บทที่ 3

ผลและวิจารณ์

1. การวิเคราะห์องค์ประกอบและคุณสมบัติทางเคมีของไขปาล์มและน้ำมันปาล์ม

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบและคุณสมบัติทางเคมีของไขปาล์มและน้ำมันปาล์มดังแสดงในตารางที่ 8 พบว่าไขปาล์มมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 838.22 และกรดไขมันส่วนใหญ่ประกอบด้วย ปาล์มมิติก 51.13 เปอร์เซ็นต์ และโอเลอิก 28.28 เปอร์เซ็นต์ ส่วนน้ำมันปาล์มมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 843.17 และกรดไขมันส่วนใหญ่ประกอบด้วยโอเลอิก 38.42 เปอร์เซ็นต์ และปาล์มมิติก 28.65 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามการทดลองของ Crabbe และคณะ (2001) พบว่าน้ำมันปาล์มมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 847.3 กรดไขมันส่วนของน้ำมันปาล์มประกอบด้วยกรดปาล์มิติก 47.9 เปอร์เซ็นต์ และกรดโอเลอิก 37.0 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 8 องค์ประกอบและคุณสมบัติของไขปาล์มและน้ำมันปาล์ม

Table 8 Properties and composition of palm stearin and palm olein

Properties	Palm Stearin	Palm Olein
Saponification value	200.88	199.73
Peroxide value	5.60	8.97
Iodine value	39.10	73.92
Acid value	0.04	0.56
Molecular weight (g) *	838.22	843.17
Fatty acid composition (%)		
Myristic acid (14:0)	1.02	0.67
Palmitic acid (16:0)	51.14	28.65
Stearic acid (18:0)	4.36	4.21
Oleic acid (18:1)	28.28	38.42
Linoleic acid (18:2)	6.31	26.53
Linolenic acid (18:3)	0.06	1.51

* Molecular weight was calculated from Saponification value.

2. การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ไลเปสทางการค้า

วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสอิสระ 7 ชนิด คือ ไลเปส AY (*Candida rugosa*), ไลเปส PS (*Pseudomonas sp.*), ไลเปส AK (*Pseudomonas fluorescens*), ไลเปส D (*Rhizopus delemar*),ไลเปส M (*Mucor javanicus*), ไลเปส OF (*Candida rugosa*) และ ไลเปส FAP-15 (*Rhizopus oryzae*) พบว่าเอนไซม์ไลเปส OF ซึ่งได้จากเชื้อ *Candida rugosa* ให้ค่ากิจกรรมสูงสุดคือ 9.89 ยูนิตต่อมิลลิกรัมเอนไซม์(ตารางที่ 9) เช่นเดียวกับการทดลองของ ฉัตรชัย สังข์ผุด (2540) ซึ่งพบว่า สารละลายเอนไซม์ไลเปส OF ให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์สูงสุด เมื่อเทียบกับเอนไซม์ไลเปสชนิดอื่นๆ ที่ใช้ในการศึกษา ไลเปส OF ยังได้รับคัดเลือกว่าเป็นเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายน้ำมันปาล์มโอเลอีนในรูปของสารละลายอิมัลชัน โดยใช้โพลีไวนิลแอลกอฮอล์เป็นสารอิมัลซิฟายเออร์ (วุฒิชัย พิชัยยุทธ, 2540) จากผลการทดลองนี้ เอนไซม์ไลเปส OF ให้กิจกรรมการย่อยสลายสูงสุดอาจเป็นผลเนื่องมาจากคุณสมบัติของเอนไซม์ที่ไม่มีความจำเพาะต่อตำแหน่งของกรดไขมันบนโครงสร้างโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ (Macrae, 1983; Kimura *et al.*, 1983; 1990; Malcata *et al.*, 1992) สามารถย่อยสลายพันธะเอสเทอร์ได้สมบูรณ์ และการเร่งปฏิกิริยาจะไม่เกิดแบบย้อนกลับทำให้ได้กรดไขมันในปริมาณที่สูง (Okumura *et al.*, 1981)

ตารางที่ 9 กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสชนิดต่างๆ ในการย่อยสลายไขปาล์ม

Table 9 Activity of different lipases in palm stearin hydrolysis

Enzyme	Activity (U/mg enzyme)	Specific Activity (U/mg Protein)
Lipase OF(*Candida rugosa*)	9.89	114.15
Lipase PS (*Pseudomonas* sp.)	4.05	152.12
Lipase AY (*Candida rugosa*)	4.50	675.00
Lipase AK (*Pseudomonas fluorescens*)	3.47	57.94
Lipase FAP-15 (*Rhizopus oryzae*)	5.36	39.26
Lipase M (*Mucor javanicus*)	1.99	26.04
Lipase D (*Cromobacterium viscusum*)	5.70	19.21

3. การคัดเลือกชนิดเอนไซม์ไลเปสที่เหมาะสมต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์

จากเอนไซม์ไลเปสทางการค้าทั้งหมด 7 ชนิด ได้ทำการคัดเลือกเอนไซม์ไลเปสที่เหมาะสมต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์โดยใช้เอนไซม์ไลเปสแต่ละแหล่งในจำนวนที่เท่ากันคือ 150 ยูนิต ทำปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสโดยใช้สับสเตรท 2 ชนิด คือน้ำมันปาล์มต่อเมทานอล อัตราส่วน 1:2 (โมล/โมล) และไขปาล์มต่อเมทานอล อัตราส่วน 1:2 (โมล/โมล) นำไปบ่มบนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างที่เวลา 12 ชั่วโมง พบว่าเมื่อใช้น้ำมันปาล์มเป็นสับสเตรท เอนไซม์ไลเปส PS สามารถผลิตเมทิลเอสเทอร์ได้สูงสุดเท่ากับ 30.23 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีไตรกลีเซอไรด์ กรดไขมัน ไดกลีเซอไรด์ และโมโนกลีเซอไรด์ คือ 5.73, 11.11, 29.22 และ 23.72 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และเมื่อใช้ไขปาล์มเป็นสับสเตรท เอนไซม์ไลเปส PS สามารถผลิตเมทิลเอสเทอร์ได้สูงสุดเท่ากับ 46.45 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีกรดไขมัน ไดกลีเซอไรด์ และโมโนกลีเซอไรด์ 11.07, 22.59 และ 19.90 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 10) เช่นเดียวกับผลการทดลองของ Kaieda และคณะ (2000) ซึ่งพบว่าปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสของน้ำมันถั่วเหลืองโดยใช้เอนไซม์ไลเปส PS จาก *Pseudomonas cepacia* สามารถผลิตเมทิลเอสเทอร์ได้มากกว่าเอนไซม์ไลเปสจาก *Klebsiella oxytoca*, *Penicilium camembertii*, *Penicilium roqueforti*, *Pseudomonas fluorescens*, *Candida lipolytica* และ *Candida rugosa* ในการทดลองขั้นต่อไปจึงเลือกใช้ใช้เอนไซม์ไลเปส PS เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา และใช้ไขปาล์มเป็นสับสเตรทในการผลิตเมทิลเอสเทอร์เพราะให้ผลผลิตเมทิลเอสเทอร์สูงกว่าและต้นทุนของไขปาล์มถูกกว่าน้ำมันปาล์มโอเลอีน

ตารางที่ 10 ความสามารถในการผลิตเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์มและไขปาล์มของเอนไซม์ไลเปสแต่ละชนิด

Table 10 Methanolysis of palm stearin and palm olein by commercial lipase

Oils used	% FAMEs	% TG	% FFA	% DG	% MG
Palm Olein					
Lipase AY	0	92.19	0.64	5.42	1.53
Lipase AK	15.28	22.5	9.62	40.49	36.41
Lipase PS	**30.23**	5.73	11.11	29.22	23.72
Lipase OF	0	94.83	0.88	4.29	0
Lipase FAP-15	0	93.52	0.32	4.61	1.37
Lipase M	0	91.71	0.25	4.36	3.68
Lipase D	0	95.57	0.35	4.08	0
Palm stearin					
Lipase AY	0	100	0	0	0
Lipase AK	29.07	8.82	9.76	32.45	16.57
Lipase PS	**46.45**	0	11.07	22.59	19.90
Lipase OF	0	100	0	0	0
Lipase FAP-15	0	100	0	0	0
Lipase M	0	100	0	0	0
Lipase D	1.67	88.67	2.51	5.95	1.22

FAMEs = Fatty acid methyl esters, TG = Triglyceride, FFA = Free fatty acid, DG = Diglyceride, MG = Monoglyceride

