไขมันอิสระอยู่สูงควรใช้กรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ได้แก่ กรดไฮโดรคลอริก กรดซัลโฟนิกของสารอินทรีย์หรือ กรดซัลฟูริก กรดฟอสโฟริก ปริมาณโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ในช่วงร้อยละ 1 – 5 โดยน้ำหนัก ทำให้ร้อยละโดยน้ำหนัก ของผลิตภัณฑ์ที่ได้ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นแต่ไม่แตกต่างกันมาก อย่างไรก็ตามถ้าปริมาณโพแทสเซียมไฮดร อกไซด์มากกว่าร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก กลับทำให้ร้อยละโดยน้ำหนักของผลิตภัณฑ์ที่ได้มีแนวโน้มลดลง ทั้งนี้เนื่องจากการเพิ่มปริมาณเบสมากเกินไปจะทำให้เกิดอิมัลชัน จนกระทั่งก่อตัวเป็นเจลและเกิดปัญหาในการแยกชั้นกลีเซอรอลออกจากเอสเทอร์ ทำให้ปริมาณเอสเทอร์ลดลง

2.4.2.3 อัตราส่วนโดยมวลระหว่างเอทานอลกับน้ำมัน

อัตราส่วนโดยโมลระหว่างเอทานอลกับน้ำมันเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุด ผลของการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนโดยโมลระหว่างเอทานอลกับน้ำมัน จากการทำมวลสารสัมพันธ์ของปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน ต้องการแอลกอฮอล์ 3 โมลและไตรกลีเซอไรด์ 1 โมล เพื่อให้ได้เอสเทอร์ของกรดไขมัน 3 โมลกับกลีเซอรอล 1 โมล เพื่อให้ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันเข้าสู่สมดุล ต้องใช้แอลกอฮอล์มากเกินพอ เพื่อผลักดันให้เกิดปฏิกิริยาไปข้างหน้า ซึ่งการใช้อัตราส่วนโดยโมลสูงกว่า 3 โมลของแอลกอฮอล์ จะทำให้เกิดผลิตภัณฑ์มากขึ้น หากมีอัตราส่วนโดยโมลระหว่างเอทานอลกับน้ำมันสูงๆ จะมีผลต่อการแยกชั้น เนื่องจากปริมาณแอลกอฮอล์มากทำให้มีน้ำอยู่ในปฏิกิริยามากตามไปด้วย ไม่ว่าจะเป็นน้ำที่มีอยู่ในแอลกอฮอล์อยู่แล้วหรือน้ำที่เกิดจากการทำปฏิกิริยา ซึ่งน้ำจะทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกับไตรกลีเซอไรด์ กรดไขมันอิสระหรือผลิตภัณฑ์เอสเทอร์และเกิดปฏิกิริยาสปอนิฟิเคชันตามมา ทำให้ได้เกลือของกรดไขมันหรือสบู่ขึ้น ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์เอสเทอร์ลดลงและเกิดการแยกชั้นยากขึ้นด้วย (ธนาทิพย์, 2547)

2.4.2.4 อุณหภูมิ

สำหรับผลของการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ มักใช้อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาใกล้จุดเดือดของแอลกอฮอล์ที่ใช้ เอทานอลมีจุดเดือดอยู่ที่ 78 องศาเซลเซียส ที่ความดันบรรยากาศ ดังนั้นอุณหภูมิใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทำปฏิกิริยาไม่ควรเกินจุดเดือดของแอลกอฮอล์มากนัก ผลของการเปลี่ยนแปลงปรากฏว่าปฏิกิริยาดำเนินไปอย่างรวดเร็ว เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นปฏิกิริยาเข้าสู่สมดุลเร็วขึ้น

2.4.2.5 เวลา

อัตราการเปลี่ยนแปลงเป็นเอสเทอร์ในผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้นเมื่อเวลามากขึ้น

2.5 เอนไซม์ไลเปส

เอนไซม์ไลเปส (Triacylglycerol acylhydrolase, EC. 3.1.1.3) เป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่พันธะเอสเทอร์ (ester bond) ของไตรกลีเซอไรด์ซึ่งมีกรดไขมันสายยาวเป็นส่วนประกอบได้ผลผลิต คือ กรดไขมันอิสระ ไดกลีเซอไรด์ โมโนกลีเซอไรด์และกลีเซอรอล การเกิดปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นบริเวณผิวสัมผัสระหว่างชั้นของสับสเทรตกับชั้นน้ำ (oil – water interface) นอกจากนี้ไลเปสยังสามารถเร่งปฏิกิริยาย้อนกลับได้ โดยเร่งการสร้างพันธะเอสเทอร์ระหว่างกลีเซอรอลกับกรดไขมันอิสระ

2.5.1 แหล่งที่มาของเอนไซม์ไลเปส

เอนไซม์ไลเปสพบได้ทั้งในสัตว์ พืชและจุลชีพ ในสัตว์พบในน้ำนมและตับอ่อน ส่วนในพืชพบในเมล็ดที่กำลังงอก เช่น เมล็ดข้าวสาลี ข้าวโอ๊ต ข้าวไรย์ ฝ้าย ถั่วเหลืองและละหุ่ง เป็นต้น ไลเปสจากพืชและสัตว์มีความคงตัวต่ำกว่าจุลินทรีย์ ไลเปสจากจุลินทรีย์จะพบทั้งที่สร้างอยู่ในเซลล์และขับออกมานอกเซลล์ นอกจากนี้ยังมีข้อดี คือ เจริญเติบโตเร็ว เลี้ยงง่าย ไม่ต้องการพื้นที่มากในการเลี้ยง ไม่ขึ้นกับฤดูกาลและนอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มผลผลิตได้โดยวิธีการปรับปรุงพันธุกรรมของจุลินทรีย์

ในปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้เอนไซม์ไลเปสจากเชื้อจุลินทรีย์ในทางเทคโนโลยีชีวภาพ อย่างกว้างขวางเนื่องจากมีข้อดีหลายประการ เช่น เอนไซม์มีความคงตัวในตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent) เอนไซม์ไม่ต้องการโคแฟกเตอร์ (co - factors) เอนไซม์มีความจำเพาะต่อสารตั้งต้นน้อย (broad substrate specificity) ประยุกต์ใช้ประโยชน์มากมายในการสังเคราะห์สารอินทรีย์ (organic synthesis) ใช้เติมในผงซักฟอกเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการซักล้าง เพิ่มรสชาติในอาหาร ใช้ในอุตสาหกรรมกระดาษและในอนาคตอาจมีการนำมาใช้เพื่อการบำบัดน้ำเสีย ตลอดจนนำมาเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันในการผลิตไบโอดีเซล

2.5.2 การทำงานของไลเปส

ไลเปสสามารถเร่งปฏิกิริยาได้ 3 ชนิด คือ

1.ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) ปฏิกิริยานี้ต้องการน้ำในการทำปฏิกิริยา ผลิตภัณฑ์สุดท้ายของการย่อยสลายไตรกลีเซอไรด์จะได้กลีเซอรอลและกรดไขมัน

2.ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน (Esterification) เป็นปฏิกิริยาย้อนกลับของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส คือ การสร้างพันธะเอสเทอร์ระหว่างแอลกอฮอล์กับกรดไขมัน ปฏิกิริยานี้ต้องการน้ำน้อยๆและผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้เป็นสารประกอบเอสเทอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้นำไปดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน (Transesterification) เป็นปฏิกิริยาการสับเปลี่ยนหมู่จากสารชนิดหนึ่งไปยังสารอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นสารเคมีประเภทเดียวกัน เช่น การแลกเปลี่ยนกรดไขมัน

ระหว่างโมโนเอสเทอร์หรือโพลีเอสเทอร์ การแลกเปลี่ยนหมู่ของแอลกอฮอล์ในกรดไขมันเอสเทอร์ได้สูงในช่วง 10 นาทีแรก ต่อจากนั้นจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย (Dordick, 1989)

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Shinji และคณะ, 2007 ถังหมักแบบ packed bed ระบบนี้จะใช้เซลล์เชื้อราเป็นตัวเร่งทางชีวภาพ (biocatalyst) ซึ่งได้รับการพัฒนาสำหรับการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันพืชโดยปฏิกิริยาเมทาโนไลซิส (methanolysis) จะผลิตไลเปสจากการตรึงเซลล์ *Rhizopus oryzae* ภายในโฟม polyurethane ขนาด 6×6×3 มิลลิเมตร แล้วนำไปเลี้ยงแบบกะ (batch) ในถังหมัก air lift ขนาด 20 ลิตร ผสมน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำให้เป็นเนื้อเดียวกันจะทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสดีขึ้น ถ้าใช้อัตราการไหลสูงสำหรับการผสมเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาภายในถังหมักจะทำให้เซลล์ที่ตรึงอยู่ใน BSPs หลุดออกมาได้ ในขณะที่ใช้อัตราการไหลต่ำจะทำให้การผสมเพื่อให้เกิดปฏิกิริยานั้นไม่มีประสิทธิภาพ BSPs จะถูกปกคลุมด้วยชั้นที่ชอบน้ำ (hydrophilic) ที่มีเมทานอลความเข้มข้นสูง ส่งผลให้กิจกรรมของไลเปสลดลง ปริมาณเมทิลเอสเทอร์ (methyl ester) สูงถึงร้อยละ 90 ที่อัตราการไหล 25 ลิตรต่อชั่วโมง ในการเกิดปฏิกิริยารอบแรกและปริมาณเมททิลเอสเทอร์สูงถึงร้อยละ 80 หลังจากปฏิกิริยารอบที่สิบผ่านไป เมื่อเปรียบเทียบกับปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นใน shaken bottle ชี้ให้เห็นว่า ระบบ PBR ช่วยเพิ่มการเกิดปฏิกิริยาเมทาโนไลซิส ป้องกันเซลล์ที่ถูกตรึงจากอันตรายทางกายภาพและปริมาณเมทานอลส่วนเกิน กระบวนการที่นำเสนอนี้มีหวังที่จะนำไปใช้ในกระบวนการผลิตไบโอดีเซลในระดับอุตสาหกรรม

