วารสารวิชาการ
อุตสาหกรรมศึกษา

วารสารวิชาการอุตสาหกรรมศึกษา ปีที่ 6 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม – ธันวาคม 2555(27-40)

การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์มโดยใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงบนมอนต์มอริลโลไนต์

พุฒิพัฒน์ เบญจปรีชาพัฒน์ [1]***, ไพรัช วงศ์ยุทธไกร*** [1]***, สมพล มงคลพิทักษ์สุข*** [2]

[1]*สาขาวิชาอุตสาหกรรมศึกษา คณะศึกษาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ*

[2]*คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ*

Biodiesel Production from Palm Oil Using Lipase Immobilized on Montmorillonite

Puttiphat Benjapreechaphat, Pairust Vongyuttakai, Sompol Mongkolpitaksuk

[1]*Division of Industrial Education, Faculty of Education, Srinakharinwirot University*

[2]*Faculty of Science, Srinakharinwirot University*

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ ผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์มโดยใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงบนมอนต์มอริลโลไนต์ ศึกษาสมรรถนะของเอนไซม์ตรึงรูปเพื่อนำกลับมาใช้ผลิตไบโอดีเซลซ้ำ เพื่อลดต้นทุนการผลิตไบโอดีเซล และศึกษาคุณภาพของไบโอดีเซลที่ผลิตได้ ผลการวิจัยพบว่า 1) การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์มโดยใช้เอนไซม์ไลเปสที่ถูกตรึงบนมอนต์มอริลโลไนต์ ด้วยวิธีดูดซับทางกายภาพ มีค่าเท่ากับร้อยละ 88.88 และสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเมทิลเอสเทอร์คือ อัตราส่วนโดยโมลระหว่างน้ำมันปาล์มต่อเมทานอลคือ 1:4 และมีเฮกเซนเป็นตัวทำละลาย (1:1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาณเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปร้อยละ 90 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำมันปาล์ม สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 7 (1:2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลาสัมผัส 96 ชั่วโมง พบว่า ร้อยละของปริมาณเมทิลเอสเทอร์ที่ผลิตได้เท่ากับ 94.61 2) สมรรถนะของเอนไซม์ตรึงรูปเพื่อนำกลับมาใช้ซ้ำ พบว่า ร้อยละของปริมาณเมทิลเอสเทอร์ลดลงเหลือเท่ากับ 45.38 เมื่อเทียบกับร้อยละของปริมาณเมทิลเอสเทอร์ที่ผลิตได้ครั้งแรก สรุปว่าสมรรถนะของเอนไซม์ตรึงรูปมีความเสถียรภาพและคงตัวต่ำ จึงไม่สามารถนำกลับมาใช้ใหม่และต่อเนื่องได้หลายครั้ง จึงเป็นเหตุผลทำให้ไม่คุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ เพื่อนำมาเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการผลิตไบโอดีเซลในครั้งนี้ 3) การทดสอบคุณภาพของไบโอดีเซลที่ผลิตได้ เทียบเคียงกับค่ามาตรฐานของไบโอดีเซลสำหรับเครื่องยนต์การเกษตร (ไบโอดีเซลชุมชน) ตามประกาศของกรมธุรกิจพลังงาน กระทรวงพลังงาน พ.ศ. 2549 พบว่า มีร้อยละ ของปริมาณเมทิลเอสเทอร์เท่ากับ 94.61 ความหนาแน่น 900 กิโลกรัม/ลูกบาศก์เมตร ความหนืด 28.56 เซนติสโตกส์ จุดวาบไฟ 170 องศาเซลเซียส และค่าความเป็นกรด 40 เมื่อเทียบเคียงกับค่ามาตรฐานของกรมธุรกิจพลังงาน ไม่เป็นไปตามค่ามาตรฐานตามประกาศกรมธุรกิจพลังงาน กระทรวงพลังงาน

คำสำคัญ: *ไบโอดีเซล, น้ำมันปาล์ม, ไลเปส, มอนต์มอริลโลไนต์*

พุฒิพัฒน์ เบญจปรีชาพัฒน์, ไพรัช วงศ์ยุทธไกร, สมพล มงคลพิทักษ์สุข
วารสารวิชาการอุตสาหกรรมศึกษา ปีที่ 6 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม-ธันวาคม 2555 (27-40)

Abstract

The proposes of this thesis were to produce biodiesel from palm oil using lipase immobilized on montmorillonite and to study the reusability of the immobilized enzyme to reduce the cost of biodiesel production and quality of biodiesel from palm oil. The results of this thesis found that: 1) Biodiesel production from palm oil using lipase was immobilized on montmorillonite by physical adsorption is 88.88%. The conditions in the production of methyl ester were optimized as follow; mole ratio of palm oil and methanol 1: 4, hexane as solvent (1:1 by weight per volume), weight percent of immobilized lipase on montmorillonite to palm oil is 90%, 0.1 M phosphate buffer solution pH 7 (1:2 by weight per volume) at 45 $^{\circ}C$ for 96 hours. In these optimized conditions methyl ester were produced in 94.61%. 2) The reusability of the immobilized enzyme decreased due to the amount of methyl ester was reduced to 45.38% compared with the original batch. It is concluded that the performances of immobilized enzymes are lower in stability and constancy. They can not be reused for several times, as a result of the economic value. Thus lipase immobilized on montmorillonite is not suitable to use as a catalyst in biodiesel production. 3) The quality of biodiesel produced when compared with the standard of quality diesel engines for agriculture (Biodiesel Community) announced by the Department of Energy Business, Ministry of Energy of Thailand, 2006. Biodiesel produced were found that the percentage of the amount of methyl ester (94.61), density (900 Kg/m^3) , viscosity (28.56 cSt), flash point (170 $^{\circ}C$) and acid value (40). They do not follow the standard of quality required by the Department of Energy Business, Ministry of Energy of Thailand.

Keyword: *Biodiesel, Palm Oil, Lipase, Montmorillonite*

ภูมิหลัง

"พลังงาน" (Energy) เป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้โลกปัจจุบันสามารถขับเคลื่อนไปข้างหน้า และไม่มีที่สิ้นสุด พลังงานเป็นพื้นฐานที่สำคัญในการตอบสนองความต้องการพื้นฐานของมนุษย์และเป็นปัจจัยพื้นฐานการผลิตในภาคธุรกิจและอุตสาหกรรม หากโลกมีการใช้พลังงานที่เป็นอยู่และไม่มีการค้นพบเพิ่มเติมแล้วคาดว่าโลกจะมีแหล่งสำรองพลังงาน ดังเช่น ณ ต้นปี พ.ศ. 2550 น้ำมัน ปริมาณสำรองที่พิสูจน์แล้วของน้ำมันโลกมีทั้งหมด 1,208 พันล้านบาร์เรล ใช้ไปได้อีกประมาณ 40 ปี ก๊าซธรรมชาติ มีทั้งหมด 181 ล้านล้านลูกบาศก์เมตร ใช้ได้อีกประมาณ 63 ปี ส่วนถ่านหิน มีทั้งหมด 909 พันล้านตัน ใช้ได้อีกประมาณ 147 ปี โดยแหล่งพลังงานดังกล่าวจะกระจายอยู่ในภูมิภาคต่าง ๆ ของโลก ซึ่งสัดส่วนในการใช้พลังงานจากแหล่งต่าง ๆ ของโลกในอีก 30 ปี ข้างหน้า (ปี 2573) พลังงานที่ได้จากน้ำมันมีสัดส่วนการใช้มากที่สุดเป็น ร้อยละ 34 รองลงมาคือ พลังงานที่ได้จากถ่านหิน ร้อยละ 28 ก๊าซธรรมชาติ ร้อยละ 25 พลังงานจากนิวเคลียร์ ร้อยละ 5 เชื้อเพลิงจากไม้และสิ่งเหลือใช้ ร้อยละ 5 และพลังงานหมุนเวียน ร้อยละ 1 (คณะผู้แทนไทยประจำประชาคมยุโรป. 2549: ออนไลน์)

