ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มและเอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมันจากน้ำมันปาล์มกับเมธานอล โดยเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa*

(Hydrolysis of palm oil and methyl-esterification of palm oil fatty acid by *Candida rugosa* lipase)

จัดทำโดย

นางสาวสุรัชนี	หิมารัตน์	รหัสนักศึกษา 44040778
นายอภิสิทธิ์	กลั่นบางแก้ว	รหัสนักศึกษา 44040779

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

..... 24/3/2548 **อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ**

(ผศ.ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2407

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มและเอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมันจากน้ำมันปาล์มกับเมธานอลโดยเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa*

(Hydrolysis of palm oil and methyl-esterification of palm oil fatty acid by *Candida rugosa* lipase)

จัดทำโดย

นางสาวสุรัชนี หิมารัตน์ รหัสนักศึกษา 44040778

นายอภิสิทธิ์ กลั่นบางแก้ว รหัสนักศึกษา 44040779

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผศ.ดร. ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม

T096875

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2547

ปพ.
ส856ส
2547

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....96875
วัน.เดือน.ปี.....5 Jun 2009

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นางสาวสุรัชนี หิมารัตน์ และนายอภิสิทธิ์ กลั่นบางแก้ว. 2547 : ไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มและเอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมันจากน้ำมันปาล์มกับเมธานอลโดยเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* (Hydrolysis of palm oil and methyl-esterification of palm oil fatty acid by *Candida rugosa* lipase) ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

จากการศึกษาปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์และน้ำมันปาล์มที่เหลือทิ้งจากการทอดอาหาร และปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมันจากน้ำมันปาล์มทั้งสองชนิดกับเมธานอลโดยเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* พบว่าปริมาณน้ำและปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสคือ 40% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยา และ 200 ยูนิตต่อกรัมของสารละลายปฏิกิริยา ตามลำดับ ซึ่งทำให้เปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มทั้งสองชนิดมีค่าประมาณ 96% แสดงว่าเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* มีประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสได้ดี ในขณะที่ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันระหว่างกรดไขมันจากน้ำมันปาล์มทั้งสองชนิดและเมธานอลนั้น การใช้ปริมาณเมธานอลในช่วง 10-50% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยา และปริมาณเอนไซม์ในช่วง 200-500 ยูนิตต่อกรัมของสารละลายปฏิกิริยา ให้ค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันต่ำกว่า 20% การใช้เกลือ Na_2HPO_4 ในการควบคุม water activity (a_w) เพื่อให้ปริมาณน้ำในระบบคงที่ มีผลทำให้ค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันเพิ่มขึ้นเล็กน้อย และจากการทดลองใช้กรดโอเลอิกเป็นสารตั้งต้นเพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* พบว่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันที่ได้ไม่แตกต่างจากการใช้กรดไขมันอิสระจากน้ำมันปาล์มที่เตรียมได้เป็นสารตั้งต้น ดังนั้นเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* ยังมีประสิทธิภาพไม่ดีในการเร่งปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันระหว่างกรดไขมันกับเมธานอลภายใต้สภาวะที่ทำการทดลอง

สุรัชนี หิมารัตน์ อภิสิทธิ์ กลั่นบางแก้ว	..... (ผศ.ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม)	24 / มี.ค. / 48
ลายมือนักศึกษา	ลายมืออาจารย์ที่ปรึกษา	วัน / เดือน / ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การจัดทำปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ทั้งนี้คณะผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษฉบับนี้ที่กรุณาสละเวลาอันมีค่ามาแนะนำ ให้คำปรึกษาและดูแลเอาใจใส่เป็นอย่างมาก และขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่คอยให้ความช่วยเหลือ รวมทั้งคำแนะนำต่าง ๆ ซึ่งทำให้การทำปัญหาพิเศษครั้งนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่และครอบครัวของคณะผู้จัดทำที่คอยให้กำลังทรัพย์และกำลังใจสู้ต่ออุปสรรคต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการทำปัญหาพิเศษจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี และขอขอบคุณพี่นักวิทยาศาสตร์ห้อง B305 และ D327 ที่คอยให้เบิกและยืมอุปกรณ์ในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ด้วยดีเสมอมา

ขอขอบคุณเพื่อน ๆ สาขาเทคโนโลยีการหมัก รุ่นที่ 8 ทั้ง 23 คน ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์และสารเคมีในการทำปัญหาพิเศษจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี และให้ความเป็นเพื่อนที่ดีมาตลอด 4 ปี คอยรับฟัง ช่วยเหลือ แก้ไขปัญหา พร้อมทั้งให้คำแนะนำในเรื่องต่าง ๆ และเป็นกำลังใจที่ดีตลอดมา ขอบคุณมาก ๆ นอกจากนี้ขอขอบคุณน้องรหัสผู้น่ารักของคณะผู้จัดทำทุกคนที่คอยช่วยเหลือยกของและให้กำลังใจคณะผู้จัดทำเสมอ

สุดท้ายนี้ ขอขอบคุณตัวเองที่ทำจนสำเร็จจนได้ การทำปัญหาพิเศษเป็นบททดสอบชีวิตอีกด้านจริง ๆ ขอบคุณตัวเองที่สู้ อดทนและฝ่าฟันอุปสรรคจนปัญหาพิเศษสำเร็จลงได้ด้วยดี ขอบคุณทุกคนมาก ๆ

นางสาวสุรัชนี หิมารัตน์
นายอภิสิทธิ์ กลั่นบางแก้ว
24 มีนาคม 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ค
กิตติกรรมประกาศ	ง
สารบัญ	จ
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญภาพ	ฌ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 วารสารปริทรรศน์	
2.1 ลักษณะทั่วไปของไบโอดีเซล	3
2.2 วัตถุดิบที่ใช้ผลิตไบโอดีเซล	3
2.3 การผลิตเชื้อเพลิงไบโอดีเซลโดยกระบวนการทางเอนไซม์	6
2.4 ปฏิกิริยาในการผลิตเชื้อเพลิงไบโอดีเซลด้วยกระบวนการทางเอนไซม์	7
2.4.1 ปฏิกิริยาแอลกอฮอไลซิส	7
2.4.1.1 ตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตเชื้อเพลิงไบโอดีเซลด้วยปฏิกิริยาเมธานอไลซิสโดยใช้น้ำมันพืชบริสุทธิ์เป็นวัตถุดิบ	8
2.4.1.2 ตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตเชื้อเพลิงไบโอดีเซลด้วยปฏิกิริยาเมธานอไลซิสโดยใช้น้ำมันเหลือทิ้งจากการบริโภคในครัวเรือนเป็นวัตถุดิบ	11
2.4.1.3 การคัดเลือกเอนไซม์ที่เหมาะสมกับปฏิกิริยาเมธานอไลซิส	14
2.4.1.4 ผลกระทบที่มีต่อปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส	15
2.4.2 ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสร่วมกับเอสเทอริฟิเคชัน	19
2.4.2.1 ตัวอย่างงานวิจัยการผลิตเชื้อเพลิงไบโอดีเซลด้วยปฏิกิริยาเอส-เทอริฟิเคชันโดยใช้กรดไขมันเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมทูน่า	20
2.4.2.2 ผลกระทบที่มีต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน	20
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	
3.1 อุปกรณ์	27
3.2 วัตถุดิบ	28
3.3 สารเคมี	28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.4 วิธีการทดลอง	29
3.4.1 การวัดแอคติวิตีของเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa*	29
3.4.2 การเตรียมกรดไขมันอิสระจากน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์และน้ำมันปาล์มที่เหลือทิ้งจากการทอดอาหารโดยวิธี saponification	30
3.4.3 วิธีหาค่า acid value (AV)	30
3.4.4 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มโดยเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa*	31
3.4.4.1 ศึกษาปริมาณน้ำที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส	31
3.4.4.2 ศึกษาปริมาณเอนไซม์ไลเปสที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส	31
3.4.5 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน	31
3.4.5.1 การเตรียมกรดไขมันอิสระจากน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์และน้ำมันปาล์มที่เหลือทิ้งจากการทอดอาหาร	31
3.4.5.2 การศึกษาปริมาณเมธานอลที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน	32
3.4.5.3 การศึกษาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน	32
3.4.5.4 การศึกษาผลของ water activity (a_w) ต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน	33
3.4.5.5 การศึกษาผลของปริมาณน้ำต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน	33
3.4.5.6 การศึกษาปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดโอเลอิกและเมธานอล	34
บทที่ 4 ผลการทดลอง	
4.1 การวัดแอคติวิตีของเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa*	35
4.2 การหาค่า acid value (AV)	36
4.3 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มโดยเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa*	37
4.3.1 ศึกษาปริมาณน้ำที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส	37
4.3.2 ศึกษาปริมาณเอนไซม์ไลเปสที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส	38
4.4 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน	41
4.4.1 การศึกษาปริมาณเมธานอลที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน	41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.4.2 การศึกษาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน	42
4.4.3 การศึกษาผลของ water activity (a_w) ต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน	44
4.4.4 การศึกษาผลของปริมาณน้ำต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน	45
4.4.5 การศึกษาปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดโอเลอิกและเมธานอล	46
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	
5.1 สรุปผลการทดลอง	49
5.2 ข้อเสนอแนะ	50
เอกสารอ้างอิง	51
ภาคผนวก	53
ประวัติผู้เขียน	71

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	องค์ประกอบกรดไขมันหลักของน้ำมันพืชชนิดต่าง ๆ	5
2.2	ปฏิกิริยาเมธานอไลซิสของน้ำมันพืชโดยใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปชนิดต่าง ๆ	15
2.3	การยับยั้งปฏิกิริยาเมธานอไลซิสของน้ำมันพืชโดยแปรปริมาณน้ำ	17
2.4	ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันแบบสองขั้นตอนของกรดไขมันเหลือทิ้ง	25
4.1	ค่า acid value (AV) ของกรดไขมันจากน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์และน้ำมันเหลือทิ้งจากการทอดอาหาร	36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	การผลิตไบโอดีเซลโดยการทำปฏิกิริยาระหว่าง TAG และเมธานอล	6
2.2	ปฏิกิริยาต่าง ๆ ที่สามารถเร่งโดยเอนไซม์ไลเปส	9
2.3	ช่วงเวลาในการเกิดปฏิกิริยาเมธานอไลซิสของน้ำมันพืช	10
2.4	ปฏิกิริยาเมธานอไลซิสโดยใช้น้ำมันพืชบริสุทธิ์และน้ำมันเหลือทิ้งจากการบริโภคในครัวเรือนเป็นวัตถุดิบ	12
2.5	ปฏิกิริยาเมธานอไลซิสแบบครั้งคราว 3 ขั้นตอน โดยใช้น้ำมันพืชบริสุทธิ์และน้ำมันเหลือทิ้งจากการบริโภคเป็นวัตถุดิบ	13
2.6	ปริมาณน้ำที่มีผลต่อปฏิกิริยาเมธานอไลซิสของน้ำมันพืชโดยใช้เอนไซม์ไลเปสจาก *Candida antarctica*	16
2.7	ปริมาณเมธานอลที่มีผลต่อปฏิกิริยาเมธานอไลซิสของน้ำมันพืช	18
2.8	ช่วงเวลาการเติมเมธานอลในปฏิกิริยาเมธานอไลซิสของน้ำมันพืช	19
2.9	ปริมาณเอนไซม์ที่มีผลต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมันเหลือทิ้ง	21
2.10	ปริมาณเมธานอลที่มีผลต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมัน	22
2.11	การยับยั้งเอนไซม์โดยเมธานอลที่มากเกินพอ	23
2.12	การยับยั้งเอนไซม์ไลเปสโดยอุณหภูมิที่ต่างกัน	24
4.1	ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการทำปฏิกิริยาและปริมาณกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นจากการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa*	35
4.2	ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการทำปฏิกิริยาและเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์โดยแปรปริมาณน้ำ	37
4.3	ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการทำปฏิกิริยาและเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสของน้ำมันเหลือทิ้งจากการทอดอาหารโดยแปรปริมาณน้ำ	38
4.4	ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการทำปฏิกิริยาและเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์โดยแปรปริมาณเอนไซม์	39
4.5	ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการทำปฏิกิริยาและเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสของน้ำมันเหลือทิ้งจากการทอดอาหารโดยแปรปริมาณเอนไซม์	40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.6	ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการทำปฏิกิริยาและเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์โดยแปรปริมาณเมธานอล	41
4.7	ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการทำปฏิกิริยาและเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันของน้ำมันเหลือทิ้งจากการทอดอาหารโดยแปรปริมาณเมธานอล	42
4.8	ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการทำปฏิกิริยาและเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์โดยแปรปริมาณเอนไซม์	43
4.9	ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการทำปฏิกิริยาและเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันของสารละลายปฏิกิริยาที่ควบคุม a_w โดยใช้เกลือ Na_2HPO_4	44
4.10	ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการทำปฏิกิริยาและเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันของปฏิกิริยาที่มีน้ำแตกต่างกัน	46
4.11	ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการทำปฏิกิริยาและเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันของการศึกษาปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดโอเลอิกและเมธานอล	47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

ปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ได้พยายามคิดค้นหาแหล่งพลังงานใหม่ ๆ เพื่อลดปัญหามลพิษในอากาศอันเนื่องมาจากการเผาผลาญน้ำมันเชื้อเพลิงที่ได้จากปิโตรเลียม ซึ่งแหล่งพลังงานทดแทนที่กำลังได้รับความสนใจมากที่สุดแหล่งหนึ่งคือ ไบโอดีเซล ซึ่งเป็นเชื้อเพลิงที่ผลิตจากน้ำมันพืชและไขมันสัตว์ ไบโอดีเซลสามารถย่อยสลายโดยกระบวนการทางธรรมชาติ นอกจากนี้ยังเป็นเชื้อเพลิงที่ไม่เป็นพิษ และการเผาไหม้ของเครื่องยนต์ที่ใช้ไบโอดีเซลยังมีสารทำลายสิ่งแวดล้อมน้อยกว่าการใช้ปิโตรเลียมดีเซล ทำให้มีแนวโน้มในการนำไบโอดีเซลมาใช้เป็นเชื้อเพลิงแทนน้ำมันปิโตรเลียมมากขึ้นในอนาคต

องค์ประกอบของไบโอดีเซลคือ เมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน การผลิตเชื้อเพลิงไบโอดีเซลในปัจจุบันจะใช้น้ำมันพืชบริสุทธิ์หรือน้ำมันที่ใช้แล้วซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมอาหาร โดยมีกระบวนการผลิต 2 แบบคือ กระบวนการทางเคมี (ใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี) และกระบวนการทางเอนไซม์ (ใช้เอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา) เนื่องจากความยุ่งยากและข้อเสียเปรียบหลายประการของกระบวนการทางเคมีจึงทำให้กระบวนการผลิตโดยใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาได้รับความสนใจมากขึ้นมีการศึกษากันมากขึ้นในปัจจุบัน

สำหรับกระบวนการผลิตไบโอดีเซลโดยใช้เอนไซม์นั้นสามารถทำได้โดยใช้เอนไซม์ไลเปสในการเร่งปฏิกิริยาได้หลายรูปแบบ ขึ้นอยู่กับลักษณะของน้ำมันพืชที่ใช้เป็นสารตั้งต้น ตัวอย่างเช่น การใช้ไลเปสเร่งปฏิกิริยาเมธานอไลซิส (methanolysis) โดยมีน้ำมันในรูปของไตรเอซิลกลีเซอรอล (triacylglycerol,TAG)เป็นสารตั้งต้น หรือการใช้ไลเปสเร่งปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน(esterification) ของกรดไขมันอิสระจากน้ำมันพืชกับเมธานอล เป็นต้น

ในประเทศไทยมีการผลิตน้ำมันปาล์มในปริมาณมาก ซึ่งในอุตสาหกรรมอาหารก็มีการใช้น้ำมันปาล์มสำหรับทอดอาหาร ทำให้เกิดน้ำมันเหลือทิ้งในปริมาณสูง ปัญหาพิเศษนี้จึงทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์และน้ำมันปาล์มเหลือทิ้งจากการทอดอาหารรวมทั้งสภาวะที่เหมาะสมกับการเร่งปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันระหว่างกรดไขมันอิสระที่ได้จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสดังกล่าวกับเมธานอล โดยใช้เอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* ซึ่งจะเป็นแนวทางในการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์มต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

1. **เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ และน้ำมันปาล์มที่เหลือทิ้งจากการทอดอาหารด้วยเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa***
2. **เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันระหว่างกรดไขมันอิสระที่ได้จากน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ และน้ำมันปาล์มที่เหลือทิ้งจากการทอดอาหารกับเมธานอลด้วยเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa***

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
วารสารปริทรรศน์

2.1 ลักษณะทั่วไปของไบโอดีเซล

ไบโอดีเซลโดยทั่ว ๆ ไปจะเป็นโมโนอัลคิลเอสเทอร์ (monoalkyl esters) ที่ผลิตได้จากน้ำมันพืชและไขมันสัตว์ มีคุณสมบัติเป็นเชื้อเพลิงประเภทดีเซลเช่นเดียวกับน้ำมันปิโตรเลียม ไบโอดีเซลผลิตได้โดยผ่านกระบวนการที่เรียกว่าทรานส์เอสเทอร์ริฟิเคชัน (tranesterification) โดยการนำน้ำมันพืชหรือไขมันสัตว์มาผ่านการกรองและสกัดเอายางเหนียวและสิ่งสกปรกออก (degumming) ก่อนที่จะนำไปทำปฏิกิริยากับด่างเพื่อกำจัดอนุมูลไขมันอิสระ แล้วจึงผสมรวมกับโมโนไฮดริกแอลกอฮอล์ (monohydric alcohol) โดยมีตัวเร่งปฏิกิริยาเข้าร่วมในปฏิกิริยา โดยทั่ว ๆ ไปตัวเร่งปฏิกิริยาที่ใช้ส่วนใหญ่คือโซเดียมไฮดรอกไซด์ โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ หรืออาจใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์หรือโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ในเมธานอล การผลิตโดยทั่วไปจะใช้เมธานอลเป็นโมโนไฮดริกแอลกอฮอล์เพราะเป็นแอลกอฮอล์ที่มีราคาไม่แพง ซึ่งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นนี้จะทำให้สารไตรกลีเซอไรด์ (triglycerides) ในน้ำมันถูกเปลี่ยนเป็นสารประเภทเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันและกลีเซอรอลอิสระ และเมื่อกลีเซอรอลถูกแยกออกจากผลิตภัณฑ์ที่ได้แล้ว โมเลกุลที่เหลือจะมีคุณสมบัติคล้ายกับน้ำมันปิโตรเลียม จะต่างกันที่โมเลกุลของไบโอดีเซลเป็นกลุ่มของไฮโดรคาร์บอนที่ปลอดจากกำมะถัน หรือองค์ประกอบที่ซับซ้อนอื่น ๆ สำหรับกลีเซอรอลที่แยกออกมาเป็นผลพลอยได้ใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับอุตสาหกรรมยา เครื่องสำอางค์ ฯลฯ วัตถุประสงค์ของกระบวนการดังกล่าวคือเพื่อช่วยปรับปรุงคุณสมบัติของน้ำมันพืชหรือไขมันสัตว์ให้มีคุณสมบัติใกล้เคียงน้ำมันดีเซลจากปิโตรเลียม ไบโอดีเซลประเภทนี้คือเชื้อเพลิงจากพืชที่รู้จักกันทั่วไป สามารถใช้แทนน้ำมันดีเซลในเครื่องยนต์ดีเซลระบบปั๊มหัวฉีดทุกประเภทโดยไม่ต้องดัดแปลงเครื่องยนต์ ซึ่งอาจใช้ไบโอดีเซลอย่างเดียวหรือผสมกับน้ำมันดีเซลในอัตราส่วนต่าง ๆ ก็ได้ (สุพรรณี ,2544)

2.2 วัตถุดิบที่ใช้ผลิตไบโอดีเซล

ไบโอดีเซลเป็นพลังงานทดแทนน้ำมันปิโตรเลียมดีเซลซึ่งมีระบบการทำงานที่รวดเร็ว ปลอดภัย และสะอาดกว่าน้ำมันปิโตรเลียม นอกจากนี้ยังสามารถผลิตได้จากน้ำมันพืชที่ผ่านการใช้แล้วได้อีกด้วย บริษัท Pacific Biodiesel Inc. ในฮาวาย ประเทศสหรัฐอเมริกา สามารถผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากน้ำมันพืชที่ใช้แล้วจากภัตตาคาร และร้านอาหารทั่วไปที่ใช้น้ำมันถั่วเหลืองในการทอดอาหาร ส่วนประเทศในทวีปยุโรปผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันเมล็ดทานตะวัน (ศิริวรรณ , 2544)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตั้งแต่แรกวัตถุดิบสำหรับผลิตไบโอดีเซลโดยส่วนมากจะเป็นน้ำมันพืชที่หามาได้ในภูมิประเทศนั้น ๆ ซึ่งพืชน้ำมันที่ประเทศสหรัฐอเมริกาใช้ คือ น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันเมล็ดเรพ (rape seed) และน้ำมันเมล็ดทานตะวัน ส่วนในยุโรปใช้น้ำมันจากเมล็ดทานตะวัน เมล็ดเรพ หรือน้ำมันที่เหลือจากการปรุงอาหารแล้ว และในภูมิประเทศเมืองร้อนจะใช้น้ำมันจากปาล์มและมะพร้าว สำหรับประเทศไทยมีการเพาะปลูกพืชน้ำมันหลายชนิดใช้ในการบริโภค เช่น ถั่วเหลือง ปาล์มน้ำมัน ถั่วลิสง มะพร้าว ละหุ่ง งา ฯลฯ ในบรรดาพืชน้ำมันทั้งหมด ปาล์มน้ำมันมีปริมาณผลผลิตสูงและราคาถูกจึงเหมาะสมในการนำมาผลิตไบโอดีเซล แต่ในการผลิตควรคำนึงถึงปริมาณและความต้องการใช้น้ำมันในการบริโภคและในอุตสาหกรรมด้วย เช่น ในปี พ.ศ. 2545 มีผลผลิตปาล์มน้ำมัน 4 ล้านตัน หรือน้ำมันปาล์ม 68,000 ตันต่อเดือน ตลาดมีความต้องการใช้ 55,000 ตันต่อเดือน จะเหลือน้ำมันปาล์มส่วนเกิน 13,000 ตันต่อเดือน นั่นคือปริมาณของน้ำมันที่จะนำมาผลิตเป็นไบโอดีเซลในเชิงพาณิชย์ไม่มากนัก ดังนั้นจึงต้องมีการวางแผนให้รอบคอบเพื่อให้คุ้มค่าที่สุดในเชิงเศรษฐศาสตร์ อย่างไรก็ตามความพยายามในการลดวัตถุดิบที่มีราคาแพง โดยหาแหล่งน้ำมันอื่น ๆ ที่จะนำมาผลิตไบโอดีเซล อันได้แก่ ไขมันสัตว์ และน้ำมันที่ใช้แล้ว ก็ต้องคำนึงถึงกรรมวิธีการผลิตไบโอดีเซลที่เปลี่ยนแปลงไปด้วย เนื่องจากไขมันสัตว์และน้ำมันที่ใช้ทอดแล้วมีองค์ประกอบที่ไม่เหมือนกับน้ำมันพืชทั่ว ๆ ไปจึงต้องมีการคำนึงถึงในส่วนนี้ด้วย (สำนักคุณภาพน้ำมันเชื้อเพลิง, 2544)