4. การคัดเลือกชนิดตัวพยุงที่ใช้ตรึงเอนไซม์

การศึกษาการตรึงเอนไซม์ไลเปส PS โดยใช้ตัวพยุง 2 ชนิด คือ แอคคูเรลขนาด 200 ไมโครเมตร และซีไลท์ อย่างละ 200 มิลลิกรัม ผสมกับสารละลายเอนไซม์ไลเปส (3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) 20 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าการตรึงเอนไซม์ไลเปส PS บนแอคคูเรลขนาด 200 ไมโครเมตร มีประสิทธิภาพการยึดเกาะและกิจกรรมการยึดเกาะของเอนไซม์ตรึงรูปมากกว่าการตรึงเอนไซม์ไลเปส PS บนซีไลท์ เท่ากับ 94.78 และ 35.09 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 11) ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากแอคคูเรลมีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำและมีลักษณะเป็นรูพรุนทำให้มีพื้นผิวในการยึดเกาะกับเอนไซม์ได้มากกว่า มีความคงตัวมากกว่า (Kimura *et al.*, 1983) เช่นเดียวกับการทดลองของ วุฒิชัย พิชัยยุทธ์ (2540) ซึ่งพบว่าเมื่อใช้เอนไซม์ไลเปส OF ที่ตรึงบนแอคคูเรลมีกิจกรรมการยึดเกาะมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับตัวพยุงอื่นๆ ที่ใช้ในการทดลอง นอกจากนี้ Brady และคณะ (1988) กล่าวว่า ตัวตรึงที่เป็นพวก hydrophobic microporous materials เช่น แอคคูเรล ให้การตรึงไลเปสที่ดีกว่าตัวตรึงชนิดอื่น และยังสอดคล้องกับการทดลองของ Kimura และ คณะ (1983) พบว่าจากตัวตรึงที่ใช้ในการทดลองทั้งหมด ตัวตรึงที่เป็น hydrophobic material ให้กิจกรรมการย่อยสลายน้ำมันมะกอกดีที่สุด ซึ่งสาเหตุอาจเนื่องมาจากสับสเตรทซึ่งเป็นพวก hydrophobic สามารถผ่านเข้าออกรูพรุนของตัวตรึงและสัมผัสกับเอนไซม์ไลเปสได้ดีกว่าตัวตรึงที่เป็น hydrophilic จากผลการทดลองนี้จึงคัดเลือกแอคคูเรลขนาด 200 ไมโครเมตร ใช้ในการตรึงเอนไซม์เพื่อศึกษาในการทดลองในขั้นตอนต่อไป

ตารางที่ 11 ผลของตัวพยุงต่อการตรึงเอนไซม์ไลเปส PS

Table 11 Immobilization of lipase PS on supporters

Supporters	Immobilized ratio (%)[a]	Activity yield [b] (%)
Accurel(<200 μm)	94.78 ±2.11	35.09 ± 0.00
Celite	9.80 ± 0.29	1.14 ± 0.15

Mean ± standard deviation of two replication.

[a]Immobilized ratio(%) = $\frac{\text{Initial activity in solution – Activity in solution after immobilization}}{\text{Initial activity in solution}} \times 100$

[b]Activity yield (%) = $\frac{\text{Total Activity of Immobilzed lipase}}{\text{Total Activity of soluble lipase}} \times 100$

5. ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์จากไขปาล์มโดยเอนไซม์ไลเปสที่ถูกตรึง

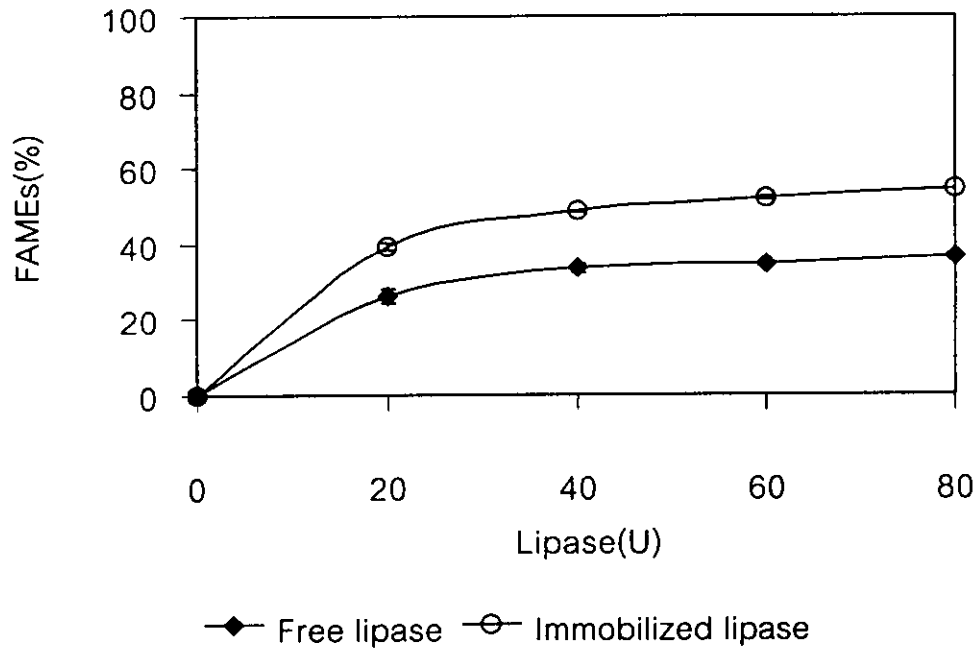
5.1 เปรียบเทียบเอนไซม์ไลเปส PS อิสระ และเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์

การศึกษาผลของปริมาณเอนไซม์ไลเปส PS อิสระและตรึงรูปต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์โดยใช้เอนไซม์ไลเปส 20, 40, 60 และ 80 ยูนิต ใช้ไขปาล์มต่อเมทานอล อัตราส่วน 1:2 (โมล/โมล) 5 กรัม สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.0 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่าเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปจะให้ผลผลิตเมทิลเอสเทอร์สูงกว่าเอนไซม์ไลเปสอิสระ เอนไซม์ไลเปส PS อิสระเมื่อเพิ่มความเข้มข้นเอนไซม์ในช่วง 20-40 ยูนิต ปริมาณเมทิลเอสเทอร์จะเพิ่มขึ้นหลังจากนั้นปริมาณเมทิลเอสเทอร์ค่อนข้างคงที่ เมื่อใช้สารละลายเอนไซม์ความเข้มข้น 40 ยูนิต จะให้ปริมาณเมทิลเอสเทอร์ 33.58 เปอร์เซ็นต์ และเอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูป เมื่อความเข้มข้นเอนไซม์ในช่วง 20-80 ยูนิต ปริมาณเมทิลเอสเทอร์จะเพิ่มขึ้น เมื่อใช้เอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูป 80 ยูนิต จะให้ปริมาณเมทิลเอสเทอร์ 54.48 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 8) จากการทดลองจะเห็นว่าการตรึงเอนไซม์สามารถเพิ่มกิจกรรมและเสถียรภาพของเอนไซม์ได้ ดังนั้นในการทดลองต่อไปจึงเลือกใช้เอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูปในการผลิตเมทิลเอสเทอร์

5.2 ผลของเวลาและปริมาณเอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูปต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์

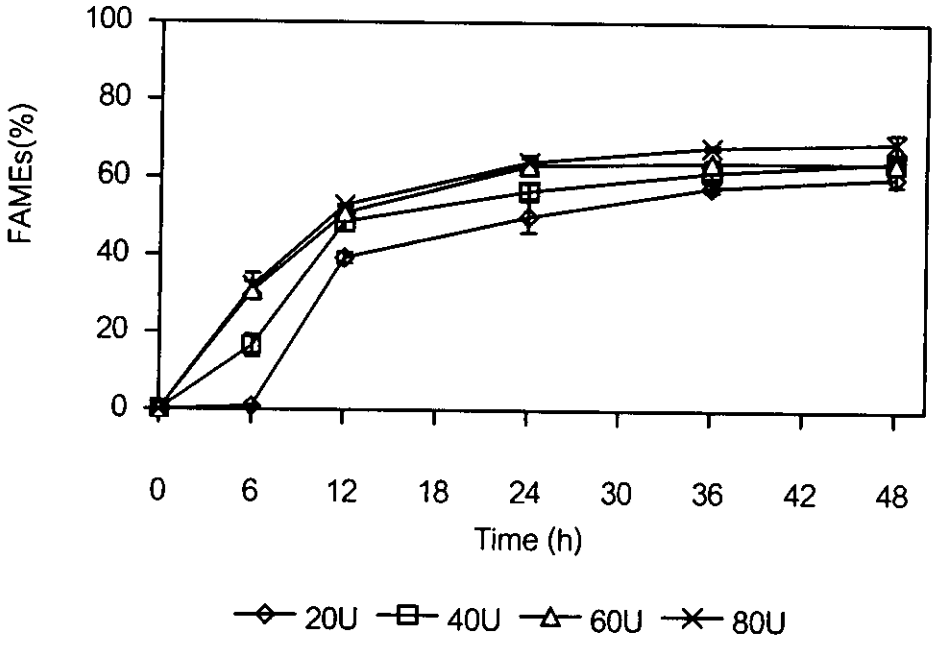
การศึกษาผลของปริมาณเอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูปและเวลาต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์ โดยใช้เอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูป 20, 40, 60 และ 80 ยูนิต ทำปฏิกิริยาไขปาล์มต่อเมทานอล อัตราส่วน 1:2 (โมล/โมล) 5 กรัม สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.0 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง พบว่า ความเข้มข้นเอนไซม์ 20 และ 40 ยูนิต เมื่อเวลาเพิ่มขึ้นเอนไซม์ไลเปส PS สามารถผลิตเมทิลเอสเทอร์ได้เพิ่มขึ้น และความเข้มข้นเอนไซม์ 60 และ 80 ยูนิต เมื่อเวลาเพิ่มขึ้นในช่วง 6-24 ชั่วโมง ปริมาณเมทิลเอสเทอร์ก็จะเพิ่มขึ้น หลังจากนั้นปริมาณเมทิลเอสเทอร์ค่อนข้างจะคงที่ เมื่อใช้ความเข้มข้นเอนไซม์เอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูป 20, 40, 60 และ 80 ยูนิต ที่เวลา 24 ชั่วโมง สามารถผลิตเมทิลเอสเทอร์ได้ 49.94, 56.69, 63.24 และ 64.08 ตามลำดับ ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจึงเลือกใช้ปริมาณเอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูป 60 ยูนิต ใช้เวลาในการทำปฏิกิริยา 24 ชั่วโมง (ภาพที่ 9) นอกจากนี้ในปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสยังมี ไตรกลีเซอไรด์

