ภาคผนวก ก
วิธีวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์หาปริมาณกลีเซอรอล ตามวิธีของ มอก. 336 (2523)

สารเคมีที่ใช้

1.โปแทสเซียมไฮโดรเจนทาเลตที่แห้ง

2. สารละลายโซเดียมเปอร์ไอโอเดต นำสารละลายโซเดียมเปอร์ไอโอเดต 60 กรัม ในน้ำกลั่น 500 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมกรดซัลฟุริกความเข้มข้น 0.05 โมลต่อลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 1,000 ลูกบาศก์เซนติเมตร ละลายโซเดียมเปอร์ไอโอเดตโดยไม่ต้องใช้ความร้อน ถ้าสารละลายขุ่นให้กรองด้วยซินเตอร์กลาสครูซิเบิลที่มีขนาดช่อง 15 – 40 ไมโครเมตร ถ่ายใส่ขวดสีน้ำตาลพร้อมจุกแก้วปิดสนิทแล้วเก็บในที่มืด

3. สารละลายอีเทนไดออล ผสมอีเทนไดออลที่เป็นกลางและปราศจากกลีเซอรอล 1 ส่วน กับน้ำกลั่น 1 ส่วน

4. สารละลายมาตรฐานบัฟเฟอร์ สำหรับเทียบมาตรฐานกับเครื่องวัดความเป็นกรด – ด่าง

ชั่งโปตัสเซียมไฮโดนเจนทาเลต จากข้อ 1 จำนวน 10.21 กรัม ถ่ายใส่ขวดแก้ววัดปริมาตร 1,000 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมน้ำจนได้ปริมาตร 1,000 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วเขย่าให้ละลาย สารละลายนี้จะมีความเป็นกรด – ด่าง 4.0 ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

5. สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ปราศจากคาร์บอเนต ความข้นข้น 0.125 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร

6. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.05 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร

7. สารละลายกรดซัลฟุริก ความเข้มข้นประมาณ 0.1 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร

8.โบรโมไทมอลบลูอินดิเคเตอร์

ละลายโบรโมไทมอลบลูที่แห้ง 0.1 กรัม ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.01 โมลต่อลูกบาศก์ เซนติเมตร จำนวน 16 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยการบดในโกร่ง ถ่ายใส่ขวดแก้วปรับปริมาตร ขนาด 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมน้ำจนได้ปริมาตร 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

วิธีเตรียมตัวอย่าง

อุ่นตัวอย่างให้พอละลาย แล้วกวนทำให้เข้ากันก่อนนำมาวิเคราะห์และให้ระวังการดูดซับน้ำและการสูญเสียน้ำของตัวอย่างด้วย

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างในขวดชั่งให้ได้น้ำหนัก ระหว่าง (41 $\pm$ 9)/P กรัม เมื่อ P คือค่าร้อยละของกลีเซอรอลที่คาดว่าจะมีในตัวอย่าง แต่ถ้าไม่ทราบปริมาณกลีเซอรอลให้คำนวณจากค่า P เท่ากับ 100 ก่อน แล้วหลังจากได้ผลการวิเคราะห์ จึงเลือกขนาดตัวอย่างที่เหมาะสมต่อไป

2. ถ่ายตัวอย่างลงบีกเกอร์ เติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตรประมาณ 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร หยดโบรโมไทมอลบลูอินดิเคเตอร์ 5 - 7 หยด แล้วทำให้เป็นกรดด้วยสารละลายกรดซัลฟุริก 0.1 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร

3. ทำสารละลายให้เป็นกลางด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.05 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร อย่างระมัดระวังจนได้สารละลายสีฟ้าซึ่งไม่มีสีเขียวปนอยู่เลย ถ้าสีของสารละลายไปรบกวนการเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์หรือในตัวอย่างมีสารที่เป็นบัฟเฟอร์อยู่มาก ให้วัดด้วยเครื่องวัดความเป็นกรด - ด่าง แล้วปรับความเป็นกรด - ด่างให้ได้ 8.1 $\pm$ 0.1

4. ทำแบลงก์โดยใช้น้ำกลั่น 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร แทนตัวอย่างแล้วปฏิบัติเช่นเดียวกับข้อ 2. และข้อ 3. โดยใช้อินดิเคเตอร์ปรับความเป็นกรด - ด่าง ก่อนที่จะเติมสารละลายโซเดียมเปอร์ไอโอเดต