วัตถุดิบหลักที่นิยมใช้ในกระบวนการผลิตไบโอดีเซลได้แก่ น้ำมันพืช ซึ่งน้ำมันพืชทั่วไปจะมีไตรเอซิลกลีเซอรอล (triacylglycerol , TAG) เป็นองค์ประกอบหลักโครงสร้างของ TAG จะประกอบด้วยกรดไขมัน 3 โมเลกุล จับอยู่กับหมู่ไฮดรอกซิลของกลีเซอรอลด้วยพันธะเอสเทอร์ (รูปที่ 2.1) ชนิดและองค์ประกอบของกรดไขมันใน TAG ที่ได้จากน้ำมันพืชแต่ละประเภทจะแตกต่างกันไป ตัวอย่างเช่น น้ำมันมะพร้าว และน้ำมันปาล์ม จะประกอบด้วยกรดไขมันอิ่มตัว (กรดลอริค, กรดปาล์มิติค) ในปริมาณสูงกว่าน้ำมันถั่วเหลือง ซึ่งจะมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาว (กรดโอลิอิค, กรดลิโนเลอิค) ในปริมาณสูง องค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันพืชที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซล อาจส่งผลต่อคุณภาพหรือสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ของไบโอดีเซลที่ได้ ตัวอย่างเช่น ไบโอดีเซลที่ผลิตได้จากน้ำมันมะพร้าว หรือน้ำมันปาล์มจะมีจุดหลอมเหลวสูงกว่าไบโอดีเซลที่ได้จากน้ำมันถั่วเหลือง ทำให้ไบโอดีเซลที่ผลิตได้จากน้ำมันมะพร้าวหรือน้ำมันปาล์มไม่เหมาะที่จะใช้ในประเทศแถบหนาวเนื่องจากที่อุณหภูมิต่ำไบโอดีเซล ดังกล่าวจะอยู่ในสภาพแข็งตัว อย่างไรก็ตามไบโอดีเซลที่มีองค์ประกอบของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวในปริมาณสูงก็จะมีปัญหาในเรื่องของความคงตัวเนื่องจากกรดไขมันไม่อิ่มตัวจะถูกออกซิเดชันได้ง่าย สำหรับองค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันพืชชนิดต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 2.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบกรดไขมันหลักของน้ำมันพืชชนิดต่าง ๆ

น้ำมันพืช	องค์ประกอบกรดไขมันหลัก (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก)						
	C12:0	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3
น้ำมันปาล์ม	ND-0.5	0.5-2.0	39.3-47.5	3.5-6.0	36.0-44.0	9.0-12.0	ND-0.5
น้ำมันปาล์มโอลีน	0.1-0.5	0.5-1.5	38.0-43.5	3.5-5.0	39.8-46.0	10.0-13.5	ND-0.6
น้ำมันปาล์มสเตียรีน	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	ND-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	ND
น้ำมันถั่วลิสง	ND-0.1	ND-0.1	8.0-14.0	1.0-4.5	35.0-67.0	13.0-43.0	ND-0.3
น้ำมันเมล็ดสบู่ดำ	ND	ND	14.9	6.0	41.2	37.4	ND
น้ำมันเมล็ดเรพ	ND	ND-0.2	1.5-6.0	0.5-3.1	8.0-60.0	11.0-23.0	5.0-13.0
น้ำมันถั่วเหลือง	ND-0.1	ND-0.2	8.0-13.5	2.0-5.4	17.7-28.0	49.8-59.0	5.0-11.0

<u>หมายเหตุ</u> หมายเลขหน้าเครื่องหมาย : หมายถึง จำนวนคาร์บอนอะตอม

หมายเลขหลังเครื่องหมาย : หมายถึง จำนวนพันธะคู่

ND หมายถึง ไม่พบ

ที่มา : ณัฐพงศ์ และ วิธาน , 2544

TAG เมธานอล เมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (ไบโอดีเซล) กลีเซอรอล

ภาพที่ 2.1 การผลิตไบโอดีเซลโดยการทำปฏิกิริยาระหว่าง TAG และเมธานอล
ที่มา : ประพันธ์ , 2546

เนื่องจากปัจจุบันมีน้ำมันพืชที่ใช้แล้วเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร รวมทั้งร้านอาหารต่าง ๆ ในปริมาณมาก นอกจากนี้ยังมีวัสดุเหลือทิ้งจากโรงงานผลิตน้ำมันพืชซึ่งเกิดจากขั้นตอนต่าง ๆ ในกระบวนการสกัดน้ำมันพืชและการทำให้บริสุทธิ์ วัสดุดังกล่าวสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซลได้ ซึ่งถือเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับวัสดุเหลือทิ้งอีกทางหนึ่ง (Haas *et al.*, 2003; Watanabe *et al.*,2001; Leung ,2001)

นอกจากน้ำมันพืชแล้ววัสดุที่จำเป็นในการผลิตไบโอดีเซลอีกชนิดหนึ่งได้แก่ แอลกอฮอล์ที่นิยมใช้จะเป็นแอลกอฮอล์สายสั้นได้แก่ เมธานอล หรือเอธานอล ดังนั้นไบโอดีเซลจึงรู้จักกันในรูปของเมธิลเอสเทอร์หรือเอธิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน ในกระบวนการผลิตไบโอดีเซลโดยการทำปฏิกิริยาระหว่างน้ำมันพืชกับแอลกอฮอล์จำเป็นต้องอาศัยตัวเร่งปฏิกิริยา ซึ่งอาจเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเคมีหรือตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพ ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมีที่นิยมใช้ได้แก่ กรดซัลฟูริค หรือด่าง (โซเดียมเมธอกไซด์ , $NaOCH_3$) สำหรับตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพได้แก่ เอนไซม์ไลเปส (lipases, EC 3.1.1.3)

2.3 การผลิตเชื้อเพลิงไบโอดีเซลโดยกระบวนการทางเอนไซม์

การผลิตเชื้อเพลิงไบโอดีเซลในปัจจุบันน้ำมันพืชบริสุทธิ์หรือน้ำมันพืชที่ใช้แล้วซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมอาหาร นอกจากน้ำมันพืชแล้วยังมีวัสดุที่จำเป็นในการผลิตไบโอดีเซลได้แก่ แอลกอฮอล์ที่นิยมใช้เป็นแอลกอฮอล์สายสั้น เช่น เมธานอลหรือเอธานอล ดังนั้นไบโอดีเซล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จึงรู้จักกันในรูปของเมธิลเอสเทอร์หรือเอธิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน ในกระบวนการผลิตไบโอดีเซล โดยการทำปฏิกิริยาระหว่างน้ำมันพืชกับแอลกอฮอร์จำเป็นต้องอาศัยตัวเร่งปฏิกิริยา ซึ่งตัวเร่งปฏิกิริยาเคมีหรือตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพ

ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมีที่นิยมใช้ได้แก่ กรดซัลฟูริกหรือด่าง (โซเดียมเมธอกไซด์ , $NaOCH_3$) สำหรับตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพได้แก่ เอนไซม์ไลเปส จากตัวเร่งปฏิกิริยาที่แตกต่างกันสามารถจำแนกรูปแบบของกระบวนการผลิตไบโอดีเซลออกเป็น 2 แบบ คือ กระบวนการทางเคมี (ใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี) และกระบวนการทางเอนไซม์ (ใช้เอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา) การผลิตไบโอดีเซลทั้งสองกระบวนการมีข้อได้เปรียบเสียเปรียบแตกต่างกันไป

ปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ให้ความสนใจกระบวนการผลิตโดยใช้เอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยามากขึ้น เนื่องจากขั้นตอนแยกกลีเซอรอลที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาและการทำให้บริสุทธิ์สำหรับผลิตภัณฑ์ที่สามารถทำได้โดยง่าย รวมทั้งสภาวะที่เหมาะสมในการเร่งปฏิกิริยาของตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพเกิดได้ที่อุณหภูมิ และความดันปกติ (อุณหภูมิห้องและความดันปกติ) ซึ่งโดยทั่วไปปฏิกิริยาทางเคมีจะต้องการอุณหภูมิและความดันที่สูงกว่า

ไลเปสเป็นเอนไซม์ที่มีคุณสมบัติในการย่อยสลายพันธะเอสเทอร์ในโมเลกุลไตเอซิลกลีเซอรอล (TAG) ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันพืชทั่วไป โครงสร้างของ TAG จะประกอบด้วยกรดไขมัน 3 โมเลกุลจับกับหมู่ไฮดรอกซิลของกลีเซลรอลด้วยพันธะเอสเทอร์ อย่างไรก็ตามในสภาวะที่เหมาะสมเอนไซม์ไลเปสสามารถเร่งปฏิกิริยาต่างๆ ดังแสดงในภาพที่ 2.1

แหล่งเอนไซม์ไลเปสได้แก่ จุลินทรีย์ทั้งประเภทแบคทีเรีย ยีสต์ และรา นอกจากนี้ยังพบไลเปสในพืชบางชนิดอีกด้วย ตัวอย่างของเอนไซม์ไลเปสที่นิยมใช้ในการผลิตไบโอดีเซลได้แก่ เอนไซม์ไลเปสจาก *Candida antractica* , *Candida rugosa* , *Pseudomonas cepacia* , *Pseudomonas fluorescens* และ *Rhizomucor miehei* เป็นต้น

ในการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันพืชซึ่งมีองค์ประกอบหลักเป็น TAG ด้วยการทำปฏิกิริยากับเมธานอลโดยใช้เอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาสามารถทำได้หลายวิธี ซึ่งอาจประกอบด้วยปฏิกิริยาเพียงขั้นตอนเดียวหรือหลายขั้นตอนได้ดังต่อไปนี้ (ประพันธ์ , 2546)

2.4 ปฏิกิริยาในการผลิตเชื้อเพลิงไบโอดีเซลด้วยกระบวนการทางเอนไซม์

2.4.1 ปฏิกิริยาแอลกอฮอไลซิส (Alcolysis)

เอนไซม์ไลเปสสามารถเร่งปฏิกิริยาแอลกอฮอไลซิส (หรือเมธานอไลซิสในกรณีที่ใช้แอลกอฮอล์เป็นเมธานอล) ของ TAG ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นเมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (ไบโอดีเซล) กับกลีเซอรอล โดยวิธีนี้พบว่าปฏิกิริยาจะเกิดค่อนข้างช้าและการทำงานของเอนไซม์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไลเปสอาจถูกยับยั้งโดยปริมาณของเมธานอลที่มากเกินพอ ทำให้ปฏิกิริยาเกิดไม่สมบูรณ์ อย่างไรก็ตามวิธีแก้ไขสามารถทำได้โดยแบ่งปฏิกิริยาเป็นหลายขั้นตอนด้วยการเติมเมธานอลในปฏิกิริยาครั้งละน้อยเพื่อป้องกันการยับยั้งเอนไซม์ไลเปสโดยเมธานอล ซึ่งโดยทั่วไปปริมาณของเมธานอลต่อปริมาณของกรดไขมันทั้งใน TAG หรือน้ำมันพืชไม่ควรเกิน 3 : 1 โดยโมล

2.4.1.1 ตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตเชื้อเพลิงไบโอดีเซลด้วยปฏิกิริยาเมธานอไลซิสโดยใช้น้ำมันพืชบริสุทธิ์เป็นวัตถุดิบ

ในปี ค.ศ. 2000 Shimada และคณะ ได้ศึกษานำน้ำมันพืชมาผลิตเชื้อเพลิงไบโอดีเซลโดยมีการเติมเมธานอลและใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเป็นเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปจาก *Candida antarctica* โดยการศึกษาปฏิกิริยาแบบครั้งคราว (Batch reaction)

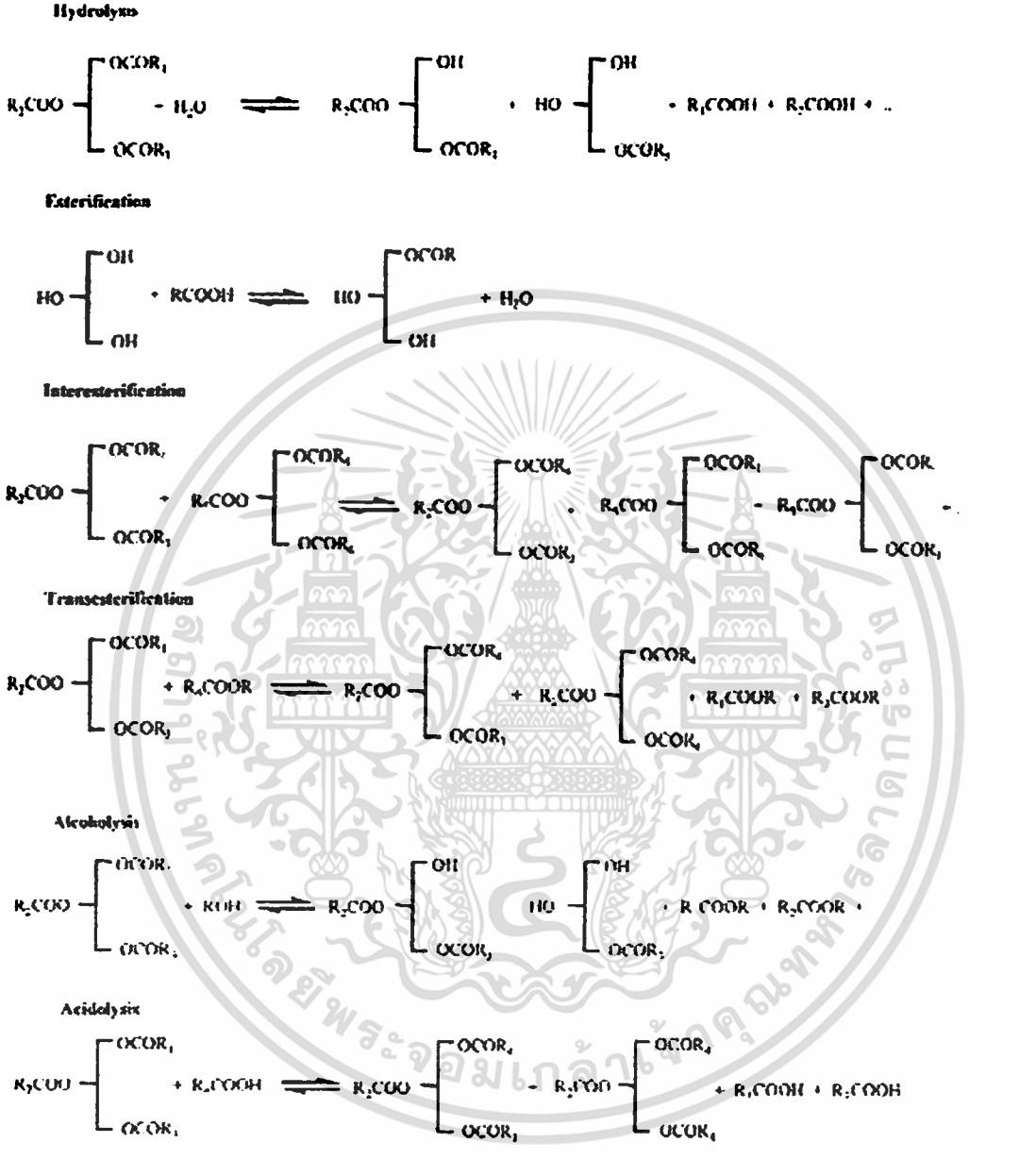
ปฏิกิริยาแบบครั้งคราว (Batch reaction) แบ่งปฏิกิริยาออกเป็น 2 ขั้นตอนและปฏิกิริยา 3 ขั้นตอน เนื่องจากในการเติมเมธานอลลงในปฏิกิริยาจะยับยั้งเอนไซม์ไลเปสที่ใช้เป็นตัวเร่ง ดังนั้นในปฏิกิริยาแบบครั้งคราวทั้ง 2 แบบแตกต่างกันที่ปริมาณเมธานอลที่ใช้เติมลงในปฏิกิริยาและประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำมันเป็นไบโอดีเซลดังจะอธิบายต่อไปนี้

- ปฏิกิริยาแบบครั้งคราว 2 ขั้นตอน (Two-step batch reaction)

ปฏิกิริยานี้เป็นการศึกษาเอนไซม์ไลเปสที่ใช้เป็นตัวเร่ง จะไม่ถูกยับยั้งเมื่อเติมเมธานอลอัตราส่วน 2 : 3 โดยโมล ในส่วนผสมของ acylglycerols (AG) และ 33% methyl ester (ME) ซึ่งโดยทั่วไปการเติมเมธานอลจะเติมอัตราส่วน 1: 3 โดยโมลต่อเนื่องกัน 3 ครั้ง เพื่อทำปฏิกิริยาพอดีกับกรดไขมันในน้ำมันพืชที่ใช้เป็นสารตั้งต้นในปฏิกิริยา

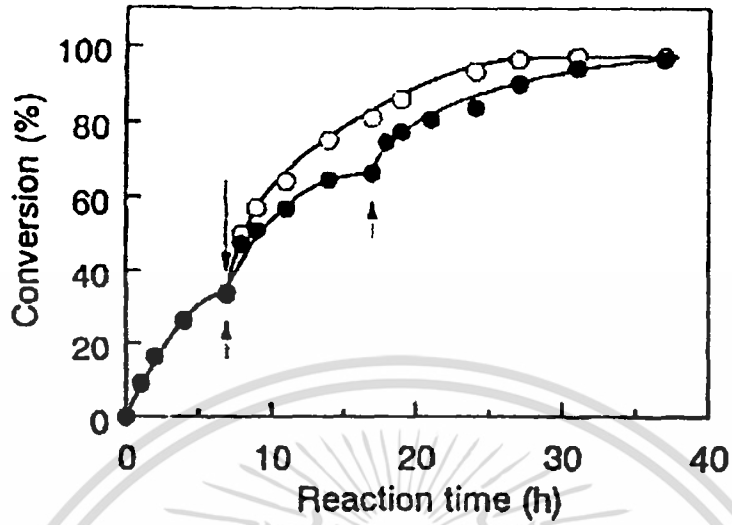
จากภาพที่ 2.3 ปฏิกิริยาขั้นตอนแรกผสมน้ำมันพืชกับเมธานอลด้วยอัตราส่วน 1 : 3 โดยโมลและเอนไซม์ไลเปสเขย่าให้เข้ากัน เมื่อเวลาผ่านไป 7 ชั่วโมงการเปลี่ยนของน้ำมันเป็นไบโอดีเซล (methyl ester) ได้ 33.2% ปฏิกิริยาในขั้นตอนที่สองคือการเติมเมธานอลอัตราส่วน 2 : 3 โดยโมลลงไปในชั่วโมงที่ 10 เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมงทำให้ได้ไบโอดีเซลได้ 96.8%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.2 ปฏิกิริยาต่าง ๆ ที่สามารถเร่งโดยเอนไซม์ไลเปส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.3 ช่วงเวลาในการเกิดปฏิกิริยาเมธานอไลซิสของน้ำมันพืช ปฏิกิริยาแบบครั้งคราว 2 ขั้นตอน (O) ปฏิกิริยาขั้นตอนแรกผสมน้ำมันพืช , เมธานอลอัตราส่วน 1 : 3 โดยโมลและเอนไซม์ไลเปสตรึงรูป และปฏิกิริยาขั้นตอนที่สองเติมเมธานอลอัตราส่วน 2 : 3 โดยโมลในชั่วโมงที่ 10 ปฏิกิริยาแบบครั้งคราว 3 ขั้นตอน (□) ขั้นตอนแรกใช้ส่วนผสมและสภาวะการเกิดปฏิกิริยาเดียวกับปฏิกิริยาแบบครั้งคราว 2 ขั้นตอน และเติมเมธานอลอัตราส่วน 1 : 3 โดยโมลในชั่วโมงที่ 10 และชั่วโมงที่ 24

ที่มา : Shimada *et al* . , 2002

- ปฏิกิริยาแบบครั้งคราว 3 ขั้นตอน (Three-step batch reaction)

ศึกษาการเติมเมธานอลอัตราส่วน 1 : 3 โดยโมลอย่างต่อเนื่องกัน 3 ครั้งเพื่อทำปฏิกิริยาพอดีกับกรดไขมันในน้ำมันที่ใช้เป็นสารตั้งต้นและทำให้เอนไซม์ไม่ถูกยับยั้งโดยเมธานอลที่มากเกินพอ

จากภาพที่ 2.3 ปฏิกิริยาในขั้นตอนแรกผสมน้ำมันพืชกับเมธานอลอัตราส่วน 1: 3 โดยโมลและเอนไซม์ไลเปส เมื่อเวลาผ่านไป 7 ชั่วโมง ได้ไบโอดีเซล 33.1% ปฏิกิริยาขั้นตอนที่สองเติมเมธานอลอัตราส่วน 1 : 3 โดยโมลลงในชั่วโมงที่ 10 หลังจาก 10 ชั่วโมงผ่านไปได้ไบโอดีเซล 66.4% ปฏิกิริยาในขั้นตอนที่สามเติมเมธานอลอัตราส่วน 1 : 3 โดยโมลที่ชั่วโมงที่ 24 หลังปฏิกิริยาเกิดสิ้นสุดจะได้ไบโอดีเซล 97.3%

จะเห็นได้ว่าปฏิกิริยาแบบครั้งคราว 3 ขั้นตอนมีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนน้ำมันเป็นไบโอดีเซลเกือบจะสมบูรณ์ เอนไซม์ที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาจะไม่ถูกยับยั้งในเมธานอลเพราะการเติมเมธานอลจะค่อยๆเติมอย่างต่อเนื่องเป็นระยะๆปฏิกิริยาแบบครั้งคราว 3 ขั้นตอนจะมีความเร็วใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเกิดปฏิกิริยาช้ากว่าปฏิกิริยาแบบ 2 ขั้นตอน แต่ให้การเปลี่ยนเป็นไบโอดีเซลได้สูงกว่าปฏิกิริยาแบบครั้งคราว 2 ขั้นตอน

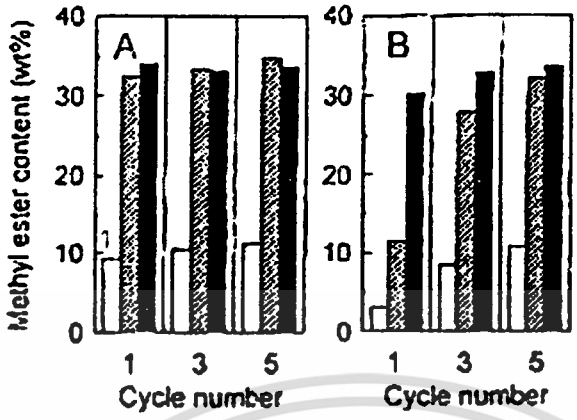
2.4.1.2 ตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตเชื้อเพลิงไบโอดีเซลด้วยปฏิกิริยาเมธานอไลซิสโดยใช้น้ำมันเหลือทิ้งจากการบริโภคในครัวเรือนเป็นวัตถุดิบ

