บทที่ 2

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุ

1. วัตถุดิบ

น้ำมันปาล์มโอเลอีนทางการค้าตรามรกต ผลิตโดยบริษัทมรกตอินดัสตรี้ส์จำกัด (มหาชน)

ไขปาล์ม ได้รับความเอื้อเฟื้อจาก บริษัทชุมพรน้ำมันปาล์ม จำกัด

2. เอนไซม์ไลเปสทางการค้าชนิดผง

เอนไซม์ไลเปสทางการค้าชนิดผง 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*) ได้รับความเอื้อเฟื้อจาก Amano Seiyaku ประเทศญี่ปุ่น

3. ตัวพยุงสำหรับตรึงรูปเอนไซม์

- แอคคูเรล (Accurel หรือ Polypropylene powder EP-100) ขนาดรูพรุนต่ำกว่า 200 ไมโครเมตร ได้รับความเอื้อเฟื้อจาก Akzo Nobel ประเทศเยอรมันนี
- ซีไลท์ (Celite 545) ขนาด 200 ไมโครเมตร ผลิตโดยบริษัท Wako Pure Chemical Industries ประเทศญี่ปุ่น

อุปกรณ์

- เครื่องกรองสูญญากาศ รุ่น A-3S ยี่ห้อ EYELA ประเทศญี่ปุ่นของ
- เครื่องเขย่าแบบตั้งโต๊ะ รุ่น 3005 ยี่ห้อ GFL ของ Lab-Line Co., Ltd.
- ตู้ควบคุมอุณหภูมิ รุ่น BE 500 ยี่ห้อ Memmert ประเทศเยอรมันนี
- สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ รุ่น U-2000 ยี่ห้อ Hitachi ประเทศญี่ปุ่น

- Thin-Layer Chromatography/Flame Ionization Detection analyzer (TLC/FID) รุ่น Iatroscan MK-5 บริษัท Iatron Laboratories ประเทศญี่ปุ่น โดยใช้ Chromarod SIII (Silica gel powder coated)
- Gas Chromatography/Flame Ionization Detection analyzer (GC/FID) รุ่น Autosystem XL-GC บริษัท PERKIN ELMER ประเทศเยอรมันนี โดยใช้คอลัมน์แบบ Fused silica capillary ที่มี DF 0.25 ไมโครเมตร ชนิด FFAP-PERMABOND ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.25 มิลลิเมตร ยาว 25 เมตร

วิธีการวิเคราะห์

ในแต่ละขั้นตอนของการศึกษาจะมีการวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design : CRD) โดยกำหนดให้จำนวนซ้ำในการศึกษาแต่ละครั้งมีจำนวนเท่ากับ 3 ซ้ำ และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan 's new multiple-range test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS for Window version 10.0

1. การวิเคราะห์ชนิดกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบของไขปาล์ม น้ำมันปาล์ม และเมทิลเอสเทอร์

เตรียมน้ำมันให้อยู่ในรูปเมทิลเอสเทอร์(ภาคผนวก ก ข้อ 7) แล้ววิเคราะห์ด้วย GC/FID analyzer สำหรับขั้นตอนและสภาวะที่ใช้วิเคราะห์มีดังนี้

เซ็ท GC/FID analyzer ที่มีคอลัมน์แบบ Fused silica capillary DF 0.25 ไมโครเมตร ชนิด PERMABOND-FFAP ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.25 มิลลิเมตร ความยาว 25 เมตรให้มีสภาวะการทำงานดังนี้ อุณหภูมิของ injector เท่ากับ 245 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของคอลัมน์เริ่มจาก 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0.5 นาที เพิ่มขึ้นเป็น 170 องศาเซลเซียส ด้วยอัตรา 4 องศาเซลเซียสต่อนาที หลังจากนั้นเพิ่มเป็น 215 องศาเซลเซียส ด้วยอัตรา 10 องศาเซลเซียสต่อนาที และคงที่ที่ 215 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12.5 นาที และอุณหภูมิของ detector เท่ากับ 250 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะที่มีการไหลของแก๊สฮีเลียม 25 เซ็นติเมตรต่อนาที และ Split ratio เท่ากับ 100:1 (Shimada *et al.*, 1997) เมื่อ GC/FID analyzer พร้อมสำหรับการวิเคราะห์ ฉีดสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของไขปาล์ม น้ำมันปาล์ม และเมทิลเอสเทอร์ที่ผลิตได้