ประเทศไทยเป็นประเทศที่อยู่ระหว่างกำลังพัฒนา มีความเจริญก้าวหน้าทั้งทางด้านสังคม เศรษฐกิจอย่างต่อเนื่อง ซึ่งมีศักยภาพในการแข่งขันกับต่างประเทศ แต่จุดอ่อนอย่างหนึ่งของประเทศไทยคือ ปัญหาด้านพลังงาน ซึ่งประเทศไทยขาดแหล่งพลังงานที่เพียงพอในการพัฒนาประเทศ และปัญหานี้ก็ยังมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ และยังส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจ การค้า การส่งออกและการบริการต่าง ๆ รวมถึงการดำเนินชีวิตของประชาชน พบว่าในปี พ.ศ. 2552 ประเทศไทยมีความต้องการใช้น้ำมันดีเซลในปริมาณมากถึง 50.6 ล้านลิตรต่อวัน หรือคิดเป็นร้อยละ 46.1 ของปริมาณน้ำมันที่ใช้ภายในประเทศ (สำนักงานนโยบายและแผนพลังงาน กระทรวงพลังงาน. 2553: 25-30) เป็น

พุฒิพัฒน์ เบญจปรีชาพัฒน์, ไพรัช วงศ์ยุทธไกร, สมพล มงคลพิทักษ์สุข
วารสารวิชาการอุตสาหกรรมศึกษา ปีที่ 6 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม-ธันวาคม 2555 (27-40)

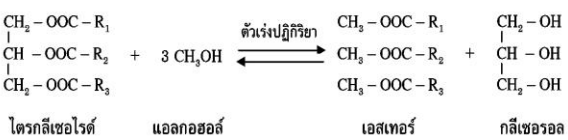
สัดส่วนการใช้สูงกว่าน้ำมันเชื้อเพลิงชนิดอื่นๆ จึงกลายเป็นพลังงานหลักของประเทศ แต่ประเด็นของราคาน้ำมันดีเซลในประเทศหลังจากที่รัฐบาลมีนโยบายปรับราคาให้สะท้อนกับความเป็นจริง ทำให้ราคาน้ำมันดีเซลเกิดการผันผวนเป็นอย่างมาก มีโอกาสการเปลี่ยนแปลงไปในทิศทางเพิ่มมากกว่าทางลด ทำให้ผู้ประกอบการต่างต้องหันมาคิดว่าจะทำอย่างไรให้ต้นทุนการผลิตของหน่วยงานของตนนั้นต่ำที่สุด เพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาความไม่แน่นอนของราคาน้ำมันดีเซล พร้อมทั้งเสริมสร้างความมั่นคงด้านพลังงาน และมีศักยภาพในการแข่งขันได้ จึงต้องเริ่มจากการใช้พลังงานอย่างมีประสิทธิภาพ เร่งพัฒนาพลังงานทดแทนที่มีอยู่ในประเทศขึ้นมาทดแทนเชื้อเพลิงธรรมชาติ (Fossil fuel) ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานสำรองที่มีอยู่อย่างจำกัด

การแสวงหาพลังงานใหม่ที่ได้จากพืชผลจากเกษตรกรรม ซึ่งจัดเป็นพลังงานหมุนเวียน (Renewable energy) จึงได้รับความสนใจเพื่อนำมาใช้แทนน้ำมันดิบที่จัดว่าเป็นพลังงานสิ้นเปลือง (Non-renewable energy) ที่สามารถหาได้ในประเทศและพืชผลมีแนวโน้มมากพอสำหรับการผลิตในอนาคต และเป็นพลังงานที่มีในท้องถิ่นนั้นๆ น้ำมันพืชและเอทิลแอลกอฮอล์ (แอลกอฮอล์ที่ผลิตมาจากพืช) จึงเป็นตัวเลือกในอันดับแรกๆ ที่ถูกนำมาใช้เป็นเชื้อเพลิงในเครื่องยนต์แทนน้ำมันปิโตรเลียม พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว ทรงมีพระราชดำริเกี่ยวกับการพัฒนาเชื้อเพลิงจากวัสดุเกษตร ก่อนจะมีผู้ใดเชื่อว่าน้ำมันที่ได้จากพืชหรือไขมันสัตว์จะสามารถนำมาผลิตเป็นน้ำมันเชื้อเพลิง ทรงให้มีการทดลองเรื่อยมาจนทำให้ประเทศสามารถผลิตไบโอดีเซลที่มีคุณสมบัติเช่นเดียวกับน้ำมันดีเซล เพื่อใช้ในรถยนต์เพื่อทดแทนการใช้น้ำมันที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ เมื่อวันที่ 4 ธันวาคม 2548 ได้ทรงพระราชทานพระบรมราโชวาท โดยมีพระราชดำริถึงการให้ภาครัฐเร่งส่งเสริมการใช้พลังงานทดแทน โดยเฉพาะการใช้ไบโอดีเซลอย่างแพร่หลาย เพราะเป็นพลังงานที่หาได้ในประเทศไทย และยังช่วยสร้างรายได้ให้แก่เกษตรกรอีก

ไบโอดีเซลจัดเป็นส่วนหนึ่งของเป้าหมายพลังงานทดแทนสำหรับเครื่องยนต์ดีเซล โดยกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้จัดทำยุทธศาสตร์แผนพัฒนาอุตสาหกรรมปาล์มน้ำมันและน้ำมันปาล์มปี พ.ศ. 2551-2555 กำหนดเป้าหมายการปลูกปาล์มน้ำมันในพื้นที่ใหม่เพิ่มขึ้นอีก 2.5 ล้านไร่ ภายในปี พ.ศ. 2555 เพื่อใช้ผลผลิตน้ำมันปาล์มเพียงพอต่อความต้องการสำหรับเพื่อการบริโภคและอุปโภค