ในปี ค.ศ. 2001 Shimada และคณะได้ศึกษาการผลิตเชื้อเพลิงไบโอดีเซลจากน้ำมันเหลือทิ้งจากการบริโภคในครัวเรือน เป็นการทดลองที่ได้รับความสนใจและมีความสำคัญในการช่วยลดและนำน้ำมันเหลือทิ้งกลับมาใช้ประโยชน์อีกครั้ง น้ำมันที่เหลือทิ้งที่ใช้เป็นวัตถุดิบมาจากน้ำมันที่ใช้แล้วตามบ้านเรือน น้ำมันจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร เป็นต้น การผลิตเชื้อเพลิงไบโอดีเซลในอุตสาหกรรมจากน้ำมันเหลือทิ้งจากการบริโภคในครัวเรือนจะใช้กระบวนการทางเคมีโดยใช้สารละลายด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

การใช้กระบวนการทางเคมีผลพลอยได้จากผลิตภัณฑ์คือ การเกิดสบู่ สบู่ที่เกิดขึ้นจะกำจัดโดยการล้างด้วยน้ำ การกำจัดสบู่จะรวมทั้งการกำจัดกลีเซอรอล เมธานอลและเอนไซม์ตัวเร่งปฏิกิริยา ดังนั้นน้ำที่ใช้ในการล้างสบู่ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาจึงทำให้เกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อม ในขณะที่การใช้กระบวนการทางเอนไซม์ไม่ทำให้เกิดผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม การใช้น้ำมันเหลือทิ้งจากการบริโภคเป็นวัตถุดิบมีผลกระทบจากน้ำและสิ่งปนเปื้อนรวมอยู่ด้วย นอกจากนี้ส่วนของกรดไขมันนั้นเมื่อโดนความร้อนและรวมตัวกับออกซิเจนในอากาศ (Oxidized) กรดไขมันจะเปลี่ยนเป็น aldehydes , epoxides , polymers และอื่นๆ เป็นต้น ดังนั้นการเปลี่ยนของน้ำมันเป็นไบโอดีเซลจะลดลง เนื่องจากกรดไขมันที่รวมตัวกับออกซิเจนไม่ทำปฏิกิริยากับ ไลเปสที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Nawar, 1984 , Cuesta, 1993)

นอกจากนี้ในน้ำมันที่ใช้แล้วมีน้ำปนเปื้อนอยู่ ซึ่งมีผลทำให้การเปลี่ยนของน้ำมันเป็นไบโอดีเซลน้อยกว่าน้ำมันพืชบริสุทธิ์ ในการทำปฏิกิริยาจะทำปฏิกิริยาซ้ำหลายๆครั้งเพื่อให้ปริมาณน้ำลดลงและช่วยให้การเปลี่ยนไบโอดีเซลได้เพิ่มขึ้น จากภาพที่ 2.4 วัตถุดิบที่ใช้คือน้ำมันพืชบริสุทธิ์และน้ำมันเหลือทิ้งจากการบริโภค เติมเมธานอลอัตราส่วน 1 : 3 โดยโมลและเอนไซม์ไลเปสทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทำปฏิกิริยาซ้ำทั้งหมด 1 , 3 และ 5 ครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.4 ปฏิกิริยาเมธานอไลซิสโดยใช้น้ำมันพืชบริสุทธิ์ (A) และน้ำมันเหลือทิ้งจากการบริโภคในครัวเรือน (B) เป็นวัตถุดิบ

หมายเหตุ แทนการเปลี่ยนน้ำมันเป็นไบโอดีเซลหลัง 1 ชั่วโมง

แทนการเปลี่ยนน้ำมันเป็นไบโอดีเซลหลัง 7 ชั่วโมง

แทนการเปลี่ยนน้ำมันเป็นไบโอดีเซลหลัง 24 ชั่วโมง

ที่มา : Shimada *et al* ., 2001

จากภาพที่ 2.4 ผลการเปรียบเทียบของการใช้น้ำมันทั้ง 2 ชนิดเป็นวัตถุดิบ หลังจากการเกิดปฏิกิริยาได้ 1 , 7 และ 24 ชั่วโมง โดยจากรูป A ใช้น้ำมันพืชบริสุทธิ์เป็นวัตถุดิบ การเปลี่ยนของน้ำมันเป็นไบโอดีเซลหลัง 1 ชั่วโมงเมื่อปฏิกิริยาทำซ้ำ 1 , 3 และ 5 ครั้ง ไบโอดีเซลที่ได้คือ 9.3 , 10.5 และ 11.2% ตามลำดับ แสดงว่าปฏิกิริยาจะค่อยๆเพิ่มเมื่อทำการทดลองซ้ำ ในการเกิดปฏิกิริยาหลังจาก 24 ชั่วโมง การเปลี่ยนของน้ำมันเป็นไบโอดีเซลจะคงที่ ในขณะที่รูป B วัตถุดิบที่ใช้จะเป็นน้ำมันเหลือทิ้งจากการบริโภค ซึ่งจะเห็นได้ว่าการเปลี่ยนเป็นไบโอดีเซลหลังจาก 1 ชั่วโมงเท่ากับ 3.0 , 8.3 และ 10.7% ในการทดลองใช้น้ำมันเหลือทิ้งจากการบริโภคจะให้ไบโอดีเซลที่น้อยกว่าการใช้น้ำมันพืชบริสุทธิ์เป็นวัตถุดิบ

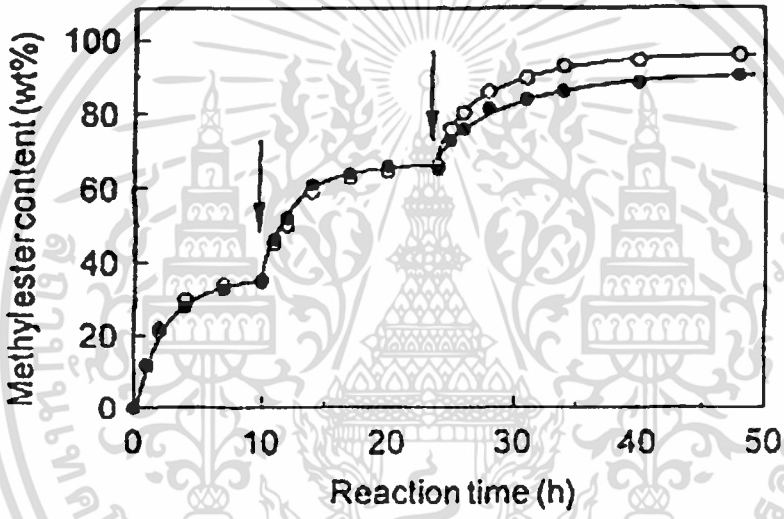
เนื่องจากการใช้น้ำมันเหลือทิ้งจากการบริโภคเป็นวัตถุดิบมีปริมาณน้ำที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำมันจึงทำให้ได้ไบโอดีเซลที่น้อยกว่า ดังนั้นการแก้ปัญหาปริมาณน้ำที่ปนเปื้อนโดยการทำปฏิกิริยาซ้ำหลายๆ ครั้งเพื่อเป็นการกำจัดน้ำออก โดยน้ำที่ปนอยู่ในน้ำมันตอนเริ่มต้นเมื่อถูกทำปฏิกิริยาครั้งแรกน้ำจะย้ายไปอยู่ในชั้นของกลีเซอรอลที่เป็นผลพลอยได้จากการผลิตไบโอดีเซล และน้ำจะถูกกำจัดไปพร้อมกับกลีเซอรอลทำให้การทำปฏิกิริยาครั้งต่อไปจะค่อยๆ เพิ่มปริมาณของไบโอดีเซลขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การผลิตไบโอดีเซลโดยใช้น้ำมันเหลือทิ้งเป็นวัตถุดิบโดยใช้ปฏิกิริยาเมธานอไลซิส เหมือนการใช้น้ำมันพืชบริสุทธิ์เป็นวัตถุดิบและใช้ปฏิกิริยาแบบครั้งคราว (batch reaction) ได้อธิบายดังต่อไปนี้

- ปฏิกิริยาแบบครั้งคราว (Batch reaction)

การศึกษาโดยใช้น้ำมันเหลือทิ้งโดยปฏิกิริยาแบบครั้งคราวจะใช้ปฏิกิริยา 3 ขั้นตอน เหมือนกับการใช้น้ำมันพืชบริสุทธิ์เป็นวัตถุดิบ แต่ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนเป็นไบโอดีเซลน้อยกว่า จากการทดลองปฏิกิริยาผสมน้ำมันกับเมธานอลอัตราส่วน 1 : 3 โดยโมลและเอนไซม์ไลเปสในการเติมเมธานอลจะเติมลงไปในชั่วโมงที่ 10 และชั่วโมงที่ 24 ดังแสดงในภาพที่ 2.5 ต่อไปนี้



ภาพที่ 2.5 ปฏิกิริยาเมธานอไลซิสแบบครั้งคราว 3 ขั้นตอน โดยใช้น้ำมันพืชบริสุทธิ์และน้ำมันเหลือทิ้งจากการบริโภคเป็นวัตถุดิบ ส่วนผสมในปฏิกิริยาน้ำมันเติมเมธานอลอัตราส่วน 1 : 3 โดยโมลและเอนไซม์ ลูกศรแสดงการเติมเมธานอลอัตราส่วน 1 : 3 โดยโมลลงในน้ำมันพืชบริสุทธิ์ (O) และน้ำมันเหลือทิ้งจากการบริโภคในครัวเรือน (●)

ที่มา : Shimada *et al* . , 2001

จากภาพที่ 2.5 การเกิดปฏิกิริยาเมธานอไลซิสแบบครั้งคราว 3 ขั้นตอน โดยวัตถุดิบที่ใช้คือ น้ำมัน 2 ชนิด น้ำมันพืชบริสุทธิ์และน้ำมันเหลือทิ้งจากการบริโภค จะเห็นได้ว่าปฏิกิริยาในขั้นตอนแรกและปฏิกิริยาในขั้นตอนที่สอง การเปลี่ยนน้ำมันเป็นไบโอดีเซลได้ไม่แตกต่างกันคือ 33 และ 66% แต่การใช้น้ำมันเหลือทิ้งเป็นวัตถุดิบในปฏิกิริยาขั้นตอนสุดท้ายการเปลี่ยนเป็นไบโอ-ดีเซลได้ 90.4% เมื่อเทียบกับการใช้น้ำมันพืชบริสุทธิ์แล้วในปฏิกิริยาสุดท้ายจะได้ไบโอดีเซลคือ 97.3%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการใช้น้ำมันเหลือทิ้งจากการบริโภคเป็นวัตถุดิบทำให้การเปลี่ยนของน้ำมันเป็นไบโอดีเซลน้อยกว่าการใช้น้ำมันพืชเป็นวัตถุดิบ เนื่องจากคุณสมบัติของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันเปลี่ยนแปลงไปตามที่กล่าวมาแล้วในตอนแรก แต่ในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ไลเปสสามารถใช้เร่งปฏิกิริยาได้ดีแม้จะใช้หลายๆ ครั้ง โดยในการใช้น้ำมันเหลือทิ้งจากการบริโภคเป็นวัตถุดิบ สิ่งปนเปื้อนที่อยู่ในน้ำมันเหลือทิ้งไม่มีผลต่อความคงตัวของไลเปส แต่มีต่อประสิทธิภาพในการเปลี่ยนของน้ำมันเป็นไบโอดีเซลเท่านั้น

2.4.1.3 การคัดเลือกเอนไซม์ที่เหมาะสมกับปฏิกิริยาเมธานอไลซิส

จากการวิจัยปฏิกิริยาเมธานอไลซิสได้ใช้น้ำมันพืชบริสุทธิ์และน้ำมันเหลือทิ้งจากการบริโภคเป็นสารตั้งต้นเพื่อทำปฏิกิริยากับเมธานอล นอกจากนี้ในปฏิกิริยายังต้องการตัวเร่งคือเอนไซม์ไลเปสช่วยเร่งปฏิกิริยาในการเปลี่ยนน้ำมันเป็นไบโอดีเซล การใช้เอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยามีความสำคัญมาก เมื่อทำการเปลี่ยนน้ำมันเป็นไบโอดีเซลได้อย่างมีประสิทธิภาพไม่เสียสภาพหลังจากทำปฏิกิริยาแล้ว และสามารถใช้เป็นตัวเร่งในปฏิกิริยาได้หลายๆ ครั้ง

ปัญหาหลักของการใช้เอนไซม์ในการผลิตไบโอดีเซลคือ ต้นทุนการผลิตค่อนข้างสูง เนื่องจากเอนไซม์ไลเปสมีราคาแพง รวมทั้งปัญหาความเสถียรภาพของเอนไซม์ในระหว่างการเร่งปฏิกิริยา ปัญหาดังกล่าวสามารถแก้ไขได้โดยการใช้เอนไซม์ในรูปของเอนไซม์ตรึงรูปหรือการตรึงเซลล์ที่ผลิตเอนไซม์ไลเปสแทนการใช้เอนไซม์อิสระ โดยวิธีนี้สามารถทำให้เอนไซม์กลับมาใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาได้หลายๆ ครั้ง เป็นการลดต้นทุนในการผลิต

ในการศึกษาไลเปส *Candida antarctica* ในการผลิตไบโอดีเซลจากตารางที่ 2.1 เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปจาก *Rizopus* และ *Fusarium* ต้องการน้ำเพียงเล็กน้อยในการทำปฏิกิริยา ดังนั้นในปฏิกิริยาขั้นตอนแรกส่วนผสมที่ใช้คือ น้ำมัน เมธานอล เอนไซม์ไลเปส และน้ำ ส่วนในปฏิกิริยาต่อมาเอนไซม์จะใสในส่วนผสมที่ไม่เติมน้ำ เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปจาก *Candida* และ *Rhizomucor* เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาได้ค่อนข้างดี โดยดูจากผลิตภัณฑ์ที่ได้ในการเปลี่ยนน้ำมัน

โดยเฉพาะเอนไซม์ไลเปส *Candida* เมื่อทำการทดลองซ้ำ ในปฏิกิริยาขั้นตอนที่สี่ปฏิกิริยาการเปลี่ยนของน้ำมันจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นจนถึง 33.1% ในขณะที่การเปลี่ยนของน้ำมันโดยใช้เอนไซม์ไลเปส *Rhizomucor* จะคงที่ ส่วนการใช้เอนไซม์ตัวอื่นๆ ในการเร่งปฏิกิริยาน้ำมันสามารถเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์ได้น้อยกว่า 10%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 ปฏิกิริยาเมธานอไลซิสของน้ำมันพืชโดยใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปชนิดต่างๆ

Lipase	Convertion (%)[b]			
	First	Second	Third	Fourth
Rhizomucor miehei	19.1	21.8	18.6	19.4
Candida antarctica	16.0	26.6	30.6	33.1
Rizopus delemar	2.0	0.5	0.3	0.5
Fusarium heterosporum	8.7	1.8	0.5	0.6
Aspergillus niger	0.4	0.5	0.5	0.6

หมายเหตุ b คือ อัตราการเปลี่ยนเป็นไบโอดีเซลโดยใช้น้ำมันพืชเป็นสารตั้งต้น

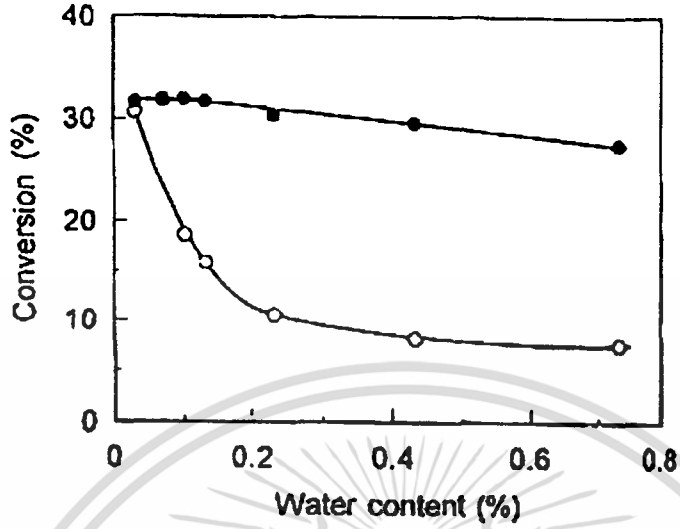
ที่มา : Shimada *et al* . , 1999

2.4.1.4 ผลกระทบที่มีต่อปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

ปริมาณน้ำ

จากการเติมน้ำในปฏิกิริยาขั้นตอนแรกที่ใช้ในการคัดเลือกเอนไซม์ พบว่าการเติมน้ำไม่จำเป็นต่อการเปลี่ยนแปลงปฏิกิริยาของเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปจาก *Candida antarctica* ผลกระทบของปริมาณน้ำในปฏิกิริยาเมธานอไลซิสของน้ำมันพืช โดยใช้เอนไซม์ไลเปส *Candida antarctica* ปฏิกิริยามีส่วนผสมคือ น้ำมัน เมธานอล เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปและปริมาณน้ำที่แตกต่างกันดังภาพที่ 2.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.6 ปริมาณน้ำที่มีผลต่อปฏิกิริยาเมธานอไลซิสของน้ำมันพืชโดยใช้เอนไซม์ไลเปส *Candida antarctica* ส่วนผสมของปฏิกิริยาคือ น้ำมัน เมธานอล เอนไซม์ไลเปสและปริมาณน้ำที่แตกต่างกัน ที่อุณหภูมิ 30 °C ให้ผลการเปลี่ยนของน้ำมันโดยใช้เวลา 6 ชั่วโมง (O) และการเปลี่ยนของน้ำมันโดยใช้เวลา 24 ชั่วโมง (●)

ที่มา : Shimada *et al* . , 1999

นอกจากนี้ปริมาณน้ำยังเป็นตัวยับยั้งปฏิกิริยาเมธานอไลซิส จากตารางที่2.3 จะเห็นได้ว่า การเปลี่ยนของน้ำมันเป็นไบโอดีเซลและการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส เมื่อมีการเติมน้ำในปริมาณที่แตกต่างกันในขั้นตอนแรก การเติมปริมาณน้ำลงไปในส่วนผสมทำให้ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเพิ่มขึ้น ในขณะที่การเปลี่ยนของน้ำมันเป็นไบโอดีเซลลดลง จากการเติมน้ำ 2% ทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสขึ้น 5.7% และการเปลี่ยนของน้ำมันเท่ากับ 6.7% การกำจัดน้ำที่มีอยู่ในปฏิกิริยาสามารถทำได้ โดยการทำปฏิกิริยาซ้ำๆ ทั้งหมด 5 ทำให้ผลของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสลดลงและการเปลี่ยนของน้ำมันเป็นไบโอดีเซลเพิ่มขึ้น เพราะน้ำที่เติมเข้าไปในปฏิกิริยาขั้นต้นถูกใช้จนหมดและไม่มีการเติมน้ำเข้าไปในปฏิกิริยาถัดมา ดังนั้นเอนไซม์ไลเปสจะถูกยับยั้งโดยปฏิกิริยาที่เติมน้ำแต่จะกลับมีประสิทธิภาพขึ้นได้โดยการเกิดปฏิกิริยาต่อๆ มาไม่มีการเติมน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 การยับยั้งปฏิกิริยาเมธานอไลซิสของน้ำมันพืชโดยแปรปริมาณน้ำ

Water[b](%)	First reaction		Fifth reaction		
	Conversion[c](%)	Hydrolysis (%)	Conversion[c](%)	Hydrolysis (%)	Water[d](%)
0	31.9	1.1	32.2	0.7	374
0.2	10.5	2.7	32.8	0.8	421
0.7	7.5	4.3	31.5	0.7	353
2.0	6.7	5.7	31.9	0.7	319

หมายเหตุ b แทนปริมาณของน้ำที่เติมในปฏิกิริยา

c แทนอัตราการเปลี่ยนของน้ำมันเป็นไบโอดีเซล

d แทนปริมาณน้ำที่ผสมอยู่ในปฏิกิริยาขั้นตอนที่ 5

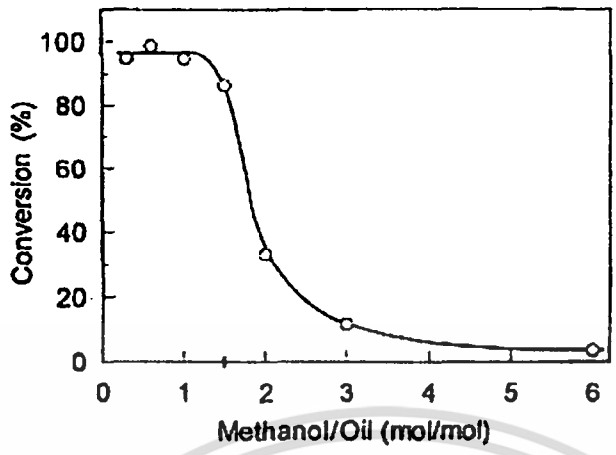
ที่มา : Shimada *et al* ., 1999

ปริมาณเมธานอล

การทำปฏิกิริยาของน้ำมันพืช เอนไซม์ไลเปสที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยใช้ปริมาณเมธานอลที่แตกต่างกันในภาพที่ 2.7 ปริมาณของการเติมเมธานอลที่แตกต่างกันมีผลต่อการเปลี่ยนของน้ำมันเป็นไบโอดีเซลในปฏิกิริยาเมธานอไลซิส เมื่อมีการเติมเมธานอลในอัตราส่วนที่มากกว่า 1.5 โดยโมล ลงในน้ำมันมีผลทำให้ปฏิกิริยาเมธานอไลซิสลดลง เอนไซม์ที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาจะเสียสภาพโดยการยับยั้งจากเมธานอลที่มีปริมาณมากในปฏิกิริยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

96875

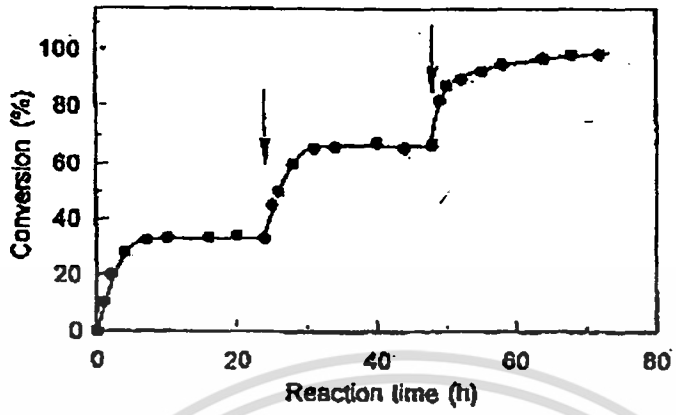


ภาพที่ 2.7 ปริมาณเมธานอลที่มีผลต่อปฏิกิริยาเมธานอไลซิสของน้ำมันพืช ปฏิกิริยาเริ่มต้นผสมน้ำมันและเอนไซม์ไลเปสทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง การเปลี่ยนน้ำมันเป็นไบโอดีเซลแตกต่างกันตามปริมาณเมธานอลที่เติมลงในปฏิกิริยา