Qin และคณะ, 2008 ทำการเปรียบเทียบไลเปสทางการค้า 5 ตัว ตัวเซลล์ *Rhizopus chinensis* ที่ผลิตเอนไซม์ไลเปส มีความสามารถในการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาได้สูงที่สุด ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของน้ำมันถั่งเหลืองไปเป็นกรดไขมันของเมทิลเอสเทอร์ (ไบโอดีเซล) ในระบบที่ปราศจากตัวทำละลาย การศึกษาปฏิกิริยาประกอบด้วยตัวแปร คือปริมาณของเมทานอล ปริมาณน้ำ ปริมาณเอนไซม์ไลเปสและอุณหภูมิ ต่อปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันมากกว่าร้อยละ 80.0 ในระบบที่ปราศจากตัวทำละลายภายใต้สภาวะที่เหมาะสมและจากผลของตัวทำละลายอินทรีย์ที่แตกต่างกันต่อปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันได้พบว่าตัวทำละลายที่ดีที่สุดคือ เฮบเทน ที่มีค่า Log P สูง (4.0-4.5) ทำการทดสอบไล เปสตรึงรูปว่ามีประสิทธิภาพในการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาสำหรับการผลิตไบโอดีเซลจากกรดโอเลอิกและน้ำมันที่มีค่าความเป็นกรดสูงในระบบที่ปราศจากตัวทำละลาย

Li และคณะ, 2009 การตรึงเอนไซม์ไลเปสจาก *Penicillium expansum* สามารถผลิตได้เองโดยมีราคาถูก ได้แสดงให้เห็นว่าเป็นตัวเร่งที่มีประสิทธิภาพสำหรับการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันเหลือทิ้งที่มีความเป็นกรดสูงในตัวทำละลายอินทรีย์ พบว่าน้ำจากปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่น(esterification) ของกรดไขมันอิสระ และเมทานอลสามารถยับยั้งผลได้ของเมทิลเอสเทอร์(methyl ester)ได้สูง ตัวดูดซับมีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมความเข้มข้นของน้ำในปฏิกิริยาช่วยเพิ่มผลได้ของเมทิลเอสเตอร์ ซิลิกาเจลจะเป็นตัวดูดซับที่เหมาะสมที่สุด สามารถให้ผลได้ของเมทิลเอสเตอร์เท่ากับร้อยละ 92.8 หลังจากทำปฏิกิริยา 7 ชั่วโมง นอกจากนั้นการเตรียมเอนไซม์ในน้ำมันเหลือทิ้งมีความคงตัวสูงกว่าในน้ำมันข้าวโพดและร้อยละ 68.4 ของกิจกรรมเอนไซม์เดิมยังคงอยู่หลังจากนำมาใช้ใหม่ 10 ครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการใช้

Bussamara และคณะ, 2010 พบว่าจากการสังเกตการณ์เจริญเติบโตของยีสต์ตลอดระยะเวลาการหมักที่พีเอชคงที่ กิจกรรมสูงสุดของเอนไซม์ไลเปสเท่ากับ 1232 ยูนิตต่อลิตร ที่เวลาการหมัก 18 ชั่วโมง หลังจากนั้นค่ากิจกรรมของเอนไซม์จะลดลงอย่างเล็กน้อยจนกระทั่งคงที่ที่เวลา 22 ชั่วโมง กิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ 16 ถึง 18 ชั่วโมงเท่ากับ $4.8x10^{-2}$ ยูนิตของเอนไซม์ไลเปสต่อไมโครกรัมของโปรตีนทั้งหมด ซึ่งสัมพันธ์กับระยะการเจริญเติบโตช่วงกลางระยะเอ็กซ์โปเนนเชียล เหมือนกับจุลินทรีย์อื่นๆอีกหลายชนิด เช่น *C. rugosa* และ *Aspergillus terreus* (Gulati และคณะ, 2000) การผลิตไลเปสโดย *P.hubeiensis* สายพันธุ์ HB85A มีความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตซึ่งแตกต่างกับการผลิตไลเปสโดยแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* (Chartrain และคณะ, 1993) ซึ่งไม่สัมพันธ์กับการเจริญเติบโต เนื่องจากมีการสร้างเอนไซม์ไลเปสในที่ช่วงปลายระยะเอ็กซ์โปเนนเชียลเท่านั้นและมีค่าสูงสุดในช่วงปลายระยะคงที่ (stationary phase) และ *P. hubeiensis* สามารถผลิตค่ากิจกรรมของเอนไซม์ได้สูงที่สุดที่พีเอช 7 (60 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) และที่ พีเอช 8 เหลือค่ากิจกรรมของเอนไซม์ 2.3 ยูนิตต่อมิลลิลิตรและมีการรายงานว่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจะมีค่าสูงสุดที่ค่าความเป็นกรดด่างที่เป็นกลางหรือเป็นด่างเล็กน้อย (Aryee และคณะ, 2007;Segura และคณะ, 2006) แต่ยังมีเอนไซม์ไลเปสจาก *Kurtzmamomyces sp.* ที่ชอบความเป็นกรด ถ้าต้องการใช้เอนไซม์ไลเปสในสภาวะที่เป็นกรดสามารถใช้ *Kurtzmamomyces sp.* เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Kakugawa และคณะ, 2002)

Srimhan และคณะ, 2010 ที่พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อ *R. mucilagenosa* P11I89 ให้ผลผลิตกรดไขมันอิสระร้อยละ 98 หลังจากเติมเมทานอลที่อัตราส่วนของน้ำมันปาล์มต่อเมทานอล 1:3 โมล ที่เวลา 72 ชั่วโมง พบว่ากรดไขมันอิสระลดลงจากร้อยละ 98 เป็นร้อยละ 15 และให้ปริมาณเมทิลเอสเทอร์ร้อยละ 50 อัตราส่วนของน้ำมันปาล์มต่อเมทานอลที่ 1:6 ให้ปริมาณเมทิลเอสเอทร์สูงสุดถึงร้อยละ 83.29 โดยมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์เท่ากับ 3.6 ยูนิตต่อกรัม

Guan และคณะ, 2010 พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อ *Rhizomucor miehei* ที่อัตราส่วนของน้ำมันถั่วเหลืองต่อเมทานอล 1:9 โมล จะให้ปริมาณเมทิลเอสเทอร์เพียงร้อยละ 47.5 โดยมีค่ากิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ 157 ยูนิตต่อกรัมของน้ำมันถั่วเหลือง ซึ่งปริมาณแอลกอฮอล์ที่มากเกินอาจยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส ดังนั้นการลดลงของกิจกรรมเอนไซม์มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่น (Noureddini, 2005) เมื่อมีปริมาณเมทานอลเพิ่มมากขึ้นความเป็นพิษต่อเอนไซม์ยิ่งเพิ่มขึ้นตามไปด้วยจึงทำให้ความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ลดน้อยลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีดำเนินการ

3.1สารเคมี

1.เชื้อยีสต์

2. ยีสต์สกัด

3. มอลล์สกัด

4. เปปโตน

5. กลูโคส

6.โซเดียมคลอไรด์

7. แมกนีเซียมซัลเฟต

8.ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต

9. น้ำมันปาล์ม

10. เมทานอล

11. นอร์มัลเฮกเซน

12.ไดเอธิลอีเทอร์

13. กรดอะซิติก

3.2 อุปกรณ์

1. ฟลาสก์ขนาด 250, 500 มิลลิลิตร

2. เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ

3. ปิเปต

4. บีกเกอร์

5. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ

6. เครื่องชั่งสาร

7. เครื่องวัดพีเอช

8. ตู้เย็น

9. บิวเรตพร้อมขาตั้ง

10. ตู้เขี่ยเชื้อ

11. ตู้อบลมร้อน

12. กระดาษกรอง

13. เครื่องปั่นเหวี่ยง

14. กล้องจุลทรรศน์

15. ฮีมาไซโตรมิเตอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

16. เพลทซิลิกาเจล

17. โหลแก้วสี่เหลี่ยม

3.3 ขั้นตอนการดำเนินการ

1. การเลี้ยงยีสต์

เลี้ยงเชื้อยีสต์ในอาหารวุ้นเอียง YM ที่ประกอบด้วย ยีสต์สกัด 3 กรัม , มอลล์สกัด 3 กรัม , เปปโตน 5 กรัม, กลูโคส 10 กรัม และ วุ้น 17 กรัมต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (Yoshio Uery และคณะ, 1998)

2. นับจำนวนเซลล์

สารละลายของเซลล์ยีสต์ทำโดยนำน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตรใส่ลงในหลอดทดลองแล้วเขี่ยเชื้อยีสต์ลงไปในน้ำกลั่นโดยวิธีการปลอดเชื้อ ผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องวอร์เทค (Vortex) และนับจำนวนเซลล์ด้วยฮีมาไซโตมิเตอร์ให้ได้เซลล์ยีสต์ประมาณ 10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

3. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสของเซลล์ยีสต์

3.1 ผลของเวลาที่เหมาะสมในการเลี้ยงเซลล์ยีสต์

ใช้สารละลายของเซลล์ยีสต์ 2 มิลลิลิตร มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงในอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส 2.0 กรัมต่อลิตร เปปโตน 5 กรัมต่อลิตร แมกนีเซียมซัลเฟต 0.1 กรัมต่อลิตร ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 1.0 กรัมต่อลิตรและน้ำมันปาล์ม 20 กรัมต่อลิตรในน้ำกลั่น 1 ลิตร (Bussamara และคณะ, 2010) นำไปบ่มบนเครื่องเขย่า (shaker) ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างทุก 6 ชั่วโมงคือ 6, 12, 18, 24 และ 30 ชั่วโมง มา 10 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำส่วนใสไปวิเคราะห์หากิจกรรมของเอนไซม์ (Hoshiro และคณะ, 1992) และปริมาณกรดไขมันอิสระ (ดัดแปลงจาก Bussamara และคณะ, 2010)