กรดไขมัน ไดกลีเซอไรด์ และโมโนกลีเซอไรด์เหลืออยู่ 31.01, 1.11, 2.39 และ1.23 เปอร์เซ็นต์ แสดงในภาพที่ 10



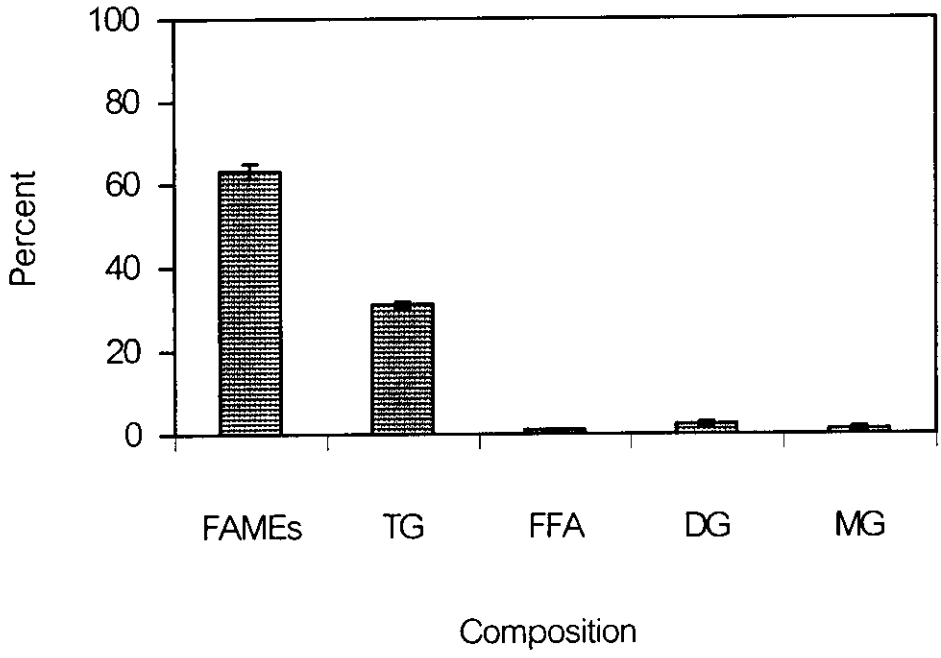
ภาพที่ 8 ผลของปริมาณเอนไซม์ไลเปสอิสระและเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์ (ใช้ไขปาล์มต่อเมทานอล 1:2 (โมล/โมล) มีน้ำ 20 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสับสเตรท บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง)

Figure 8 Effect of free lipase and immobilized lipase concentrations on methanolysis of palm stearin (The methanolysis reaction was carried out with a mixture of palm stearin:methanol = 1:2 and water content of 20% by weight of the substrate at 45°C for 12 h)



ภาพที่ 9 ผลของเวลาและปริมาณเอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูปต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์ (ใช้ไขปาล์มต่อเมทานอล 1:2 (โมล/โมล) มีน้ำ 20 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสับสเตรท บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส)

Figure 9 Effect of immobilized lipase concentrations on methanolysis of palm stearin (The methanolysis reaction was carried out with a mixture of palm stearin:methanol = 1:2 and water content of 20% by weight of the substrate at 45°C)

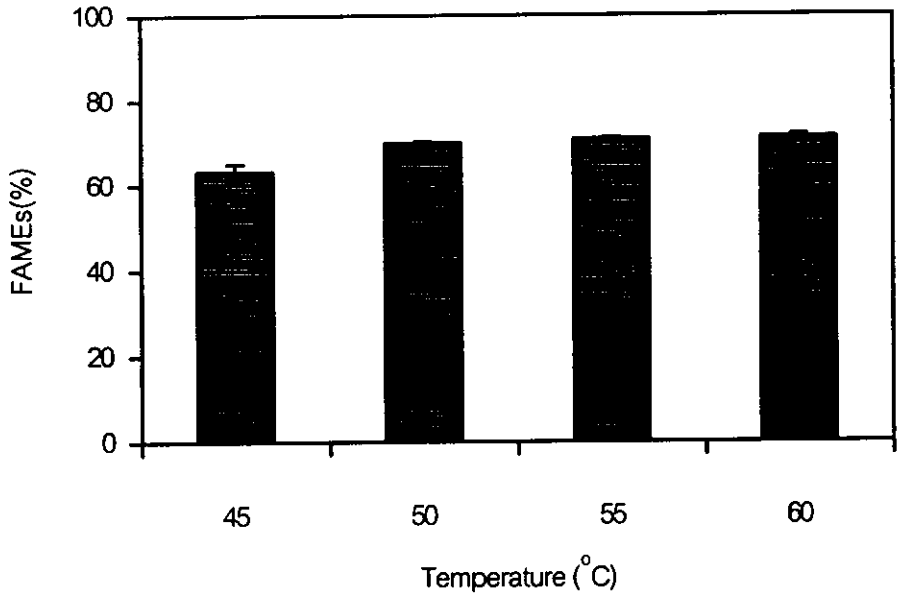


ภาพที่ 10 ผลผลิตของปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสด้วยเอนไซม์ PS ตรึงรูป 60 ยูนิต เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ใช้ไขปาล์มต่อเมทานอล 1:2 (โมล/โมล) มีน้ำ 20 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสับสเตรท บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส)

Figure 10 Production of methanolysis using immobilized lipase PS used enzyme 60 U for 24 h (The methanolysis reaction was carried out with a mixture of palm stearin:methanol = 1:2 and water content of 20% by weight of the substrate at 45°C)

5.3 ผลของอุณหภูมิต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์

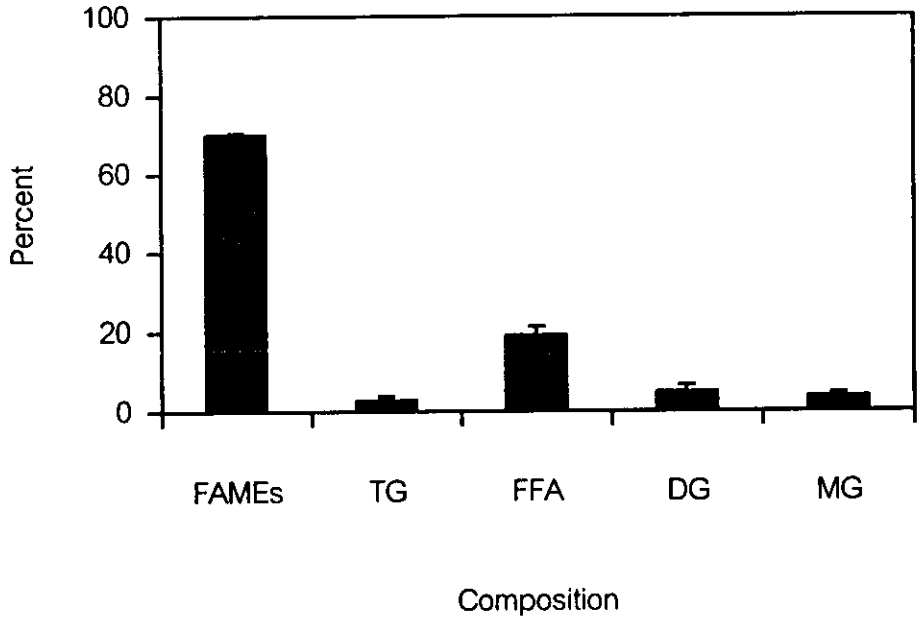
การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการผลิตเมทธิลเอสเทอร์โดยใช้เอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูป 60 ยูนิต ทำปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสโดยใช้ไขปาล์มต่อเมทานอล อัตราส่วน 1:2 (โมล/โมล) 5 กรัม สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.0 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 45, 50, 55, และ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า เมื่อเพิ่มอุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส ทำให้การผลิตเมทิลเอสเทอร์สูงขึ้น เมื่อเพิ่มอุณหภูมิสูงกว่า 50 องศาเซลเซียส จะทำให้การผลิตเมทิลเอสเทอร์คงที่ ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เหมาะต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์ โดยให้ผลผลิตเมทิลเอสเทอร์ 69.94 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 11) นอกจากนี้ยังมีไตรกลีเซอไรด์ กรดไขมัน ไดกลีเซอไรด์ และโมโนกลีเซอไรด์เหลืออยู่ 2.81, 19.20, 4.77 และ 3.82 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 12) โดยทั่วไปแล้วปฏิกิริยาเคมีต่างๆ จะทำงานได้ดีเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น เพราะต้องการพลังงานในการกระตุ้น การเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ก็เช่นเดียวกันแต่เนื่องจากเอนไซม์เป็นสารประกอบโปรตีนมักจะไม่ค่อยคงตัวต่อความร้อนทำให้เสียสภาพที่อุณหภูมิสูง ดังนั้นเอนไซม์ทุกตัวจะมีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานต่างกัน (สาโรจน์ ศิริศันสนีกุล, 2538) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Kamini และคณะ (2000) ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสของน้ำมันรำข้าวโดยใช้เอนไซม์ไลเปส จาก *Cryptococcus* spp.พบว่าที่เวลา 24 ชั่วโมง ปริมาณเมทิลเอสเทอร์ลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น และที่เวลา 96 ชั่วโมง เมื่อเพิ่มอุณหภูมิมากกว่า 30 องศาเซลเซียส การผลิตเมทิลเอสเทอร์จะลดลง เช่นเดียวกับผลการทดลองของ Shimada และคณะ (1999) ศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิต่อปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสของน้ำมันพืชโดยเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida antarctica* พบว่าหลังจากปฏิกิริยาดำเนินไป 6 ชั่วโมง เมื่อเพิ่มอุณหภูมิค่าเปอร์เซ็นต์ผลผลิตจะเพิ่มขึ้น และเมื่อปฏิกิริยาดำเนินไป 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ค่าเปอร์เซ็นต์ผลผลิตมากที่สุดเท่ากับ 29.9 เปอร์เซ็นต์เมื่อเพิ่มอุณหภูมิมากกว่า 60 องศาเซลเซียส การผลิตเมทิลเอสเทอร์จะลดลง