ที่มา : Shimada *et al* ., 1999

นอกจากการเติมเมธานอลที่มากเกินพอในปฏิกิริยาจะยับยั้งเอนไซม์ให้เสียสภาพแล้วจึงได้มีการศึกษาการเติมเมธานอลโดยค่อยๆ เติมอย่างต่อเนื่องในปฏิกิริยาตัวอย่างในภาพที่ 2.8 แสดงช่วงเวลาการเติมเมธานอลในปฏิกิริยาทุก 24 ชั่วโมง ส่วนผสมคือ น้ำมันพืช เมธานอลอัตราส่วน 1 : 1 โดยโมล และเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida antarctica* เมธานอลจะเติมลงไปในปฏิกิริยาที่ละ 1 โมลในชั่วโมงที่ 24 และชั่วโมงที่ 48 เมธานอลที่ต้องการในการเปลี่ยนน้ำมันเป็นไบโอดีเซลอย่างน้อย 3 โมล เอนไซม์ไลเปสจะถูกยับยั้งได้ในปฏิกิริยาถ้าเติมมากกว่า 1 โมล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.8 ช่วงเวลาการเติมเมธานอลในปฏิกิริยาเมธานอไลซิสของน้ำมันพืช ปฏิกิริยามีส่วนผสมของน้ำมันเมธานอลอัตราส่วน 1 : 1 โดยโมลและเอนไซม์ไลเปส ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 30 ^{o}C ลูกศรเป็นการเติมเมธานอนอล 1 โมลในชั่วโมงที่ 24 และชั่วโมงที่ 48 ของปฏิกิริยา

ที่มา : Shimada *et al* ., 1999

จากภาพที่ 2.8 ที่เวลา 7 ชั่วโมง การเปลี่ยนของน้ำมันเป็นไบโอดีเซลได้ 32.5% และเติมเมธา-นอลครั้งที่สองอีก 1 โมลที่เวลา 24 ชั่วโมง หลังการเติมผ่านไป 7 ชั่วโมง การเปลี่ยนของน้ำมันพืชได้ 65.4% ต่อมามีการเติมเมธานอลครั้งที่สามที่เวลา 48 ชั่วโมง ปฏิกิริยาจะดำเนินต่อไปจนเปลี่ยนน้ำมันเป็นไบโอดีเซลได้ 98.4% ดังนั้นการเติมเมธานอลทีละขั้นตอนทำให้การเปลี่ยนเป็นไบโอดีเซลมีประสิทธิภาพเกือบสมบูรณ์

2.4.2 ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสร่วมกับเอสเทอริฟิเคชัน (Hydrolysis and Esterification)

การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันพืชโดยวิธีนี้จะอาศัยปฏิกิริยา 2 ขั้นตอนคือ ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส หรือการย่อยสลายพันธะเอสเทอร์ใน TAG โดยอาศัยเอนไซม์ไลเปส ซึ่งผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่เกิดขึ้นในขั้นตอนนี้ได้แก่ กรดไขมันอิสระและกลีเซอรอล กลีเซอรอลที่เกิดขึ้นสามารถแยกออกได้ง่ายเนื่องจากเกิดการแยกชั้นกับกรดไขมันอิสระ สำหรับปฏิกิริยาในขั้นตอนที่สองคือ เอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมันอิสระกับเมธานอล และผลิตภัณฑ์ที่ได้สุดท้ายคือ เมธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันหรือไบโอดีเซลนั่นเอง ในขั้นตอนของเอสเทอริฟิเคชันอาจทำให้เกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โดยเมธานอลที่มากเกินพอ ดังนั้นปริมาณของเมธานอลที่เติมลงในปฏิกิริยาจำเป็นต้องมีการศึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้เหมาะกับสารตั้งต้นและชนิดของเอนไซม์ไลเปส ซึ่งโดยทั่วไปปริมาณของเมธานอลต่อกรดไขมันอิสระจะอยู่ในช่วง 1 : 1 ถึง 5 : 1 โดยโมล

2.4.2.1 ตัวอย่างงานวิจัยการผลิตเชื้อเพลิงไบโอดีเซลด้วยปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันโดยใช้กรดไขมันเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมทูน่า

ในปี ค.ศ. 2002 Shimada และคณะ ได้ศึกษาการผลิตไบโอดีเซลจากกรดไขมันเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมทูน่า เนื่องจากในอุตสาหกรรมทูน่าจะให้กรดไขมันอิสระที่เป็นของเสียออกมา ซึ่งเป็นของเสียในอุตสาหกรรมที่ยากจะบำบัดเพราะกรดไขมันอิสระอยู่ในสภาพของแข็งที่อุณหภูมิห้อง Shimada และคณะได้พยายามเปลี่ยนกรดไขมันเหลือทิ้งให้เป็นไบโอดีเซลด้วยกระบวนการทางเอนไซม์ เนื่องจากกรดไขมันอิสระอยู่ในสภาวะของแข็งที่อุณหภูมิห้อง เมื่อทำปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันจะทำให้กรดไขมันอิสระมีจุดหลอมเหลวลดลง ทำให้ได้เอสเทอร์เป็นเชื้อเพลิงไบโอดีเซล

ในการผลิตไบโอดีเซลจากกรดไขมันเหลือทิ้งด้วยกระบวนการทางเคมีจะใช้เมธานอลและตัวเร่งปฏิกิริยาที่เป็นกรดเช่น กรดซัลฟูริก เป็นต้น เมื่อได้ผลิตภัณฑ์ไบโอดีเซลและจะต้องกำจัดตัวเร่งปฏิกิริยาออกไป โดยการทำให้เป็นกลางด้วยด่าง ในขั้นตอนนี้จะทำให้เกิดสบู่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ การกำจัดสบู่ที่เกิดขึ้นนี้ต้องใช้น้ำปริมาณมากในการล้างสบู่ ซึ่งน้ำที่ได้จากการล้างนี้ทำให้เกิดปัญหากับสิ่งแวดล้อมตามมา จากปัญหาที่เกิดขึ้นผู้ทำการทดลองได้ศึกษาแก้ปัญหาโดยใช้กระบวนการทางเอนไซม์ในการผลิตไบโอดีเซล

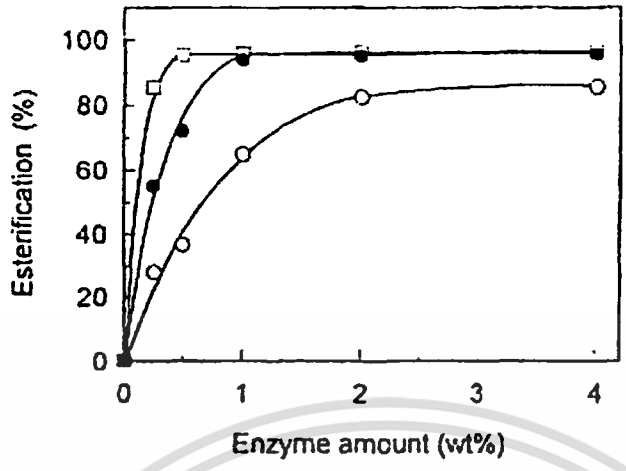
2.4.2.2 ผลกระทบที่มีต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน

ปริมาณเอนไซม์

จากการศึกษาโดยการผสมกรดไขมันเหลือทิ้งจากทูน่ากับเมธานอลอัตราส่วน 1 : 2 โดยโมลและปริมาณเอนไซม์ที่แตกต่างกัน เมื่อปฏิกิริยาเกิดขึ้นหลังจาก 1 , 3 และ 24 ชั่วโมง ดังภาพที่ 2.9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

20408



ภาพที่ 2.9 ปริมาณเอนไซม์ที่มีผลต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมันเหลือทิ้ง ในปฏิกิริยาผสมกรดไขมันกับเมธานอลอัตราส่วน 1 : 2 โดยโมลและปริมาณเอนไซม์ที่แตกต่างกัน ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 30 °C ให้ระดับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน 1 ชั่วโมง (O) ระดับปฏิกิริยาหลัง 3 ชั่วโมง (●) และระดับปฏิกิริยาหลัง 24 ชั่วโมง (□)

ที่มา : Shimada *et al* ., 2002

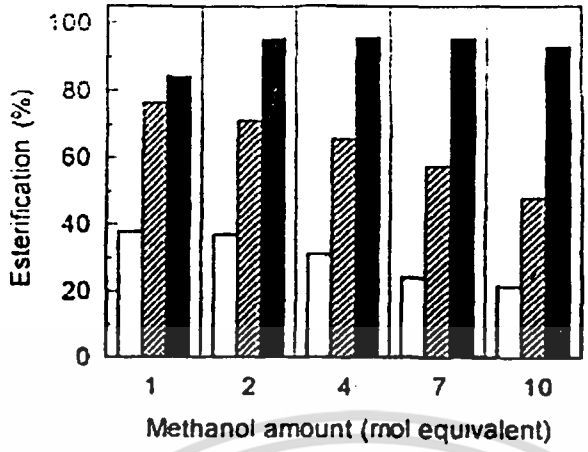
จากภาพที่ 2.9 ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นหลังจาก 1 ชั่วโมงและ 3 ชั่วโมง ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันขึ้นอยู่กับปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ในปฏิกิริยาและปฏิกิริยาที่เกิดหลัง 24 ชั่วโมง ระดับของการเกิดปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันสูงถึง 95% โดยเอนไซม์ไลเปสที่ใช้น้อยกว่า 0.5 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นในการเกิดปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันจึงใช้เอนไซม์ไลเปส 0.5 หรือ 1 เปอร์เซ็นต์

ปริมาณเมธานอล

จากการศึกษาโดยการผสมกรดไขมันเหลือทิ้งกับเอนไซม์ไลเปสตรึงรูป 0.5% ปริมาณเมธานอลที่แตกต่างกัน เมื่อปฏิกิริยาเกิดขึ้นหลังจาก 1 , 3 และ 24 ชั่วโมง ดังภาพที่ 2.10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง



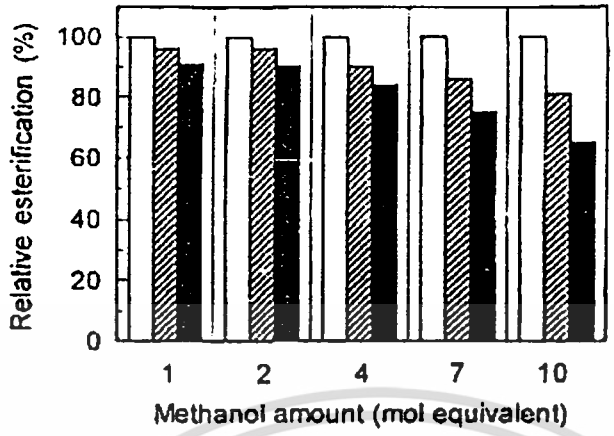
ภาพที่ 2.10 ปริมาณเมธานอลที่มีผลต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมัน ในปฏิกิริยาจะผสมกรดไขมันกับเอนไซม์ไลเปส และปริมาณเมธานอลที่แตกต่างกัน ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 30 °C ระดับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันหลัง 1 ชั่วโมง (□) ระดับของปฏิกิริยาหลัง 7 ชั่วโมง (▨) และระดับของปฏิกิริยาของปฏิกิริยาหลัง 24 ชั่วโมง (■)

ที่มา : Shimada *et al* . , 2002

จากภาพที่ 2.10ระดับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันหลังจาก 1 และ 3 ชั่วโมงลดลงเมื่อปริมาณเมธานอลเพิ่มขึ้น แสดงว่าปริมาณเมธานอลที่เพิ่มขึ้นจะไปยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาเอสเทอริฟิ-เคชัน แต่ระดับการเกิดปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันหลังจาก 24 ชั่วโมงคือ 84.3% โดยเมธานอลที่ใช้ในอัตราส่วน 1 : 1 โดยโมล เมื่อมีการเติมเมธานอลเพิ่มขึ้นระดับของปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันจะไม่เพิ่มขึ้นมากกว่า 95%

นอกจากปริมาณเมธานอลที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาแล้ว ปริมาณของเมธานอลที่ความเข้มข้นสูงยังมีผลในการยับยั้งเอนไซม์ไลเปสในการเกิดปฏิกิริยา โดยทำการวิเคราะห์ความเสถียรของเอนไซม์ด้วยการทำปฏิกิริยาซ้ำกัน 5 ครั้ง และเมื่อทำปฏิกิริยาครบ 24 ชั่วโมงจะเริ่มการทำปฏิกิริยาใหม่โดยเอนไซม์ตัวเดิม ดังภาพที่ 2.11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.11 การยับยั้งเอนไซม์โดยเมธานอลที่มากเกินพอ ปฏิกิริยาจะย้ายเอนไซม์ไปยังสารตั้งต้นใหม่ทุกๆ 24 ชั่วโมง ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันครั้งที่หนึ่ง (□) ปฏิกิริยาทำซ้ำ 3 ครั้ง (▨) และปฏิกิริยาทำซ้ำ 5 ครั้ง (■)

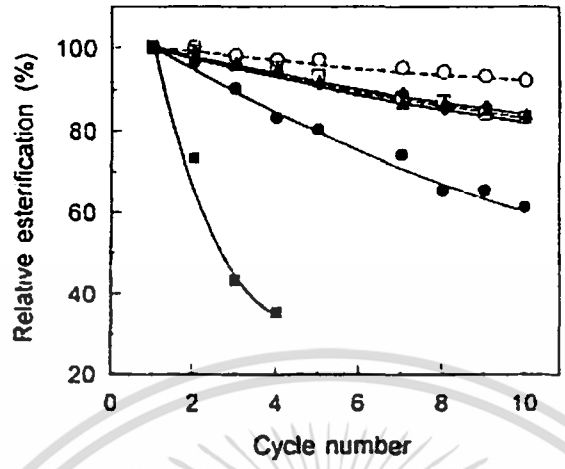
ที่มา : Shimada *et al* . , 2002

จากภาพที่ 2.11 การทำปฏิกิริยาซ้ำ 1 , 3 และ 5 ครั้ง พบว่าปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันเติมเมธานอลอัตราส่วน 1 : 1 โดยโมลและอัตราส่วน 1 : 2 โดยโมล ระดับของปฏิกิริยาที่ทำซ้ำ 5 ครั้ง จะลดลงถึง 90% และลดลงมากขึ้นเมื่อเมธานอลอัตราส่วนมากกว่า 1 : 4 โดยโมล แสดงว่าเอนไซม์ไม่เสถียรในปริมาณเมธานอลที่มาก

อุณหภูมิในการเกิดปฏิกิริยา

การศึกษาผสมกรดไขมันเหลือทิ้งกับเมธานอลอัตราส่วน 1 : 2 โดยโมลและเอนไซม์ไลเปส 0.5% โดยน้ำหนัก อุณหภูมิที่ใช้ในปฏิกิริยาอยู่ในช่วง 20 ถึง 50 องศาเซลเซียส ดังภาพที่ 2.12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.12 การยับยั้งเอนไซม์ไลเปสโดยอุณหภูมิที่ต่างกัน โดยผสมกรดไขมันกับเมธานอลอัตราส่วน 1 : 2 โดยโมลและเอนไซม์ไลเปสโดยอุณหภูมิที่ใช้แบ่งเป็น 20 องศาเซลเซียส (♦) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (▲) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (●) และอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (■)

ที่มา : Shimada *et al* ., 2002

จากภาพ 2.12 จะเห็นได้ว่าปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 20 , 30 , 40 และ 50 องศาเซลเซียส ระดับของปฏิกิริยาได้ 29.6 , 35.2 , 39.2 และ 44.7% ตามลำดับ แสดงว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาคือ มากกว่า 50 องศาเซลเซียส

ปริมาณน้ำที่เกิดในปฏิกิริยา

ในการเกิดปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันแบบขั้นตอนเดียวเมื่อเติมเมธานอลอัตราส่วน 1 : 2 โดยโมล การเกิดปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันสูงถึง 95% โดยในปฏิกิริยายังไม่กำจัดน้ำที่เกิดขึ้นออก ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันจะเพิ่มสูงขึ้น โดยการกำจัดน้ำที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์และใช้เป็นสารตั้งต้นในการเกิดปฏิกิริยาซ้ำต่อไป

ในการเกิดปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันแบบสองขั้นตอน ในปฏิกิริยาขั้นตอนแรกเติมเมธานอลอัตราส่วน 1 : 2 โดยโมลใช้เอนไซม์ 1.0% โดยน้ำหนัก ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ระดับปฏิกิริยาที่ได้คือ 82.5% ส่วนผสมที่ได้จากการเกิดปฏิกิริยาจะแยกชั้นน้ำมันกับชั้นน้ำโดยใช้ stand นำชั้นของน้ำมันมาทำปฏิกิริยาทั้งๆ ที่ชั้นนี้ยังมีปริมาณน้ำปนอยู่ ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เติมเมธานอลอัตราส่วน 1 : 1 , 1 : 5 และ 1 : 10 โดย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โมล เพื่อทำปฏิกิริยากับกรดไขมันที่เหลืออยู่และเติมเอนไซม์ไลเปส 1.0% โดยน้ำหนัก ทำให้ได้ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน 43.1 , 64.7 และ 68.2% ตามลำดับ

ในขณะที่อีกวิธีหนึ่งกำจัดน้ำที่มีในชั้นน้ำมันและทำปฏิกิริยาโดยเติมเมธานอลอัตราส่วน 1 : 1 , 1 : 5 และ 1 : 10 โดยโมล และเติมเอนไซม์ 1.0% โดยน้ำหนัก ดังแสดงนำตารางที่ 2. 4 ต่อไปนี้

ตารางที่ 2.4 ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันแบบสองขั้นตอนของกรดไขมันเหลือทิ้ง

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

หมายเหตุ a แทนการผสมกรดไขมันกับเมธานอล และเอนไซม์ไลเปส ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

b แทนส่วนผสมในปฏิกิริยาขั้นตอนแรกที่แยกชั้นน้ำและน้ำมัน โดยชั้นน้ำมันนำมากำจัดน้ำแล้วเติมเมธานอลอัตราส่วน 1 : 1 , 1 : 5 และ 1 : 10 โดยโมล ตามด้วยเอนไซม์ไลเปส

ที่มา : Shimada *et al* . , 2002

จากตารางที่ 2.4 จะเห็นได้ว่าปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันมีค่า 53.8 , 82.1 และ 81.4% ตามลำดับ ในการเติมเมธานอลอัตราส่วน 1 : 5 โดยโมลจากปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันทั้งหมด 96.9% การกำจัดน้ำออกจากปฏิกิริยาทำให้ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันทั้งหมดมีค่าใกล้เคียง 97% ในการศึกษาอีกวิธีหนึ่งใช้กรดไขมันเหลือทิ้งทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เติมเมธานอลอัตราส่วน 1 : 2 โดยโมลและเอนไซม์ไลเปส 1.0% โดยน้ำหนัก จากตารางที่ 2.3 ทำให้ได้ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน 95.2% นำส่วนผสมที่ได้จากปฏิกิริยากำจัดน้ำออกและทำปฏิกิริยาที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เติมเมธานอลอัตราส่วน 1 : 1 , 1 : 5 และ 1 : 10 โดยโมลและเติมเอนไซม์ไลเปส ได้ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน 26.5 , 52.0 และ 54.8% ตามลำดับ จากตารางการเติมเมธานอลอัตราส่วน 1 : 5 โดยโมล ให้ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันทั้งหมด ของการเปลี่ยนกรดไขมันเป็นไบโอดีเซล 97.7% ดังนั้นการเปลี่ยนของน้ำมันโดยใช้เมธานอลที่สูงกว่า 1% มีผลต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันในปฏิกิริยาขึ้นตอนแรก จากผลในตารางทำให้ในการศึกษาสามารถเติมเมธานอล 1 : 1 โดยโมลในปฏิกิริยาขั้นตอนแรกและเติมเมธานอล 1 : 5 โดยโมลในขั้นตอนที่สอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 อุปกรณ์

- เครื่องเขย่า (GLF 3017 , Germany)
- เครื่องปั่น
- เครื่องหมุนเหวี่ยง (Hettic EBA 3S)
- หลอดหมุนเหวี่ยงพลาสติก
- เครื่องระเหยแบบสูญญากาศ (BUCHI Roravapor R-114 , Switzerland)
- เครื่อง cooling (CTL 911 , Thailand)
- ตู้อบลมร้อน (memmert M15 , Germany)
- เครื่องชั่ง
- พีเอชมิเตอร์
- ชุดรีฟลักซ์
- ชุดเครื่องมือสกัด
- โถดูดความชื้น
- aluminium can
- เทอร์โมมิเตอร์
- magnetic stirrer
- magnetic bar
- บิวเรตและขาตั้ง
- กรวยกรอง
- หลอดหยด
- แท่งแก้วคน
- ช้อนตักสาร
- ถุงมือทนกรด
- จุกยางปิดขวดรูปชมพู่เบอร์ 10
- ขวดรูปชมพู่ขนาด 50 , 125 , 250 , 500 มิลลิลิตร
- กระบอกตวงขนาด 10 , 50 , 100 มิลลิลิตร
- บีกเกอร์ขนาด 100 , 250 , 600 , 1000 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 , 250 , 500 , 1000 มิลลิลิตร
- ปิเปตขนาด 1 , 5 , 10 , 50 มิลลิลิตร
- กระดาษวัดพีเอชช่วง 0-14
- กระดาษกรองเบอร์ 4
- อลูมิเนียมฟลอยด์

3.2 วัตถุดิบ

- น้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ ยี่ห้อ หยก ผลิตโดย บริษัท ล่ำสูง (ประเทศไทย) จำกัด (มหาชน)
- น้ำมันปาล์มที่เหลือทิ้งจากการทอดอาหาร ได้รับความอนุเคราะห์จาก บริษัท เทสโก้ โลตัส สาขาซีคอนสแควร์ ตัวอย่างที่ได้จะนำมากรองเพื่อกำจัดอนุภาคของแข็ง และเก็บไว้ในขวดพลาสติกโดยนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปใช้ในการทดลองต่อไป
- เอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* ผลิตโดย Meito Sangyo Co. ประเทศญี่ปุ่น

3.3 สารเคมี

- แอลกอฮอล์ 95%
- โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์
- โซเดียมไฮดรอกไซด์
- กรดไฮโดรคลอริก
- ฟีนอล์ฟทาลีน
- เมธานอล
- olive oil
- กัมอะราบิค
- โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8.0
- ไทมอลทาลีน
- เฮกเซน
- Na_2SO_4 (anhydrous)
- $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$
- $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$
- $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- $Na_2HPO_4 \cdot 0H_2O$
- กรดโอเลอิก

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การวัดแอคติวิตีของเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa*