ปาล์มน้ำมัน นับว่าเป็นพืชน้ำมันที่มีศักยภาพในการเป็นแหล่งวัตถุดิบเพื่อผลิตไบโอดีเซลในเชิงอุตสาหกรรม เนื่องจากมีปริมาณการผลิตและผลผลิตต่อไร่สูงที่สุดในบรรดาพืชน้ำมันเศรษฐกิจที่มีปลูกในประเทศ แหล่งปลูกปาล์มน้ำมันที่สำคัญในประเทศคือภาคใต้ พื้นที่เพาะปลูกปาล์มน้ำมันประมาณร้อยละ 97 อยู่ในภาคใต้ ร้อยละ 2 อยู่ในภาคตะวันออก อีกร้อยละ 1 อยู่ภาคอื่นๆ ปาล์มน้ำมันสกัดได้จาก 2 ส่วน คือ ส่วนแรกจากเปลือกผลชั้นนอกและเนื้อผลชั้นนอกเรียกว่าน้ำมันปาล์ม (Palm oil) และส่วนที่สองจากเนื้อผลชั้นในและเอมบริโอ เรียกว่าน้ำมันเมล็ดในปาล์ม (Palm kernel oil) (กล้าณรงค์ ศรีรอต; และคนอื่นๆ. 2546: 25)

การนำน้ำมันพืชมาใช้ในเครื่องยนต์ดีเซลสามารถทำได้หลายวิธี คือ การนำน้ำมันพืชมาใช้เป็นเชื้อเพลิงโดยตรง การผสมน้ำมันพืชกับน้ำมันก๊าดหรือน้ำมันดีเซล และการนำน้ำมันพืชมาผ่านกระบวนการ ทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน เป็นการทำปฏิกิริยาระหว่างไตรกลีเซอไรด์ [เป็นสารที่เกิดจากกลีเซอรอล (Glycerol) กับกรดไขมัน (Fatty acids)] กับแอลกอฮอล์ โดยมีตัวเร่งปฏิกิริยาแบบเอกพันธุ์ (Homogeneous) ในรูปสารละลายกรดหรือเบสหรือตัวเร่งปฏิกิริยาแบบวิวิธพันธุ์ (Heterogeneous) อยู่ในรูปของแข็ง หรือตัวเร่งปฏิกิริยาที่เป็นเอนไซม์ ได้ผลผลิต (Yield) เป็นไบโอดีเซลประเภทเมทิลเอสเทอร์



ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันจากไตรกลีเซอไรด์และแอลกอฮอล์

การนำน้ำมันพืชมาใช้โดยตรงหรือมีการผสมกับน้ำมันอื่นนั้น พบว่าก่อให้เกิดปัญหากับเครื่องยนต์ ดังนั้นไบโอดีเซลที่ได้จากกระบวนการทรานส์เอสเทอร์ริฟิเคชัน จึงเป็นวิธีที่นิยมมากที่สุด เนื่องจากเป็นเชื้อเพลิงที่มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซลหมุนเร็ว และสามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงเครื่องยนต์ดีเซลได้โดยไม่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อเครื่องยนต์ เป็นเชื้อเพลิงสะอาด ปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม สามารถเผาไหม้ได้อย่างสมบูรณ์ และไอเสียมีมลพิษต่ำกว่าเมื่อใช้น้ำมันดีเซลในเครื่องยนต์ดีเซล (พิศมัย เจนวินิชปัญจกุล; และ ลลิตา อัตนโถ. 2549: 8-11)

กระบวนการผลิตจะผสมน้ำมันพืชให้ทำปฏิกิริยากับเมทิลแอลกอฮอล์ หรือ เอทิลแอลกอฮอล์ โดยทั่วไปแล้วการใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเป็นเบส (โซเดียมไฮดรอกไซด์หรือโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์) จะเป็นที่นิยมมากที่สุด เนื่องจากตัวเร่งปฏิกิริยามีราคาถูก ปฏิกิริยาเกิดขึ้นได้อย่างสมบูรณ์ที่อุณหภูมิ 40-60 องศาเซลเซียส และระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาสั้น แต่มีข้อจำกัดหลายประการ เช่น ต้องใช้พลังงานสูงในการเกิดปฏิกิริยา เกิดสบู่ขึ้นในปฏิกิริยา ต้องใช้น้ำเป็นจำนวนมากในการล้างสบู่ออก ทำให้สิ้นเปลืองและเกิดน้ำเสียปริมาณมาก ยุ่งยากในการนำกลีเซอรอลซึ่งเป็นผลพลอยได้ในผลผลิตไบโอดีเซลมาใช้

การใช้เอนไซม์เป็นอีกทางเลือกหนึ่ง โดยใช้เอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการผลิตไบโอดีเซล ซึ่งวิธีนี้มีข้อได้เปรียบหลายประการคือ ปฏิกิริยาเกิดขึ้นได้อย่างสมบูรณ์ที่อุณหภูมิ 30-50 องศาเซลเซียส ทำให้ประหยัดพลังงานในการผลิต ไม่ต้องผ่านกระบวนการล้างเมื่อทำปฏิกิริยาสมบูรณ์ ปฏิกิริยามีความจำเพาะสูง แต่มีข้อจำกัดในด้านราคา ความคงตัวของเอนไซม์ ซึ่งการตรึงเอนไซม์ไลเปสก่อนที่จะนำไปใช้เป็นหนทางในการแก้ข้อจำกัดด้านความคงตัวของเอนไซม์ลงได้ สามารถนำเอนไซม์ที่ถูกตรึงกลับมาใช้ใหม่ได้อีก เพื่อลดต้นทุนในการผลิตไบโอดีเซล ลดการนำเข้าน้ำมันดิบจากต่างประเทศ และลดการขาดดุลการค้า รวมทั้งเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการผลิตไบโอดีเซลเพื่อเป็นพลังงานทดแทนการใช้น้ำมันดีเซลโดยตรงได้บางส่วน สอดคล้องกับนภาพร บัวบาน; และคนอื่นๆ (2548: 12) ศึกษาคุณลักษณะของน้ำมันไฮโดรลิกใช้แล้วและนำกลับมาใช้ใหม่ โดยใช้กระบวนการบำบัดด้วยกรดและดินเหนียว เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าของน้ำมันหล่อลื่นใช้แล้วที่มีอยู่เป็นจำนวนมาก ช่วยลดมลภาวะและรักษาสภาพแวดล้อมที่เกิดจากสารพิษที่อยู่ในน้ำมันหล่อลื่นที่ใช้แล้ว และช่วยลดต้นทุนการผลิตอีกด้วย, สุภาพร สุขสินชัย (2542: 125) ศึกษาการตรึงเอนไซม์เพคติเนสจากเชื้อรา *Rhizopus sp.26R* ด้วยวิธีการดูดยึดทางกายภาพแบบต่างๆ และ แอคติวิตีของเอนไซม์ตรึงรูป

ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์มโดยใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงบนมอนต์มอริลโลไนต์

ความมุ่งหมายของการวิจัย

เพื่อผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์มโดยใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงบนมอนต์มอริลโลไนต์ ศึกษาสมรรถนะของเอนไซม์ตรึงรูปเพื่อนำกลับมาใช้ผลิตไบโอดีเซลซ้ำและศึกษาคุณภาพของไบโอดีเซลที่ผลิตได้