ภาพที่ 11 ผลของอุณหภูมิต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์ (ใช้ไขปาล์มต่อเมทานอล 1:2 (โมล/โมล) เอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูป 60 ยูนิต และน้ำ 20 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสับสเตรท บ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง)

Figure 11 Effect of temperature on methanolysis of palm stearin

(The methanolysis reaction was carried out with a mixture of palm stearin:methanol = 1:2 water content of 20% by weight of the substrate and 60 U of immobilized lipase PS for 24 h)



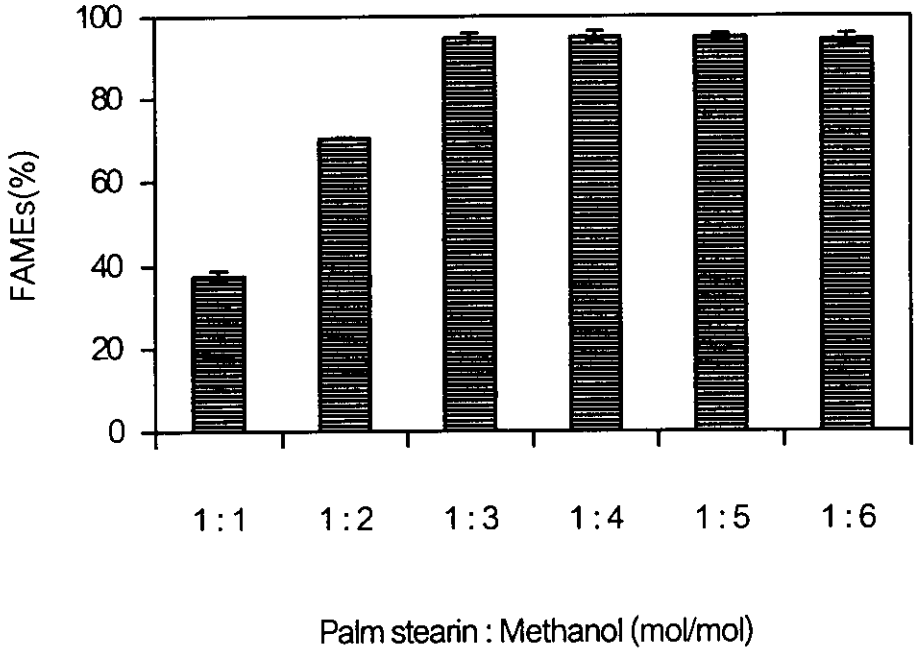
ภาพที่ 12 ผลผลิตของปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสด้วยเอนไซม์ PS ตรึงรูป ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ใช้ไขปาล์มต่อเมทานอล 1:2 (โมล/โมล) เอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูป 60 ยูนิต และน้ำ 20 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสับสเตรท บ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง)

Figure 12 Production of methanolysis using immobilized lipase PS at 50 °C (The methanolysis reaction was carried out with a mixture of palm stearin:methanol = 1:2 water content of 20% by weight of the substrate and 60 U of immobilized lipase PS for 24 h)

5.4 ผลของปริมาณเมทานอลต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์

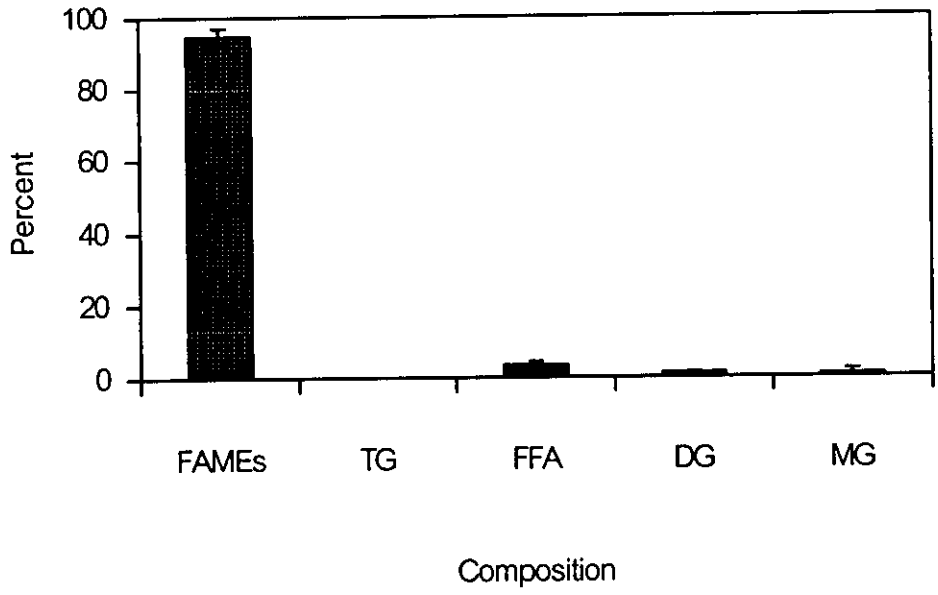
การศึกษาผลของปริมาณเมทานอลต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์เทอร์โดยใช้เอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูป 60 ยูนิต ทำปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสโดยใช้สับสเตรทที่มีส่วนประกอบของไขปาล์มต่อเมทานอล ในอัตราส่วน 1:2, 1:3, 1:4, 1:5 และ 1:6 (โมล/โมล) ปริมาณ 5 กรัม สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.0 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเมื่อเพิ่มอัตราส่วนไขปาล์มต่อเมทานอลในช่วง 1:1–1:3 โมล/โมล สามารถผลิตเมทิลเอสเทอร์ได้เพิ่มขึ้นจาก 37.42 เป็น 94.69 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพิ่มอัตราส่วนไขปาล์มต่อเมทานอลมากกว่า 1:3 การผลิตเมทิลเอสเทอร์จะคงที่ (ภาพที่ 13) นอกจากนี้ยังมีไตรกลีเซอไรด์ กรดไขมัน ไดกลีเซอไรด์ และโมโนกลีเซอไรด์เหลืออยู่ 0, 3.32, 1.23 และ 0.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพที่ 14) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Kaieda และคณะ (2000) พบว่าเอนไซม์ไลเปส PS จะผลิตเมทิลเอสเทอร์ได้เพิ่มขึ้นเมื่อใช้น้ำมันพืชต่อเมทานอลมากกว่า 2-3 (โมล/โมล) อย่างไรก็ตาม Kamini และคณะ (2000) ศึกษาผลของเมทานอลต่อปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสของน้ำมันรำข้าวโดยใช้สับสเตรทที่มีส่วนผสมระหว่างน้ำมันรำข้าวและเมทานอล 1:2, 1:3, 1:4, 1:5 และ 1:6 (โมล/โมล) โดยใช้เอนไซม์ไลเปสจาก *Cryptococcus spp.* พบว่าที่เวลา 120 ชั่วโมง เมื่อใช้สับสเตรทที่มีส่วนผสมระหว่างน้ำมันรำข้าวและเมทานอล 1:4 สามารถผลิตเมทิลเอสเทอร์ได้สูงถึง 79.7 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อใช้สับสเตรทที่มีส่วนผสมระหว่างน้ำมันรำข้าวและเมทานอล 1:6 จะผลิตเมทิลเอสเทอร์ได้ต่ำ เนื่องจากปริมาณเมทานอลสูงเกินไปทำให้เอนไซม์เสียสภาพ

โดยทางทฤษฎีแล้วสมดุลมวลสารสัมพันธ์ของปฏิกิริยาเคลื่อนย้ายหมู่เอสเทอร์ที่สมบูรณ์ ต้องประกอบด้วยอัตราส่วนโมลของสารตั้งต้น 1 ต่อ 3 ระหว่างกลีเซอไรด์ต่อแอลกอฮอล์ แต่ในทางปฏิบัติพบว่าปฏิกิริยาเคลื่อนย้ายหมู่เอสเทอร์สามารถผันกลับได้ ดังนั้นถ้าต้องการผลิตภัณฑ์แอลคิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน ต้องเพิ่มจำนวนโมลเมทานอลมากขึ้นด้วยเพื่อขับดันให้สภาวะสมดุลเลื่อนเข้าใกล้ผลิตภัณฑ์มากที่สุด แต่ถ้าใช้ปริมาณเมทานอลสูงเกินไปทำให้เอนไซม์เสียสภาพ (Ma and Hanna, 1999) ดังนั้นในการผลิตเมทิลเอสเทอร์โดยใช้เอนไซม์ PS ตรึงรูป อัตราส่วนไขปาล์มต่อเมทานอล 1:3 โมล/โมล เหมาะสมมากที่สุดโดยให้ผลผลิตเมทิลเอสเทอร์ 94.69 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 13 ผลของปริมาณเมทานอลต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์ (ใช้เอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูป 60 ยูนิต และน้ำ 20 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสับสเตรท บ่มที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง)