ปริมาตร 1-10 ไมโครลิตร ที่ injector port และสแกนด้วยระบบสแกนอัตโนมัติ ซึ่งจะคำนวณปริมาณของกรดไขมันแต่ละชนิดจากพื้นที่ใต้ peak เปรียบเทียบกับ peak ทั้งหมด

2. **การวิเคราะห์องค์ประกอบจากปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสของไขปาล์ม**

การวิเคราะห์องค์ประกอบจากปฏิกิริยาเมทาโนไซสได้แก่ เมทิลเอสเทอร์ ไตรกลีเซอไรด์ กรดไขมันอิสระ ไดกลีเซอไรด์ และโมโนกลีเซอไรด์ ด้วย TLC/FID analyzer สำหรับขั้นตอนและสภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ด้วย TLC/FID analyzer (Freedman *et al.*, 1984) มีดังนี้

- เตรียม quartz rods (silica gel powder coated Chromarod S-III) โดยแช่ในสารละลายกรดบอริก ความเข้มข้นร้อยละ 3 เป็นเวลา 5 นาที นำ quartz rods ไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปทำ blank scan ด้วย TLC/FID analyzer ภายใต้สภาวะ 30 วินาทีต่อสแกน อัตราการไหลของแก๊สไฮโดรเจน 160 มิลลิลิตรต่อนาที และอัตราการไหลของอากาศ 2000 มิลลิลิตรต่อนาที

- หยดสารละลายไตรกลีเซอไรด์และเมทิลเอสเทอร์มาตรฐานบน quartz rods ประมาณ 1 ไมโครลิตร นำ quartz rods ไปแช่ในสารละลายซึ่งประกอบไปด้วย เฮกเซน: ไดเอทิลอีเทอร์:กรดฟอร์มิก ในอัตราส่วน 50:20:0.3 (ปริมาตรต่อปริมาตรต่อปริมาตร) จนกระทั่งสารละลายเคลื่อนที่สูงประมาณ 8 เซนติเมตร หลังจากนั้นนำไปแช่ในสารละลายซึ่งประกอบไปด้วย เฮกเซน:เบนซิน ในอัตราส่วน 1:1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) จนกระทั่งสารละลายเคลื่อนที่สูงประมาณ 10 เซนติเมตร

- นำ quartz rods ไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำมาสแกนภายใต้สภาวะเดียวกันกับ blank scan ซึ่งจะคำนวณปริมาณขององค์ประกอบแต่ละชนิดจากพื้นที่ใต้ peak เปรียบเทียบกับ peak ทั้งหมด

3. **การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสอิสระ**

ใช้วิธี two-phase emulsion method ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Lee และ Rhee (1993).

3.1 **สารผสมในปฏิกิริยา**

สารผสมในปฏิกิริยาประกอบด้วยไขปาล์มที่ละลายในไอโซออกเทนความเข้มข้นร้อยละ 10 (ปริมาตร/ปริมาตร) 1.0 มิลลิลิตร สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 โมลาร์ พีเอช 7 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันในหลอดฝาเกลียวขนาด 10 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสาร

ละลายเอนไซม์ไลเปส 0.2 มิลลิลิตร หรือเอนไซม์ไลเปสตรึงรูป 10 มิลลิกรัม นำไปบ่มบนเครื่องเขย่าความเร็ว 300 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลาหยุดปฏิกิริยาโดยเติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6.0 โมลาร์ ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ผสมอย่างรวดเร็วทิ้งให้แยกชั้น