ความสำคัญของการวิจัย

สามารถนำเอนไซม์ตรึงรูปกลับมาใช้ในการผลิตไบโอดีเซลได้ซ้ำอีก ลดต้นทุนในการผลิตไบโอดีเซล เป็นแนวทางสำหรับการนำน้ำมันพืชมาใช้เป็นพลังงานทดแทนบางส่วน เพื่อลดปริมาณการนำเข้าน้ำมันดีเซลและน้ำมันดิบจากต่างประเทศ และเป็นการเพิ่มมูลค่าของผลผลิตทางการเกษตร สร้างรายได้ให้กับชุมชน

ขอบเขตของการวิจัย

เพื่อการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์มโดยใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงบนมอนต์มอริลโลไนต์ให้บรรลุผลตามจุดมุ่งหมายที่ตั้งไว้ ผู้วิจัยได้กำหนดขอบเขตการศึกษาไว้ดังต่อไปนี้ คือ

1. วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่
   1.1 น้ำมันปาล์มที่ใช้คือ น้ำมันปาล์มดิบ
   1.2 เมทานอล

1.3 เฮกเซน

1.4 สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์

2. เอนไซม์ไลเปสตรึงรูป

2.1 เอนไซม์ไลเปสอิสระ

2.2 ตัวพยุงคือ มอนต์มอริลโลไนต์

3. การทดลองมี 3 ขั้นตอนคือ

3.1 การเตรียมตัวเร่งปฏิกิริยา คือ การนำเอนไซม์ไลเปสอิสระมาตรึงบนมอนต์มอริลโลไนต์ด้วยวิธีดูดซับทางกายภาพ เรียกว่า เอนไซม์ไลเปสตรึงรูป

3.2 การผลิตไบโอดีเซล โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตไบโอดีเซล ได้แก่ ปริมาณน้ำมันปาล์ม เมทานอล เฮกเซน เอนไซม์ไลเปสอิสระ เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปที่เตรียมในข้อ 3.1 อุณหภูมิ และเวลาสัมผัส เพื่อให้ได้สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไบโอดีเซล

3.3 นำเอนไซม์ตรึงรูปจากการผลิตไบโอดีเซลครั้งแรกกลับมาใช้ในการผลิตไบโอดีเซลในครั้งต่อไปตามสภาวะที่เหมาะสมในข้อ 3.2

ตัวแปรที่ศึกษา

1. ตัวแปรต้น แบ่งเป็นดังนี้

1.1 อัตราส่วน

1.1.1 อัตราส่วนน้ำมันปาล์มต่อเมทานอล ปริมาณที่ใช้คือ 1:3, 1:4, 1:5 และ1:6 โมล/โมล

1.2 ลักษณะการใช้เอนไซม์

1.2.1 เอนไซม์ไลเปสอิสระ ปริมาณที่ใช้คือ ร้อยละ 0.05, 0.10, 0.15 และ 0.20 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำมันปาล์ม (กรัม)

1.2.2 เอนไซม์ไลเปสตรึงรูป ปริมาณที่ใช้คือ ร้อยละ 70, 80, 90 และ 100 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำมันปาล์ม (กรัม)

1.3 อุณหภูมิ สำหรับการทำปฏิกิริยาคือ 40, 45, 50 และ 55 องศาเซลเซียส

1.4 เวลาสัมผัส สำหรับการทำปฏิกิริยาคือ 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 และ 96 ชั่วโมง

2. ตัวแปรตาม

2.1 คุณภาพของไบโอดีเซล เทียบเคียงกับค่ามาตรฐานของไบโอดีเซลสำหรับเครื่องยนต์การเกษตร (ไบโอดีเซลชุมชน) ตามประกาศของกรมธุรกิจพลังงาน กระทรวงพลังงาน พ.ศ. 2549

2.2 ปริมาณไบโอดีเซล

3. ตัวแปรควบคุม

3.1 เฮกเซน ปริมาณที่ใช้คือ เฮกเซน 1:1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ในหน่วยกรัมของน้ำมันปาล์มต่อหน่วยมิลลิลิตรของเฮกเซน

3.2 สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 7 1:2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ในหน่วยกรัมของน้ำมันปาล์มต่อหน่วยมิลลิลิตรของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์

สมมติฐานในการวิจัย

ผลผลิตไบโอดีเซล (เมทิลเอสเทอร์) จากน้ำมันปาล์มโดยใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงบนมอนต์มอริลโลไนต์ ปริมาณร้อยละ 90 ของน้ำหนักไบโอดีเซล มีคุณภาพเทียบเคียงกับค่ามาตรฐานของไบโอดีเซลสำหรับเครื่องยนต์การเกษตร (ไบโอดีเซลชุมชน) ตามประกาศของกรมธุรกิจพลังงาน กระทรวงพลังงาน พ.ศ. 2549

ผลการวิจัย

1. การเตรียมตัวเร่งปฏิกิริยา การตรึงเอนไซม์ไลเปสบนมอนต์มอริลโลไนต์ด้วยวิธีดูดซับทางกายภาพ

ขั้นตอนการเตรียมตัวพยุงคือ จะต้องล้างมอนต์มอริลโลไนต์ด้วยน้ำดีไอออไนซ์พร้อมกวน กรอง อบให้แห้ง หลังจากนั้นนำไปเผา ในอุณหภูมิและเวลาที่กำหนด และเก็บไว้ในโถดูดความชื้น จะได้ตัวพยุงที่พร้อมใช้งาน ซึ่งมีลักษณะเป็นผงละเอียด สีขาวนวล

ขั้นตอนการตรึงเอนไซม์ไลเปสบนมอนต์มอริลโลไนต์ด้วยวิธีดูดซับทางกายภาพ โดยนำเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* ซึ่งเป็นเอนไซม์อิสระ (Free enzyme) ตัวพยุง และสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 7 มาผสมเข้ากันแล้ว นำไปเขย่าบนเครื่องกวน

เอนไซม์ไลเปสจะถูกตรึงบนมอนต์มอริล โลไนต์ กรองจะได้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูป ซึ่งมีลักษณะเป็นผงหยาบ สีขาวนวล

จากการตรึงเอนไซม์ไลเปสบนมอนต์มอริลโลไนต์ สามารถหาปริมาณโปรตีนก่อน - หลังการตรึงเอนไซม์ และร้อยละของการตรึงเอนไซม์บนมอนต์มอริลโลไนต์ ปรากฏว่ามีปริมาณโปรตีนเหลือหลังจากผ่านการตรึงเอนไซม์ด้วยวิธีดูดซับทางกายภาพ น้อยกว่าปริมาณโปรตีนก่อนการตรึงเอนไซม์ ซึ่งอยู่ในรูปสารละลาย แสดงว่ามีเอนไซม์จำนวนหนึ่งถูกตรึงบนมอนต์มอริลโลไนต์ คิดเป็นร้อยละของการตรึงเอนไซม์ไลเปสบนมอนต์มอริลโลไนต์เท่ากับ 88.88 นั่นคือ ถ้าเริ่มต้นใช้เอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* 28 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักของมอนต์มอริลโลไนต์ 1 กรัม จะมีเอนไซม์ไลเปสอยู่บนมอนต์มอริลโลไนต์ 1 กรัม เท่ากับ 24.89 มิลลิกรัม หลังจากการผ่านการตรึงเอนไซม์ด้วยวิธีดูดซับทางกายภาพ

2. การหาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการผลิตไบโอดีเซล

ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตไบโอดีเซล เพื่อให้ได้สภาวะที่เหมาะสม มีผลดังการทดลองที่ 1-5

การทดลองที่ 1 ผลจากการเปรียบเทียบปริมาณของเอนไซม์ไลเปสอิสระและเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์ จากสภาวะที่ใช้ในการทดลองประกอบด้วย น้ำมันปาล์มต่อเมทานอล อัตราส่วน 1:4 โมล/โมล เฮกเซน 1:1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 1:2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เวลาสัมผัส 24 ชั่วโมง ร้อยละของปริมาณเอนไซม์ไลเปสอิสระที่เป็นตัวเร่งคือ 0.05, 0.10, 0.15 และ 0.20 ตามลำดับ พบว่าร้อยละของปริมาณเอนไซม์ไลเปสอิสระ 0.15 มีร้อยละของปริมาณเมทิลเอสเทอร์สูงสุดคือ 79.68 ในช่วงร้อยละของปริมาณเอนไซม์ไลเปสอิสระ 0.05-0.15 มีแนวโน้มของร้อยละของปริมาณเมทิลเอสเทอร์เพิ่มขึ้น แต่ขณะที่เพิ่มร้อยละของปริมาณเอนไซม์ไลเปสอิสระมากขึ้น ร้อยละของปริมาณเมทิลเอสเทอร์กลับลดลง

จากสภาวะที่ใช้ในการทดลองประกอบด้วย น้ำมันปาล์มต่อเมทานอล อัตราส่วน 1:4 โมล/โมล เฮกเซน 1:1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 1:2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เวลาสัมผัส 24 ชั่วโมง ร้อยละของปริมาณเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปที่เป็นตัวเร่งคือ 70, 80, 90 และ 100 ตามลำดับ พบว่าร้อยละของปริมาณเอนไซม์ไลเปสตรึงรูป 90 มี ร้อยละของปริมาณเมทิลเอสเทอร์สูงสุดคือ 48.85 ในช่วงร้อยละของปริมาณเอนไซม์ไลเปสตรึงรูป 70-90 มีแนวโน้มของร้อยละของปริมาณเมทิลเอสเทอร์เพิ่มขึ้น แต่ขณะที่เพิ่มร้อยละของปริมาณเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปมากขึ้น ร้อยละของปริมาณเมทิลเอสเทอร์กลับลดลง

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณของเอนไซม์ไลเปสอิสระและเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์ในรูปของร้อยละของปริมาณเมทิลเอสเทอร์ พบว่าการใช้เอนไซม์ไลเปสอิสระเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาจะให้ผลผลิตสูงกว่าการใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูป และร้อยละของปริมาณของเอนไซม์ไลเปสอิสระและเอนไซม์ตรึงรูปค่าหนึ่งๆ ที่ทำให้มีร้อยละของปริมาณเมทิลเอสเทอร์สูงสุด

การทดลองที่ 2 ผลของเวลาสัมผัสและปริมาณของเอนไซม์ตรึงรูปต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์ จากสภาวะที่ใช้ในการทดลองประกอบด้วย น้ำมันปาล์มต่อเมทานอล อัตราส่วน 1:4 โมล/โมล เฮกเซน 1:1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 1:2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เวลาสัมผัส 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง ร้อยละของปริมาณเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปที่เป็นตัวเร่งคือ 70, 80, 90 และ 100 ตามลำดับ พบว่า ที่เวลาสัมผัส 12 ชั่วโมง กับร้อยละของปริมาณเอนไซม์ไลเปสตรึงรูป 90 มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .05 เป็นสภาวะที่เหมาะสมกับการทดลองดังกล่าวคือ มีร้อยละของปริมาณเมทิลเอสเทอร์ 48.76 จากการทดลองที่ 2 นี้ จึงใช้เวลาสัมผัส 12 ชั่วโมง และร้อยละของปริมาณเอนไซม์ไลเปสตรึงรูป 90 ไปใช้ในการทดลองที่ 3

การทดลองที่ 3 ผลของอุณหภูมิต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์ จากสภาวะที่ใช้ในการทดลองประกอบด้วย น้ำมันปาล์มต่อเมทานอล อัตราส่วน 1:4 โมล/โมล เฮกเซน 1:1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 1:2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ร้อยละของปริมาณเอนไซม์ไลเปสตรึงรูป 90 บ่มที่อุณหภูมิ 40, 45, 50 และ 55 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เวลาสัมผัส 12 ชั่วโมง พบว่า อุณหภูมิบ่มที่เหมาะสมในการผลิตเมทิลเอสเทอร์คือ 45 องศาเซลเซียส มีร้อยละของปริมาณเมทิลเอสเทอร์ 59.76 จึงนำผลการทดลองนี้ไปใช้ในการทดลองที่ 4

การทดลองที่ 4 ผลของปริมาณเมทานอลต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์ จากสภาวะที่ใช้ในการทดลองประกอบด้วย น้ำมันปาล์มต่อเมทานอล อัตราส่วน 1:3, 1:4, 1:5 และ 1:6 โมล/โมล ตามลำดับ เฮกเซน 1:1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 1:2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ร้อยละของปริมาณเอนไซม์ไลเปสตรึงรูป 90 บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เวลาสัมผัส 12 ชั่วโมง พบว่า อัตราส่วนน้ำมันปาล์มต่อเมทานอล 1:4 เหมาะสมในการผลิตเมทิลเอสเทอร์ มีร้อยละของปริมาณเมทิลเอสเทอร์ 59.76 จึงนำผลการทดลองนี้ไปใช้ในการทดลองที่ 5

การทดลองที่ 5 ผลของการผลิตไบโอดีเซลตามสภาวะที่เหมาะสมโดยให้เวลาสัมผัสที่เพิ่มขึ้นต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์ จากสภาวะที่ใช้ในการทดลองประกอบด้วย น้ำมันปาล์มต่อเมทานอล อัตราส่วน 1:4 โมล/โมล เฮกเซน 1:1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 1:2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ร้อยละของปริมาณเอนไซม์ไลเปสตรึงรูป 90 บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เวลาสัมผัส 12 ชั่วโมง ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 1-4 และเวลาสัมผัสที่เพิ่มขึ้นเป็น 24, 36, 48, 60, 72, 84 และ 96 ชั่วโมง ตามลำดับ พบว่า เมื่อเพิ่มเวลาสัมผัสเป็น 96 ชั่วโมง ทำให้มีร้อยละของปริมาณเมทิลเอสเทอร์ 96.41