3.2 ปริมาณเซลล์ยีสต์ที่เหมาะสมในการเกิดกรดไขมันอิสระ

ใช้สารละลายของเซลล์ยีสต์ร้อยละ 2, 4, 6 และ 8 เลี้ยงในข้างต้น นำไปบ่มบนเครื่องเขย่า (shaker) ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ตามเวลาที่เหมาะสมจากข้อ 3.1 เก็บตัวอย่างมา 10 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำส่วนใสไปวิเคราะห์หากิจกรรมของเอนไซม์ (Hoshino และคณะ, 1992) และปริมาณกรดไขมันอิสระ (ดัดแปลงจาก Bussamara และคณะ, 2010)

3.3 ผลของพีเอชที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดไขมันอิสระ

ปรับพีเอชของอาหารให้เท่ากับ 6.0, 7.0 และ 8.0 นำไปบ่มบนเครื่องเขย่า (shaker) ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ตามเวลาจากข้อ 3.1 เก็บตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำส่วนใส ไปวิเคราะห์หากิจกรรมของเอนไซม์(Hoshino และคณะ, 1992) และปริมาณกรดไขมันอิสระ (ดัดแปลง จาก Bussamara และคณะ, 2010)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

117173

4. การหาปริมาณเมทานอลที่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน

เติมสารละลายของเซลล์ยีสต์ที่ได้จากข้อ 3.2 ลงในอาหารข้างต้น นำไปบ่มบนเครื่องเขย่า (shaker) ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิจาก30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วเติมเมทานอลต่อน้ำมันปาล์มในอัตราส่วน 3:1, 4:1, 5:1 และ 6:1 โมล (ดัดแปลงจาก Srimhan และคณะ, 2011) เก็บตัวอย่างวันที่ 1, 2, 3 และ 4 ครั้งละ 10 มิลลิลิตร เพื่อไปวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันอิสระ

5. วิเคราะห์เชิงปริมาณของไบโอดีเซลที่ผลิตได้บนเพลทซิลิกาเจล (ณิชรัตน์, 2550)

น้ำมันหรือไขมันที่พบในพืชเป็นสารประกอบที่ไม่ละลายน้ำ ประกอบด้วยไตรกรีเซอไรด์ (Triglycerides) เป็นองค์ประกอบหลัก ประมาณร้อยละ 90-98 มีไดกลีเซอไรด์ (Diglycerides) และโมโนกลีเซอไรด์ (Monoglycerides) อยู่เพียงเล็กน้อย มีกรดไขมันอิสระร้อยละ 1-5 นอกจากนี้ยังประกอบด้วยฟอสโฟลิปิด (Phospholipids) ฟอสฟาไทด์ (Phosphatides) และน้ำอีกจำนวนเล็กน้อย การวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันด้วยวิธีทางโครมาโทกราฟี เป็นเทคนิคทางเคมีที่สำคัญช่วยจำแนกส่วนประกอบของสารตัวอย่าง โดยใช้หลักการคือ สารประกอบต่างชนิดที่มีอยู่ในน้ำมันมีความสามารถที่แตกต่างกันในการละลายในตัวทำละลายชนิดหนึ่งๆ

การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Thin Layer Chromatography (TLC) เป็นการวิเคราะห์เชิงคุณภาพเบื้องต้น เพื่อให้ทราบว่าเมทิลเอสเทอร์ที่ได้มีความบริสุทธิ์มากน้อยเพียงใด และมีน้ำมันปาล์มที่ไม่ได้ถูกทำปฏิกิริยาเหลืออยู่มากน้อยเท่าใด โดยใช้ซิลิกาเจลเคลือบอยู่บนกระจกเป็นเฟสอยู่กับที่ (Stationary Phase) และใช้นอร์มัลเฮกเซนผสมกับไดเอธิลอีเทอร์และกรดอะซิติก ในอัตราส่วน 80:20:1 โดยปริมาตร เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile Phase) เทเฟสเคลื่อนที่ใส่ในโหลแก้วสี่เหลี่ยมให้มีความสูงประมาณ 1 เซนติเมตร ปิดฝาแล้วทิ้งไว้ให้อิ่มตัวที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที หยดตัวอย่างน้ำมันปาล์ม กรดไขมัน ส่วนที่ไม่สามารถสปอนนิไฟด์ได้และเมทิลเอสเทอร์ ให้เป็นจุดเล็กๆ บนแผ่นกระจกที่เคลือบซิลิกาเจล แล้วจุ่มแผ่นซิลิกาในโหลแก้วที่มีเฟสเคลื่อนที่อยู่ ทิ้งไว้ให้อิ่มตัวและสารตัวอย่างมีการแยกจากกันตาม Retention Time จากนั้นเป่าแผ่นซิลิกาเจลให้แห้ง ส่องดูภายใต้รังสียูวีที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร

6. การวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ

นำผลการทดลองมาวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชั่น 11.5 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยตัวแปรที่ศึกษาโดยวิธี Ducans New Multiple Range Test (DMRT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ผลของเวลาที่เหมาะสมในการเลี้ยงเซลล์ยีสต์

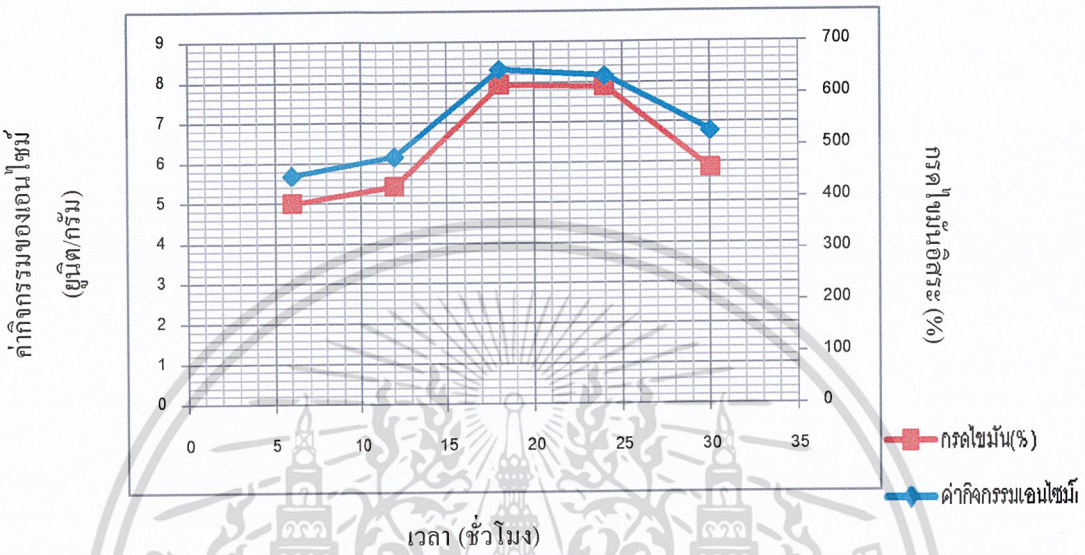
เมื่อเลี้ยงยีสต์ในอาหารข้างต้น ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างทุก 6 ชั่วโมง คือ 6, 12, 18, 24 และ 30 ชั่วโมง เพื่อหากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสและกรดไขมันอิสระ พบว่าที่เวลา 18 ชั่วโมงมีกิจกรรมของเอนไซม์และกรดไขมันอิสระมากที่สุดเท่ากับ 647.0165 ยูนิตต่อกรัมและร้อยละ 7.94 ตามลำดับและ 24 ชั่วโมงมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์และกรดไขมันอิสระเท่ากับ 635.0347 ยูนิตต่อกรัมและร้อยละ 7.89 ตามลำดับ แสดงดังรูปที่ 4.1 เมื่อนำไปวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรมเอสพีเอสเอส พบว่าไม่มีความแตกต่างทางนัยสำคัญ จึงเลือกเก็บตัวอย่างที่เวลา 24 ชั่วโมง เนื่องจากสะดวกต่อการปฏิบัติงานซึ่งสอดคล้องกับ Bussamara และคณะ, 2010 ที่พบว่าจากการสังเกตการณ์เจริญเติบโตของยีสต์ตลอดระยะเวลาการหมักที่พีเอชคงที่ กิจกรรมสูงสุดของเอนไซม์ไลเปสเท่ากับ 1232 ยูนิตต่อลิตร ที่เวลาการหมัก 18 ชั่วโมง หลังจากนั้นค่ากิจกรรมของเอนไซม์จะลดลงอย่างเล็กน้อยจนกระทั่งคงที่ที่เวลา 22 ชั่วโมง กิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ 16 ถึง 18 ชั่วโมงเท่ากับ 4.8×10^{-2} ยูนิตของเอนไซม์ไลเปสต่อไมโครกรัมของโปรตีนทั้งหมด ซึ่งสัมพันธ์กับระยะการเจริญเติบโตช่วงกลางระยะเอ็กซ์โปเนนเชียล เหมือนกับจุลินทรีย์อื่นๆอีกหลายชนิด เช่น *C. rugosa* และ *Aspergillus terreus* (Gulati และคณะ, 2000) การผลิตไลเปสโดย *Pseudozyma hubeiensis* สายพันธุ์ HB85A มีความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตแตกต่างกับการผลิตไลเปสโดยแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* (Chartrain และคณะ, 1993) ซึ่งไม่สัมพันธ์กับการเจริญเติบโต เนื่องจากมีการสร้างเอนไซม์ไลเปสในที่ช่วงปลายระยะเอ็กซ์โปเนนเชียลเท่านั้นและมีค่าสูงสุดในช่วงปลายระยะคงที่ (stationary phase)