Figure 13 Effect of methanol concentration on methanolysis of palm stearin (The water content of 20% by weight of the substrate and 60 U of immobilized lipase PS at 50°C for 24 h)

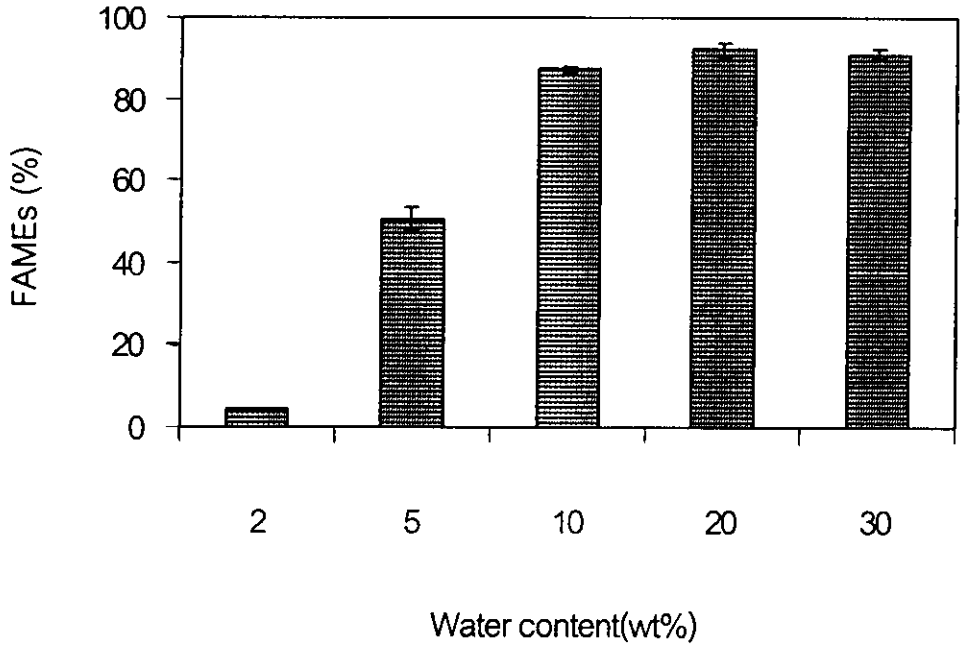


ภาพที่ 14 ผลผลิตของปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสโดยใช้ไขปาล์มต่อเมทานอล 1:3 (โมล/โมล) (ใช้เอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูป 60 ยูนิต และน้ำ 20 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสับสเตรท บ่มที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง)

Figure 14 Production of methanolysis with palm stearin:methanol = 1:3 (The water content of 20% by weight of the substrate and 60 U of immobilized lipase PS at 50°C for 24 h)

5.5 ผลของปริมาณน้ำต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์

การศึกษาผลของปริมาณน้ำต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์โดยใช้เอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูป 60 ยูนิต ทำปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสโดยใช้สับสเตรทที่มีส่วนประกอบของไขปาล์มต่อเมทานอล ในอัตราส่วน 1:3 (โมล/โมล) ปริมาณ 5 กรัม โดยเติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.0 ในปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสปริมาณต่างๆ กัน คือ 2, 5, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสับสเตรท บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณน้ำในช่วง 2-20 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณเมทิลเอสเทอร์จะเพิ่มขึ้น และเมื่อเพิ่มปริมาณน้ำมากกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณเมทิลเอสเทอร์ค่อนข้างจะคงที่ (ภาพที่ 15) นอกจากนี้ยังมีไตรกลีเซอไรด์ กรดไขมัน ไดกลีเซอไรด์ และโมโนกลีเซอไรด์เหลืออยู่ปริมาณเล็กน้อย คือ 0, 5.6, 1.88 และ 0.28 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 16) ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าการเติมน้ำในปฏิกิริยา 20 เปอร์เซ็นต์ เหมาะสมในการผลิตเมทิลเอสเทอร์มากที่สุด ซึ่งให้ผลผลิตเมทิลเอสเทอร์ 92.20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Kaieda และคณะ (1999) ศึกษาผลของปริมาณน้ำต่อปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสโดยใช้สับสเตรทที่มีส่วนผสมระหว่าง น้ำมันถั่วเหลืองและเมทธานอล 1:1 (โมล/โมล) 10 กรัม โดยใช้เอนไซม์ไลเปสจาก *Rhizopus oryzae* 210 ยูนิต พบว่าเมื่อใช้สารละลายเอนไซม์ 1.2-9.0 มิลลิลิตร (ปริมาณน้ำ 4-30% ของน้ำหนักสับสเตรท) สามารถผลิตเมทิลเอสเทอร์ได้เพิ่มสูงขึ้นถึง 80-90 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตาม Shimada และคณะ (1999) ศึกษาผลของน้ำต่อปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสโดยใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปจาก *Candida antarctica* 0.4 กรัม พบว่าเมื่อเติมน้ำปริมาณมากขึ้นค่าเปอร์เซ็นต์ผลผลิตลดลง ส่วน Kamini และคณะ (2000) ศึกษาผลของน้ำต่อปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสโดยใช้เอนไซม์ไลเปสจาก *Cryptococcus spp.* พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณน้ำ 80-100 เปอร์เซ็นต์ สามารถผลิตเมทิลเอสเทอร์ได้สูงถึง 62.6-66.4 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพิ่มปริมาณน้ำมากกว่า 100 เปอร์เซ็นต์ การผลิตเมทิลเอสเทอร์ลดลง

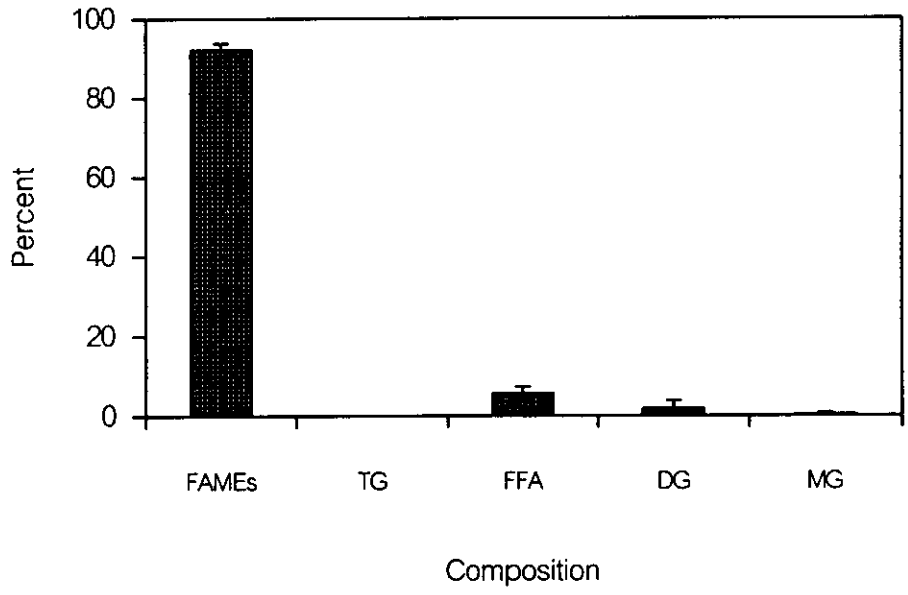


ภาพที่ 15 ผลของปริมาณน้ำต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์

(ใช้ไขปาล์มต่อเมทานอล 1:3 (โมล/โมล) เอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูป 60 ยูนิต บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง)

Figure 15 Effect of water on methanolysis of palm stearin

(The methanolysis reaction was carried out with a mixture of palm stearin:methanol = 1:3 and 60 U of immobilized lipase PS at 50°C for 24 h)



ภาพที่ 16 ผลผลิตของปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสมีน้ำในปฏิกิริยา 20 เปอร์เซ็นต์ (ใช้ไขปาล์มต่อเมทานอล 1:3 (โมล/โมล) และเอนไซม์ตรึงรูป PS 60 ยูนิต บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง)

Figure 16 Production of methanolysis with water content of 20% by weight of the substrate (palm stearin:methanol = 1:3 and immobilized lipase PS 60 U at 50°C for 24 h)

5.6 ผลของตัวทำละลายอินทรีย์ต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์

การศึกษาผลของตัวทำละลายอินทรีย์ต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์โดยใช้เอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูป 60 ยูนิต ทำปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสโดยใช้สับสเตรทที่มีส่วนประกอบของไขปาล์มต่อเมทานอล ในอัตราส่วน 1:3 (โมล/โมล) ปริมาณ 5 กรัม โดยเติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.0 ในปฏิกิริยาเมทาโนไลซิส 20 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสับสเตรทและใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ 4 ชนิด คือ dimethylsulfoxide, diethylether, hexane และ petroleum ether เติมลงไป 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสับสเตรท บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า เมื่อเติม diethylether มีผลให้การผลิตเมทิลเอสเทอร์ลดลง 8.59 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่เติมตัวทำละลายอินทรีย์ เมื่อเติม dimethylsulfoxide, hexane และ petroleum ether การผลิตเมทิลเอสเทอร์ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่เติมตัวทำละลายอินทรีย์ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ตารางที่ 12) อย่างไรก็ตาม Kamini และคณะ (2000) ศึกษาผลของตัวทำละลายอินทรีย์ต่อปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสจากน้ำมันรำข้าวโดยเอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาและเติมตัวทำละลายอินทรีย์ลงไป 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสับสเตรท พบว่าเมื่อเติม dimethylsulfoxide n-hexane และ petroleum ether ปริมาณเมทิลเอสเทอร์เพิ่มขึ้น 4.8-7.0 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อเติม diethylether ปริมาณเมทิลเอสเทอร์ลดลง 9.8 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณเมทิลเอสเทอร์ที่ไม่เติมตัวทำละลายอินทรีย์ ส่วน Millqvist และคณะ (1994) ศึกษาผลของตัวทำละลายอินทรีย์ต่อปฏิกิริยาแอลกอฮอไลซิสจากไตรปาล์มมิตินโดยเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปจาก *Rhizopus arrhizus* ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ 6 ชนิด คือ methyl-*tert*-butyl ether, diisopropyl ether, hexane, isooctane, methyl isobutyl ketone และ toluene พบว่าเมื่อเติม methyl-*tert*-butyl ether จะให้ผลผลิตสูงสุดเท่ากับ 97 เปอร์เซ็นต์