5. ใช้ปิเปตดูดสารละลายโซเดียมเปอร์ไอโอเดตมาครั้งละ 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใส่ลงในสารละลายตัวอย่างและแบลงก์แกว่งบีกเกอร์เบาๆ แล้วปิดด้วยกระจกนาฬิกาตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง (ไม่เกิน 35 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 30 นาที เติมสารละลายอีเทนไดออล 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร แกว่งบีกเกอร์เบาๆ แล้วตั้งทิ้งไว้ที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที

6. เติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตรรวม 300 ลูกบาศก์เซนติเมตร นำไปไตเตรตกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ (0.125 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร) โดยใช้เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่างช่วยในการหาจุดยุติ (End point) ซึ่งมีความเป็นกรด-ด่าง 6.5 $\pm$ 0.1 สำหรับแบลงก์ และ 8.1 $\pm$ 0.1 สำหรับสารละลายตัวอย่าง แล้วบันทึกปริมาตรสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้จากบิวเร็ต ให้ละเอียดถึง 0.01 ลูกบาศก์เซนติเมตร

หมายเหตุ เนื่องจากตัวอย่างเป็นของแข็งจึงมีความจำเป็นต้องให้ความร้อนเล็กน้อย ในขั้นตอนที่ 2 เพื่อให้เกิดการละลายดีขึ้น

วิธีคำนวณ

ปริมาณกลีเซอรอล ร้อยละของน้ำหนัก = $\frac{9.209 \times N(T_1 - T_2)}{W}$

เมื่อ N คือความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ซึ่งเท่ากับ 0.125 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร

T_1 คือปริมาตรของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไตเตรตกับตัวอย่างเป็นลูกบาศก์เซนติเมตร

T_2 คือปริมาตรของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไตเตรตกับแบลงก์เป็นลูกบาศก์เซนติเมตร

W คือน้ำหนักของตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์เป็นกรัม

2. การวิเคราะห์หาความเป็นด่าง

สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ ให้ใช้น้ำกลั่นที่ปราศจากคาร์บอนไดออกไรด์ตลอดการวิเคราะห์

1. สารละลายไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร

2. ฟีนอล์ฟทาลีนอินดิเคเตอร์ ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ในเอทานอล

วิธีวิเคราะห์

นำตัวอย่างมาประมาณ 100 กรัม ชั่งให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน ถ่ายใส่ขวดแก้วรูปกรวยขนาด 500 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมน้ำ 150 ลูกบาศก์เซนติเมตร อุ่นตัวอย่างในอ่างน้ำร้อนเพื่อให้ตัวอย่างละลายดีขึ้น แล้วไตเตรตกับสารละลายกรดไฮดรอคลอริก โดยใช้สารละลายฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์

หมายเหตุ อุ่นตัวอย่างเล็กน้อยเพื่อให้ตัวอย่างละลายดีขึ้น ก่อนการไตเตรต

วิธีคำนวณ

ความเป็นด่างคำนวณเป็น Na_2O ร้อยละของน้ำหนัก = $\frac{0.31T}{W}$

เมื่อ T คือปริมาตรของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเตรต เป็นลูกบาศก์เซนติเมตร

3. **การวิเคราะห์ค่าสปอนิฟิเคชั่น** (Saponification value) **ตามวิธีของ** IUPAC (1979)

สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์

1. สารละลายแอลกอฮอลิคโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5 นอร์มอล
2. สารละลายกรดไฮโดรคลอริคความเข้มข้น 0.5 นอร์มอล
3. สารละลายฟีนอฟทาลีน ความเข้นข้น 1 เปอร์เซ็นต์

วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างน้ำมันน้ำหนัก 2 กรัม ใส่ในขวดกลั่นที่แห้งและสะอาด
2. เติมสารละลายแอลกอฮอลิคโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 25 มิลลิลิตร โดยใช้ปิเปตและเติมลูกแก้ว
3. จัดเครื่องกลั่นพร้อมเปิดน้ำหล่อชุดควบแน่นรีฟลักซ์สารละลาย (ให้เดือดเบาๆ) นาน 1 ชั่วโมง
4. นำขวดใส่สารละลายออกจากอุปกรณ์ควบแน่นของชุดกลั่น
5. เติมฟีนอฟทาลีน 5 หยด แล้วไตเตรทด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริค
6. เตรียมและไตเตรท Blank เช่นเดียวกับตัวอย่าง
7. คำนวณค่าสปอนิฟิเคชั่นจากสูตร

$$\text{ค่าสปอนิฟิเคชั่น} = \frac{(B-A) \times N \times 56.1}{W}$$

โดย B = ปริมาตรสารละลายกรดไฮโดรคลอริคที่ใช้ไตเตรทกับ Blank (มิลลิลิตร)

A = ปริมาตรสารละลายกรดไฮโดรคลอริคที่ใช้ไตเตรทกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นสารละลายกรดไฮโดรคลอริค (นอร์มอล)

W = น้ำหนักน้ำมันตัวอย่าง (กรัม)

การประมาณค่าน้ำหนักโมเลกุลของน้ำมันปาล์ม

ค่าสปอนิฟิเคชั่นเท่ากับ 201.99

ค่าสปอนิฟิเคชั่น คือ จำนวนมิลลิกรัมของ KOH ที่ทำปฏิกิริยาพอดีกับกรดไขมันในน้ำมัน 1 กรัม KOH มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 56.11

การคำนวณ

KOH	56.11	กรัม	เท่ากับ			1	โมล
KOH	201.99	กรัม	เท่ากับ	$\frac{1 \times 201.99}{56.11 \times 1000}$	=	0.00359	โมล
KOH	3.59	มิลลิโมล	ทำปฏิกิริยาพอดีกับกรดไขมัน			3.59	มิลลิโมล
กรดไขมัน	3	โมล	มาจากน้ำมันปาล์ม			1	โมล
กรดไขมัน	3.59	มิลลิโมล	มาจากน้ำมันปาล์ม	(1 x 3.59)/3	=	1.199	มิลลิโมล
น้ำมันปาล์ม	1.199	มิลลิโมล	เท่ากับ			1	กรัม
น้ำมันปาล์ม	1000	มิลลิโมล	เท่ากับ	(1 x 1000)/1.199	=	833.89	กรัม

ดังนั้นน้ำมันปาล์มมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 834 กรัม

4. การหาปริมาณโมโนกลีเซอไรด์โดย TLC/FID

สารเคมีที่ใช้

1. 3 % กรดบอริก
2. คลอโรฟอร์ม
3. กรดอะซิติก
4. เบนซิน

วิธีวิเคราะห์

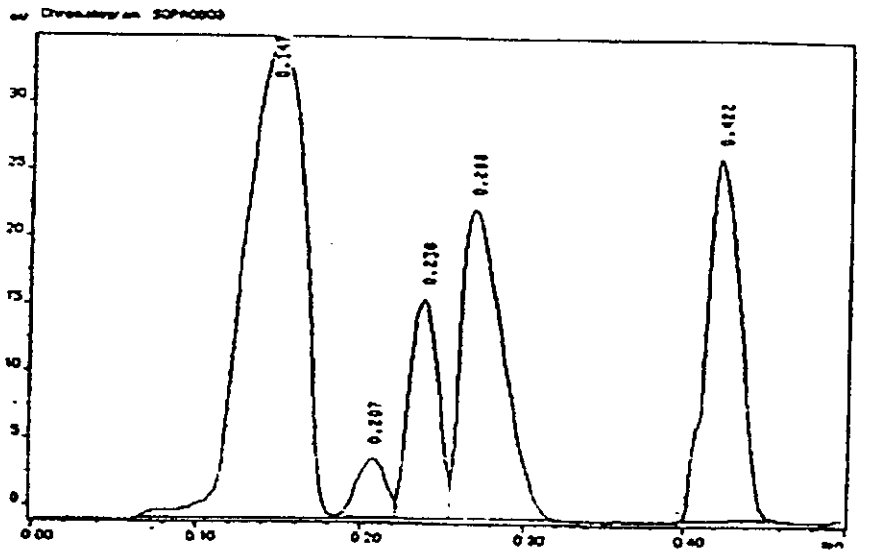
1. ละลายตัวอย่างที่จะวิเคราะห์ 0.1 มิลลิกรัมด้วยคลอโรฟอร์ม และเจือจางเป็น 100 เท่า