3.2 **วิธีการวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมัน**

วิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันอิสระโดยใช้วิธี cupric acetate method (Kwon and Rhee, 1986) โดยดูดสารละลายส่วนบนในปฏิกิริยาจากข้อ 3.1 มาเจือจางกับไอโซออกเทน ให้ได้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำไปทำปฏิกิริยากับสารละลาย cupric acetate-pyridine reagent ปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร ปั่นผสมกันอย่างรวดเร็ว ทิ้งให้แยกชั้น นำส่วนของไอโซออกเทนไปวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันอิสระโดยการวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 715 นาโนเมตร วัดปริมาณกรดไขมันที่ปลดปล่อยออกมาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานในรูปกรดปาล์มมิติก (ภาพภาคผนวก ก2)

3.3 **การคำนวณกิจกรรมของเอนไซม์เป็นหน่วยของเอนไซม์**

กำหนดให้ 1 หน่วยของเอนไซม์ หมายถึง ปริมาณของเอนไซม์ไลเปสสามารถเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายไขปาล์มให้ได้กรดไขมันอิสระในรูปกรดปาล์มมิติกปริมาณ 1 ไมโครโมล ในเวลา 1 นาที ภายใต้สภาวะที่ทดสอบ

4. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของเอนไซม์ไลเปส

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของเอนไซม์ไลเปส ใช้วิธีของ Lowry และคณะ (Lowry *et al.*, 1951) โดยใช้ bovine serum albumin (BSA) เป็นโปรตีนมาตรฐาน (ภาพภาคผนวก ก1)

วิธีการศึกษา

1. การวิเคราะห์องค์ประกอบและคุณสมบัติทางเคมีของไขปาล์มและน้ำมันปาล์ม

ทำการวิเคราะห์ชนิดกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบของไขปาล์มและน้ำมันปาล์มด้วย GC/FID และวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของไขปาล์ม คือ ค่าสปอนนิฟิเคชัน ค่าเปอร์ออกไซด์ ค่าไอโอดีน และค่ากรด ตามวิธีวิเคราะห์ที่แสดงในภาคผนวก ก

2. การคัดเลือกชนิดเอนไซม์ไลเปสที่เหมาะสมต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์ด้วยปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสจากไขปาล์มและน้ำมันปาล์ม

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*) และไลเปส FAP-15 (*Rhizopus oryzae*)

คัดเลือกชนิดเอนไซม์ไลเปสที่เหมาะสมต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์ด้วยปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสจากไขปาล์มและน้ำปาล์มด้วยเอนไซม์ไลเปส 7 ชนิด มีขั้นตอนการวิเคราะห์ ดังนี้

- เตรียมสารละลายเอนไซม์ไลเปสโดยชั่งเอนไซม์ไลเปส (ชนิดผง) แต่ละชนิดให้มีค่ากิจกรรมเท่ากับ 150 ยูนิต ละลายในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 โมลาร์ พีเอช 7 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร
- เติมสับสเตรทที่มีส่วนผสมของน้ำมัน ต่อ เมทานอล อัตราส่วน 1:2 (โมล/โมล) 5 กรัม นำไปบ่มบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 250 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างที่เวลา 12 ชั่วโมง นำตัวอย่างที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณเมทิลเอสเทอร์ด้วยเครื่อง TLC/FID คัดเลือกเอนไซม์ที่ให้ปริมาณเมทิลเอสเทอร์สูงสุด

3. การคัดเลือกชนิดของตัวพยุงที่ใช้ตรึงเอนไซม์ไลเปส

ตรึงเอนไซม์ที่คัดเลือกได้จากข้อ 2 ด้วยวิธีดูดซับทางกายภาพบนตัวพยุง 2 ชนิด คือ แอคคูเรล และซีไลท์ โดยคัดเลือกตัวพยุงที่มีกิจกรรมยึดเกาะของเอนไซม์บนตัวพยุงและกิจกรรมของเอนไซม์ที่ถูกตรึงสูงสุด มีวิธีการศึกษาดังนี้