5.7 ผลของการเติมเมทานอลซ้ำต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์

การศึกษาผลของการเติมเมทานอลซ้ำต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์โดยใช้เอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูป 60 ยูนิต ทำปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสโดยใช้สับสเตรทที่มีส่วนประกอบของไขปาล์มต่อเมทานอล ในอัตราส่วน 1:3 (โมล/โมล) ปริมาณ 5 กรัม โดยเติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.0 ปริมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสับสเตรท บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นเติมเมทานอล 1, 2, 3 และ 4 โมลาร์ บ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเมื่อเพิ่มเมทานอลหลังการบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีผลให้การผลิตเมทิลเอสเทอร์เพิ่มขึ้นทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่เพิ่มเมทานอลที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ตารางที่ 13) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Kaieda และคณะ (1999) ศึกษาผลของการเติมเมทานอลต่อปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสโดยใช้น้ำมันถั่วเหลืองและเมทานอล พบว่าหลังจากทำปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสและเติมเมทานอลซ้ำครั้งละ 1 โมล อีกสองครั้ง สามารถผลิตเมทิลเอสเทอร์ได้เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Shimada และคณะ (1999) ศึกษาปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสจากน้ำมันพืชโดยเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปจาก *Candida antarctica* พบว่าการเติมเมทานอลครั้งแรกเมื่อปฏิกิริยาดำเนินไป 7 ชั่วโมง ค่าเปอร์เซ็นต์ผลผลิตเท่ากับ 22.5 เปอร์เซ็นต์ และเติมเมทานอลครั้งที่ 2 เมื่อปฏิกิริยาดำเนินไป 7 ชั่วโมง ค่าเปอร์เซ็นต์ผลผลิตเท่ากับเพิ่มขึ้นเป็น 65.4 เปอร์เซ็นต์ ในการเติมเมทานอลครั้งที่ 3 เมื่อปฏิกิริยาดำเนินไป 24 ชั่วโมง ค่าเปอร์เซ็นต์ผลผลิตมากที่สุดเท่ากับ 98.4 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 12 ผลของตัวทำละลายอินทรีย์ต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์จากไขปาล์ม

Table 12 Effect of organic solvents (10%,v/v) on methanolysis of palm stearin

Organic solvent	FAMEs(%)
None	92.96 ± 0.56^{b}
Dimethyl sulfoxide	91.14 ± 1.5^{b}
Diethyl ether	84.37 ± 1.6^{a}
Hexane	92.31 ± 0.77^{b}
Petroleum ether	92.94 ± 0.40^{b}

Mean ± standard deviation of two replication. Mean within each row sharing a common superscript are significantly different (P>0.05).

ตารางที่ 13 ผลของการเติมเมทานอลซ้ำต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์จากไขปาล์ม

Table 13 Two-step methanolysis of palm stearin

Time	FAMEs (%)
24 h	90.40 ± 1.26^{a}
48 h	
Added 1 M methanol	93.89 ± 2.29^{b}
Added 2 M methanol	96.65 ± 0.39^{c}
Added 3 M methanol	97.28 ± 0.29^{c}
Added 4 M methanol	97.35 ± 0.60^{c}

Mean ± standard deviation of two replication. Mean within each row sharing a common superscript are significantly different (P>0.05).

6. การวิเคราะห์องค์ประกอบและคุณสมบัติที่สัมพันธ์ทางเชื้อเพลิงของเมทิลเอสเทอร์จากไขปาล์ม

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของเมทิลเอสเทอร์ที่ผลิตได้ (ตารางที่ 14) พบว่าเมทิลเอสเทอร์ส่วนใหญ่ประกอบด้วย เมทิลปาล์มมิเตท 49.24 เปอร์เซ็นต์ และเมทิลโอลิเอท 18.13 เปอร์เซ็นต์

ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติที่สัมพันธ์ทางเชื้อเพลิงของเมทิลเอสเทอร์โดยทำการเปรียบเทียบกับน้ำมันดีเซลและไบโอดีเซลมาตรฐานดังแสดงในตารางที่ 15 พบว่ามีความหนาแน่น 0.870 กรัมต่อลูกบาศเซ็นติเมตร จุดเดือดสุดท้าย (กลั่นได้ 90%) 350 องศาเซลเซียส และจุดวาบไฟ 176 องศาเซลเซียส มีค่าใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซลและไบโอดีเซลมาตรฐาน ส่วนจุดไหลเท 20 องศาเซลเซียส และความหนืด 7.52 เซนติสโตก มีค่ามากกว่าน้ำมันดีเซลไบโอดีเซลมาตรฐานเล็กน้อย และเมื่อเปรียบเทียบเมทิลเอสเทอร์จากไขปาล์มที่เร่งปฏิกิริยาด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์พบว่าคุณสมบัติที่สัมพันธ์ทางเชื้อเพลิงมีค่าใกล้เคียงกัน

รศ.ดร.ชาคริต ทองอุไร หัวหน้าคณะนักวิจัย คณะวิศวะกรรมศาสตร์ ได้ผลิตเมทิลเอสเทอร์จากไขปาล์มโดยโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 15 เมทิลเอสเทอร์ที่ผลิตได้มีข้อเสีย คือ จุดไหลเท (Pour point) มีค่าสูงกว่าน้ำมันดีเซล ซึ่งจะกลายเป็นของแข็งที่อุณหภูมิสูงกว่าน้ำมันดีเซล จึงไม่สามารถใช้เติมเครื่องจักรดีเซลในเมืองหนาวได้เพราะเมทิลเอสเทอร์จะแข็งตัว คณะวิจัยจึงใช้เมทิลเอสเทอร์ผสมกับน้ำมันดีเซลในอัตราส่วนอย่างละ 50 เปอร์เซ็นต์ เพื่อเป็นเชื้อเพลิงในเครื่องจักรดีเซลของการรถไฟแห่งประเทศไทย ขบวนที่ 175/176 สายหาดใหญ่-สุไหงโกลก ตั้งแต่ปลายเดือนมิถุนายน 2545 เป็นต้นมา ผลจากการทดสอบปรากฏว่าได้ผลดี นอกจากนี้เมทิลเอสเทอร์ยังได้รับการใช้สำหรับเป็นเชื้อเพลิงสำหรับเครื่องจักรกลทางการเกษตร รถบรรทุก รถกระบะในศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทองอันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดนราธิวาส ตั้งแต่เดือนธันวาคม 2544 ซึ่งปรากฏว่าได้ผลดีเช่นเดียวกัน

ตารางที่ 14 องค์ประกอบของเมทิลเอสเทอร์จากไขปาล์มโดยใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูป PS

Table 14 Composition of FAMEs from palm stearin usig immobilized lipase PS

Fatty acid esters(No. carbon atom : No. double bond)	%
Methyl myristate (14:0)	1.10
Methyl palmitate (16:0)	49.24
Methyl stearate (18:0)	6.60
Methyl oleate (18:1)	18.13
Methyl linoleate (18:2)	5.24
Methyl linolenate (18:3)	0.02

ตารางที่ 15 คุณสมบัติที่สัมพันธ์ทางเชื้อเพลิงของเมทิลเอสเทอร์จากไขปาล์ม

Table 15 Fuel properties of FAMEs from palm stearin

Properties	FAMEs		Diesel fuel**	Biodiesel Standard DIN V51606***	Method
	Enzyme catalysis	NaOH* catalysis			
Density (g/cm^3)	0.87	0.86	0.81-0.87	0.875-0.90	ASTM D1298
Distillation characteristics 90%(^oC)	350	350	357	340-360	ASTM D86
Flash point (^oC)	176	181	52	100	ASTM D93
Viscosity (cSt) at 40^oC	7.52	5	1.80-4.10	3.5-5	ASTM D445
Pour point (^oC)	18	16	≤ 10	≤ 10	ASTM D97

ที่มา : * งานวิจัยของ รศ.ดร.ชาคริต ทองอุไร ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวะกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

** มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม

*** Srivastava and Prasad (1999)

7. การขยายขนาดการผลิตเมทิลเอสเทอร์แบบกะ

การขยายขนาดการผลิตเมทิลเอสเทอร์แบบกะโดยขยายขนาดการผลิตเป็น 10 เท่า และ 100 เท่าโดยใช้เอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูป 600 ยูนิต และ 6000 ยูนิต เปรียบเทียบกับการผลิตแบบกะขนาดเล็ก ทำปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสโดยใช้สับสเตรทที่มีส่วนประกอบของไขปาล์มต่อเมทานอล ในอัตราส่วน 1:3 (โมล/โมล) โดยเติมน้ำ 20 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสับสเตรท บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าในการขยายขนาดการผลิตเป็น 10 เท่า สามารถผลิตเมทิลเอสเทอร์ได้ 92.66 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อขยายขนาดการผลิตเป็น 100 เท่า สามารถผลิตเมทิลเอสเทอร์ได้ 89.12 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับการผลิตแบบกะขนาดเล็กซึ่งสามารถผลิตเมทิลเอสเทอร์ได้ 93.23 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 16) จากผลการทดลองจะเห็นว่าสามารถขยายขนาดการผลิตเมทิลเอสเทอร์ขนาดใหญ่ได้ ซึ่งเปอร์เซ็นต์เมทิลเอสเทอร์ (ตารางที่ 16) และคุณสมบัติที่สัมพันธ์ทางเชื้อเพลิง (ตารางที่ 17) ไม่แตกต่างกับการผลิตเมทิลเอสเทอร์แบบกะขนาดเล็ก

ตารางที่ 16 การขยายขนาดการผลิตเมทิลเอสเทอร์แบบกะ จากไขปาล์มโดยใช้เอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูป

Table 16 Scale up of FAMEs production from palm stearin using immobilized lipase PS

Scale up	FAMEs(%)
1 time	93.23 ± 1.41^{a}
10 times	92.66 ± 0.57^{a}
100 times	89.12 ± 2.23^{a}

Mean $\pm$ standard deviation of two replication. Mean within each row sharing a common superscript are significantly different (P>0.05)

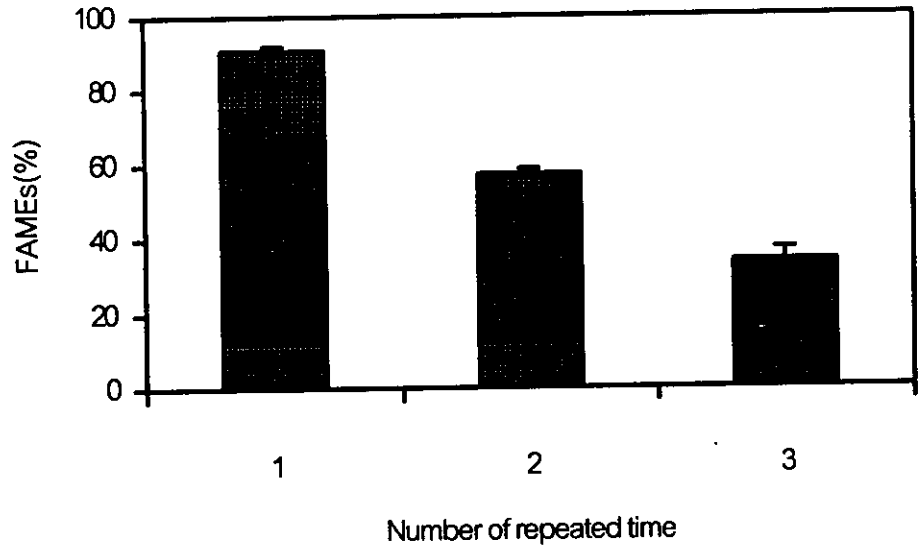
ตารางที่ 17 คุณสมบัติที่สัมพันธ์ทางเชื้อเพลิงของเมทิลเอสเทอร์จากไขปาล์มเมื่อขยายขนาดการผลิตแบบกะ 100 เท่า โดยใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูป PS

Table 17 Fuel properties of FAMEs from palm stearin after scale up of bath reactor 100 times using immobilized lipase PS

Properties	FAMEs
Density (g/cm^3)	0.88
Distillation characteristics 90% (^{o}C)	350
Flash point (^{o}C)	176
Viscosity (cSt) at 40^{o}C	7.50
Pour point (^{o}C)	18

8. ผลของการใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปซ้ำ

การผลิตเมทิลเอสเทอร์โดยใช้เอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูป 60 ยูนิต ทำปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสโดยใช้สับสเตรทที่มีส่วนประกอบของไขปาล์มต่อเมทานอล ในอัตราส่วน 1:3 (โมล/โมล) ปริมาณ 5 กรัม โดยเติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.0 ปริมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสับสเตรท บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณเมทิลเอสเทอร์ที่ผลิตได้ หลังจากนั้นแยกเอนไซม์ตรึงรูปด้วยการกรองแล้วล้างด้วยเอทานอลและอะซิโตนอัตราส่วน 1:1 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปทำให้แห้งในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วนำเอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูปกลับมาใช้ใหม่ พบว่าเมื่อนำเอนไซม์ไลเปสตรึงรูป PS ไปใช้ซ้ำ 3 ครั้ง การผลิตเมทิลเอสเทอร์ของการใช้ซ้ำครั้งที่ 3 ลดลงเหลือ 33.95 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 17)



ภาพที่ 17 ผลของการใช้เอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูปซ้ำ

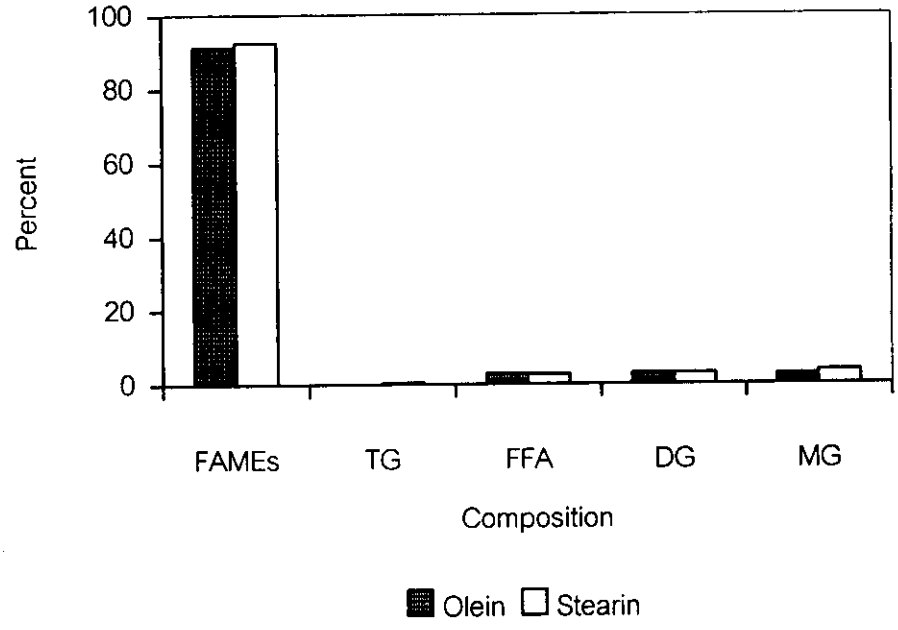
Figure17 Repeated use of immobilized lipase PS

9. การผลิตเมทิลเอสเทอร์จากไขปาล์มด้วยเอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูปแบบต่อเนื่อง

การผลิตเมทิลเอสเทอร์โดยใช้ถังปฏิกรณ์แบบ Paked-bed reactor (PBR) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.7 เซนติเมตร ยาว 39 เซนติเมตร มีปริมาตรรวม 20 ลูกบาศก์เซนติเมตร และในถังปฏิกรณ์แบบ Continuous stirred tank reactor (CSTR) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยใช้เอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูป 666.5 ยูนิต โดยใช้อัตรการป้อนสับสเตรท 0.01 มิลลิลิตรต่อนาที โดยใช้เอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูป 666.5 ยูนิต ทำปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสโดยใช้สับสเตรทที่มีส่วนผสมของไขปาล์มต่อเมทานอล พบว่ามีปัญหาในการป้อนสับสเตรทเพราะไขปาล์มแข็งที่อุณภูมิห้องจึงไม่สามารถป้อนสับสเตรทให้ไหลจากสายปั๊มลงในคอลัมน์ได้ จึงไม่สามารถผลิตเมทิลเอสเทอร์แบบต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์แบบ PBR และ CSTR ได้ จึงได้เปลี่ยนสับสเตรทจากไขปาล์มเป็นน้ำมันปาล์ม ซึ่งมีการศึกษาในขั้นตอนต่อไป

10. การผลิตเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์มด้วยเอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูปแบบต่อเนื่อง

ก่อนทำปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสจากน้ำมันปาล์มโอเลอีนอย่างต่อเนื่อง ได้ศึกษาปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสจากน้ำมันปาล์มโอเลอีนแบบกะโดยใช้น้ำมันปาล์มต่อเมทานอล 1:3 (โมล/โมล) ใช้เอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูป 60 ยูนิต และปริมาณน้ำ 20 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสับสเตรท นำไปบ่มบนเครื่องเขย่า 250 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าสามารถผลิตเมทิลเอสเทอร์ 91.44 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีกรดไขมัน ไดกลีเซอไรด์ และโมโนกลีเซอไรด์เหลืออยู่ปริมาณเล็กน้อย คือ 2.91, 2.98 และ 2.7 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับการผลิตเมทิลเอสเทอร์จากไขปาล์ม (ภาพที่ 18)