4.2 ปริมาณเซลล์ยีสต์ที่เหมาะสมในการเกิดกรดไขมันอิสระ

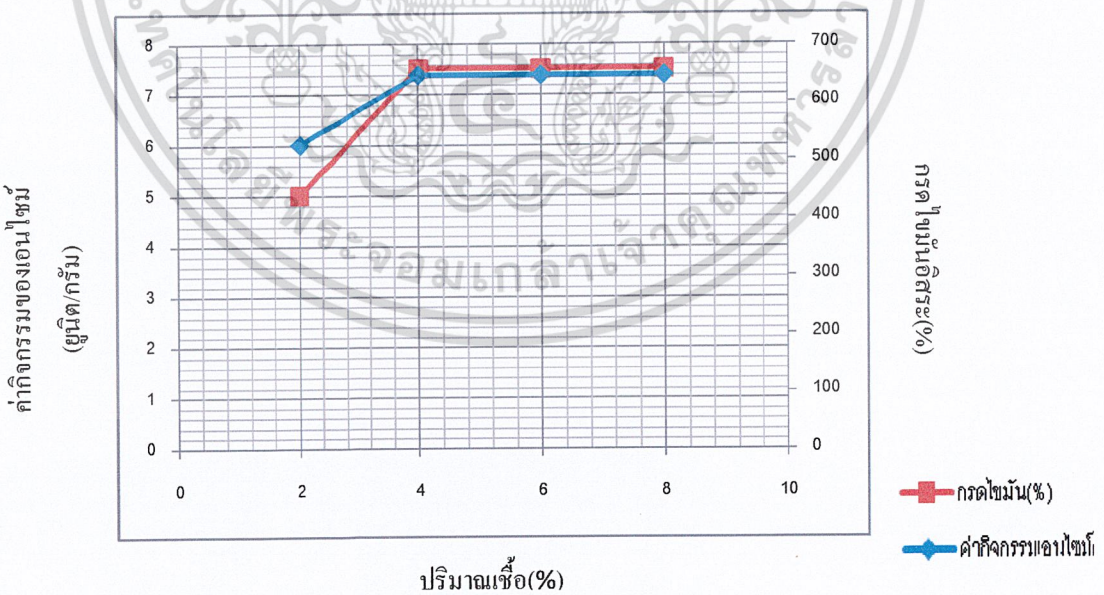
เมื่อเลี้ยงยีสต์ในอาหารข้างต้น ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยใช้ปริมาณเซลล์ร้อยละ 2, 4, 6 และ 8 พบว่าที่ปริมาณเชื้อร้อยละ 4, 6 และ 8 มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์และค่ากรดไขมันอิสระมากที่สุดเท่ากับ 647.0165 ยูนิตต่อกรัมและร้อยละ 7.52 ตามลำดับ แสดงดังรูปที่ 4.2 จึงเลือกเก็บตัวอย่างที่ร้อยละ 4 เนื่องจากความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์จึงใช้ปริมาณเซลล์ที่น้อยที่สุดแต่ให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์และปริมาณกรดไขมันอิสระมากที่สุด ซึ่ง Karatay และคณะ, 2010 พบว่า เมื่อเลี้ยง *Candida lipolytica* ปริมาณร้อยละ 2 สามารถผลิตน้ำมันได้ถึงร้อยละ 59.9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันอิสระพบปริมาณกรดไขมันอิสระร้อยละ 84.9 แต่ Zhu และคณะ, 2008 พบว่าเมื่อเลี้ยง *Trichosporon fermentans* ปริมาณร้อยละ 4 สามารถผลิตน้ำมันได้ถึงร้อยละ 57.5 9 เมื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันอิสระพบปริมาณกรดไขมันอิสระร้อยละ 64



รูปที่ 4.1 แสดงผลของเวลาในการเลี้ยงเซลล์ยีสต์ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสและปริมาณกรดไขมันอิสระที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่เวลา 6, 12, 18, 24 และ 30 ชั่วโมง

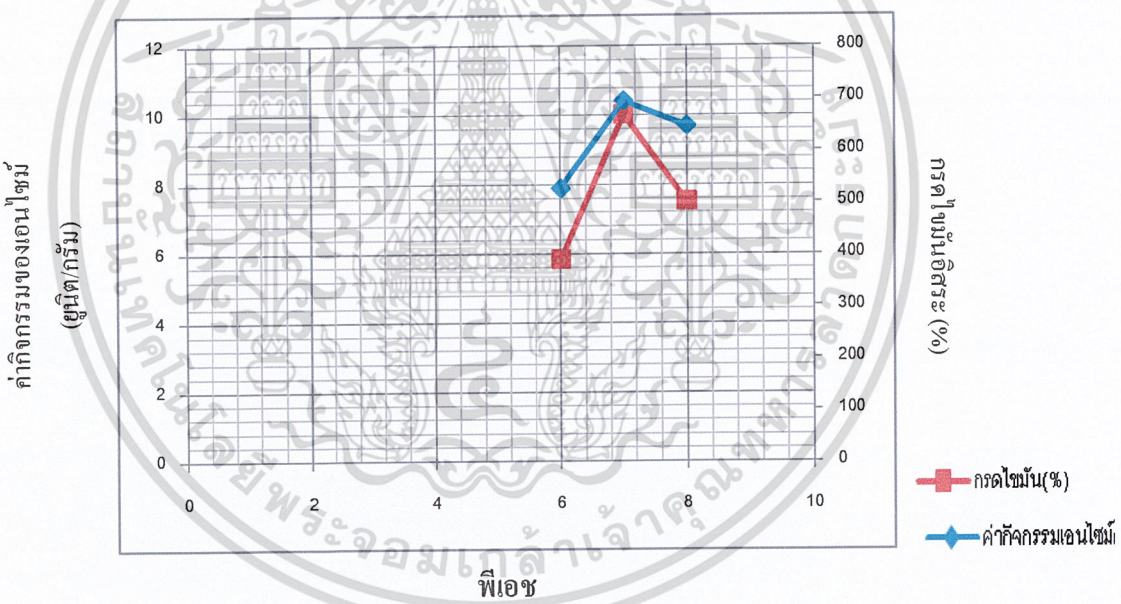


รูปที่ 4.2 แสดงผลของปริมาณเซลล์ยีสต์ในการเลี้ยงยีสต์ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสและปริมาณกรดไขมันอิสระที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยใช้ปริมาณเซลล์ร้อยละ 2, 4, 6 และ 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลของพีเอชที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดไขมันอิสระ

เลี้ยงยีสต์ในอาหารข้างต้นที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยปรับพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อให้ได้ 6 , 7 และ 8 พบว่าที่พีเอช 7 มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์และปริมาณกรดไขมันอิสระสูงที่สุดเท่ากับ 694.9436 ยูนิตต่อกรัมและร้อยละ 10.03 ตามลำดับ แสดงดังรูปที่ 4.3 และพบว่าที่พีเอชที่มีค่าความเป็นกรดหรือด่างมากเกินไปจะทำให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์และค่ากรดไขมันอิสระลดลง ซึ่งสอดคล้องกับ Bussamara และคณะ, 2010 ที่พบว่า *Pseudozyma hubeiensis* HB85A สามารถผลิตค่ากิจกรรมของเอนไซม์ได้สูงที่สุดที่พีเอช 7 (60 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) และที่ พีเอช 8 เหลือค่ากิจกรรมของเอนไซม์ 2.3 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และมีการรายงานว่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจะมีค่าสูงสุดที่ค่าความเป็นกรดด่างที่เป็นกลางหรือเป็นด่างเล็กน้อย (Aryee และคณะ, 2007; Segura และคณะ, 2006) แต่ยังมีเอนไซม์ไลเปสจาก *Kurtzmamomyces sp.* ที่ชอบความเป็นกรด ถ้าต้องการใช้เอนไซม์ไลเปสในสภาวะที่เป็นกรดสามารถใช้ *Kurtzmamomyces sp.* เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Kakugawa และคณะ, 2002)



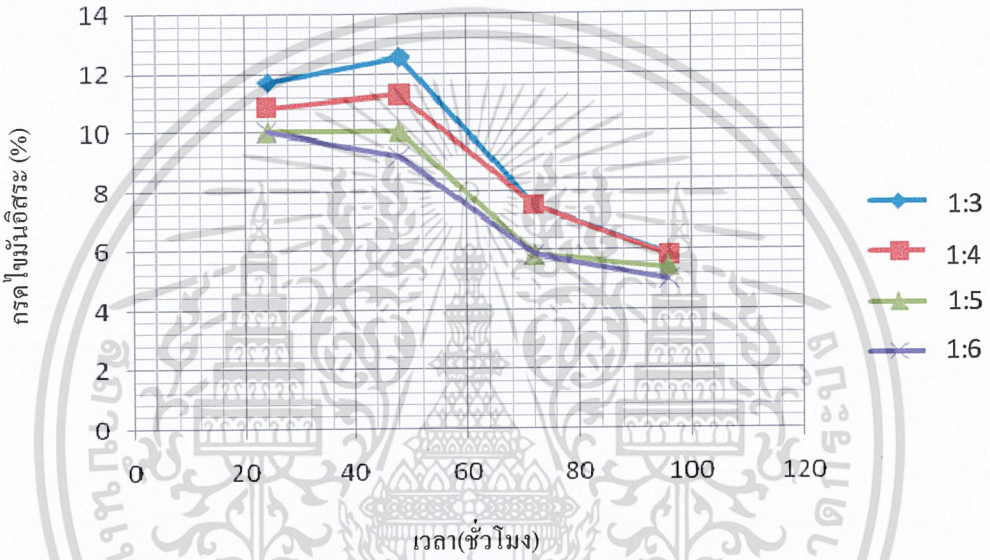
รูปที่ 4.3 แสดงผลของพีเอชในการเลี้ยงยีสต์ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสและปริมาณกรดไขมันอิสระที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่พีเอช 6, 7 และ 8