เตรียมสารละลายเอนไซม์ไลเปสในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 โมลาร์ พีเอช 7 (3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ใช้สารละลายเอนไซมไลเปส 20 มิลลิลิตร ผสมกับตัวพยุงแต่ละชนิด 200 มิลลิกรัม ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องกวนแบบแม่เหล็ก ความเร็ว 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นำส่วนผสมที่ได้ไปกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ด้วยเครื่องกรองระบบสูญญากาศ ล้างตัวพยุงด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เก็บสารละลายที่ได้ไปวัดปริมาตร และวิเคราะห์ค่ากิจกรรมเอนไซม์ ปริมาณโปรตีน ชั่งน้ำหนักตัวพยุงที่ผ่านการตรึงเอนไซม์ทั้งหมด หลังจากนั้นนำไปทำให้แห้งในโถดูดความชื้นที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 คืน ชั่งน้ำหนักตัวพยุงที่ผ่านการตรึงเอนไซม์ทั้งหมด วิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ไลเปสที่ถูกตรึง กิจกรรมการยึดเกาะและประสิทธิภาพการยึดเกาะ

เอนไซม์ที่ผ่านการตรึงบนตัวพยุงจะเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในขวดแก้วปิดสนิทก่อนนำไปใช้ (Montero *et al.*, 1993)

$$\text{กิจกรรมการยึดเกาะ} = \frac{\text{กิจกรรมทั้งหมดของเอนไซม์ที่ถูกตรึง}}{\text{กิจกรรมทั้งหมดของเอนไซม์อิสระ}} \times 100$$

$$\text{ประสิทธิภาพการยึดเกาะ} = \frac{\text{กิจกรรมทั้งหมดของเอนไซม์อิสระ} - \text{กิจกรรมที่ตกค้างในสารละลาย}}{\text{กิจกรรมทั้งหมดของเอนไซม์อิสระ}} \times 100$$

4. ปัจจัยที่มีผลต่อการนำเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปไปใช้ในการผลิตเมทิลเอสเทอร์

4.1 ศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์ไลเปสอิสระและเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์

ใช้เอนไซม์ไลเปสอิสระและเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์โดยใช้เอนไซม์ไลเปส 20, 40, 60 และ 80 ยูนิต ทำปฏิกิริยากับสับสเตรท (ไขปาล์มต่อเมทานอล, 1:2 โมล/โมล) 5 กรัม สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 โมลาร์ พีเอช 7.0 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันในหลอดทดลองฝาเกลียวขนาด 10 มิลลิลิตร ด้วยเครื่องเขย่าความเร็ว 250 รอบต่อนาที บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง นำตัวอย่างที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณเมทิลเอสเทอร์ด้วยเครื่อง TLC/FID

4.2 ศึกษาผลของเวลาและปริมาณเอนไซม์ต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์

ใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูป 20, 40, 60 และ 80 ยูนิต ทำปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสโดยใช้สับสเตรท (ไขปาล์มต่อเมทานอล, 1:2 โมล/โมล) 5 กรัม สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 โมลาร์ พีเอช 7.0 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส โดยเก็บตัวอย่างที่เวลา 6, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง นำตัวอย่างที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณเมทิลเอสเทอร์ด้วยเครื่อง TLC/FID

4.3 ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์

ใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปปริมาณที่เหมาะสมจากข้อ 4.2 ทำปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสโดยใช้สับสเตรท (ไขปาล์มต่อเมทานอล, 1:2 โมล/โมล) 5 กรัม สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 โมลาร์ พีเอช 7.0 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 45, 50, 55, และ 60 องศาเซลเซียส โดยเก็บตัวอย่างที่เวลาเหมาะสมนำตัวอย่างที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณเมทิลเอสเทอร์ด้วยเครื่อง TLC/FID