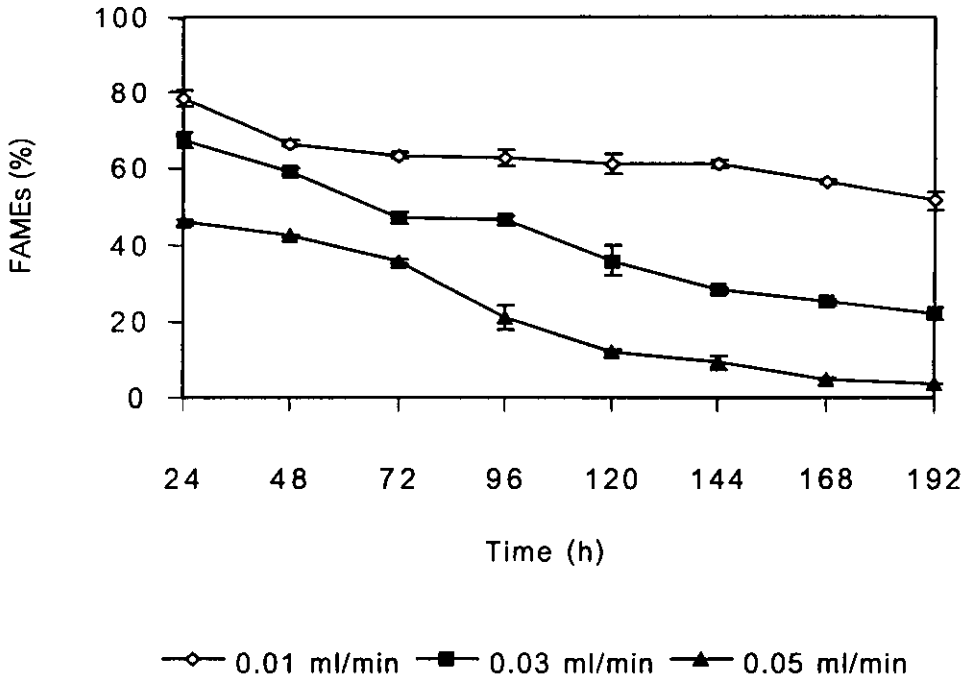


ภาพที่ 18 ผลผลิตของปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสจากไขปาล์มและน้ำมันปาล์ม (ใช้น้ำมันปาล์มต่อเมทานอล 1:3 (โมล/โมล) เอนไซม์ตรึงรูป PS 60 ยูนิต และน้ำ 20 เปอร์เซ็นต์ บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง)

Figure 18 Production of methanolysis from palm stearin and palm olein (The methanolysis reaction was carried out with a mixture of olein:methanol = 1:3 (mol/mol) 60 U of immobilized lipase PS and water content of 20% by weight of the substrate at 50°C for 24 h)

10.1 การผลิตเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์มด้วยเอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูปแบบต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์แบบ Packed-bed reactor (PBR)

การผลิตเมทิลเอสเทอร์โดยใช้ถังปฏิกรณ์แบบ PBR ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.7 เซนติเมตร ยาว 39 เซนติเมตร มีปริมาตรรวม 20 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใช้เอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูป 666.5 ยูนิต โดยใช้น้ำมันปาล์มต่อเมทานอลเท่ากับ 1:3 (โมล/โมล) และปริมาณน้ำ 20 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสับสเตรท ควบคุมอุณหภูมิภายในคอลัมน์ 50 องศาเซลเซียส ศึกษาอัตราการไหลของสับสเตรทเท่ากับ 0.01, 0.03 และ 0.05 มิลลิลิตรต่อนาที จากการทดลองพบว่าในการป้อนสับสเตรทลงในคอลัมน์มีเมทานอลบางส่วนระเหยมาเกาะที่จุกส่วนบนคอลัมน์ และผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่ที่ออกด้านล่างคอลัมน์เป็นกรดไขมันมีปริมาณเมทิลเอสเทอร์เกิดขึ้นน้อยมากเพราะมีเมทานอลไม่เพียงพอในการเกิดปฏิกิริยา ดังนั้นจึงเพิ่มอัตราส่วนของน้ำมันปาล์มโอเลอีนต่อเมทานอลเท่ากับ 1:6 (โมล/โมล) เพื่อให้เพียงพอในการเกิดปฏิกิริยา พบว่าเมื่อทำปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสอย่างต่อเนื่องที่อัตราการไหลของสับสเตรทเท่ากับ 0.01 มิลลิลิตรต่อนาที จะให้ปริมาณเมทิลเอสเทอร์เฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 62.76 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 192 ชั่วโมง เมื่อเพิ่มอัตราการไหลของสับสเตรทเท่ากับ 0.03 มิลลิลิตรต่อนาที จะให้ปริมาณเมทิลเอสเทอร์เฉลี่ยเท่ากับ 55.05 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 96 ชั่วโมง หลังจากนั้นการผลิตเมทิลเอสเทอร์จะลดลงเหลือน้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเพิ่มอัตราการไหลของสับสเตรทเท่ากับ 0.05 มิลลิลิตรต่อนาที จะให้ปริมาณเมทิลเอสเทอร์เฉลี่ยเท่ากับ 44.04 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นการผลิตเมทิลเอสเทอร์จะลดลงอย่างรวดเร็ว (ภาพที่ 19)



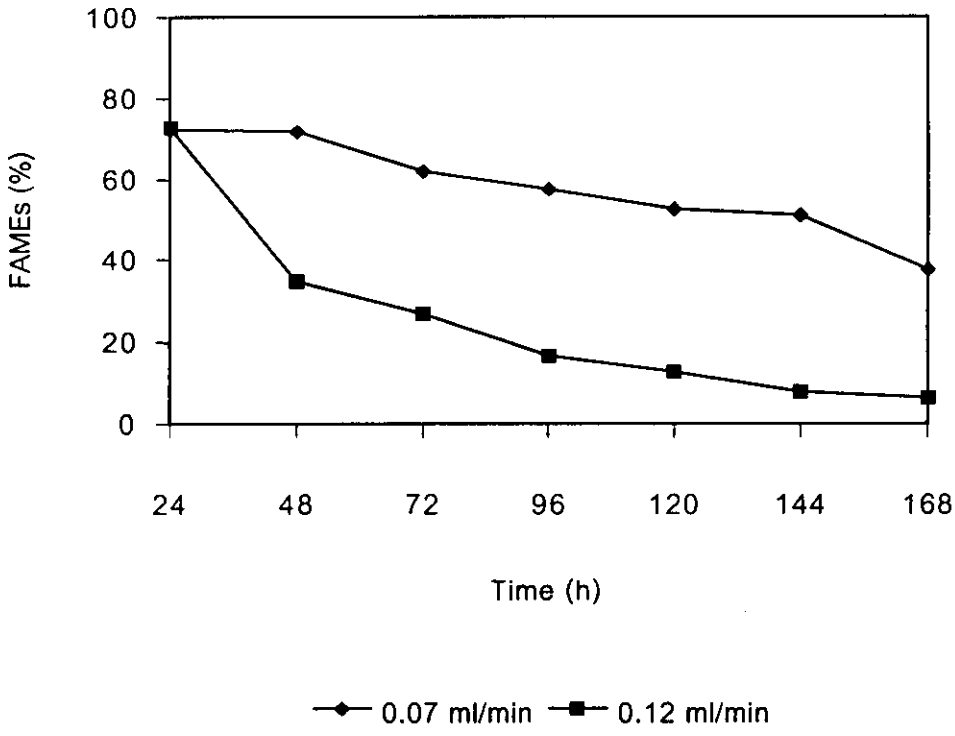
ภาพที่ 19 การผลิตเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์มด้วยเอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูปแบบต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์แบบ PBR

Figure 19 Continuous production of FAMEs from palm olein with immobilized lipase PS in PBR

10.2 การผลิตเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์มด้วยเอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูปแบบต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์แบบ Continuous stirred tank reactor (CSTR)

การผลิตเมทิลเอสเทอร์ด้วยเอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูปแบบต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์แบบ CSTR ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยใช้เอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูป 666.5 ยูนิต โดยใช้อัตราการป้อนสับสเตรท 0.07 และ 0.12 มิลลิลิตรต่อนาที ทำปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสโดยใช้สับสเตรทที่มีส่วนผสมของน้ำมันปาล์มต่อเมทานอลเท่ากับ 1:6 โมล/โมล และปริมาณน้ำ 20 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสับสเตรท ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อทำปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสอย่างต่อเนื่องที่อัตราการไหลของสับสเตรทเท่ากับ 0.07 มิลลิลิตรต่อนาที จะให้ปริมาณเมทิลเอสเทอร์เฉลี่ยเท่ากับ 61.05 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 144 ชั่วโมง หลังจากนั้นการผลิตเมทิลเอสเทอร์ลดลงเหลือน้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพิ่มอัตราการไหลของสับสเตรทเท่ากับ 0.12 มิลลิลิตรต่อนาที จะให้ปริมาณเมทิลเอสเทอร์เฉลี่ยเท่ากับ 25.41 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 168 ชั่วโมง (ภาพที่ 20)

จากการทดลองการผลิตเมทิลเอสเทอร์โดยใช้ถังปฏิกรณ์แบบต่อเนื่องโดยใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูป PS พบว่า การผลิตเมทิลเอสเทอร์อย่างต่อเนื่องโดยใช้ถังปฏิกรณ์แบบ PBR จะสามารถผลิตเมทิลเอสเทอร์ได้ดีกว่าการใช้ถังปฏิกรณ์แบบ CSTR อาจเป็นไปได้ว่าการใช้ถังปฏิกรณ์แบบ PBR เอนไซม์ไลเปสตรึงรูป PS และสับสเตรทมีโอกาสสัมผัสและทำปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสได้มากกว่าถังปฏิกรณ์แบบ CSTR



ภาพที่ 20 การผลิตเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์มด้วยเอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูปแบบต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์แบบ CSTR

Figure 20 Continuous production of FAMEs from palm olein with immobilized lipase PS in CSTR