4.4 ปริมาณเมทานอลที่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่น

เมื่อเลี้ยงยีสต์เพื่อผลิตเอนไซม์ไลเปสที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงพบว่าให้กรดไขมันอิสระร้อยละ 10.03 จากนั้นทำการย่อยน้ำมันปาล์มที่อัตราส่วนของน้ำมันปาล์มต่อเมทานอล 1:3, 1:4, 1:5 และ 1:6 โมล ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง พบว่าอัตราส่วนน้ำมันต่อเมทานอลเท่ากับ 1:6 ให้ปริมาณกรดไขมันอิสระต่ำสุด โดยปริมาณกรดไขมันอิสระลดลงจากร้อยละ 10.03 เป็นร้อยละ 5.01 และมีค่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิจกรรมของเอนไซม์ที่ 24 ชั่วโมง(ก่อนเติมเมทานอล) เท่ากับ 694.9436 ยูนิตต่อกรัมแสดงดังรูปที่4.4 ซึ่งสอดคล้องกับ Srimhan และคณะ, 2010 ที่พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula mucilagenosa* P11I89 ให้ผลผลิตกรดไขมันอิสระร้อยละ 98 หลังจาก เติมเมทานอลที่อัตราส่วนของน้ำมันปาล์มต่อเมทานอล 1:3 โมล ที่เวลา 72 ชั่วโมง พบว่ากรดไขมัน อิสระลดลงจากร้อยละ 98 เป็นร้อยละ 15 และให้ปริมาณเมทิลเอสเทอร์ร้อยละ 50 อัตราส่วนของน้ำมัน ปาล์มต่อเมทานอลที่ 1:6 ให้ปริมาณเมทิลเอสเอทร์สูงสุดถึงร้อยละ 83.29 โดยมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์เท่ากับ 3.6 ยูนิตต่อกรัม



รูปที่ 4.4 แสดงผลของปริมาณเมทานอลต่อการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่นที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของน้ำมันปาล์มต่อเมทานอล 1:3, 1:4, 1:5 และ 1:6 โมล เป็นเวลา 96 ชั่วโมง

แต่อย่างไรก็ตามเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่นต้องการแอลกอฮอล์อย่างน้อยที่สุด 3 โมล เพื่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของน้ำมันเป็นเมทิลเอสเทอร์อย่างสมบูรณ์ การเพิ่มจำนวนโมลของเมทานอลทำให้ผลได้ของเมทิลเอสเทอร์เพิ่มขึ้นแต่ถ้าอัตราส่วนของน้ำมันต่อเมทานอลมากกว่า 1:7 จะไม่ทำให้ผลได้ของเมทิลเอสเทอร์เพิ่มขึ้น (Jegannathan และคณะ, 2010) ซึ่งสอดคล้องกับ Guan และคณะ, 2010 ที่พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อ *Rhizomucor miehei* ที่อัตราส่วนของน้ำมันถั่วเหลืองต่อเมทานอล 1:9 โมล จะให้ปริมาณเมทิลเอสเทอร์เพียงร้อยละ 47.5 โดยมีค่ากิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ 157 ยูนิตต่อกรัมของน้ำมันถั่วเหลือง ซึ่งปริมาณแอลกอฮอล์ที่มากเกินอาจยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสดังนั้นการลดลงของกิจกรรมเอนไซม์มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่น (Noureddini, 2005) เมื่อมีปริมาณเมทานอลเพิ่มมากขึ้นความเป็นพิษต่อเอนไซม์ยิ่งเพิ่มขึ้นตามไปด้วยจึงทำให้ความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ลดน้อยลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 ผลการวิเคราะห์เชิงปริมาณของไบโอดีเซลที่ผลิตได้บนเพลทซิลิกาเจล

จากการวิเคราะห์หาปริมาณเมทิลเอสเทอร์ด้วยวิธี TLC และนำไปส่องดูภายใต้รังสียูวีที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร พบว่าไม่ปรากฏแถบของสารเมทิลเอสเทอร์ (ดังรูปที่ 4.5) อาจเนื่องจาก

1. ปริมาณความชื้นหรือน้ำที่ใช้สามารถส่งผลต่อการผลิตไบโอดีเซลโดยปริมาณน้ำในน้ำมันจะส่งผลเสียต่อปฏิกิริยาและปริมาณแอลกอฮอล์ที่มากทำให้มีน้ำอยู่ในปฏิกิริยามากตามไปด้วย ไม่ว่าจะเป็นน้ำที่มีอยู่แล้วหรือน้ำที่เกิดจากการทำปฏิกิริยา ซึ่งน้ำจะทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสกับไตรกลีเซอไรด์ กรดไขมันอิสระ หรือผลิตภัณฑ์เอสเทอร์ และปฏิกิริยาสปอนนิฟิเคชันตามมาทำให้ได้เกลือของกรดไขมันหรือสบู่ขึ้น (ธนาทิพย์, 2547) ในระหว่างการทำปฏิกิริยาเมื่อใช้เบสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการเกิดสบู่นอกจากจะทำให้สิ้นเปลืองตัวเร่งปฏิกิริยาแล้วยังลดประสิทธิภาพของตัวเร่งปฏิกิริยาลงอีก ปริมาณความชื้นในน้ำมันเป็นตัวแปรสำคัญต่อปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ริฟิเคชันมากกว่ากรดไขมันอิสระ (Noureddini และคณะ, 2005)

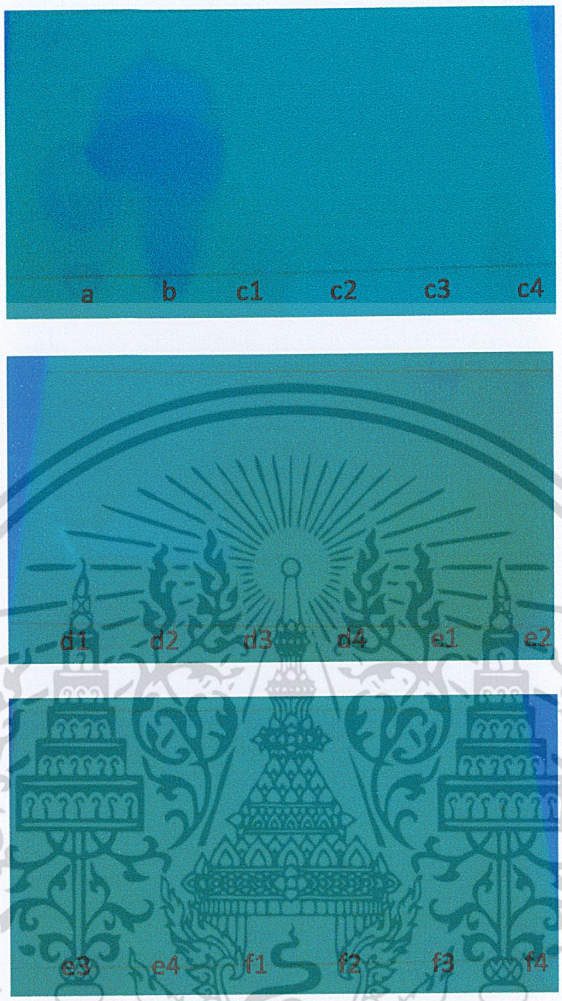
2. ปริมาณเมทานอลเป็นพิษต่อเซลล์เนื่องจากปริมาณแอกอฮอล์ที่มากเกินอาจจะยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ ดังนั้นการลดลงของกิจกรรมเอนไซม์มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ริฟิเคชันเมื่อปริมาณเมทานอลเพิ่มมากขึ้นความเป็นพิษต่อเอนไซม์ก็ยิ่งเพิ่มตามไปด้วยจึงทำให้ความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ลดน้อยลงสังเกตได้จากปริมาณกรดไขมันอิสระที่ลดลง (Noureddini, 2005)

เอนไซม์ไลเปสจะถูกยับยั้งจากปริมาณเมทานอลที่มากเกินไปซึ่งเป็นอุปสรรคสำคัญ จึงนำไปสู่การพัฒนาการเติมเมทานอลแบบลำดับขั้นเป็นการปรับสภาพของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการสร้างเอนไซม์ไลเปสเพื่อให้ทนทานต่อปริมาณเมทานอลที่เพิ่มมากขึ้น (Srimhan และคณะ, 2010)

3. การผลิตเอนไซม์ไลเปสของจุลินทรีย์ เชื้อยีสต์ที่นำมาใช้อาจจะผลิตเอนไซม์ไลเปสน้อยเกินไปจึงส่งผลให้กิจกรรมของเอนไซม์มีค่าต่ำ

4. ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันเป็นปฏิกิริยาการสับเปลี่ยนหมู่จากสารชนิดหนึ่งไปยังสารอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นสารเคมีประเภทเดียวกัน การแลกเปลี่ยนหมู่ของแอลกอฮอล์ในกรดไขมันเอสเทอร์ได้สูงในช่วง 10 นาทีแรก ต่อจากนั้นจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ซึ่งปฏิกิริยานี้ต้องการน้ำน้อยๆ ถ้ามีน้ำในปฏิกิริยามาก น้ำจะทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสกับไตรกลีเซอไรด์ กรดไขมันอิสระหรือผลิตภัณฑ์เอสเทอร์จึงส่งผลให้ปริมาณกรดไขมันอิสระลดลง (Dordick, 1989)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 แสดงผลการวิเคราะห์เชิงปริมาณของไบโอดีเซลที่ผลิตได้บนเพลทซิลิกาเจล ของการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่นที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของน้ำมันปาล์มต่อเมทานอล 1:3, 1:4, 1:5 และ 1:6 โมล เป็นเวลา 96 ชั่วโมง