4.4 ศึกษาปริมาณเมทานอลต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์

ใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปปริมาณที่เหมาะสมจากข้อ 4.2 ทำปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสโดยใช้สับสเตรทที่มีส่วนประกอบของไขปาล์มต่อเมทานอล ในอัตราส่วน 1:2, 1:3, 1:4, 1:5 และ 1:6 (โมล/โมล) ปริมาณ 5 กรัม สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 โมลาร์ พีเอช 7.0 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม นำตัวอย่างที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณเมทิลเอสเทอร์ด้วยเครื่อง TLC/FID

4.5 ศึกษาผลของปริมาณน้ำต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์

ใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปปริมาณที่เหมาะสมจากข้อ 4.2 ทำปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสโดยใช้สับสเตรทที่มีส่วนประกอบของไขปาล์มต่อเมทานอล ในอัตราส่วน ที่เหมาะสมจากข้อ 4.4 โดยเติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 โมลาร์ พีเอช 7.0 ในปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสปริมาณต่างๆ กันคือ 2, 5, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสับสเตรท บ่มที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม นำตัวอย่างที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณเมทิลเอสเทอร์ด้วยเครื่อง TLC/FID

4.6 ผลของตัวทำละลายอินทรีย์ต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์

ใช้เอนไซม์ไลเปสอิสระและเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปปริมาณที่เหมาะสมจากข้อ 4.2 ทำปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสโดยที่มีส่วนประกอบของไขปาล์มต่อเมทานอล ในอัตราส่วนที่เหมาะสมจากข้อ 4.4 ปริมาณ 5 กรัม เติมปริมาณน้ำที่เหมาะสมจากข้อ 4.5 ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ 4 ชนิด คือ dimethylsulfoxide, diethylether, hexane และ petroleum ether เติมลงไป 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสับสเตรท บ่มที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม นำตัวอย่างที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณเมทิลเอสเทอร์ด้วยเครื่อง TLC/FID

4.7 ผลของการเติมเมทานอลซ้ำต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์

ใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปปริมาณที่เหมาะสมจากข้อ 4.2 ทำปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสโดยใช้สับสเตรท 5 กรัม เติมปริมาณน้ำจากข้อ 4.5 บ่มที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม หลังจากนั้นเติมเมทานอล 1, 2, 3 และ 4 โมลาร์ บ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณเมทิลเอสเทอร์ด้วยเครื่อง TLC/FID

5. การนำเมทิลเอสเทอร์ที่ผลิตได้ไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบและคุณสมบัติที่สัมพันธ์ทางเชื้อเพลิง ของน้ำมันดีเซลชีวภาพ

นำเมทิลเอสเทอร์ที่ผลิตได้ไปวิเคราะห์ชนิดกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบตามวิธีการวิเคราะห์ข้อ 1 และวิเคราะห์คุณสมบัติที่สัมพันธ์ทางเชื้อเพลิงตามมาตรฐาน American Society for Testing and Materials (ASTM) ที่ภาควิชาวิศวะกรรมเคมี คณะวิศวะกรรมศาสตร์

คุณสมบัติที่สัมพันธ์ทางเชื้อเพลิงที่ต้องวิเคราะห์ ได้แก่

จุดวาบไฟ (Flash point) คือ อุณหภูมิต่ำสุดของผลิตภัณฑ์ปิโตรเลียมที่จะติดไฟเมื่อมีเปลวไฟผ่าน

ความหนาแน่น (Density) คือ มวลต่อปริมาตรของน้ำมัน

จุดเดือดสุดท้าย (Distillation characteristics) คือ อุณหภูมิสูงสุดที่อ่านได้ในระหว่างการกลั่น

ความหนืด (Viscosity) คือ สมบัติแสดงความยากง่ายในการไหลของของไหลซึ่งขึ้นกับแรงต้านภายในของของไหลนั้น