3. การทดสอบคุณภาพไบโอดีเซล

นำไบโอดีเซลที่ผลิตจากสภาวะที่ประกอบด้วย น้ำมันปาล์มต่อเมทานอล อัตราส่วน 1:4 โมล/โมล เฮกเซน 1:1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 1:2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ร้อยละของปริมาณเอนไซม์ไลเปสตรึงรูป 90 บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เวลาสัมผัส 96 ชั่วโมง ไปวิเคราะห์คุณภาพ ที่ศูนย์ความเป็นเลิศทางวิชาการด้านปาล์มน้ำมัน ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน โดยเทียบเคียงกับค่ามาตรฐานของไบโอดีเซลสำหรับเครื่องยนต์การเกษตร (ไบโอดีเซลชุมชน) ตามประกาศของกรมธุรกิจพลังงาน กระทรวงพลังงาน พ.ศ. 2549 พบว่า ร้อยละโดยน้ำหนักของเมทิลเอสเทอร์เท่ากับ 94.61 ความหนาแน่นเท่ากับ 900 Kg/m^3 ความหนืดเท่ากับ 28.56 cSt จุดวาบไฟเท่ากับ 170 °C ค่าความเป็นกรดเท่ากับ 40 พบว่า คุณสมบัติบางอย่างต่ำกว่าค่ามาตรฐาน

ตารางที่ 1 คุณสมบัติของไบโอดีเซลที่ผลิตได้

คุณสมบัติ	ค่ามาตรฐาน	ค่าที่วัดได้	ผลการประเมิน
ร้อยละของเมทิลเอสเทอร์ (โดยน้ำหนัก)	≥ 96.5*	94.61	ไม่ผ่านเกณฑ์
ความหนาแน่นที่ 15 °C Kg/m^3	860- 900**	900	ผ่านเกณฑ์
ความหนืดที่ 40 °C cSt	1.9 - 8.0**	28.56	ไม่ผ่านเกณฑ์
จุดวาบไฟ (°C)	> 120**	170	ผ่านเกณฑ์
ค่าความเป็นกรด mg KOH	< 0.80**	40	ไม่ผ่านเกณฑ์

* ค่ามาตรฐานของไบโอดีเซลเชิงพาณิชย์

** ค่ามาตรฐานของไบโอดีเซลชุมชน

4. การศึกษาสมรรถนะของเอนไซม์ตรึงรูปเพื่อนำเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปกลับมาใช้ซ้ำ

เมื่อนำเอนไซม์ไลเปสที่ตรึงบนมอนต์มอริลโลไนต์ไปใช้ใหม่อีก 1 ครั้ง พบว่า ร้อยละของปริมาณเมทิลเอส

เทอร์ลดลงเหลือ 45.38 ซึ่งลดลงมากกว่า ร้อยละ 50 จากการผลิตไบโอดีเซลครั้งแรกที่ได้ร้อยละของปริมาณเมทิลเอสเทอร์ 94.61 จึงยุติการนำเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปกลับไปใช้ใหม่ แสดงว่าเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปสามารถใช้ได้แค่ 1 ครั้งเท่านั้น ไม่สามารถนำกลับไปใช้ครั้งต่อไปได้

เมื่อพิจารณาจากสมมติฐานการวิจัยที่ตั้งไว้พบว่า

1. ผลผลิตไบโอดีเซล (เมทิลเอสเทอร์) ที่ผลิตได้มีร้อยละของปริมาณเมทิลเอสเทอร์ 94.61 ซึ่งสูงกว่าร้อยละ 90 ของน้ำหนักไบโอดีเซล

2. เมื่อนำไบโอดีเซล (เมทิลเอสเทอร์) ที่ผลิตได้ไปทดสอบคุณภาพ พบว่า คุณสมบัติเกี่ยวกับความหนืดและค่าความเป็นกรด ไม่ผ่านเกณฑ์เมื่อเทียบเคียงกับค่ามาตรฐานของไบโอดีเซลสำหรับเครื่องยนต์การเกษตร (ไบโอดีเซลชุมชน) ตามประกาศของกรมธุรกิจพลังงาน กระทรวงพลังงาน พ.ศ. 2549

อภิปรายผล

1. การเตรียมตัวเร่งปฏิกิริยา ด้วยการตรึงเอนไซม์ไลเปสบนมอนต์มอริลโลไนต์ด้วยวิธีดูดซับทางกายภาพ พบว่าสามารถตรึงเอนไซม์ไลเปสได้ 24.89 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักของมอนต์มอริลโลไนต์ 1 กรัม คิดเป็นร้อยละของการตรึงเอนไซม์เท่ากับ 88.88 จากทฤษฎีองค์ประกอบที่สำคัญ 3 อย่างในการตรึงเอนไซม์ คือ

1. เอนไซม์ที่ใช้คือ เอนไซม์ไลเปสผลิตจากยีสต์ สายพันธุ์ *Candida rugosa* ซึ่งเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีโครงสร้างเป็นโปรตีน ประกอบด้วยกรดอะมิโนหลายๆ ตัวจับกันแบบลูกโซ่ มีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยา สามารถทำงานได้ดีที่สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 7 อุณหภูมิห้อง เวลา 24 ชั่วโมง

2. ตัวพยุงในการตรึงคือ มอนต์มอริลโลไนต์ เป็นสารอนินทรีย์มีหมู่ฟังก์ชันน้อย ส่วนมากมีแต่หมู่ไฮดรอกซิล (-OH) มีสูตรทั่วไปคือ

$$Na_{0.2}Ca_{0.1}Al_2Si_4O_{10}(OH)_2.10H_2O$$

มีลักษณะสีขาว มีขนาด 0.01-1.0 μm มีพื้นที่ผิวจำเพาะ 700-800 m^2/g เป็นแร่ดินเหนียวประเภท 2:1 เป็นสารประกอบอะลูมิโน ซิลิเกต มีพื้นที่ผิวสามารถให้เอนไซม์ไลเปสเข้าไปยึดเกาะ โดยโครงสร้างพื้นฐานแต่ละหน่วยจะซ้อนกันไม่สนิท มีประจุลบในโครงสร้างมาก มีช่องว่างให้ไอออนบวกบางชนิดแทรกเข้าไปได้ เพื่อทำหน้าที่ยึดชั้นของแร่เอาไว้ สามารถเกิดการแลกเปลี่ยนกับไอออนของสารอินทรีย์ สามารถดูดยึดไอออนบวกไว้ได้มากทั้งบนผิวภายนอกและในช่องว่าง ขั้นตอนการเตรียมตัวพยุง ตัวพยุงจะต้องผ่านการเผาและอบ เพื่อกำจัดน้ำในโครงสร้างผลึกให้หมดไป ทำให้ตัวพยุงไม่เกิดการหดตัว

3. วิธีการตรึงเอนไซม์เข้ากับตัวพยุงนั้นๆ คือ การตรึงเอนไซม์วิธีดูดซับทางกายภาพ โดยนำเอนไซม์ไลเปสไปจับกับพื้นผิวภายนอกและพื้นผิวภายในของมอนต์มอริลโลไนต์ด้วยแรงดึงดูดระหว่างประจุ โดยการดูดซับไอออนผ่านประจุบวกของโปรตีนผ่านหมู่อะมิโน (NH_2) และหมู่ silanol (SiH_3OH) ที่เหลือบนตัวพยุง การตรึงวิธีดูดซับทางกายภาพนี้ไม่ซับซ้อน และภาวะการตรึงไม่รุนแรง แต่แรงดึงดูดระหว่างเอนไซม์กับตัวพยุงไม่ค่อยแข็งแรง เกิดการสูญเสียแอคติวิตีบางส่วนของเอนไซม์ในขั้นตอนการตรึง เอนไซม์อาจหลุดออกจากตัวพยุงได้ สอดคล้องกับฟองเต; และคนอื่นๆ (Fuentes; et al. 2001: 659) ที่ทำการตรึงเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida cylindracea* (CCL) ด้วยวิธีดูดซับทางกายภาพบนมอนต์มอริลโลไนต์ ที่พีเอช 7 ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง คิดเป็นร้อยละของการตรึงเอนไซม์เท่ากับ 87