การวัดแอคติวิตีของเอนไซม์ไลเปสจะใช้วิธีที่รายงานโดย Pinsirodom และ Parkin (2001) โดยใช้อิมัลชันของ olive oil เป็นสับสเตรทซึ่งเตรียมโดยใช้ส่วนผสมของ olive oil 12.5 กรัม กัม-อะราบิค (gum arabic) 12.5 กรัม และ โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8.0 250 มิลลิลิตร นำสารละลายปฏิกิริยาที่ได้มาปั่นด้วยเครื่องปั่นที่ความเร็วสูงสุดเป็นเวลา 3 นาที จะได้สารละลายปฏิกิริยาที่มีลักษณะเป็นอิมัลชันสีขาวขุ่น ถ่ายสับสเตรทที่เตรียมได้ลงในบีกเกอร์และกวนตลอดเวลาด้วย magnetic stirrer ปิเปตสับสเตรทปริมาณ 50 มิลลิลิตรใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ที่ทำการกวนตลอดเวลา จากนั้นเติมผงเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* ปริมาณ 5 มิลลิกรัม พร้อมกับคนตลอดเวลาด้วย magnetic stirrer เก็บตัวอย่างปริมาณ 5 มิลลิลิตร ที่เวลาของปฏิกิริยาเท่ากับ 2.5 , 5 , 10 , 15 และ 20 นาที ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 50 มิลลิลิตร ที่มีเอธานอล 95% ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และไทมอลทาลีน 3 หยด นำไปไตเตรตกับสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 0.05 นอร์-มอล จดปริมาตรสารละลาย NaOH ที่ใช้ จากนั้นเตรียมสารละลายปฏิกิริยาเพื่อเปรียบเทียบ (blank) โดยปิเปตสับสเตรทปริมาณ 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ที่มีเอธานอล 95% ปริมาณ 10 มิลลิลิตร และไทมอลทาลีน 3 หยด ไตเตรตกับสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 0.05 นอร์มอล จดปริมาตรสารละลาย NaOH ที่ใช้ นำผลการทดลองที่ได้มาคำนวณหาค่าปริมาณกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นจากสูตร

$$\text{ปริมาณกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้น (ไมโครโมล / มิลลิลิตร)} = \frac{(\text{มิลลิกรัมของ NaOH ที่ใช้ในการไตเตรทตัวอย่าง} - \text{มิลลิลิตรของ NaOH ที่ใช้ไตเตรท blank}) \times (\text{ความเข้มข้นของ NaOH}) \times 1000}{5 \text{ มิลลิลิตร}}$$

นำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่าง เวลาในการทำปฏิกิริยา กับ ปริมาณกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นหาค่าความชันจากกราฟและคำนวณหาแอคติวิตีของเอนไซม์ โดยกำหนดให้ 1 ยูนิตเอนไซม์เท่ากับปริมาณที่เปลี่ยนสับสเตรท (olive oil) ให้เป็นผลิตภัณฑ์ (กรดไขมันอิสระ) 1 ไมโครโมลต่อนาที ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส และ pH 8.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.2 การเตรียมกรดไขมันอิสระจากน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์และน้ำมันปาล์มที่เหลือทิ้งจากการทอดอาหารโดยวิธี saponification

เตรียมสารละลายปฏิกิริยา คือ น้ำมันปาล์ม 100 กรัม ผสมกับสารละลาย NaOH ในแอลกอฮอล์ (NaOH 250 กรัม ละลายในเอธานอล 400 มิลลิลิตร) ในขวดก้นกลมขนาด 1 ลิตร นำไปรีฟลักซ์เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส และกวนตลอดเวลา จากนั้นนำสารละลายปฏิกิริยามาปรับให้มี pH เท่ากับ 1 โดยใช้ HCl 6 นอร์มอล (ใช้กระดาษวัด pH ในการตรวจสอบ pH ของสารละลายปฏิกิริยา) จะเห็นการแยกชั้นของไขมันอย่างชัดเจน นำสารละลายปฏิกิริยาที่ได้ใส่ลงในกรวยแยกขนาด 1 ลิตร เติมเฮกเซนปริมาณ 100 มิลลิลิตร เขย่าผสมจากนั้นแยกส่วนของเฮกเซนที่มีกรดไขมันละลายอยู่ (ชั้นล่าง) ใส่ในกรวยแยกอีกอันหนึ่ง จากนั้นนำส่วนของ aqueous phase (ชั้นบน) มาสกัดด้วยเฮกเซนซ้ำอีก 2 ครั้ง (รวมปริมาณเฮกเซนที่ใช้เท่ากับ 300 มิลลิลิตร) เก็บรวบรวมชั้นเฮกเซนที่มีกรดไขมันที่สกัดได้ในแต่ละครั้งนำไปกรองผ่าน Na_2SO_4 (anhydrous) โดยใช้กระดาษกรองเบอร์ 4 จากนั้นระเหยเฮกเซนออกที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ เก็บตัวอย่างกรดไขมันที่ได้ในขวดสีชาที่ 5-8 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.4.3 วิธีหาค่า acid value (AV)

การติดตามความก้าวหน้าของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสหรือปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันจะใช้วิธีติดตามค่า AV ที่เพิ่มขึ้น หรือ ค่า AV ที่ลดลง ตามลำดับ ซึ่งค่า AV หมายถึง จำนวนมิลลิกรัมของ KOH ที่ใช้ในการสะเทิน (neutrulize) กรดไขมันอิสระที่มีอยู่ในไขมันหรือน้ำมัน 1 กรัม โดยที่ตัวอย่างน้ำมันที่ TAG ถูกย่อยสลายและเปลี่ยนเป็นกรดไขมันอิสระมากขึ้นจะมีค่า AV สูงขึ้น และในกรณีของตัวอย่างของกรดไขมันอิสระเกิดปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันกับเมธานอลมากขึ้นก็จะมีค่า AV ลดลง

สำหรับการหาค่า AV นั้น ทำได้โดยชั่งตัวอย่างน้ำมันในข้อ 3.4.2 หรือตัวอย่างของสารละลายปฏิกิริยามาประมาณ 1.5-2.0 กรัม ใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมเอธานอล 95% ปริมาตร 30 มิลลิลิตร หยดสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 3 หยด นำไปไตเตรตกับสารละลาย KOH ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล นำผลการทดลองที่ได้มาคำนวณหาค่า AV ดังนี้

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.4 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มโดยเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa*

3.4.4.1 ศึกษาปริมาณน้ำที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

ทำการทดลองโดยเตรียมขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ที่มีน้ำหนักรวมของสารละลายปฏิกิริยาคือ ตัวอย่างน้ำมันปาล์มและน้ำเท่ากับ 70 กรัม โดยแปรปริมาณน้ำกลั่น 5 ระดับ คือ 10 , 20 , 30 , 40 และ 50% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยา จากนั้นเติมผงเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* ลงในแต่ละขวดปริมาณ เท่ากันคือ 200 ยูนิตต่อกรัมของสารละลายปฏิกิริยา นำขวดรูปชมพู่ทั้งหมดเข้าเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างประมาณ 5 กรัม ที่เวลาของปฏิกิริยาเท่ากับ 1 , 3 , 6 , 9 , 12 และ 24 ชั่วโมง นำสารละลายปฏิกิริยาที่ได้ไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 40 นาที นำชั้นน้ำมัน (ชั้นบน) ไปวิเคราะห์หาค่า AV ตามวิธีในข้อ 3.4.3 คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสโดยใช้ค่า AV ของกรด ไขมันอิสระของตัวอย่างน้ำมันปาล์มทั้งสองชนิดที่ได้จากการเตรียมโดยปฏิกิริยา saponification เป็นมาตรฐาน 100% ไฮโดรไลซิส (ดูตัวอย่างการคำนวณในภาคผนวก) นำค่าที่ได้มาเขียนกราฟระหว่างเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสกับเวลาในการทำปฏิกิริยา พิจารณาปริมาณน้ำที่เหมาะสมที่ทำให้เกิดเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสมากที่สุด

3.4.4.2 ศึกษาปริมาณเอนไซม์ไลเปสที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

ทำการทดลองโดยเลือกสภาวะของปริมาณน้ำที่เหมาะสมซึ่งได้จากการทดลองข้อ 3.4.4.1 เตรียมขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ที่มีน้ำหนักรวมของสารละลายปฏิกิริยา คือ ตัวอย่างน้ำมันและน้ำเท่ากับ 70 กรัม โดยแปรปริมาณเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* ต่าง ๆ กันในช่วง 25-300 ยูนิตต่อกรัมสารละลายปฏิกิริยา นำขวดรูปชมพู่เข้าเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างและทำการทดลองเหมือนข้อ 3.4.4.1 ทุกประการ

3.4.5 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน

3.4.5.1 การเตรียมกรดไขมันอิสระจากน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์และน้ำมันปาล์มที่เหลือทิ้งจากการทอดอาหาร

การเตรียมกรดไขมันอิสระจากน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์และน้ำมันปาล์มที่เหลือทิ้งจากการทอดอาหารโดยใช้วิธี saponification เช่นเดียวกับที่กล่าวไว้ในข้อ 3.4.2 ทุกประการ เก็บรวบรวมกรดไขมันอิสระที่ได้โดยนำตัวอย่างกรดไขมันอิสระที่ได้ไปวิเคราะห์หาค่า AV ตามวิธีในข้อ 3.4.3 เก็บรวบรวมกรดไขมันอิสระที่ได้ในขวดสีชาที่ 5-8 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.5.2 การศึกษาปริมาณเมธานอลที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน

ทำการทดลองโดยเตรียมขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ที่มีน้ำหนักรวมของสารละลายปฏิกิริยาคือ ตัวอย่างกรดไขมันอิสระที่ได้จากข้อ 3.4.5.1 และเมธานอลเท่ากับ 70 กรัม โดยแปรปริมาณเมธานอล 5 ระดับคือ 10 , 20 , 30 , 40 และ 50% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยา จากนั้นเติมผงเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* ลงในแต่ละขวด ปริมาณเท่ากันคือ 200 ยูนิตต่อกรัมของสารละลายปฏิกิริยา นำขวดรูปชมพู่ทั้งหมดเข้าเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างประมาณ 5 กรัม ที่เวลาของปฏิกิริยาเท่ากับ 1, 3 , 6 , 9 , 12 และ 24 ชั่วโมง นำสารละลายปฏิกิริยาที่ได้ไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 40 นาที นำชั้นน้ำมัน(ชั้นบน) ไปวิเคราะห์หาค่า AV ตามวิธีในข้อ 3.4.3 คำนวณหาเปอร์เซนต์เอสเทอริฟิเคชัน โดยใช้ค่า AV เริ่มต้นของสารละลายปฏิกิริยาในแต่ระดับปริมาณเมธานอลมาคำนวณตามสมการต่อไปนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชัน} = \frac{AV_{\text{เริ่มต้น}} - AV_{\text{ที่เวลาใดๆ}}}{AV^{*}_{\text{เริ่มต้น}}} \times 100$$

* เป็น $AV_{\text{เริ่มต้น}}$ ของชั้นไขมันที่ได้จากการเหวี่ยงแยกสารละลายปฏิกิริยาที่แต่ละระดับปริมาณเมธานอล

นำค่าที่ได้มาเขียนกราฟระหว่างเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันกับเวลาในการทำปฏิกิริยา พิจารณาปริมาณเมธานอลที่เหมาะสมที่ทำให้เกิดเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันมากที่สุด

3.4.5.3 การศึกษาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน

ทำการทดลองโดยเลือกสภาวะของปริมาณเมธานอลที่เหมาะสม ซึ่งได้จากการทดลองข้อ 3.4.5.2 เตรียมขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ที่มีน้ำหนักรวมของสารละลายปฏิกิริยาคือ ตัวอย่างกรดไขมันอิสระและเมธานอลเท่ากับ 70 กรัม โดยแปรปริมาณเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* ต่างๆกันในช่วง 200-500 ยูนิตต่อกรัมสารละลายปฏิกิริยา นำขวดรูปชมพู่เข้าเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างและทำการทดลองเหมือนข้อ 3.4.5.2 ทุกประการ แต่ในการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันใช้ค่า AV เริ่ม-ต้นของตัวอย่างสารละลายปฏิกิริยาตามสภาวะที่เหมาะสมของปริมาณเมธานอล ซึ่งได้จากการทดลองข้อ 3.4.5.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.5.4 การศึกษาผลของ water activity (a_w) ต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน

การควบคุม water activity ของปฏิกิริยาจะใช้วิธีที่รายงานโดย Halling , P. J. 1992 . Salt hydrates for water activity control with biocatalysis in organic media . Biotechnol . Teahniques . : 271-276 . โดยใช้ $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ กับ $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ ซึ่งให้ค่า a_w เท่ากับ 0.85 , $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ กับ $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ มีค่า a_w เท่ากับ 0.65 และ $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ กับ $Na_2HPO_4 \cdot 0H_2O$ ให้ค่า a_w เท่ากับ 0.18 ที่อุณหภูมิ 30 ^oC ทำการทดลองโดยเตรียมขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ที่มีน้ำหนักรวมของสารละลายปฏิกิริยาคือ ตัวอย่างกรดไขมันอิสระที่ได้จากข้อ 3.4.5.1 และเมธานอลเท่ากับ 70 กรัม โดยใช้ปริมาณเมธานอล 40% โดยน้ำหนักของสารละลายลายปฏิกิริยา จากนั้นเติมเกลือ Na_2HPO_4 ปริมาณอย่างละ 3 กรัม รวม 6 กรัม ในแต่ละชุดการทดลอง นำขวดรูปชมพู่ทั้งหมดเข้าเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เติมผงเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* ลงในแต่ละชุดการทดลองปริมาณเท่ากันคือ 200 ยูนิตต่อกรัมของสารละลายปฏิกิริยา เขย่าที่ความเร็วรอบเท่าเดิม เก็บตัวอย่างที่เวลาของปฏิกิริยาเท่ากับ 1 , 6 , 12 และ 24 ชั่วโมง และทำการทดลองเหมือนข้อ 3.4.5.2 ทุกประการ แต่ในการคำนวณเปอร์เซ็นเอสเทอริฟิเคชันใช้ค่า AV เริ่มต้นของตัวอย่างสารละลายปฏิกิริยาที่มีเมธานอล 40% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยา ทำการวิเคราะห์ค่า AV ตามวิธีในข้อ 3.4.3

3.4.5.5 การศึกษาผลของปริมาณน้ำต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน

ทำการทดลองโดยเตรียมขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ที่มีน้ำหนักรวมของสารละลายปฏิกิริยาคือ ตัวอย่างกรดไขมันอิสระที่ได้จากข้อ 3.4.5.1 , เมธานอล และน้ำเท่ากับ 70 กรัม โดยใช้ปริมาณเมธานอล 40% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยา และแปรปริมาณน้ำ 2 ระดับ คือ 10 และ 20% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยา จากนั้นเติมผงเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* ลงในแต่ละขวดปริมาณเท่ากันคือ 200 ยูนิตต่อกรัมของสารละลายปฏิกิริยา นำขวดรูปชมพู่เข้าเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างที่เวลาของปฏิกิริยาเท่ากับ 1 , 3 , 6 และ 24 ชั่วโมง และทำการทดลองเหมือนข้อ 3.4.5.2 ทุกประการ แต่ในการคำนวณเปอร์เซ็นค่าเอสเทอริฟิเคชันใช้ค่า AV เริ่มต้นที่หาได้โดยน้ำหนักรวมของสารละลายปฏิกิริยาคือ ตัวอย่างกรดไขมันอิสระที่ได้ , เมธานอลและน้ำ เท่ากับ 70 กรัม โดยแปรปริมาณน้ำ 2 ระดับคือ 10 และ 20% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยา ทำการวิเคราะห์ค่า AV ตามวิธีในข้อ 3.4.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.5.6 การศึกษาปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดโอเลอิกและเมธานอล

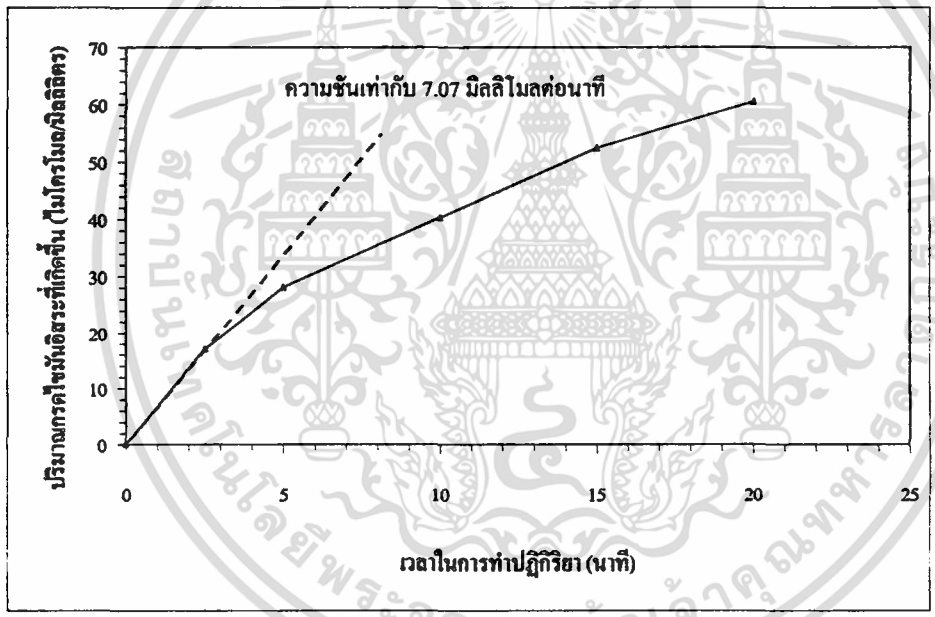
ทำทดลองโดยเตรียมขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ที่มีน้ำหนักรวมของสารละลายปฏิกิริยาคือ กรดโอเลอิกและเมธานอล เท่ากับ 70 กรัม โดยใช้ปริมาณเมธานอล 40% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยา จากนั้นเติมเกลือ $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ กับ $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ ปริมาณอย่างละ 3 กรัม ในหนึ่งชุดการทดลองเพื่อควบคุม a_w ของสารละลายปฏิกิริยาให้มีค่าประมาณ 0.85 ที่อุณหภูมิ 30 ^{o}C และอีกหนึ่งชุดการทดลองไม่เติมเกลือ นำชุดการทดลองที่เติมเกลือเข้าเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที นำชุดการทดลองทั้งสองชุดเติมเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* ลงในแต่ละชุดการทดลองปริมาณเท่ากันคือ 200 ยูนิตต่อกรัมของสารละลายปฏิกิริยา เขย่าที่ความเร็วรอบเท่าเดิม เก็บตัวอย่างและทำการทดลองเหมือนข้อ 3.4.5.2 ทุกประการ แต่ในการคำนวณเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันใช้ค่า AV เริ่มต้นที่หาได้โดยน้ำหนักรวมของสารละลายปฏิกิริยาคือ กรดโอเลอิกและเมธานอล เท่ากับ 70 กรัม โดยใช้เมธานอล 40% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยา ทำการวิเคราะห์ตามวิธีในข้อ 3.4.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลอง

4.1 การวัดแอคติวิตีของเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa*

จากการวัดแอคติวิตีของเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* โดยใช้อิมัลชันของ olive oil เป็นสับสเตรท และติดตามปริมาณกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ไลเปสโดยไตเตรทกับสารละลาย NaOH นำผลการทดลองที่ได้มาคำนวณหาค่าปริมาณกรดไขมันอิสระ (ดูตัวอย่างในการคำนวณในภาคผนวก ข.) นำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่างเวลาในการทำปฏิกิริยากับปริมาณกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้น ดังแสดงในภาพที่ 4.1



ภาพที่ 4.1 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการทำปฏิกิริยาและปริมาณกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นจากการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa*

จากภาพที่ 4.1 จะเห็นได้ว่าค่าความชันของเส้นตรงเท่ากับ 7.07 มิลลิโมลต่อนาที โดยกำหนดให้ 1 ยูนิตเอนไซม์เท่ากับปริมาณเอนไซม์ที่เปลี่ยนสับสเตรท (olive oil) ให้เป็นผลิตภัณฑ์ (กรดไขมันอิสระ) 1 ไมโครโมลต่อนาที ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส และ pH 8.0 ดังนั้นแอคติวิตีของเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* มีค่าเท่ากับ 70 ยูนิตต่อมิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างการคำนวณการใช้ปริมาณเอนไซม์ 200 ยูนิตต่อกรัมของสารละลาย ในสารละลายปฏิกิริยา 50 กรัม

สารละลายปฏิกิริยา 1 กรัม ใช้ปริมาณเอนไซม์ 200 ยูนิต

ถ้าสารละลายปฏิกิริยา 50 กรัม ใช้ปริมาณเอนไซม์ $\frac{200 \times 50}{1}$ = 10000 ยูนิต

จากแอคติวิตีของเอนไซม์มีค่าเท่ากับ 70 ยูนิต ต่อปริมาณเอนไซม์ 1 มิลลิกรัม

ถ้าปริมาณเอนไซม์ 10000 ยูนิต ดังนั้นจะชั่งปริมาณเอนไซม์เท่ากับ $\frac{10000 \times 1}{70}$

เท่ากับ 143 มิลลิกรัม

4.2 การหาค่า acid value (AV)

จากการทดลองหาค่า acid value (AV) ซึ่งค่า AV หมายถึง จำนวนมิลลิกรัมของ KOH ที่ใช้ในการสะเทิน (neutrulize) กรดไขมันอิสระที่มีอยู่ในไขมันหรือน้ำมัน 1 กรัม โดยในการหาค่า AV ของกรดไขมันจากน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์และน้ำมันเหลือทิ้งจากการทอดอาหารที่ได้จากการเตรียมโดยวิธี saponification จะได้ค่า AV ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ค่า acid value (AV) ของกรดไขมันจากน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์และน้ำมันเหลือทิ้งจากการทอดอาหาร

ชนิดของกรดไขมัน	ค่า acid value (AV)
กรดไขมันจากน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์	206.10 ± 2.245
กรดไขมันจากน้ำมันเหลือทิ้งจากการทอดอาหาร	202.52 ± 0.005

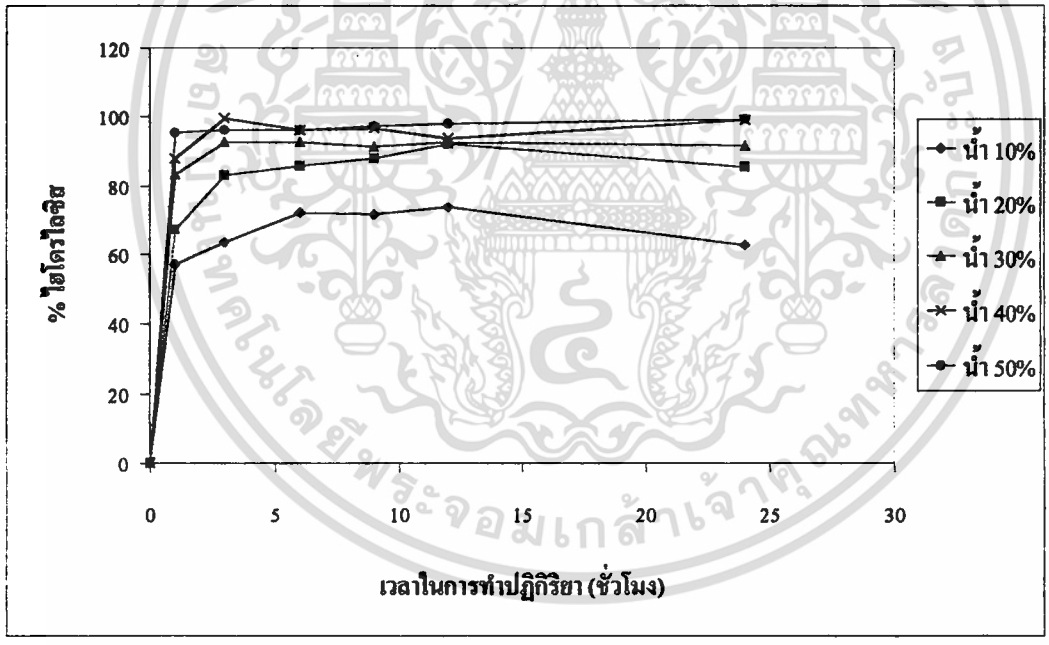
ค่า AV ที่หาได้ในกรณีของกรดไขมันจากน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์และน้ำมันเหลือทิ้งจากการทอดอาหารดังกล่าวจะนำไปใช้เป็นค่า AV เริ่มต้นในการคำนวณเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสของการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มโดยเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มโดยเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa*