หมายเหตุ : a หมายถึง น้ำมันปาล์ม

b หมายถึง เมทิลเอสเทอร์

c1 หมายถึง อัตราส่วนของน้ำมันปาล์มต่อเมทานอล 1:3 ที่ 24 ชั่วโมง

c2 หมายถึง อัตราส่วนของน้ำมันปาล์มต่อเมทานอล 1:3 ที่ 48 ชั่วโมง

c3 หมายถึง อัตราส่วนของน้ำมันปาล์มต่อเมทานอล 1:3 ที่ 72 ชั่วโมง

c4 หมายถึง อัตราส่วนของน้ำมันปาล์มต่อเมทานอล 1:3 ที่ 96 ชั่วโมง

d1 หมายถึง อัตราส่วนของน้ำมันปาล์มต่อเมทานอล 1:4 ที่ 24 ชั่วโมง

d2 หมายถึง อัตราส่วนของน้ำมันปาล์มต่อเมทานอล 1:4 ที่ 48 ชั่วโมง

d3 หมายถึง อัตราส่วนของน้ำมันปาล์มต่อเมทานอล 1:4 ที่ 72 ชั่วโมง

d4 หมายถึง อัตราส่วนของน้ำมันปาล์มต่อเมทานอล 1:4 ที่ 96 ชั่วโมง

e1 หมายถึง อัตราส่วนของน้ำมันปาล์มต่อเมทานอล 1:5 ที่ 24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

e2 หมายถึง อัตราส่วนของน้ำมันปาล์มต่อเมทานอล 1:5 ที่ 48 ชั่วโมง
e3 หมายถึง อัตราส่วนของน้ำมันปาล์มต่อเมทานอล 1:5 ที่ 72 ชั่วโมง
e4 หมายถึง อัตราส่วนของน้ำมันปาล์มต่อเมทานอล 1:5 ที่ 96 ชั่วโมง
f1 หมายถึง อัตราส่วนของน้ำมันปาล์มต่อเมทานอล 1:6 ที่ 24 ชั่วโมง
f2 หมายถึง อัตราส่วนของน้ำมันปาล์มต่อเมทานอล 1:6 ที่ 48 ชั่วโมง
f3 หมายถึง อัตราส่วนของน้ำมันปาล์มต่อเมทานอล 1:6 ที่ 72 ชั่วโมง
f4 หมายถึง อัตราส่วนของน้ำมันปาล์มต่อเมทานอล 1:6 ที่ 96 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการทดลองโดยการใช้เอนไซม์ไลเปสมาทดสอบการย่อยน้ำมันปาล์มในสภาวะที่เหมาะสม เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันระหว่างน้ำมันและเมทานอล พบว่า

1. เวลาที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชลล์ยีสต์ที่ให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์และปริมาณกรดไขมันอิสระมากที่สุด ที่เวลา 24 ชั่วโมงเท่ากับ 635.0347 ยูนิตต่อกรัม และร้อยละ 7.89 ตามลำดับ

2. ปริมาณเซลล์ยีสต์ที่เหมาะสมในการเกิดกรดไขมันอิสระให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์และปริมาณกรดไขมันอิสระมากที่สุดที่ร้อยละ 4 เท่ากับ 647.0165 ยูนิตต่อกรัม และร้อยละ 7.52 ตามลำดับ

3. ผลของค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดไขมันอิสระให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์และปริมาณกรดไขมันอิสระมากที่สุดที่พีเอช 7 เท่ากับ 694.9436 ยูนิตต่อกรัมและร้อยละ 10.03 ตามลำดับ

4. อัตราส่วนน้ำมันต่อเมทานอลเท่ากับ 1:6 ให้ปริมาณกรดไขมันอิสระต่ำสุดโดยปริมาณกรดไขมันอิสระลดลงจาก 10.03 เป็นร้อยละ 5.01 และมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ 694.9436 ยูนิตต่อกรัม

ข้อเสนอแนะ

1. ควรเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่ดีเพื่อให้ได้ผลผลิตของเมทิลเอสเทอร์สูง

2. ควรทำให้น้ำมันแตกตัวด้วยเครื่องโซนิคเคท ก่อนนำไปผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อให้เกิดการรวมตัวที่ดีและทำให้การเกิดปฏิกิริยาด้วยเอนไซม์ไลเปสในส่วนที่เป็นเอเฟียสเฟสเกิดได้ดีขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

เฉลิมพร บุญยเกียรติ และสุกัญญา มากมี. 2549 . ไบโอดีเซล . วารสารวิทยาศาสตร์ เล่ม 3 (พฤษภาคม-มิถุนายน 2540) หน้า 257-280.

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

ธนาทิพย์ อัศวผดุงสิทธิ์. 2547 . การสังเคราะห์เอทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์มเมล็ดในและเอสทานอลด้วยตัวเร่งปฏิกิริยาด่าง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

พิศมัย เจนวนิชปัญจกุล (2549). รอบรู้เรื่องราวไบโอดีเซล. พิมพ์ครั้งที่ 1: พิมพ์พินิจ การพิมพ์

อารี ฤทธิบรูณ์. 2548. ปฏิบัติการเทคโนโลยีของเอนไซม์. ภาควิชาวิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าจอมคุณทหารลาดกระบัง

อนวัช ดุรงค์ภินันท์ (2547) .การสังเคราะห์น้ำมันดีเซลชีวภาพในเครื่องกรณ์แบบท่อ. ปริญญานิพนธ์ สาขาวิศกรรมปิโตรเคมี บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

Aryee, A.N.A., Simpson, B.K. and Villalonga, R. 2007. Lipase fraction from the viscera of grey mullet (cephalus). Isolation, partial purification and some biochemical characteristics. Enzyme Microbial Technology. 40:394–402.

Ban, K., Hama, S., Nishizuka, K., Kaieda, M., Matsumoto, T., Kondo, A., Noda, H. and Fukuda, H. 2002. Repeated use of whole-cell biocatalysts immobilized within biomass support particles for biodiesel fuel production. Enzymatic. 17:157–165.

Bussamara, R., Broetto, L., Simcikova, M., valent, P. and Schrank, A. 2010. Isolation of a lipase-secreting yeast for enzyme production in pilot-plant scale batch fermentation. Bioresource Technology. 101:268-275.

Chartrain, M., Marcin, C., Katz, L., Salmon, P., Brix, T., Buckland, B. and Greasham, R. 1993. Enhancement of lipase production during fedbatch cultivation of *Pseudomonas aeruginosa* MB5001. Journal of Fermentation and Bioengineering. 76:487–492.

Dordick, J.S., 1989. Enzymatic catalysis is monophasic organic solvent. Enzyme Microbial Technology. 11:194-211.

Dyal, S.D., Laziz Bouzidi and Narine, S.S. 2005. Maximizing the production of c-linolenic acid in *Mortierella ramanniana var. ramanniana* as a function of pH, temperature and carbon source, nitrogen source, metal ions and oil supplementation. Food Research International. 38:815–829.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Hama, S., Yamaji, H. , Fukumizu, T. , Numata, T., Tamalampudi, S. , Kondo, A. , Noda, H. and Fukuda, H. 2007. Biodiesel-fuel production in a packed-bed reactor using lipase-producing *Rhizopus oryzae* cells immobilized within biomass support particles. Biochemical Engineering Journal. 34:273–278.

Jegannathan, K. R., Yee, L. J., Chan, E.S. and Ravindra, P. 2010. Production of biodiesel from palm oil using liquid core lipase encapsulated in j-carrageenan. Fuel . 89:2272–2277.

Kakugawa, K., Sobayashi, M., Suzuki, O. and Miyakawa, T. 2002. Purification and characterization of a lipase from the glycolipid-producing yeast *Kurtzmanomyces sp.*. I-11. Bioscience Biotechnology Biochemical. 66:978–985.

Karatay,S.E. and Donmez, G.. 2010. Improving the lipid accumulation properties of the yeast cells for biodiesel production using molasses.Bioresource Technology. 101:7988–7990.

Kera, Y., Niino, A. , Ikeda, T. , Okada, H. and Yamada , R.1998 . Peroxisomal localization of D-aspartate oxidase and development of peroxisomes in the yeast *Cryptococcus humicolus* UJ1 grown on D-aspartate. Journal of Biochemistry, Biophysics and Molecular Biology.1379 : 399–405.

Khare, S. K. and Nakajima, M. 2000. Immobilization of *Rhizopus japonicus* lipase on celite and its application for enrichment of docosahexaenoic acid in soybean oil. Food Chemistry. 68:153-157.

Li, N.W., Wu, H., Zong ,M.H. and Lou ,W.Y. 2009. Immobilization of lipase from *Penicillium expansum* and its application to transesterification of corn oil. Chinese Journal of Catalysis. 28:333–338.

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

Muter, O., Patmalnieks, A. and Rapoport, A. 2001. Interrelations of the yeast *Candida utilis* and Cr(VI): metal reduction and its distribution in the cell and medium. Process Biochemistry. 36 : 963–970.

Noureddini, H., Gao, X. and Philkana, R.S. 2005. Immobilized *Pseudomonas cepacia* lipase for biodiesel fule production from soybean oil. Bioresource Technology. 96:769-777.

Schuchardt, U., Sercheli, R. and Vargas, R.M. 1998. Transesterification of vegentable oil : a review. Journal of the Brazilian Chemical Society. 9:199-200.

Segura, R.L., Betancor, L., Palomo, J.M., Hidalgo, A., Fernindez-Lorente, G., Terreni, M., Mateo, C., Corts, A., Fernindez-Lafuente, R. and Guisn, J.M. 2006. Purification and identification of different lipases contained in PPL commercial extracts: a minor contaminant is the main responsible of most esterasic activity. Enzyme Microbial Technology. 39:817–823.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Shah, S. and Munishwar, N.Gupta. 2007. Lipase catalysis preparation of biodiesel from Jatropha oil in a solvent free system . Process Biochemistry. 42:409-414.

Shuo-Fen, Chang,Shu-Wei, Chang,Yen and chwen-Jen, Shieh. 2007. Optimum immobilization of *Candida rugosa* lipase on Celite by RSM. Applied Clay Science. 37:67-73.

Srimhan, P., Kongnum, K., Taweerodjanakarn, Si. and Hongpattarakere, T.. 2011. Selection of lipase producing yeasts for methanol-tolerant biocatalyst as whole cell application for palm-oil transesterification. Enzyme and Microbial Technology. 48:293–298.

Zhu, L.Y., Zong, M.H. and Wu ,H. . 2008 . Efficient lipid production with *Trichosporon fermentans* and its use for biodiesel preparation. Bioresource Technology. 99:7881–7885.