จุดไหลเท (Pour point) คือ อุณหภูมิต่ำสุดที่น้ำมันยังคงไหลได้เมื่อทำให้เย็นลง

6. การขยายขนาดการผลิตเมทิลเอสเทอร์แบบกะ

การขยายขนาดการผลิตเมทิลเอสเทอร์แบบกะจากไขปาล์มด้วยเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปโดยขยายขนาดการผลิตเป็น 10 เท่า และ 100 เท่า เปรียบเทียบกับการผลิตแบบกะขนาดเล็ก ทำปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสโดยใช้สับสเตรทที่มีส่วนประกอบของไขปาล์มต่อเมทานอล บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณเมทิลเอสเทอร์ด้วยเครื่อง TLC/FID และวิเคราะห์คุณสมบัติที่สัมพันธ์ทางเชื้อเพลิงตามมาตรฐาน

American Society for Testing and Materials (ASTM) ที่ภาควิชาวิศวะกรรมเคมี คณะวิศวะกรรมศาสตร์

7. การนำเอนไซม์ไลเปสที่ถูกตรึงกลับมาใช้ใหม่

ใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปปริมาณที่เหมาะสมจากข้อ 4.2 ทำปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสโดยใช้สับสเตรท 5 กรัม เติมปริมาณน้ำจากข้อ 4.5 บ่มที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม วิเคราะห์ปริมาณเมทิลเอสเทอร์ที่ผลิตได้ หลังจากนั้นแยกเอนไซม์ตรึงรูปด้วยการกรองแล้วล้างด้วยเอทานอลและอะซิโตนอัตราส่วน 1:1 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และล้างด้วยน้ำกลั่นอีก 10 มิลลิลิตร นำไปทำให้แห้งในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วนำเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปกลับมาใช้ใหม่ วิเคราะห์ปริมาณเมทิลเอสเทอร์ที่ผลิตได้ หลังจากนั้นแยกเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปมาทำ ปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสใหม่ จนกว่าปริมาณเมทิลเอสเทอร์จะลดลง 50 เปอร์เซ็นต์

8. การศึกษาการผลิตเมทิลเอสเทอร์จากไขปาล์มโดยใช้เอนไซม์ไลเปสที่ถูกตรึงในถังปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง

8.1 การผลิตเมทิลเอสเทอร์ด้วยเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปแบบต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์แบบ Packed-bed reactor (PBR)

นำเอนไซม์ไลเปสที่ถูกตรึงบรรจุในคอลัมน์แก้ว 2 ชั้น ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.7 เซนติเมตร ยาว 39 เซนติเมตร มีปริมาตรรวม 8.85 ลูกบาศก์เซนติเมตร รอบนอกบรรจุน้ำหล่อตามอุณหภูมิที่เหมาะสมในการศึกษาข้อ 4.3 โดยจะปล่อยสารผสมระหว่างน้ำมันปาล์มกับเมทานอลจากด้านบนของคอลัมน์ลงสู่ด้านล่างศึกษาอัตราการไหลของสับสเตรทเท่ากับ 0.01, 0.03 และ 0.05 มิลลิลิตรต่อนาที นำตัวอย่างที่ได้มาวิเคราะห์หาองค์ประกอบด้วยเครื่อง TLC/FID

8.2 การผลิตเมทิลเอสเทอร์ด้วยเอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูปแบบต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์แบบ Continuous stirred tank reactor (CSTR)

การผลิตเมทิลเอสเทอร์ด้วยเอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูปแบบต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์แบบ CSTR ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ทำปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสโดยใช้สับสเตรทที่มีส่วนผสมของไขปาล์มกับเมทานอล ที่อุณหภูมิที่เหมาะสมโดยใช้อัตราการป้อนสับสเตรท 0.07 และ 0.12 มิลลิลิตรต่อนาที นำตัวอย่างที่ได้มาวิเคราะห์หาองค์ประกอบด้วยเครื่อง TLC/FID