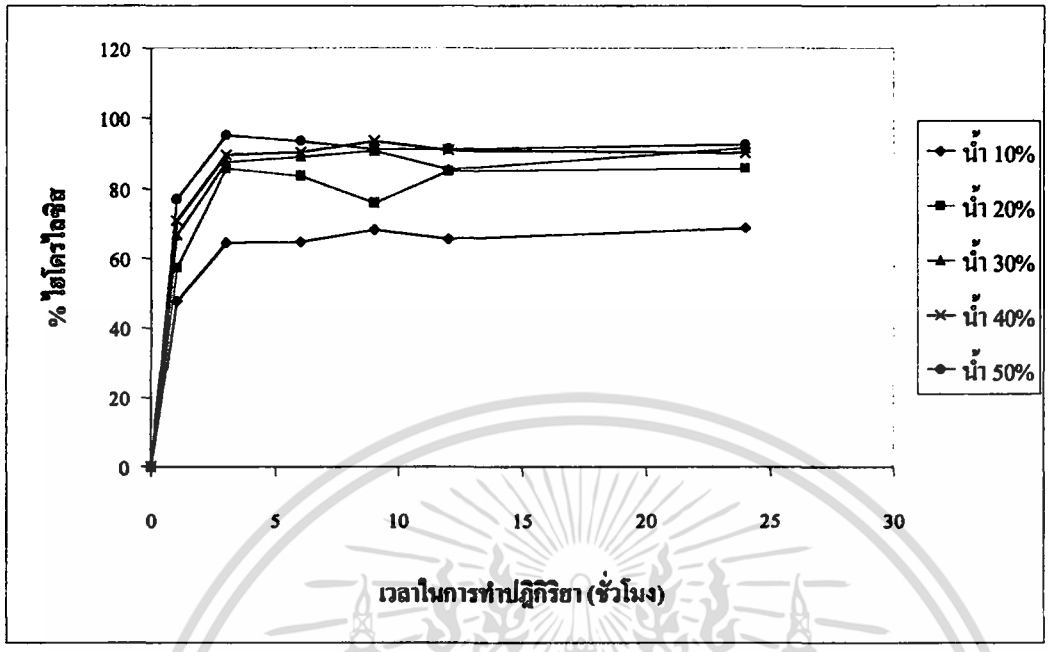
4.3.1 ศึกษาปริมาณน้ำที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

จากการเตรียมสารละลายปฏิกิริยาโดยชั่ง ตัวอย่างน้ำมันปาล์มและน้ำให้มีน้ำหนักรวมเท่ากับ 70 กรัม และแปรปริมาณน้ำ 5 ระดับ คือ 10 , 20 , 30 , 40 และ 50% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยา และใช้ปริมาณเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* เท่ากับ 200 ยูนิตต่อกรัมของสารละลายปฏิกิริยา จากนั้นติดตามการเกิดปฏิกิริยาโดยเก็บตัวอย่างที่เวลาของปฏิกิริยาเท่ากับ 1 , 3 , 6 , 9 , 12 และ 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างไปวิเคราะห์หาค่า AV และคำนวณเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสโดยใช้ค่า AV ของกรดไขมันอิสระของตัวอย่างน้ำมันปาล์มทั้งสองชนิดที่ได้จากการเตรียมโดยปฏิกิริยา saponification เป็น มาตรฐาน 100% ไฮโดรไลซิส นำค่าที่ได้มาเขียนกราฟระหว่างเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสกับเวลาในการทำปฏิกิริยา ดังแสดงในภาพที่ 4.2 และภาพที่ 4.3



ภาพที่ 4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการทำปฏิกิริยาและเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์โดยแปรปริมาณน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการทำปฏิกิริยาและเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสของน้ำมันเหลือทิ้งจากการทอดอาหารโดยแปรปริมาณน้ำ

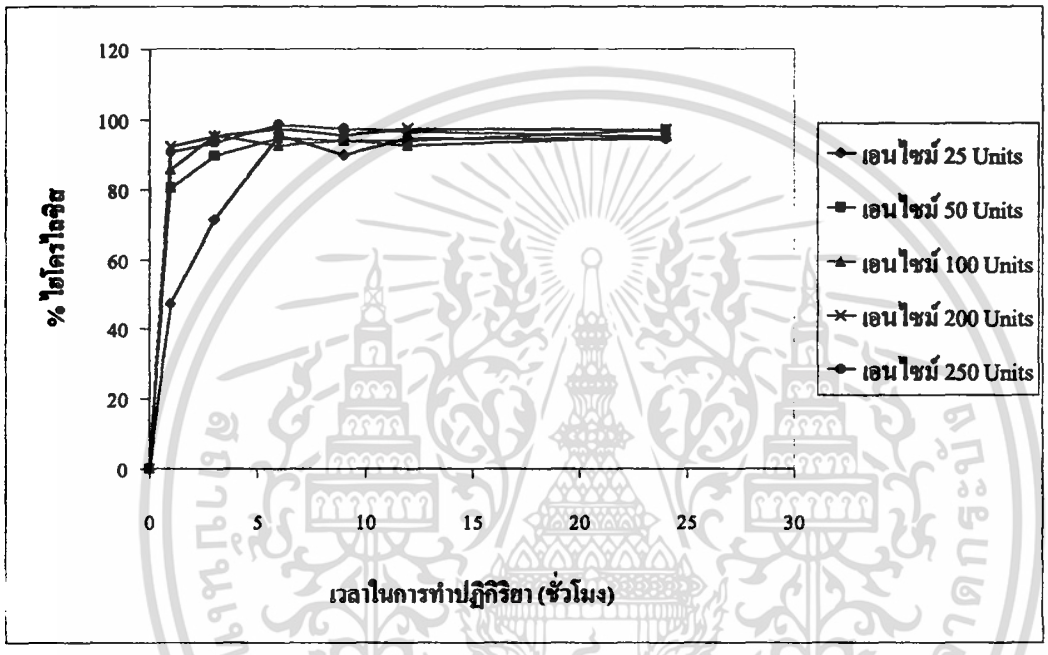
จากภาพที่ 4.2 และภาพที่ 4.3 จะเห็นได้ว่าเมื่อปริมาณน้ำในปฏิกิริยาเพิ่มสูงขึ้นอัตราการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มทั้งสองชนิดจะสูงขึ้นด้วยโดยเฉพาะในช่วงอัตราเร็วเริ่มต้นของปฏิกิริยา อย่างไรก็ตามเมื่อปริมาณน้ำเพิ่มขึ้นเป็น 40-50% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยาให้ค่าเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสมากที่สุด แต่ปริมาณน้ำ 50% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยาจะมีผลในขั้นตอนการแยกกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอลออกจากกัน เนื่องจากปริมาณน้ำที่มากจะสะสมในชั้นของกลีเซอรอลทำให้เกิดน้ำทิ้งในปริมาณมากที่เป็นมลพิษและไม่สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ ดังนั้นปริมาณน้ำที่เหมาะสมที่เลือกใช้ในขั้นตอนต่อไปคือ 40% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยา ซึ่งน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์มีค่าเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสเท่ากับ 98.96% และน้ำมันเหลือทิ้งจากการทอดอาหารมีค่าเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสเท่ากับ 90.17% ที่เวลาในการเกิดปฏิกิริยา 24 ชั่วโมง

4.3.2 ศึกษาปริมาณเอนไซม์ไลเปสที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

จากการเตรียมสารละลายปฏิกิริยาคือ ตัวอย่างน้ำมันปาล์มและน้ำเท่ากับ 70 กรัม โดยใช้ปริมาณน้ำ 40% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยา โดยแปรปริมาณเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* ต่าง ๆ กันคือ 25 , 50 , 100 , 200 และ 250 ยูนิตต่อกรัมของสารละลายปฏิกิริยา จากนั้นติด-

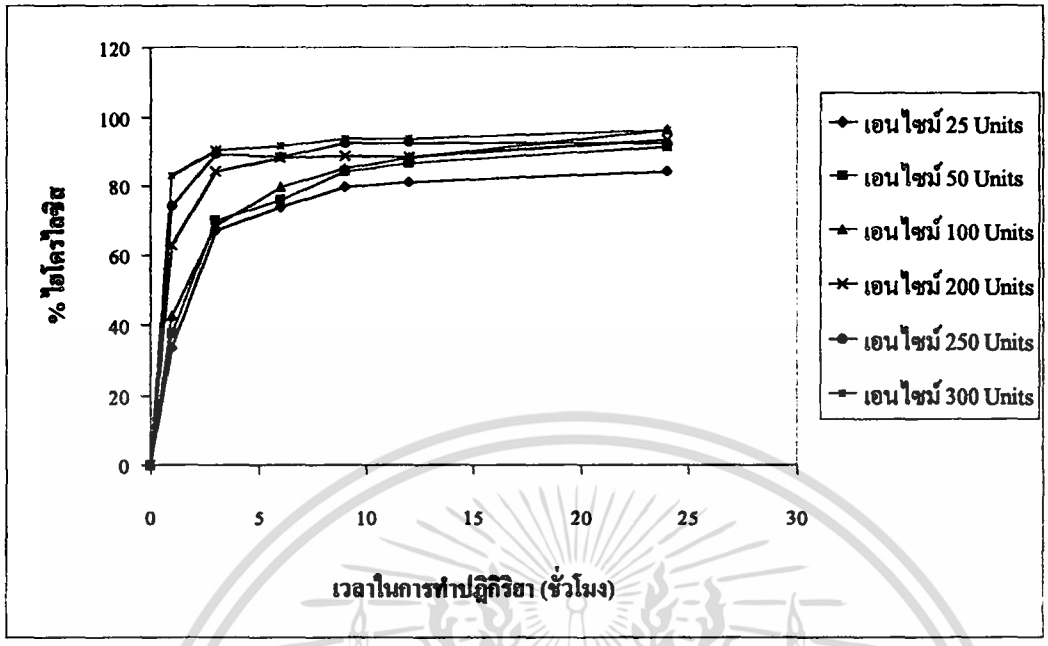
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตามปฏิกิริยาโดยเก็บตัวอย่างที่เวลาของปฏิกิริยาเท่ากับ 1 , 3 , 6 , 9 , 12 และ 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างไปวิเคราะห์หาค่า AV และคำนวณเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสโดยใช้ค่า AV ของกรดไขมันอิสระของตัวอย่างน้ำมันปาล์มทั้งสองชนิดที่ได้จากการเตรียมโดยปฏิกิริยา saponification เป็น มาตรฐาน 100% ไฮโดรไลซิส นำค่าที่ได้มาเขียนกราฟระหว่างเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสกับเวลาในการทำปฏิกิริยา ดังแสดงในภาพที่ 4.4 และภาพที่ 4.5



ภาพที่ 4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการทำปฏิกิริยาและเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสของน้ำมัน-ปาล์มบริสุทธิ์โดยแปรปริมาณเอนไซม์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการทำปฏิกิริยาและเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสของน้ำมันเหลือทิ้งจากการทอดอาหารโดยแปรปริมาณเอนไซม์

จากภาพที่ 4.4 และภาพที่ 4.5 ที่เวลา 24 ชั่วโมง ปริมาณเอนไซม์ 200-300 ยูนิตต่อกรัมของสารละลายปฏิกิริยาให้ค่าเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสมากที่สุด แต่ปริมาณเอนไซม์ที่มากเกินพอจะมีผลทำให้สิ้นเปลืองต้นทุนในการผลิต เนื่องจากเอนไซม์ไลเปสมีราคาค่อนข้างสูง ดังนั้นปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันทั้ง 2 ชนิดคือ 200 ยูนิตต่อกรัมของสารละลายปฏิกิริยา โดยที่เมื่อเวลาในการเกิดปฏิกิริยาเท่ากับ 24 ชั่วโมงน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์มีค่าเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสเท่ากับ 97.09% และ น้ำมันเหลือทิ้งจากการทอดอาหารมีค่าเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสเท่ากับ 93.57%

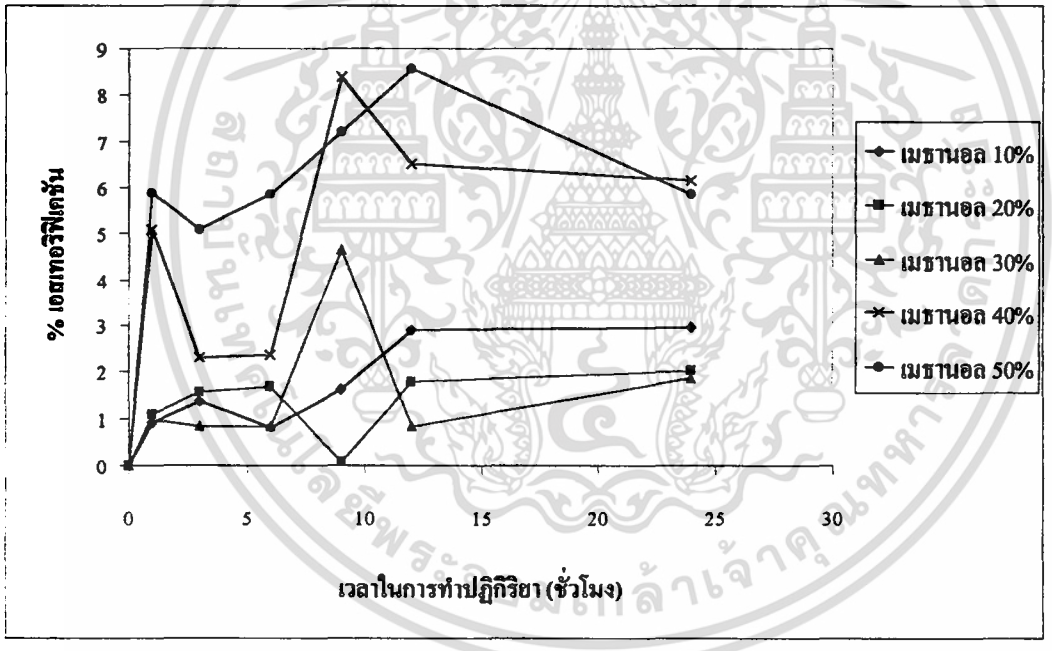
จากผลการทดลองสรุปได้ว่าสภาวะที่เหมาะสมในการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มโดยเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* คือใช้ปริมาณน้ำ 40% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยาและปริมาณเอนไซม์ 200 ยูนิตต่อกรัมของสารละลายปฏิกิริยา โดยที่เอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* สามารถเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์และน้ำมันเหลือทิ้งจากการทอดอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพกล่าวคือให้ค่าเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสอยู่ในช่วง 93-97%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน

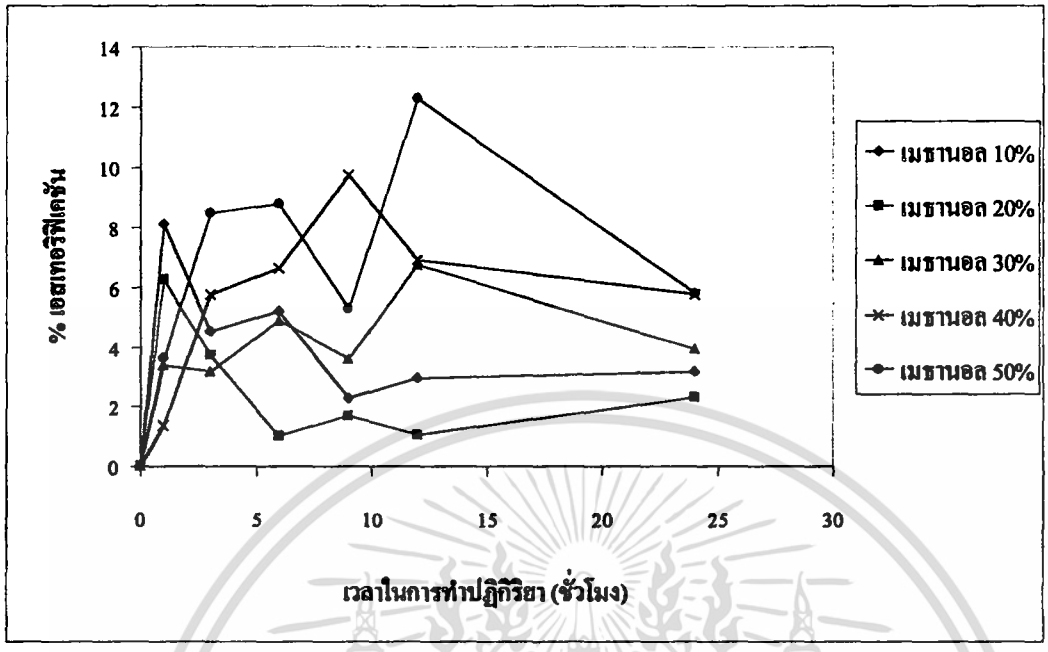
4.4.1 การศึกษาปริมาณเมธานอลที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน

จากการเตรียมสารละลายปฏิกิริยาคือ ตัวอย่างกรดไขมันอิสระที่เตรียมโดยวิธี saponification และเมธานอลเท่ากับ 70 กรัม โดยแปรปริมาณเมธานอล 5 ระดับ คือ 10 , 20 , 30 , 40 และ 50% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยา และใช้ปริมาณเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* เท่ากับ 200 ยูนิตต่อกรัมของสารละลายปฏิกิริยา จากนั้นติดตามปฏิกิริยาโดยเก็บตัวอย่างที่เวลาของปฏิกิริยาเท่ากับ 1 , 3 , 6 , 9 , 12 และ 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างไปวิเคราะห์หาค่า AV และคำนวณเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันโดยใช้ค่า AV เริ่มต้นของสารละลายปฏิกิริยาในแต่ละระดับของปริมาณเมธานอล นำค่าที่ได้มาเขียนกราฟระหว่างเวลาในการทำปฏิกิริยาและเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชัน ดังแสดงในภาพที่ 4.6 และภาพที่ 4.7



ภาพที่ 4.6 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการทำปฏิกิริยาและเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์โดยแปรปริมาณเมธานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.7 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการทำปฏิกิริยาและเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันของน้ำมันเหลือทิ้งจากการทอดอาหารโดยแปรปริมาณเมธานอล

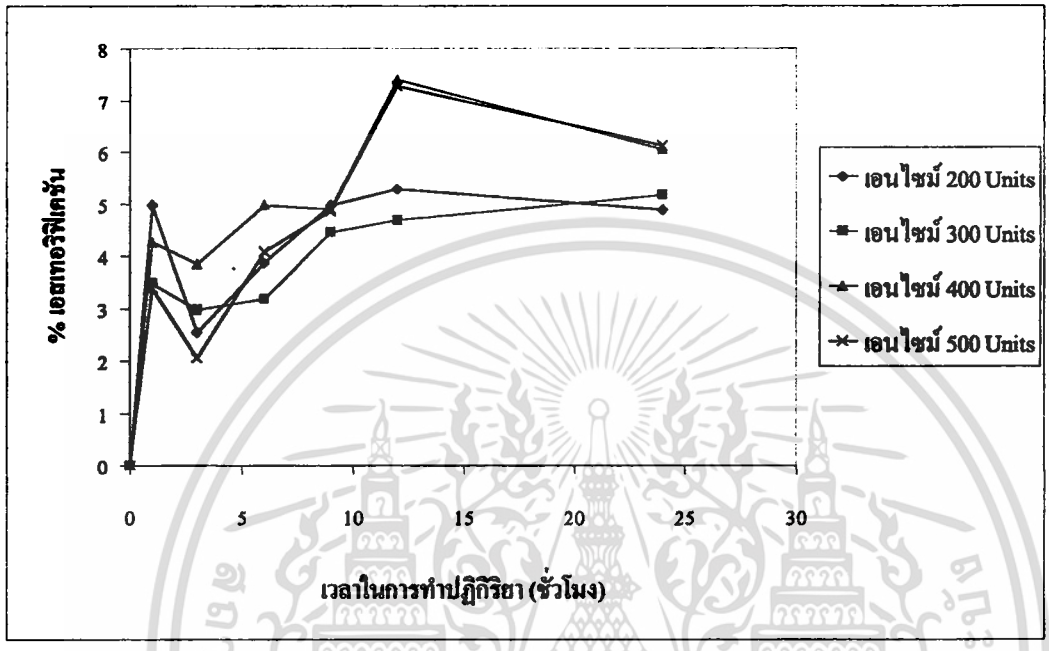
จากภาพที่ 4.6 และภาพที่ 4.7 ที่เวลา 24 ชั่วโมง ปริมาณเมธานอล 40 และ 50% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยาให้ค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันมากที่สุด แต่ปริมาณเมธานอลที่มากเกินพอจะมีผลในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส ดังนั้นปริมาณเมธานอลที่เลือกใช้ในขั้นตอนต่อไปคือ 40% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยา ซึ่งน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์มีค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันเท่ากับ 6.15% และน้ำมันเหลือทิ้งจากการทอดอาหารมีค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันเท่ากับ 5.77%

4.4.2 การศึกษาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน

จากการเตรียมสารละลายปฏิกิริยาคือ ตัวอย่างกรดไขมันอิสระที่เตรียมโดยวิธี saponification และเมธานอลเท่ากับ 70 กรัม โดยใช้ปริมาณเมธานอล 40% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยา โดยแปรปริมาณเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* ต่าง ๆ กันคือ 200 , 300 , 400 และ 500 ยูนิตต่อกรัมของสารละลายปฏิกิริยา จากนั้นติดตามปฏิกิริยาโดยเก็บตัวอย่างที่เวลาของปฏิกิริยาเท่ากับ 1 , 3 , 6 , 9 , 12 และ 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างไปวิเคราะห์หาค่า AV และคำนวณเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันโดยใช้ค่า AV เริ่มต้นของตัวอย่างสารละลายปฏิกิริยาที่ระดับของปริมาณเมธานอล 40%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยา นำค่าที่ได้มาเขียนกราฟระหว่างเวลาในการทำปฏิกิริยาและเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชัน ดังแสดงในภาพที่ 4.8



ภาพที่ 4.8 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการทำปฏิกิริยาและเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์โดยแปรปริมาณเอนไซม์

จากภาพที่ 4.8 ที่เวลา 24 ชั่วโมง ปริมาณเอนไซม์ในช่วง 200-500 ยูนิตต่อกรัมของสารละลายปฏิกิริยาให้ค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันประมาณ 6.13% ในน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ จากการศึกษาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมในปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ให้ค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันต่ำกว่า 20% ดังนั้นในการศึกษาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันในน้ำมันเหลือทิ้งจากการทอดอาหารจึงไม่ได้ศึกษาต่อไปเนื่องจากเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันที่ได้ก็คงไม่ถึง 20% เช่นเดียวกัน

จากผลการทดลองศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน สรุปได้ว่าการเร่งปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันระหว่างกรดไขมันอิสระกับเมธานอลโดยเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* ในสภาวะที่ใช้ในการทดลองยังคงมีประสิทธิภาพต่ำคือสภาวะที่ดีที่สุดให้ค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันต่ำกว่า 20%

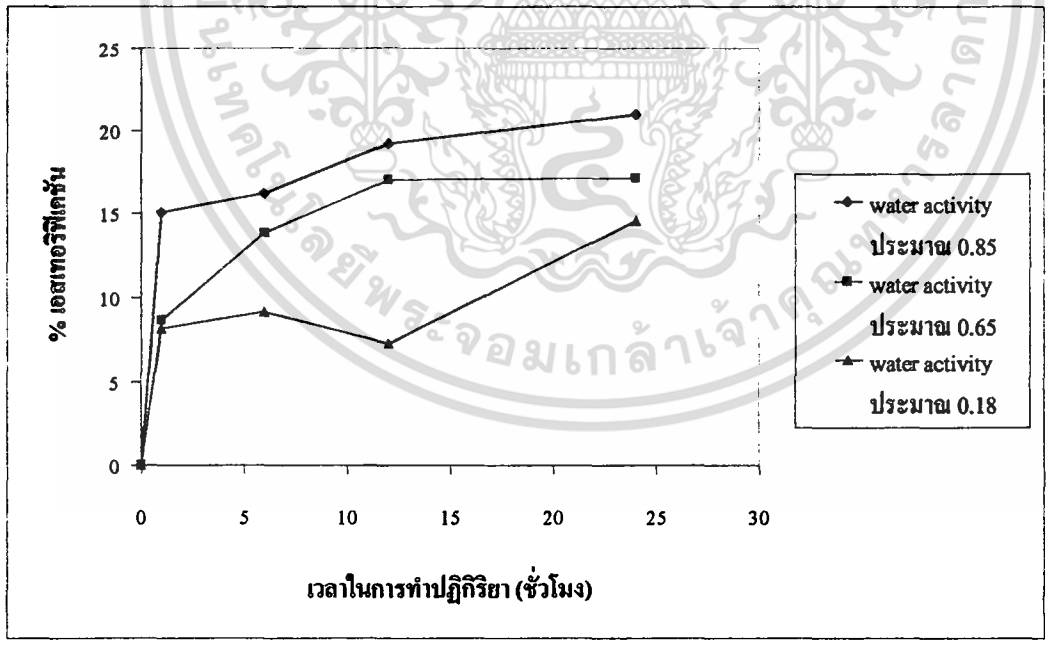
การที่เปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันต่ำกว่า 20% อาจเนื่องมาจากสมมติฐานดังต่อไปนี้คือ ปริมาณน้ำที่เกิดขึ้นในระหว่างการเกิดปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันอาจทำให้เกิดปฏิกิริยาย้อนกลับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันมีค่าต่ำกว่า 20% จึงได้ศึกษาผลของ water activity (a_w) ต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันต่อไป

4.4.3 การศึกษาผลของ water activity (a_w) ต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน

การควบคุม water activity ของปฏิกิริยา โดยใช้ $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ กับ $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ ซึ่งให้ค่า a_w เท่ากับ 0.85 , $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ กับ $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ มีค่า a_w เท่ากับ 0.65 และ $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ กับ $Na_2HPO_4 \cdot 0H_2O$ ให้ค่า a_w เท่ากับ 0.18 ที่อุณหภูมิ 30 °C จากการเตรียมสารละลายปฏิกิริยาคือ ตัวอย่างกรดไขมันอิสระที่เตรียมโดยวิธี saponification และเมธานอลเท่ากับ 70 กรัม โดยใช้ปริมาณเมธานอล 40% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยา เติมเกลือ Na_2HPO_4 ในแต่ละชุดการทดลองและเติมเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* ปริมาณ 200 ยูนิตต่อกรัมของสารละลายปฏิกิริยา จากนั้นติดตามปฏิกิริยาโดยเก็บตัวอย่างที่เวลา 1 , 6 , 12 และ 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างไปวิเคราะห์หาค่า AV และคำนวณเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันโดยใช้ค่า AV เริ่มต้นของตัวอย่างสารละลายปฏิกิริยาที่ระดับของปริมาณเมธานอล 40% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยา นำค่าที่ได้มาเขียนกราฟระหว่างเวลาในการทำปฏิกิริยาและเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชัน ดังแสดงในภาพที่ 4.9



ภาพที่ 4.9 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการทำปฏิกิริยาและเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันของสารละลายปฏิกิริยาที่ควบคุมค่า a_w โดยใช้เกลือ Na_2HPO_4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

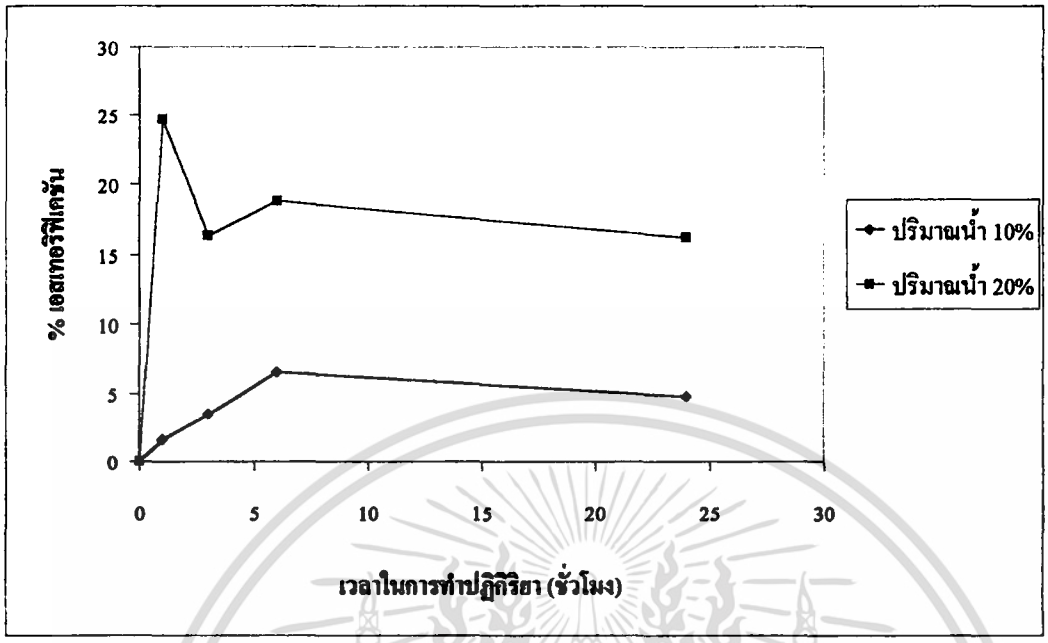
จากภาพที่ 4.9 จะเห็นได้ว่าที่เวลา 24 ชั่วโมง การเติมเกลือ $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ กับ $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ ซึ่งควบคุม a_w ให้อยู่ที่ประมาณ 0.85 และเป็นค่า a_w สูงสุดที่ทดลองให้ค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันมากที่สุดเมื่อเทียบกับชุดการทดลองอื่น โดยให้ค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันถึง 21% หลังจากปฏิกิริยา 24 ชั่วโมง ในการศึกษาผลของ water activity (a_w) นี้แสดงให้เห็นว่าปริมาณน้ำในระบบมากขึ้นจะทำให้ค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันมากขึ้นตามไปด้วย

จากผลการทดลองศึกษาผลของ water activity (a_w) ทำให้ทราบว่าปริมาณน้ำในระบบช่วยให้เปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันมีค่าเพิ่มขึ้น ดังนั้นการศึกษาในขั้นตอนต่อไปได้ทำการเพิ่มปริมาณน้ำให้กับระบบดังนี้

4.4.4 การศึกษาผลของปริมาณน้ำต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน

จากการเตรียมสารละลายปฏิกิริยาคือ ตัวอย่างกรดไขมันอิสระที่เตรียมโดยวิธี saponification, เมธานอลและน้ำเท่ากับ 70 กรัม โดยใช้ปริมาณเมธานอล 40% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยา ซึ่งแปรปริมาณน้ำ 2 ระดับ คือ 10 และ 20% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยา เติมเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* ปริมาณ 200 ยูนิตต่อกรัมของสารละลายปฏิกิริยา จากนั้นติดตามปฏิกิริยาโดยเก็บตัวอย่างที่เวลา 1 , 3 , 6 และ 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างไปวิเคราะห์หาค่า AV และคำนวณเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันโดยใช้ค่า AV เริ่มต้นที่หาได้โดยน้ำหนักรวมของสารละลายปฏิกิริยาคือ ตัวอย่างกรดไขมันอิสระที่ได้ , เมธานอลและน้ำ เท่ากับ 70 กรัม โดยแปรปริมาณน้ำ 2 ระดับคือ 10 และ 20% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยา นำค่าที่ได้มาเขียนกราฟระหว่างเวลาในการทำปฏิกิริยาและเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชัน ดังแสดงในภาพที่ 4.10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.10 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการทำปฏิกิริยาและเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันของปฏิกิริยาที่มีปริมาณน้ำแตกต่างกัน

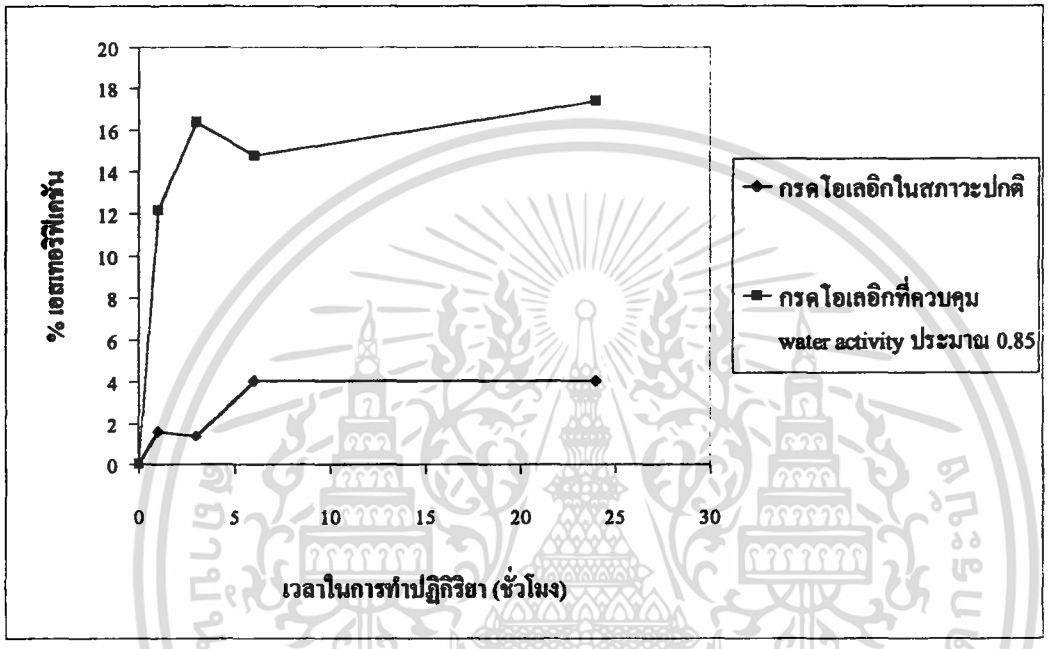
จากภาพที่ 4.10 จะเห็นได้ว่าที่เวลา 24 ชั่วโมง ปริมาณน้ำ 20% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยาให้ค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันสูงกว่าเมื่อปริมาณน้ำเท่ากับ 10% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยา โดยมีค่าเท่ากับ 16.24% อย่างไรก็ตามการเพิ่มปริมาณน้ำเป็น 20% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยายังให้ค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันที่ต่ำกว่า 20% ดังนั้นปริมาณน้ำอาจไม่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันเนื่องจากเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันที่ต่ำกว่า 20% อาจมาจากปัจจัยอื่น เช่น กรดไขมันอิสระที่เตรียมโดยวิธี saponification อาจมีการปนเปื้อนของเฮกเซนจากขั้นตอนการสกัดซึ่งมีผลต่อการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* ดังนั้นได้มีการศึกษาเปลี่ยนสารตั้งต้นเป็นกรดโอเลอิกบริสุทธิ์ในการทดลองต่อไป

4.4.5 การศึกษาปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดโอเลอิกและเมธานอล

จากการเตรียมสารละลายปฏิกิริยาคือ กรดโอเลอิกและเมธานอลเท่ากับ 70 กรัม โดยใช้ปริมาณเมธานอล 40% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยา เติมเกลือ $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ กับ $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ ($a_w \approx 0.85$) และอีกชุดการทดลองไม่เติมเกลือ (สภาวะปกติ) จากนั้นเติมเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* ปริมาณ 200 ยูนิตต่อกรัมของสารละลายปฏิกิริยา จากนั้นติดตามปฏิกิริยาโดยเก็บตัวอย่างที่เวลา 1 , 3 , 6 และ 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างไปวิเคราะห์หาค่า AV และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนวณเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันโดยใช้ค่า AV เริ่มต้นที่หาได้โดยน้ำหนักรวมของสารละลายปฏิกิริยาคือ กรดโอเลอิกและเมธานอลเท่ากับ 70 กรัม โดยใช้ปริมาณเมธานอล 40% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยา นำค่าที่ได้มาเขียนกราฟระหว่างเวลาในการทำปฏิกิริยาและเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชัน ดังแสดงในภาพที่ 4.11



ภาพที่ 4.11 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการทำปฏิกิริยาและเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันของการศึกษาปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดโอเลอิกและเมธานอล

จากภาพที่ 4.11 จะเห็นได้ว่าที่เวลา 24 ชั่วโมง สารละลายปฏิกิริยาของกรดโอเลอิกในสภาวะปกติให้ค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันเท่ากับ 4.05% และสารละลายปฏิกิริยาของกรดโอเลอิกที่ใส่เกลือ Na_2HPO_4 ให้ค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันเท่ากับ 17.41% ซึ่งให้ค่าที่ต่ำกว่า 20% เช่นเดียวกับกรณีของกรดไขมันอิสระที่เตรียมได้จากปฏิกิริยา saponification ดังกล่าวข้างต้น แสดงให้เห็นว่าเฮกเซนที่ติดมากับกรดไขมันอิสระที่เตรียมโดยวิธี saponification ไม่ได้เป็นสาเหตุของเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันที่ต่ำ

จากการศึกษาผลของ water activity (a_w) ต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน , การศึกษาผลของปริมาณน้ำต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันและการศึกษาปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดโอเลอิกและเมธานอล ให้ค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันต่ำกว่า 20% อาจเนื่องมาจากเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* ไม่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน , อุณหภูมิในการเกิดปฏิกิริยาเอสเทอริฟิ-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เคซันไม่เหมาะสม หรือปริมาณเมธานอลที่เติมลงในปฏิกิริยาอาจมีผลต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* จึงได้มีการศึกษาต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์และน้ำมันปาล์มที่เหลือทิ้งจากการทอดอาหาร และปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมันจากน้ำมันปาล์มทั้งสองชนิดกับเมธานอลโดยเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* พบว่าปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มทั้งสองชนิด โดยแปรปริมาณน้ำกลั่น 5 ระดับ คือ 10 , 20 , 30 , 40 และ 50% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยาและแปรปริมาณเอนไซม์ในช่วง 25-300 ยูนิตต่อกรัมของสารละลายปฏิกิริยา ซึ่งปริมาณน้ำและปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสคือ 40% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยา และ 200 ยูนิตต่อกรัมของสารละลายปฏิกิริยา ตามลำดับ ซึ่งทำให้เปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์มทั้งสองชนิดมีค่าประมาณ 96% แสดงว่าเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* มีประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสได้ดี

จากการศึกษาปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมันจากน้ำมันปาล์มทั้งสองชนิดกับเมธานอล โดยแปรปริมาณเมธานอล 5 ระดับ คือ 10 , 20 , 30 , 40 และ 50% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยาและแปรปริมาณเอนไซม์ในช่วง 200-500 ยูนิตต่อกรัมของสารละลายปฏิกิริยา พบว่าค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันที่ได้ต่ำกว่า 20% อาจเนื่องมาจากปริมาณน้ำที่เกิดขึ้นในระหว่างการเกิดปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน ดังนั้นจึงได้มีการศึกษาผลของ water activity (a_w) ต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน โดยใช้เกลือ $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ กับ $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ ซึ่งให้ค่า a_w เท่ากับ 0.85 , $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ กับ $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ มีค่า a_w เท่ากับ 0.65 และ $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ กับ $Na_2HPO_4 \cdot 0H_2O$ ให้ค่า a_w เท่ากับ 0.18 ที่อุณหภูมิ 30 $^{\circ}C$ ในการควบคุม water activity เพื่อให้ปริมาณน้ำในระบบคงที่ มีผลทำให้ค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันเพิ่มขึ้นเล็กน้อย จากผลการศึกษาค่า water activity ทำให้ทราบว่าปริมาณน้ำในระบบช่วยให้เปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันมีค่าเพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงได้มีการศึกษาผลของปริมาณน้ำต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน โดยแปรปริมาณน้ำ 2 ระดับ คือ 10 และ 20% โดยน้ำหนักของสารละลายปฏิกิริยา พบว่าค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันเท่ากับ 4.77 และ 16.24% ตามลำดับ ซึ่งให้ผลเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันต่ำกว่า 20% ดังนั้นการปนเปื้อนของเฮกเซนที่ติดมากับกรดไขมันอิสระที่เตรียมโดยวิธี saponification อาจมีผลต่อการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* ซึ่งอาจเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อค่าเอสเทอริฟิเคชัน จึงได้มีการศึกษาปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดโอเลอิกและเมธานอล จากการทดลองใช้กรดโอเลอิกเป็นสารตั้งต้นเพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการทดลองได้ศึกษาสภาวะปกติ (ไม่เติมเกลือ Na_2HPO_4) และในสภาวะที่เติมเกลือ $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ กับ $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ เพื่อควบคุม water activity พบว่าให้ค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันเท่ากับ 4.05 และ 17.41% ตามลำดับ ซึ่งเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันที่ได้ไม่แตกต่างจากการใช้กรดไขมันอิสระจากน้ำมันปาล์มทั้งสองชนิดที่เตรียมได้เป็นสารตั้งต้น ดังนั้นเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* ยังมีประสิทธิภาพไม่ดีในการเร่งปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันระหว่างกรดไขมันกับเมธานอลภายใต้สภาวะที่ทำการทดลอง

5.2 ข้อเสนอแนะ

การที่เปอร์เซ็นเอสเทอริฟิเคชันมีค่าต่ำกว่า 20% อาจเนื่องมาจาก

5.2.1 เอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* ไม่ชอบเร่งปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน จึงทำให้เปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันมีค่าต่ำกว่า 20% ดังนั้นอาจจะต้องมีการทดลองใช้เอนไซม์ไลเปสชนิดอื่น ๆ สำหรับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน ตัวอย่างของเอนไซม์ไลเปสที่นิยมใช้ได้แก่ เอนไซม์ไลเปสจาก *Candida antarctica, Candida rugosa, Pseudomonas cepacia, Pseudomonas fluorescens* และ *Rhizomucor miehei* เป็นต้น (ประพันธ์ , 2546)

5.2.2 อุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองอาจไม่เหมาะสมกับการทำปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันโดยเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* ดังนั้นต้องมีการทดลองเพิ่มอุณหภูมิในระหว่างการเกิดปฏิกิริยาให้สูงขึ้น (Shimada *et al*., 2002)

5.2.3 ปริมาณเมธานอลที่เติมลงไปในสารละลายปฏิกิริยามากเกินไป อาจมีผลในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* ดังนั้นการเติมเมธานอลอาจจะต้องเติมครั้งละปริมาณน้อยเป็นลำดับขั้น (Shimada *et al*., 2001)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กรมอู่ทหารเรือ. 2544 . "ไบโอดีเซล" [online]. เข้าถึงได้จาก :
http://www.navy.mi.th/dockyard/biodesel.html

ณัฐพงศ์ เสนาธิบดี และ วิธาน เกียรติอุบลไพบูล. 2544 . "การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันเมล็ดในปาล์มโดยปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ริฟิเคชัน." ปริญญานิพนธ์ . สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม. 2546 . "การผลิตเชื้อเพลิงไบโอดีเซลจากน้ำมันพืชโดยกระบวนการทางเอนไซม์".วารสารโครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง : หน้า 44-46.

ศิริวรรณ บุรีคำ. 2544 . "ไบโอดีเซล : ทางเลือกใหม่ทดแทนพลังงานเชื้อเพลิง" [online]. เข้าถึงได้จาก : http://clgc.rdi.ku.ac.th/newsletter/news15_2/biodiesel.html

สำนักคุณภาพน้ำมันเชื้อเพลิง. 2546 . "ดีเซลจากพืช ทางเลือกใหม่ของพลังงาน" [online]. เข้าถึงได้จาก : http://clgc.rdi.ku.ac.th/newsletter/news15_2/biodiesel.html

สุพรรณี อัศวศิริเลิศ. 2544 . "ผลกระทบทางเศรษฐกิจ สังคม และสิ่งแวดล้อมอันเนื่องมาจากการใช้น้ำมันพืชทดแทนน้ำมันดีเซล" [online]. เข้าถึงได้จาก :
http://www.baac.or.th/technical/bio_diesel.pdf

Halling , P.J. 1992 . Salt hydrates for water activity control with biocatalysis in organic media. *Biotechnol.* Teahniques . 6 : 271-276.

Pinsirodom P. , Parkin L.P. 2001 . Lipase assays . *In Current Protocols In Food Analytical Chemistry Volume I* . (Wrolstad , R.E. *et al.* eds.). New York : John Wiley & Sons , Inc.

Shimada, Y.,Y.Watanabe,T.Samukawa,H.Noda,and Y.Tominaga,. 1999 . "Conversion of Vegetable Oil to Biodiesel Using Immobilized *Candida Antarctica* Lipase" . *J.Am.Oil Chem.Soc.*76(7):789-793.

Watanabe,Y.,Y.Shimada,A.Sugihara,H.Noda,and Y.Tominaga,. 2000 . "Continuous Production Of Biodiesel Fuel from Vegetable Oil Using Immobilized *Candida Antarctica* Lipase". *J.Am.Oil Chem.Soc.*77(4):355-360.