[Online] www.doae.go.th/plant/palm.htm 25, 04, 2010

[Online] www.mtec.or.th 20, 06, 2010

[Online] ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี it.doa.go.th/palm/.../oil%20palm%20processing.html 20, 06, 2010

[Online] www.thaigoodview.com 07, 09, 2010

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

1.การเตรียมสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ (Stoll and Blanchard, 1990)

ทำการเตรียมสารละลาย ก และ ข โดยการทำการเจือจางให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการและนำมาผสมกันให้ได้กรดด่างที่ต้องการ

สารละลาย ก : สารละลายของโมโนเบสิค โซเดียมฟอสเฟส (ทำการละลาย NaH_2PO_4 27.8 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร)

สารละลาย ข : สารละลายของไดเบสิค โซเดียมฟอสเฟส (ทำการละลาย NaH_2PO_4-7 H_2O 35.65 กรัม หรือ NaH_2PO_4-12H_2O 71.1 กรัมในน้ำกลั่น 1 ลิตร)

จำนวนมิลลิลิตรของสารละลาย ก (x) ผสมกับสารละลาย ข (y) เจือจางด้วยน้ำกลั่นเป็น 200 มิลลิลิตร (อารี, 2548)

ตารางภาคผนวกที่ 1 แสดงการผสมกันระหว่างสารละลาย ก และสารละลาย ข ให้ได้ค่ากรดด่างตามที่ต้องการ

X	Y	ค่ากรดด่าง	X	Y	ค่ากรดด่าง
93.5	6.5	5.7	45.0	55.0	6.9
92.0	8.0	5.8	39.0	61.0	7.0
90.0	10.0	5.9	33.0	67.0	7.1
87.7	12.3	6.0	28.0	72.0	7.2
85.0	15.0	6.1	23.0	77.0	7.3
81.5	18.5	6.2	19.0	81.0	7.4
77.5	22.5	6.3	16.0	84.0	7.5
73.5	26.5	6.4	13.0	87.0	7.6
68.5	31.5	6.5	10.5	90.5	7.7
62.5	37.5	6.6	8.5	91.5	7.8
56.5	43.5	6.7	7.0	93.0	7.9
51.5	49.0	6.8	5.3	94.7	8.0

2.วิธีวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส (Hoshino และคณะ, 1992)

การเตรียมสารละลาย :

สารละลาย A : ละลายพาราไนโตรฟีนีลปาล์เตรท (*p*-NPP) 30 มิลลิกรัมใน 2-โพรพานอลให้ได้ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

สารละลาย B : ละลายไตรตอนเอ็ก – 100 400 มิลลิกรัม และกัมอาราบิค 100 มิลลิกรัม ในฟอสเฟสบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 มิลลิโมลาร์ ที่ค่ากรดด่าง 8 ให้ได้ปริมาตร 90 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง หรือนำไปเผยแพร่ต่อ ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ลบข้อความนี้ออก ผู้ใช้งานต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลาย C : ละลายโซเดียมคาร์บอเนต 211.0 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร นำสารละลายเอนไซม์ที่ปริมาตร 0.1 มิลลิกรัม เติมสารละลาย D (เตรียมโดยผสมสารละลาย A ปริมาตร 10 มิลลิลิตร กับสารละลาย B ปริมาตร 90 มิลลิลิตร) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร (เตรียมใหม่ก่อนใช้) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที หยุดปฏิกิริยาด้วยการเติมสารละลาย C ปริมาตร 2.9 มิลลิลิตร แล้วจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตร คำนาณค่ากิจกรรมของเอนไซม์เพื่อเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของพาราไนโตรฟีนอล

กำหนด : ยูนิตของเอนไซม์หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถทำปฏิกิริยา การย่อยสลายพาราไนโตรฟีนีลปาล์มิเตรทให้พาราไนโตรฟีนอล 1 ไมโครโมล ในสภาวะที่ทดสอบ

การคำนวณค่ากิจกรรมของเอนไซม์

สูตรการคำนวณค่ากิจกรรมของเอนไซม์

$$\text{กิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิตต่อมิลลิลิตร)} = \frac{\text{พาราไนโตรฟีนอล}(\mu g/ml) \times \text{ค่าการเจือจาง}(unit/ml)}{\text{มวลโมเลกุลของพาราไนโตรฟีนอล} \times \text{เวลาที่บ่ม} \times \text{ปริมาณเอนไซม์}(ml)}$$

$$\text{กิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิตต่อกรัม)} = \frac{\text{พาราไนโตรฟีนอล}(\mu g/ml) \times \text{ค่าการเจือจาง}(unit/ml)}{\text{มวลโมเลกุลของพาราไนโตรฟีนอล} \times \text{เวลาที่บ่ม} \times \text{ปริมาณน้ำมัน}(g)}$$

3. การวิเคราะห์หากรดไขมันอิสระ (Titrimetric Method (Ca 5a-40))

<u>เครื่องมือและอุปกรณ์</u>

ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร

ปิเปต ขนาด 50 มิลลิลิตร

บิวเรต ขนาด 50 มิลลิลิตร

<u>สารเคมี</u>

สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัล (0.1 N NaoH)

เอธานอลร้อยละ 95

สารละลายฟีนอล์ทาลีน เป็นอินดิเคเตอร์ (ร้อยละ 1 ในเอธานอลร้อยละ95)

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

ชั่งสารตัวอย่างน้ำมัน 0.1 มิลลิกรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่

เติมเอธานอล 75 มิลลิลิตร และฟีนอล์ทาลีน 2 มิลลิลิตร

ไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัล เขย่าจนกระทั่งเกิดสีชมพูบันทึกปริมาตรที่ใช้

<u>คำนวณค่ากรดไขมันอิสระจากสูตร</u>

การคำนวณ

ร้อยละของกรดไขมันอิสระสามารถคำนวณอยู่ในรูปกรดโอเลอิก

$$\text{ร้อยละของกรดไขมันอิสระ} = \frac{\text{ปริมาตรโซเดียมไฮดรอกไซด์(มล.)} \times N \times 28.2}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.การคำนวณอัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันเมล็ดในปาล์มต่อเมทานอล

สูตรคำนวณ

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

R_{av} = (ผลรวมของ%F x MW)/100

$$R_{av} = \frac{((48.2\times 228)+(16.2\times 256)+(8.4\times 284)+(3.4\times 200)+(3.3\times 172)+(2.5\times 284)+(15.3\times 282)+(2.3\times 280))}{100}$$

$$R_{av} = \frac{10989.6+4147.2+2385.6+680+567.6+710+4314.6+644}{100}$$

R_{av} = 244.39

แทนค่าใน

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

จะได้

$$MW_{TG} = [3(244.39)+92]-54$$

$$= (733.17+92)-54$$

= 771.17 กรัมต่อโมล

ดังนั้น น้ำหนักโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันปาล์ม คือ 771.17 กรัมต่อโมล

หมายเหตุ : R_{av} = ผลรวมร้อยละของกรดไขมันอิสระทั้งหมด

MW_{TG} = น้ำหนักโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์

MW_{water} = น้ำหนักโมเลกุลของน้ำ

MW_G = น้ำหนักโมเลกุลของกลีเซอรอล

<u>การคำนวณปริมาตรของน้ำมันเมล็ดในปาล์มและเมทานอล</u>

เมทานอล 1 โมล (มวลโมเลกุลของเมทานอล เท่ากับ 32.04 กรัมต่อโมล)

จาก $n = \frac{m}{MW}$

1 โมล $= \frac{m}{32.04}$

m = 32.04 กรัม

จาก

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

P ของเมทานอลเท่ากับ 0.792 กรัมต่อลูกบาศ์กเซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมทานอล 1 โมล มีปริมาตร 40.45 ลูกบาศ์กเซนติเมตร

ดังนั้นเมทานอล 0.0115 โมล มีปริมาตร $\frac{40.45 \times 0.0115}{1}$ = 0.4652 ลูกบาศ์กเซนติเมตร

<u>อัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันเมล็ดในปาล์มต่อเมทานอล 1:6</u>

จำนวนโมลของเมทานอลที่ใช้จะเป็น 0.0023 x 6 = 0.0138 โมล

เมทานอล 1 โมล มีปริมาตร 40.45 ลูกบาศ์กเซนติเมตร

ดังนั้นเมทานอล 0.0138 โมล มีปริมาตร $\frac{40.45 \times 0.0138}{1}$ = 0.5582 ลูกบาศ์กเซนติเมตร

5. การนับจำนวนจุลินทรีย์โดยการใช้ฮีมาไซโตมิเตอร์

1. เตรียมตัวอย่างที่จะตรวจนับถ้าเป็นของเหลวสามารถนำมาตรวจนับได้ทันที แต่ถ้าเป็นของแข็งให้ละลายในน้ำกลั่นในปริมาตรที่ต้องการก่อน เช่น ชั่งตัวอย่าง 1 กรัม ละลายใน น้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร(จะได้ความเจือจางเป็น 1:10)หรืออาจต้องทำการเจือจางมากขึ้นในกรณีที่สปอร์จำนวนมาก เช่น เจือจางเป็น 1:100 หรือ 1:1000 เท่า เป็นต้น
2. ปิเปตต์ตัวอย่างที่เตรียมไว้ลงในฮีมาไซโตมิเตอร์(ที่ปิดด้วย cover slip แล้ว)โดยใช้ปิเปตต์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ดูดตัวอย่างมา 1-2 หยดและหยดลงด้านข้างของแผ่น cover slip
3. ตรวจนับโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 100 เท่า (เลนส์ใกล้วัตถุ 10X)
4. นับจำนวนจุลินทรีย์ในแต่ละช่องเล็ก หรือนับช่องใหญ่แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย โดยหารด้วยจำนวนช่องทั้งหมดที่ทำการนับและนำไปคูณด้วย 2.5×10^5 จะได้เป็นปริมาณสปอร์ต่อกรัมหรือมิลลิลิตร