2. เตรียม Quartz rod (Chromarod S-II) โดนแช่ใน 3 % กรดบอริกเป็นเวลา 3 นาที อบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ประมาณ 5 นาที นำไปทำ Blank scan ด้วยเครื่อง Iatroscan MK-5 ภายใต้สภาวะ 30 วินาทีต่อสแกน การไหลของแก๊สไฮโดรเจนเท่ากับ 160 มิลลิลิตรต่อนาที

3. หยดสารละลายตัวอย่าง 1-3 ไมโครลิตรบน Quartz rods นำไปแช่ในตัวทำละลายที่มีสารผสมระหว่าง เบนซีน : คลอโรฟอร์ม : กรดอะซิติก (70 : 30 : 2) จนกระทั่งความสูงของสารตัวทำละลายสูงประมาณ 10 เซนติเมตร

4. นำ Quartz rod ไปอบแห้งที่ 105 องศาเซลเซียส ประมาณ 5 นาที อีกครั้งแล้วนำไปสแกนภายใต้สภาวะเดียวกับ Blank scan

5. อ่านผลการวิเคราะห์จากโปรแกรม Chrom Star light ผลการทดลองจะแสดงในรูปเปอร์เซ็นต์ Peak ดังแสดงในภาพที่ ก.1



Peak-No.	Ret.Time (min)	Pk.Start (min)	Pk.End (min)	Area	Height (mV)	Area%
1	0.147	0.063	0.183	45735	35.32	45.41
2	0.207	0.183	0.222	2965	4.43	2.94
3	0.238	0.222	0.255	10575	16.25	10.50
4	0.268	0.255	0.320	21131	23.06	20.98
5	0.422	0.397	0.458	20306	26.88	20.16
		Totals:		100713	105.95	100.00

ภาพที่ ก.1 โครมาโตแกรมที่ได้จากเครื่อง TLC/FID

ที่มา : โสภา พรหมดวง (2542)

5. ปริมาณกลีเซอรอลดิบและไขปาล์มสเตียรินที่ใช้

ตัวอย่างการคำนวณ น้ำหนักโมเลกุลของกลีเซอรอล 92.09 กรัม/โมล

น้ำหนักโมเลกุลของไขปาล์มสเตียริน 834 กรัม/โมล

ปริมาตรรวมของถังปฏิกรณ์ 10 ลิตร ต้องการให้ปริมาตรของสารทำปฏิกิริยาประมาณ 2 ใน 3 ของถัง

ถ้าให้สัดส่วนโมลกลีเซอรอลต่อไขปาล์มสเตียริน 2 ต่อ 1 ทำการซุ่มหาสัดส่วนโมลที่แท้จริงด้วยโปรแกรม Microsofe Excel ได้สัดส่วน 11 ต่อ 5.5

กลีเซอรอล 11.1 โมล มีน้ำหนัก = (92.09 กรัม/โมล) x 11 โมล

= 1,013 กรัม

กลีเซอรอลดิบมีความบริสุทธิ์ 70 เปอร์เซ็นต์

ดังนั้นต้องใช้กลีเซอรอลดิบ = (1,013 กรัม)/0.7

= 1,447 กรัม

ไขปาล์มสเตียริน มีน้ำหนัก = (834 กรัม/โมล) x 5.5 โมล

= 4,587 กรัม

น้ำหนักรวมสาร = 1,447 + 4,587

= 6,034 กรัม

น้ำหนักสารสัดส่วนโมลอื่นดังตารางที่ ก.1

ตารางที่ ก.1 น้ำหนักของสารที่ใช้ในการทดลอง

สัดส่วนโมล	สัดส่วนโมลที่ใช้	น้ำหนักสาร (กรัม)		
		กลีเซอรอลดิบ	ไขปาล์มสเตียริน	รวม
2 ต่อ 1	11 ต่อ 5.5	1,447	4,587	6,034
2.5 ต่อ 1	12.97 ต่อ 5.188	1,707	4,327	6,034
3 ต่อ 1	14.73 ต่อ 4.91	1,939	4,095	6,034
4 ต่อ 1	17.74 ต่อ 4.435	2,335	3,699	6,034