Watanabe,Y.,Y.Shimada,A.Sugihara,and Y.Tominaga,. 2001 . "Enzymatic Conversion of Waste Edible Oil to Biodiesel Fuel in Fixed-Bed Bioreactor". *J.Am.Oil Chem.Soc.*78(7):703-707.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.
การเตรียมสารเคมีต่างๆที่ใช้ในการทดลอง

การเตรียมสารเคมี

1. 50 mM Sodium phosphase buffer pH8

ชั่ง $Na_2HPO_4 \cdot H_2O$ มา 27.60 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร (solution A)

ชั่ง $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ มา 53.65 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร (solution B)

นำสารละลาย solution A มา 5.30 มิลลิลิตรและสารละลาย solution B มา 94.70 มิลลิลิตร มาผสมกันปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 200 มิลลิลิตร นำมาวัด pH ให้เท่ากับ 8 ด้วย 0.1N HCl หรือ 0.1N NaOH จะได้ pH เท่ากับ 8 ที่มีความเข้มข้น 100 mM นำสารละลายที่ได้มา 125 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 250 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดวัดปริมาตร เทใส่ขวดสีชาเก็บไว้ในตู้เย็น

2. สารละลาย NaOH ในแอลกอฮอล์

ชั่ง NaOH มา 120 กรัม และชั่ง EDTA มา 1.25 กรัม นำสารทั้งสองมาละลายในน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร จากนั้นเติมเอธานอล 400 มิลลิลิตร คนจนละลายหมด เก็บไว้ในขวดพลาสติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

การคำนวณปริมาณกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นในการวัดแอคติวิตีของเอนไซม์จาก *Candida rugosa*

ตารางที่ 1 ปริมาณกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นที่เวลาแตกต่างกัน

เวลา (นาที)	ปริมาณ NaOH ที่ใช้ในการไทเทรต (ml)					µmol fatty acid / ml subsample
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	เฉลี่ย	
2.5	3.10	3.10	3.10	3.10	3.10	17.14
5	4.10	4.50	4.10	4.10	4.20	28.22
10	5.50	5.70	5.20	5.20	5.40	40.32
15	6.50	6.80	6.30	6.80	6.60	52.42
20	7.10	7.70	7.10	7.70	7.40	60.48
blank	1.40	1.30	1.40	1.50	1.40	-

หมายเหตุ ในการคำนวณปริมาณกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นใช้ค่าปริมาณ NaOH ที่ใช้ในการไตเตรทเฉลี่ย

การคำนวณ

สูตรการคำนวณกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้น

$$\text{ปริมาณกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้น (ไมโครโมล / มิลลิลิตร)} = \frac{(\text{มิลลิลิตรของ NaOH ที่ใช้ในการไตเตรทตัวอย่าง}) - (\text{มิลลิลิตรของ NaOH ที่ใช้ไตเตรท blank}) \times [\text{ความเข้มข้นของ NaOH}] \times 1000}{5 \text{ มิลลิลิตร}}$$

ตัวอย่างการคำนวณ

ความเข้มข้นของ NaOH = 0.05 N

ที่เวลา 2.5 นาที

มิลลิลิตรของ NaOH ที่ใช้ในการไตเตรทตัวอย่างเท่ากับ 3.10 มิลลิลิตร

มิลลิลิตรของ NaOH ที่ใช้ในการไตเตรท blank เท่ากับ 1.40 มิลลิลิตร

แทนค่าสูตร

$$\text{ปริมาณกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้น (ไมโครโมล / มิลลิลิตร)} = \frac{[(3.10 - 1.40) \times 0.05 \times 1000]}{5} = 17.14 \text{ ไมโครโมล / มิลลิลิตร}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค.

การคำนวณค่า Acid value (AV) ของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

ตารางที่ 2 ค่า AV ของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์

ครั้งที่	น้ำมัน (g)	KOH (ml)	AV (mg / g)
1	1.74	7.50	205.58
2	1.67	7.30	208.48
3	1.74	7.50	205.57
4	1.77	7.60	204.79

ตารางที่ 3 ค่า AV ของน้ำมันเหลือทิ้งจากการทอดอาหาร

ครั้งที่	น้ำมัน (g)	KOH (ml)	AV (mg / g)
1	1.89	8.00	201.88
2	1.74	7.40	202.83
3	1.78	7.60	203.64
4	1.86	7.90	202.56
5	1.75	7.40	201.68

การคำนวณ

สูตรการคำนวณค่า Acid value (AV)

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างการคำนวณ

ความเข้มข้นของ KOH = 0.85 N

ครั้งที่ 1

ปริมาณตัวอย่างน้ำมันที่ใช้เท่ากับ 1.74 กรัม

ปริมาณ KOH ที่ใช้เท่ากับ 7.50 มิลลิลิตร

แทนค่าสูตร

$$\text{Acid value (AV)} = \frac{7.50 \times 0.85 \times 56.11}{1.74}$$

$$= 205.58 \text{ มิลลิกรัม / กรัม}$$

ดังนั้นนำค่า AV ที่ได้จากการคำนวณของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์มาหาค่าเฉลี่ยจะได้ค่า AV ของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง.

การคำนวณแปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสของการศึกษาปริมาณน้ำที่เหมาะสมในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

ตารางที่ 4 ค่าเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสที่ปริมาณน้ำแตกต่างกันของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์

เวลา (ชม) / ปริมาณน้ำ (%)	1		3		6		9		12		24	
	ค่าAV (mg/g)	% ไฮโดรไลซิส	ค่าAV (mg/g)	% ไฮโดรไลซิส	ค่าAV (mg/g)	% ไฮโดรไลซิส	ค่าAV (mg/g)	% ไฮโดรไลซิส	ค่าAV (mg/g)	% ไฮโดรไลซิส	ค่าAV (mg/g)	% ไฮโดรไลซิส
10	117.68	57.09	140.96	63.39	148.82	72.21	147.57	71.60	152.14	73.82	129.28	62.72
20	138.31	67.11	171.35	83.14	176.84	85.80	181.21	87.92	189.74	92.06	176.22	85.50
30	171.92	83.42	191.08	92.71	191.22	92.78	188.43	91.43	190.80	92.58	188.60	91.51
40	180.93	87.79	205.16	99.54	198.31	96.22	199.08	96.59	193.06	93.67	203.95	98.96
50	196.40	95.29	198.23	96.18	198.28	96.21	200.02	97.05	201.80	97.91	204.90	99.42

ตารางที่ 5 ค่าเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสที่ปริมาณน้ำแตกต่างกันของน้ำมันเหลือทิ้งจากการทอดอาหาร

เวลา (ชม) / ปริมาณน้ำ (%)	1		3		6		9		12		24	
	ค่าAV (mg/g)	% ไฮโดรไลซิส	ค่าAV (mg/g)	% ไฮโดรไลซิส	ค่าAV (mg/g)	% ไฮโดรไลซิส	ค่าAV (mg/g)	% ไฮโดรไลซิส	ค่าAV (mg/g)	% ไฮโดรไลซิส	ค่าAV (mg/g)	% ไฮโดรไลซิส
10	96.89	74.84	130.84	64.61	131.23	64.79	138.19	68.24	132.62	65.48	138.99	68.63
20	116.30	57.43	173.47	85.66	169.15	83.52	153.78	75.93	171.99	84.92	173.84	85.84
30	134.98	66.65	177.59	87.69	180.68	89.22	183.78	90.75	173.38	85.61	185.62	91.66
40	143.69	70.95	181.48	89.61	183.51	90.61	189.74	93.68	184.38	91.04	182.62	90.17
50	156.00	77.03	192.88	95.24	189.74	93.68	184.89	91.29	185.06	91.38	187.46	92.56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การคำนวณ

ค่า AV เริ่มต้นของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์เท่ากับ 206.10 มิลลิกรัม / กรัม

ค่า AV ที่เวลา 1 ชั่วโมงและปริมาณน้ำ 10% เท่ากับ 118.76 มิลลิกรัม / กรัม

ตัวอย่างการคำนวณ

ค่า AV เริ่มต้นของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์เท่ากับ 206.10 มิลลิกรัม / กรัม มีค่า 100 % ไฮโดรไลซิส

ดังนั้น ค่า AV ที่เวลา 1 ชั่วโมงและปริมาณน้ำ 10% เท่ากับ $\frac{118.76 \times 100}{206.10}$ %

$= 57.09$ %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ.
การคำนวณแปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสของการศึกษาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสม ในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

ตารางที่ 6 ค่าเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสที่ปริมาณเอนไซม์แตกต่างกันของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์

เวลา (ชม) / ปริมาณเอนไซม์ (ยูนิต)	1		3		6		9		12		24	
	ค่าAV (mg/g)	% ไฮโดรไลซิส	ค่าAV (mg/g)	% ไฮโดรไลซิส	ค่าAV (mg/g)	% ไฮโดรไลซิส	ค่าAV (mg/g)	% ไฮโดรไลซิส	ค่าAV (mg/g)	% ไฮโดรไลซิส	ค่าAV (mg/g)	% ไฮโดรไลซิส
25	98.66	47.10	147.56	71.60	197.33	95.74	185.50	90.00	195.40	94.81	194.82	94.53
50	167.54	80.54	185.09	89.81	195.47	94.84	194.09	94.17	193.89	94.08	200.21	97.14
100	176.85	85.81	197.35	95.75	191.13	92.74	194.55	94.40	191.22	92.78	196.40	95.29
200	191.85	92.58	196.43	95.31	201.10	97.57	197.27	95.72	200.70	97.38	200.11	97.09
250	188.36	90.86	192.83	93.56	203.13	98.56	200.11	97.52	199.16	96.63	196.26	95.23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 ค่าเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสที่ปริมาณเอนไซม์แตกต่างกันของน้ำมันเหลือทิ้งจากการทอดอาหาร

เวลา (ชม) / ปริมาณเอนไซม์ (ยูนิต)	1		3		6		9		12		24	
	ค่าAV (mg/g)	% ไฮโดรไลซิส	ค่าAV (mg/g)	% ไฮโดรไลซิส	ค่าAV (mg/g)	% ไฮโดรไลซิส	ค่าAV (mg/g)	% ไฮโดรไลซิส	ค่าAV (mg/g)	% ไฮโดรไลซิส	ค่าAV (mg/g)	% ไฮโดรไลซิส
25	68.39	33.77	135.55	66.93	149.90	74.02	161.28	79.64	164.33	81.14	170.76	84.32
50	76.33	37.69	141.63	69.93	154.01	76.05	170.59	84.23	175.48	86.65	184.98	91.34
100	86.22	42.57	138.88	68.58	161.44	79.72	172.00	84.93	178.55	88.16	195.40	96.48
200	127.01	62.71	170.41	84.14	178.77	88.27	179.82	88.79	178.92	88.35	189.49	93.57
250	150.36	74.24	181.00	89.37	178.92	88.35	187.37	92.52	187.91	92.69	187.46	92.56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฉ.
การคำนวณค่า AV เริ่มต้นของปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน

ตารางที่ 8 ค่า AV เริ่มต้นของปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันที่ปริมาณเมธานอลแตกต่างกันของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์

ปริมาณเมธานอล (%)	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			AV เริ่มต้น (mg/g)
	น้ำมัน (g)	KOH (ml)	ค่า AV (mg/g)	น้ำมัน (g)	KOH (ml)	ค่า AV (mg/g)	
10	0.60	2.20	174.28	0.53	1.95	174.88	173.08
	0.66	2.40	172.84	1.20	4.30	170.32	
20	0.57	1.90	158.45	0.52	1.70	155.39	156.91
	0.52	1.70	155.39	0.60	2.00	158.44	
30	0.72	2.20	145.23	0.61	1.80	140.25	143.99
	0.63	1.90	143.35	0.63	1.95	147.12	
40	0.56	1.50	127.31	0.54	1.45	127.63	127.71
	0.59	1.60	128.89	0.58	1.55	127.02	
50	0.53	1.25	112.10	0.57	1.30	108.40	110.13
	0.56	1.30	110.34	0.52	1.20	109.69	

การคำนวณ

สูตรการคำนวณค่า Acid value (AV)

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

ตัวอย่างการคำนวณ

ความเข้มข้นของ KOH = 0.85 N

ครั้งที่ 1

ปริมาณเมธานอล 10 % ปริมาณตัวอย่างน้ำมันที่ใช้เท่ากับ 0.60 กรัม

ปริมาณ KOH ที่ใช้เท่ากับ 2.20 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แทนค่าสูตร

$$\text{Acid value (AV)} = \frac{2.20 \times 0.85 \times 56.11}{0.60}$$

$$= 174.28 \text{ mg / g}$$

ดังนั้นนำค่า AV ที่ได้จากการคำนวณครั้งที่ 1 และ ครั้งที่2 มาหาค่าเฉลี่ยจะได้ค่า AV เริ่มต้นของปริมาณเมธานอล 10%

ตารางที่ 9 ค่า AV เริ่มต้นของปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันที่ปริมาณเมธานอลแตกต่างกันของน้ำมันเหลือทิ้งจากการทอดอาหาร

ปริมาณเมธานอล (%)	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			AV เริ่มต้น (mg/g)
	น้ำมัน (g)	KOH (ml)	ค่า AV (mg /g)	น้ำมัน (g)	KOH (ml)	ค่า AV (mg /g)	
10	0.63	2.30	173.53	0.54	2.00	176.04	174.61
	0.53	1.95	174.88	0.56	2.05	174.00	
20	0.63	2.15	162.21	0.64	2.15	159.67	160.76
	0.55	1.85	159.88	0.56	1.90	161.27	
30	0.60	1.90	150.51	0.52	1.60	146.25	148.67
	0.64	2.00	148.53	0.70	2.20	149.38	
40	0.60	1.60	126.75	0.58	1.55	127.02	126.11
	0.91	2.40	125.36	0.55	1.45	125.31	
50	0.65	1.55	113.34	0.55	1.30	112.35	111.43
	0.54	1.25	110.02	0.54	1.25	110.02	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ช.

การคำนวณเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันของการศึกษาปริมาณเมธานอลที่เหมาะสมในปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน

ตารางที่ 10 ค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันที่ปริมาณเมธานอลแตกต่างกันของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์

เวลา (ชม) / ปริมาณเมธานอล (%)	1		3		6		9		12		24	
	ค่าAV (mg/g)	% Esterification	ค่าAV (mg/g)	% Esterification	ค่าAV (mg/g)	% Esterification	ค่าAV (mg/g)	% Esterification	ค่าAV (mg/g)	% Esterification	ค่าAV (mg/g)	% Esterification
10	171.79	0.92	170.71	1.37	171.65	0.82	170.26	1.63	168.05	2.91	167.96	2.96
20	155.20	1.09	154.45	1.57	154.28	1.68	156.78	0.08	154.09	1.79	153.74	2.02
30	142.59	0.97	142.79	0.84	142.78	0.84	137.29	4.65	141.15	0.84	141.30	1.87
40	121.20	5.09	124.08	2.30	124.69	2.36	116.99	8.39	119.39	6.51	119.85	6.15
50	103.65	5.88	104.52	5.09	103.66	5.87	102.18	7.22	100.69	8.57	103.67	5.87

ตารางที่ 11 ค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันที่ปริมาณเมธานอลแตกต่างกันของน้ำมันเหลือทิ้งจากการทอดอาหาร

เวลา (ชม) / ปริมาณเมธานอล (%)	1		3		6		9		12		24	
	ค่าAV (mg/g)	% Esterification	ค่าAV (mg/g)	% Esterification	ค่าAV (mg/g)	% Esterification	ค่าAV (mg/g)	% Esterification	ค่าAV (mg/g)	% Esterification	ค่าAV (mg/g)	% Esterification
10	160.43	8.12	166.66	4.55	165.49	5.22	170.60	2.30	169.43	2.97	169.04	3.19
20	150.68	6.27	154.76	3.73	159.11	1.03	158.05	1.69	159.08	1.05	157.03	2.32
30	143.61	3.40	143.95	3.17	141.36	4.92	143.29	3.62	138.60	6.77	142.80	3.95
40	124.39	1.36	118.83	5.77	117.73	6.64	113.78	9.78	117.39	6.91	118.83	5.77
50	107.35	3.66	101.97	8.49	101.62	8.80	105.50	5.32	97.74	12.29	104.94	5.82

การคำนวณ

สูตรการคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชัน

$$\text{เปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชัน} = \frac{AV_{\text{เริ่มต้น}} - AV_{\text{ที่เวลาใดๆ}}}{AV^{*}_{\text{เริ่มต้น}}} \times 100$$

* เป็น $AV_{\text{เริ่มต้น}}$ ของชั้นไขมันที่ได้จากการเหวี่ยงแยกสารละลายปฏิกิริยาที่แต่ละระดับปริมาณเมธานอล

ตัวอย่างการคำนวณ ค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันจากน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์

ความเข้มข้นของ KOH = 0.85 N

ค่า AV เริ่มต้นที่ปริมาณเมธานอล 10% เท่ากับ 173.08 mg / g

ค่า AV ที่เวลา 1 ชั่วโมง ปริมาณเมธานอล 10% เท่ากับ 171.49 mg / g

แทนค่าสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชัน} = \frac{173.08 - 171.79}{173.08} \times 100$$

$$= 0.92\ \%$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ซ.

การคำนวณเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันของการศึกษาเอนไซม์ที่เหมาะสมในปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน

ตารางที่ 12 ค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันที่ปริมาณเอนไซม์แตกต่างกันของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์

เวลา (ชม) / ปริมาณเอนไซม์ (ยูนิต)	1		3		6		9		12		24	
	ค่าAV (mg/g)	% Esterification	ค่าAV (mg/g)	% Esterification	ค่าAV (mg/g)	% Esterification	ค่าAV (mg/g)	% Esterification	ค่าAV (mg/g)	% Esterification	ค่าAV (mg/g)	% Esterification
200	121.35	4.98	124.46	2.54	122.75	3.88	121.34	4.98	120.96	5.28	121.46	4.89
300	123.26	3.48	123.91	2.98	123.64	3.18	122.02	4.46	121.72	4.69	121.12	5.16
400	122.26	4.26	122.78	3.86	121.35	4.98	121.44	4.91	118.27	7.39	119.97	6.06
500	123.36	3.40	125.06	2.07	122.48	4.09	121.48	4.87	118.42	7.27	119.87	6.13

การคำนวณ

สูตรการคำนวณ ค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชัน

$$\text{เปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชัน} = \frac{AV_{\text{เริ่มต้น}} - AV_{\text{ที่เวลาใดๆ}}}{AV^{*}_{\text{เริ่มต้น}}} \times 100$$

ตัวอย่างการคำนวณ ค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันจากน้ำมันพืชบริสุทธิ์

ความเข้มข้นของ KOH = 0.85 N

ค่า AV เริ่มต้นที่ปริมาณเมธานอล 40% เท่ากับ 127.71 mg / g

ค่า AV ที่เวลา 1 ชั่วโมง ปริมาณเอนไซม์ 200 ยูนิต เท่ากับ 121.35 mg / g

แทนค่าสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชัน} = \frac{127.71 - 121.35}{127.71} \times 100$$

$$= 4.98\ \%$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฌ.

การคำนวณเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันของผลค่า water activity (a_w) ต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน

ตารางที่ 13 ค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันที่ water activity (a_w) แตกต่างกัน

เวลา (ชม) / ค่า water activity (a_w)	1		6		12		24	
	ค่าAV (mg/g)	% Esterification	ค่าAV (mg/g)	% Esterification	ค่าAV (mg/g)	% Esterification	ค่าAV (mg/g)	% Esterification
$a_w \approx 0.85$	108.49	15.05	106.99	16.22	103.12	19.25	100.89	21.00
$a_w \approx 0.65$	116.60	8.69	110.03	13.85	105.95	17.04	105.82	17.14
$a_w \approx 0.18$	117.28	8.17	115.96	9.20	118.41	7.29	109.09	14.58

หมายเหตุ การคำนวณเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันใช้ค่า AV เริ่มต้นที่ปริมาณเมธานอล 40% และคำนวณเหมือนภาคผนวกที่ได้กล่าวมาแล้วในข้างต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ญ.
การศึกษาผลของปริมาณน้ำต่อปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน

ตารางที่ 14 ค่า AV เริ่มต้นของปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันที่ปริมาณน้ำแตกต่างกัน

ปริมาณน้ำที่เติม (%)	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			AV เฉลี่ย (mg / g)
	น้ำมัน (g)	KOH (ml)	ค่า AV (mg / g)	น้ำมัน (g)	KOH (ml)	ค่า AV (mg / g)	
10	0.52	1.35	123.40	0.51	1.35	125.82	124.23
	0.65	1.70	124.31	0.52	1.35	123.40	
20	0.52	1.65	150.82	0.51	1.65	153.78	152.36
	0.54	1.75	154.03	0.52	1.65	150.82	

หมายเหตุ คำนวณค่า AV เหมือนภาคผนวกที่ได้กล่าวแล้วในข้างต้น

ตารางที่ 15 ค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันที่ปริมาณน้ำแตกต่างกัน

เวลา (ชม) / ปริมาณน้ำ (%)	1		3		6		24	
	ค่าAV (mg/g)	% Esterification	ค่าAV (mg/g)	% Esterification	ค่าAV (mg/g)	% Esterification	ค่าAV (mg/g)	% Esterification
10	122.22	1.62	119.95	3.45	116.15	6.50	118.31	4.77
20	114.72	24.70	127.46	16.34	123.72	18.80	127.61	16.24

หมายเหตุ การคำนวณเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันใช้ค่า AV เริ่มต้นจากตารางที่ 14 และคำนวณเหมือนภาคผนวกที่ได้กล่าวมาแล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฎ.

การศึกษาปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดโอเลอิกและเมธานอล

ตารางที่ 16 ค่า AV เริ่มต้นของปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน โดยใช้กรดโอเลอิกเป็นสารตั้งต้น

กรดโอเลอิก	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			AV เริ่มต้น (mg/g)
	น้ำมัน (g)	KOH (ml)	ค่า AV (mg /g)	น้ำมัน (g)	KOH (ml)	ค่า AV (mg /g)	
1	0.52	1.50	137.11	0.68	1.90	132.81	135.39
2	0.53	1.50	134.52	0.52	1.50	137.11	

หมายเหตุ คำนวณค่า AV เหมือนภาคผนวกที่ได้กล่าวมาแล้ว

ตารางที่ 17 ค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันที่สภาวะแตกต่างกัน

สภาวะในการทดลอง	1		3		6		24	
	ค่า AV (mg / g)	%Esterification	ค่า AV (mg / g)	%Esterification	ค่า AV (mg / g)	%Esterification	ค่า AV (mg / g)	%Esterification
ควบคุม $a_w \approx 0.85$	133.25	12.18	113.22	16.37	115.39	14.77	111.82	17.41
สภาวะปกติไม่เติมเกลือ Na_2HPO_4	118.90	1.58	133.53	1.37	129.92	4.04	129.90	4.05

หมายเหตุ คำนวณค่าเปอร์เซ็นต์เอสเทอริฟิเคชันใช้ค่า AV เริ่มต้นจากตารางที่ 16 และคำนวณเหมือนภาคผนวกที่ได้กล่าวมาแล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

1. นางสาวสุรัชนี หิมารัตน์
เกิดเมื่อวันที่ 11 ตุลาคม พ.ศ. 2525
ภูมิลำเนา จังหวัด นครปฐม
การศึกษา จบการศึกษาระดับปริญญาตรี วุฒิวิทยาศาสตร์บัณฑิต ปี พ.ศ. 2548
จากโครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

2. นายอภิสิทธิ์ กลั่นบางแก้ว
เกิดเมื่อวันที่ 26 กันยายน พ.ศ. 2525
ภูมิลำเนา จังหวัด สมุทรปราการ
การศึกษา จบการศึกษาระดับปริญญาตรี วุฒิวิทยาศาสตร์บัณฑิต ปี พ.ศ. 2548
จากโครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้