วิธีการคำนวณหาปริมาณสปอร์

พื้นที่ 1 ช่องกลางในตารางใหญ่มีค่าเท่ากับ = 0.2 x 0.2 = 0.04 ตารางมิลลิเมตร

ความลึกระหว่าง cover slip = 0.1 มิลลิเมตร

ปริมาตรของ 1 ช่องกลาง = 0.04 x 0.1 = 0.004 ลูกบาศ์กมิลลิเมตร

ปริมาตร 0.004 ลูกบาศ์กมิลลิเมตร มีจุลินทรีย์ = 2 เซลล์

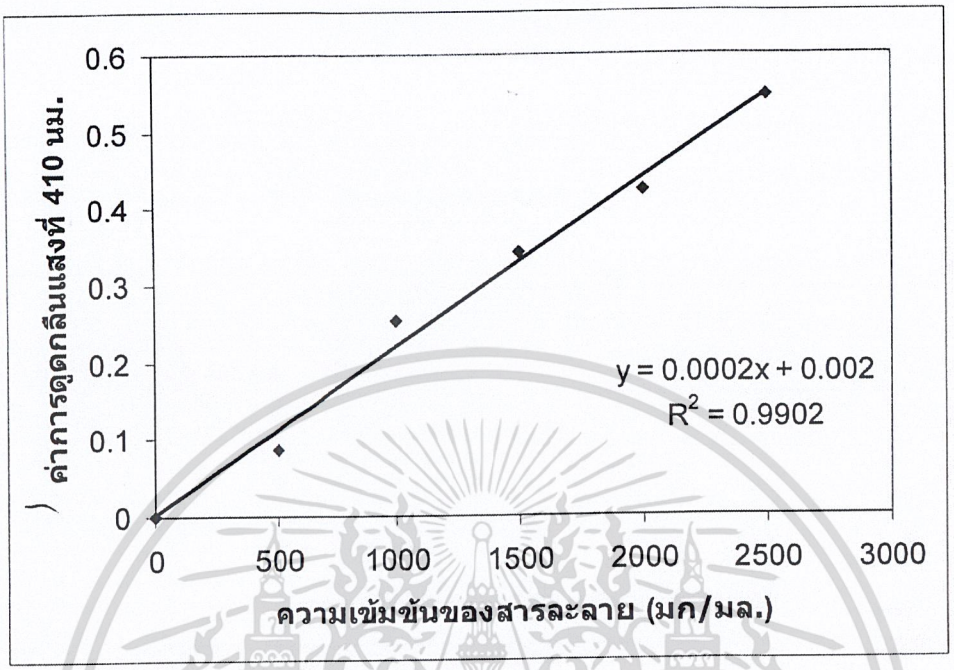
ปริมาตร 1000 ลูกบาศ์กมิลลิเมตร มีจุลินทรีย์ $= \frac{Z \times 1000}{0.004} = \frac{Z \times 1000}{4 \times 10^{-3}}$

$= Z \times 250 \times 10^3$

$= Z \times 2.5 \times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข



รูปภาคผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐานของสารละลายพาราไนโตรฟีนอลโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตร ที่ระดับความเข้มข้น 500, 1000, 1500, 2000 และ 2500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ตารางภาคผนวกที่ 2 แสดงค่าปริมาณกรดไขมันอิสระที่วัดได้จากการศึกษาผลของเวลาในการเลี้ยงเซลล์ยีสต์ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่เวลา 6, 12, 18, 24 และ 30 ชั่วโมง

ปัจจัย / เวลา	ตัวอย่างน้ำมัน	ปริมาตร NaOH ที่ใช้ (มิลลิลิตร)	ปริมาณกรดไขมันอิสระ (ร้อยละ)	ปริมาณกรดไขมันอิสระเฉลี่ย(ร้อยละ)
ชั่วโมงที่ 6	0.10	0.20	5.01	5.01
	0.10	0.20	5.01	
	0.10	0.20	5.01	
ชั่วโมงที่ 12	0.10	0.20	5.01	5.43
	0.10	0.20	5.01	
	0.10	0.25	6.27	
ชั่วโมงที่ 18	0.10	0.30	7.52	7.94
	0.10	0.35	8.78	
	0.10	0.30	7.52	
ชั่วโมงที่ 24	0.10	0.31	7.87	7.89
	0.10	0.30	7.52	
	0.10	0.33	8.28	
ชั่วโมงที่ 30	0.10	0.20	5.01	5.85
	0.10	0.25	6.27	
	0.10	0.25	6.27	

ตารางภาคผนวกที่ 3 แสดงค่ากิจกรรมของเอนไซม์วัดได้จากการศึกษาผลของเวลาในการเลี้ยงเซลล์ยีสต์ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่เวลา 6, 12, 18, 24 และ 30 ชั่วโมง

ปัจจัย / เวลา	ค่าการดูดกลืนคลื่นแสง	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิตต่อมิลลิลิตร)	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิตต่อกรัม)
ชั่วโมงที่ 6	0.0390	0.8867	443.3261
ชั่วโมงที่ 12	0.0420	0.9585	479.2715
ชั่วโมงที่ 18	0.0560	1.2940	647.0165
ชั่วโมงที่ 24	0.0550	1.2701	635.0347

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัจจัย / เวลา	ค่าการดูดกลืนคลื่นแสง	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิตต่อมิลลิลิตร)	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิตต่อกรัม)
ชั่วโมงที่ 30	0.0560	1.0544	527.1986

ตารางภาคผนวกที่ 4 แสดงค่าปริมาณกรดไขมันอิสระที่วัดได้จากการศึกษาผลของปริมาณเซลล์ยีสต์ในการเลี้ยงยีสต์ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยใช้ปริมาณเซลล์ร้อยละ 2, 4, 6 และ 8

ปัจจัย / ปริมาณเซลล์ยีสต์ (ร้อยละ)	ตัวอย่างน้ำมัน	ปริมาตร NaOH ที่ใช้ (มิลลิลิตร)	ปริมาณกรดไขมันอิสระ (ร้อยละ)	ปริมาณกรดไขมันอิสระเฉลี่ย(ร้อยละ)
2	0.10	0.20	5.01	5.01
	0.10	0.20	5.01	
	0.10	0.20	5.01	
4	0.10	0.30	7.52	7.52
	0.10	0.30	7.52	
	0.10	0.30	7.52	
6	0.10	0.30	7.52	7.52
	0.10	0.30	7.52	
	0.10	0.30	7.52	
8	0.10	0.30	7.52	7.52
	0.10	0.30	7.52	
	0.10	0.30	7.52	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 5 แสดงค่ากิจกรรมของเอนไซม์วัดได้จากการศึกษาผลของปริมาณเซลล์ยีสต์ในการเลี้ยงยีสต์ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยใช้ปริมาณเซลล์ร้อยละ 2 , 4, 6 และ 8

ปัจจัย / ปริมาณเซลล์ยีสต์ (ร้อยละ)	ค่าการดูดกลืนคลื่นแสง	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิตต่อมิลลิลิตร)	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิตต่อกรัม)
2	0.0460	1.0544	527.1986
4	0.0560	1.2940	647.0165
6	0.0560	1.2940	647.0165
8	0.0560	1.2940	647.0165

ตารางภาคผนวกที่ 6 แสดงค่าปริมาณกรดไขมันอิสระที่วัดได้จากการศึกษาผลของพีเอชในการเลี้ยงยีสต์ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่พีเอช 6, 7 และ 8

ปัจจัย / พีเอช	ตัวอย่างน้ำมัน	ปริมาตร NaOH ที่ใช้ (มิลลิลิตร)	ปริมาณกรดไขมันอิสระ (ร้อยละ)	ปริมาณกรดไขมันอิสระเฉลี่ย(ร้อยละ)
6	0.10	0.20	5.01	5.01
	0.10	0.25	5.01	
	0.10	0.25	5.01	
7	0.10	0.40	10.03	10.03
	0.10	0.40	10.03	
	0.10	0.40	10.03	
8	0.10	0.30	7.52	7.52
	0.10	0.30	7.52	
	0.10	0.30	7.52	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 7 แสดงค่ากิจกรรมของเอนไซม์วัดได้จากการศึกษาผลของพีเอชในการเลี้ยงยีสต์ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่พีเอช 6, 7 และ 8

ปัจจัย / พีเอช	ค่าการดูดกลืนคลื่นแสง	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิตต่อมิลลิลิตร)	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิตต่อกรัม)
6	0.0460	1.0544	527.1986
7	0.0600	1.3890	694.9436
8	0.0560	1.2940	647.0165

ตารางภาคผนวกที่ 8 แสดงค่าปริมาณกรดไขมันอิสระที่วัดได้จากการศึกษาปริมาณเมทานอลต่อการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่นที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของน้ำมันปาล์มต่อเมทานอล 1:3, 1:4, 1:5 และ 1:6 โมล เป็นเวลา 96 ชั่วโมง

อัตราส่วนระหว่างน้ำมันและเมทานอล	กรดไขมันอิสระ (ร้อยละ)			
	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4
1:3	11.70	12.54	7.52	5.85
1:4	10.86	11.29	7.52	5.84
1:5	10.03	10.03	5.84	5.43
1:6	10.03	9.19	5.84	5.01

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

ตารางภาคผนวกที่ 8 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าปริมาณกรดไขมันอิสระที่วัดได้จากการศึกษาผลของเวลาในการเลี้ยงเซลล์ยีสต์ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่เวลา 6, 12, 18, 24 และ 30 ชั่วโมง ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	23.293	4	5.823	16.808	.000
Within Groups	3.465	10	.346		
Total	26.758	14			

เวลา(ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
6.00	3	5.0100	
12.00	3	5.4300	
30.00	3	5.8500	
24.00	3		7.8900
18.00	3		7.9400
Sig.		.126	.919

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางภาคผนวกที่ 9 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าปริมาณกรดไขมันอิสระที่วัดได้จากการศึกษาผลของปริมาณเซลล์ยีสต์ในการเลี้ยงยีสต์ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยการใช้ปริมาณเซลล์ร้อยละ 2, 4, 6 และ 8 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	14.175	3	4.725	47250.750	.000
Within Groups	.001	8	.000		
Total	14.176	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณเซลล์	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
2%	3	5.0100	
4%	3		7.5200
6%	3		7.5200
8%	3		7.5200
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางภาคผนวกที่ 10 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าปริมาณกรดไขมันอิสระที่วัดได้จากการศึกษาผลของพีเอชในการเลี้ยงยีสต์ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่พีเอช 6, 7 และ 8 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	26.561	2	13.281	75.259	.000
Within Groups	1.059	6	.176		
Total	27.620	8			

พีเอช	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
6	3	5.8500		
8	3		7.5200	
7	3			10.0300
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้