2. สภาวะที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการผลิตไบโอดีเซล

การทดลองที่ 1 เพื่อเปรียบเทียบผลของปริมาณของเอนไซม์ไลเปสอิสระและเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์ พบว่าปริมาณของเอนไซม์แปรผันตามปริมาณเมทิลเอสเทอร์ที่เกิดขึ้น เมื่อสับสเตรทคงที่ และเมื่อเพิ่มปริมาณเอนไซม์สูงกว่าระดับที่เร่งปฏิกิริยาพอดีกับสับสเตรท อัตราการเกิดปฏิกิริยาเริ่มคงที่ เพราะไม่มีสับสเตรทเหลืออีกแล้ว แต่ถ้าใส่ปริมาณเอนไซม์มากเกินไป

อัตราการเกิดปฏิกิริยาอาจจะลดลง มีผลทำให้สารละลายในปฏิกิริยามีความหนืดสูง เกิดการรวมตัวกันของเอนไซม์ และมีการถ่ายเทมวลลดลง คือ ทำให้สับสเตรทที่เข้าทำปฏิกิริยาไม่สามารถเข้าถึงบริเวณเร่งของเอนไซม์ได้ สอดคล้องกับชาห์; และคุปตะ (Shah; & Gupta. 2007: 411) เมื่อใส่ปริมาณของเอนไซม์ 12.5-75 มิลลิกรัม ต่อน้ำมันเมล็ดสบู่ดำ 0.5 กรัม ปริมาณของเอทิลเอสเทอร์มีแนวโน้มสูงขึ้น หลังจากใส่ปริมาณเอนไซม์ 100 มิลลิกรัมต่อน้ำมันเมล็ดสบู่ดำ 0.5 กรัม ปริมาณของเอทิลเอสเทอร์กลับลดลงเล็กน้อย

ปริมาณเมทิลเอสเทอร์ที่ได้จากการเร่งปฏิกิริยาด้วยเอนไซม์อิสระมีค่ามากกว่าเอนไซม์ตรึงรูป เพราะว่าเอนไซม์อิสระไม่ผ่านขั้นตอนการตรึงจึงไม่เกิดการสูญเสียแอคติวิตี แต่สำหรับเอนไซม์ตรึงรูปมีการสูญเสียแอคติวิตีบางส่วนของเอนไซม์ในขั้นตอนการตรึงถูกกระทบกระเทือนจากการยึดโมเลกุลของเอนไซม์กับตัวพยุง แอคติวิตีของเอนไซม์จึงเบี่ยงเบนไปจากเดิมในลักษณะลดลง สอดคล้องกับดุษฎี รัตนพระ (2549: 65) จากการตรึงเอนไซม์ไลเปสจาก *Pseudomonas fluorescens* โดยวิธีการดูดซับทางกายภาพบนไคโตซาน พบว่าแอคติวิตีของเอนไซม์ที่ถูกตรึงมีค่าต่ำกว่าแอคติวิตีของเอนไซม์อิสระ

อย่างไรก็ตามการใช้เอนไซม์ตรึงรูปนั้น เหมาะสำหรับเอนไซม์ที่หาได้ยาก และมีราคาสูงในการผลิต เมื่อผ่านการตรึงยังคงความสามารถในการเร่งปฏิกิริยา เป็นสารที่อยู่ในรูปไม่ละลายน้ำ ทำให้เอนไซม์ตรึงรูปสามารถนำเอนไซม์ตรึงรูปกลับมาใช้ซ้ำและต่อเนื่องกันหลายครั้ง สามารถแยกสารผลิตภัณฑ์ออกได้ง่าย ถึงแม้ว่าเอนไซม์อิสระจะมีแอคติวิตีที่สูงกว่า แต่สามารถใช้ได้ครั้งเดียว เอนไซม์อิสระจะผสมปนลงไปในสารละลายของสับสเตรทและผลิตภัณฑ์ ทำให้แยกออกไม่ได้ ดังนั้นในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยจึงเลือกเอนไซม์ตรึงรูปมาใช้ในการทดลองเพื่อเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการผลิตไบโอดีเซล

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของเวลาสัมผัสและปริมาณของเอนไซม์ตรึงรูปต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์ ถ้าให้สับสเตรททำปฏิกิริยากับเอนไซม์ที่ระยะเวลาต่าง ๆ กันแล้ววัดปริมาณของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจะได้ผลดังนี้คือ ในช่วงแรก ๆ ปริมาณของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับเวลา แล้วต่อไปการเกิดผลิตภัณฑ์จะช้าลงและไม่แปรผันโดยตรงกับเวลา การที่เป็นเช่นนี้อาจเกิดจากการมีสับสเตรทจำกัด หรือ อัตราการสร้างผลิตภัณฑ์ถึงสมดุล หรือเกิดจากการยับยั้งโดยผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยา (ศิริรัตน์ สาระเวก. 2528: 33) สอดคล้องกับลารา; และ ปาร์ค (Lara; & Park. 2004: 273) พบว่า ปริมาณเอนไซม์ 59 ยูนิต สามารถผลิตเมทิลเอสเทอร์ได้มากกว่าร้อยละ 60 ภายใน 4 ชั่วโมง แต่เมื่อเวลาเพิ่มขึ้น เมทิลเอสเทอร์ที่ผลิตได้กลับไม่มีความสัมพันธ์กับเวลา ดังนั้นจึงต้องศึกษาปริมาณเอนไซม์ในการเร่งปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน เพื่อหาปริมาณที่เหมาะสมและไม่เกิดการสิ้นเปลืองโดยไม่จำเป็น โดยวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของร้อยละของปริมาณเอนไซม์ตรึงรูปกับเวลาสัมผัสที่ส่งผลต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์ ด้วยการวิเคราะห์ Paired samples test (t-test) พบว่า ที่เวลาสัมผัส 12 ชั่วโมงกับร้อยละของปริมาณเอนไซม์ ไลเปสตรึงรูป 90 มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .05

การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์ อุณหภูมิที่บ่ม 45 องศาเซลเซียส ทำให้ได้ร้อยละของปริมาณเมทิลเอสเทอร์ที่เกิดขึ้นสูงสุด เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงทำให้แอลกอฮอล์ทำปฏิกิริยาได้ง่ายขึ้นแต่ถ้าอุณหภูมิที่ใช้สูงเกินจุดเดือดของแอลกอฮอล์จะทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาลดลง เนื่องจากมีการสูญเสียแอลกอฮอล์ในระหว่างที่ทำปฏิกิริยา ถ้าอุณหภูมิของการทำปฏิกิริยาต่ำลงจะทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาลดลง

โดยทั่วไปแล้วปฏิกิริยาเคมีต่าง ๆ จะทำงานได้ดีเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น เพราะต้องการพลังงานในการกระตุ้นการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ก็เช่นเดียวกัน แต่เนื่องจากเอนไซม์เป็นสารประกอบโปรตีนมักจะไม่ค่อยคงตัวต่อความร้อน ทำให้เสียสภาพที่อุณหภูมิสูง ซึ่งความร้อนจะให้พลังงานที่ทำให้อะตอมในโมเลกุลของโปรตีนสั่นรวดเร็วยิ่งขึ้น จนสามารถทำลายพันธะไฮโดรเจนและพันธะไฮโดรโฟบิกที่ไม่แข็งแรงได้ เอนไซม์เมื่อถูกทำให้เสียสภาพ จะเสียความสามารถในการเร่งปฏิกิริยา ดังนั้นเอนไซม์ทุกตัวจะมีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานต่างกัน สอดคล้อง

กับชอว์; และคนอื่นๆ (Shao; et al. 2008: 283) พบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมของเอนไซม์ ไลเปสจาก *Candida rugosa* ที่ถูกตรึงบนไคโตซาน คือ 45 องศาเซลเซียส สามารถเร่งปฏิกิริยาทำให้เกิดเมทิลเอสเทอร์สูงสุด

การทดลองที่ 4 ศึกษาปริมาณเมทานอลต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์ อัตราส่วนน้ำมันปาล์มต่อเมทานอล 1:4 โมล/โมล ทำให้ได้ร้อยละของปริมาณเมทิลเอสเทอร์ที่เกิดขึ้นสูงสุด 59.76 โดยตามทฤษฎีสัดส่วนโดยโมลของน้ำมันต่อแอลกอฮอล์จะเท่ากับ 1:3 แต่ในทางปฏิบัติจะต้องให้ปริมาณของแอลกอฮอล์มากกว่าตามทฤษฎีเพื่อให้ปฏิกิริยาเกิดขึ้นได้อย่างสมบูรณ์ แต่การใช้ปริมาณแอลกอฮอล์มากในการทดลองที่ใช้เอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยากลับทำให้เอนไซม์เสียสภาพ เพราะแอลกอฮอล์ทำให้เกิดพันธะไฮโดรเจนขึ้นระหว่างโมเลกุลของสารประกอบโปรตีนได้ และจะทำลายพันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุลของสารประกอบโปรตีน เพราะเกิดการดึงน้ำมาไว้ในตัวแอลกอฮอล์ สอดคล้องกับการทดลองของ กามินิ; และ เลอฟูจิ (Kamini; & Iefuji. 2001: 409) พบว่า ที่เวลา 120 ชั่วโมงเมื่อใช้สารตั้งต้นที่มีส่วนผสมระหว่างน้ำมันรำข้าวและเมทานอล อัตราส่วนโดยโมล 1:4 สามารถผลิตเมทิลเอสเทอร์ได้สูง แต่ถ้าใช้อัตราส่วนโดยโมลเป็น 1:6 จะผลิตเมทิลเอสเทอร์ได้ต่ำ เนื่องจากปริมาณเมทานอลสูงเกินไปทำให้เอนไซม์เสียสภาพ

การทดลองที่ 5 ศึกษาการผลิตไบโอดีเซลตามสภาวะที่เหมาะสมให้เวลาสัมผัสเพิ่มขึ้นต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์ อัตราส่วนของน้ำมันปาล์มต่อเมทานอล 1:4 โมล/โมล ใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปปริมาณร้อยละ 90 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำมันปาล์ม เฮกเซน ปริมาณที่ใช้คือ เฮกเซน 1: 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ในหน่วยกรัมของน้ำมันปาล์มต่อหน่วยมิลลิลิตรของเฮกเซน สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 1:2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ในหน่วยกรัมของน้ำมันปาล์มต่อหน่วยมิลลิลิตรของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง ทำให้ได้ปริมาณเมทิลเอสเทอร์ (ไบโอดีเซล) ร้อยละ 94.61 โดยเทียบน้ำหนักไบโอดีเซล

ไบโอดีเซลที่ผลิตได้นั้น เป็นไบโอดีเซลแบบเอสเทอร์ สารประกอบเมทิลเอสเทอร์สังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน ระหว่างน้ำมันปาล์ม ซึ่งเป็นสารประกอบไตรกลีเซอไรด์ กับเมทิลแอลกอฮอล์ (เมทานอล) เพื่อทำปฏิกิริยากับสารประกอบกลีเซอไรด์ที่อยู่ในน้ำมันปาล์ม เพื่อให้เกิดสารประกอบเอสเทอร์ขึ้นได้อย่างสมบูรณ์ โดยใช้เอนไซม์ไลเปสที่ตรึงบนมอนต์มอริลโลไนต์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซ์ย่อยสลายพันธะเอสเทอร์ (ester bond) ในน้ำมันให้เป็นโมโนกลีเซอไรด์ (monoglyceride) ไดกลีเซอไรด์ (diglyceride) และกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) มีเฮกเซนเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ เพื่อลดการสัมผัสระหว่างเอนไซม์ไลเปสกับเมทิลแอลกอฮอล์โดยตรง และสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 7 เป็นตัวควบคุมค่าพีเอช เพราะว่าเอนไซม์จะทำงานได้ในช่วงพีเอชช่วงหนึ่งเท่านั้น ดังนั้นเวลาที่เกิดกรดหรือเบสขึ้นมาจากปฏิกิริยา สารละลายบัฟเฟอร์จะคอยช่วยปรับค่าพีเอช ให้กลับสู่สภาพปกติที่เอนไซม์จะทำงานได้ต่อไป บ่มที่อุณหภูมิเหมาะสม เพื่อให้เอนไซม์ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ เขย่าด้วยความเร็วรอบคงที่ การใช้ความเร็วรอบที่เหมาะสมช่วยให้การกระจายของเอนไซม์และการสัมผัสกับสารตั้งต้นเกิดขึ้นได้ดี เป็นเวลาสัมผัสที่เหมาะสม เพื่อให้อัตราส่วนน้ำมันปาล์มต่อเมทานอลและตัวเร่งปฏิกิริยาเกิดการสัมผัสกัน จนเกิดเป็นสารประกอบเมทิลเอสเทอร์ (ไบโอดีเซล) อยู่ชั้นบน และมีกลีเซอรอลเป็นผลพลอยได้อยู่ชั้นล่าง หลังจากนั้นแยกตัวเร่งปฏิกิริยาออกเพื่อนำไปใช้ซ้ำในครั้งต่อไป สอดคล้องกับศิริรัตน์ โรจนพิพัฒน์กุล; และ วศินี พุมมา (2548: ก) สามารถแยกตัวเร่งปฏิกิริยาและผลิตภัณฑ์ออกจากกัน และตัวเร่งปฏิกิริยาแบบวิวิธพันธุ์ (Heterogeneous catalytic reaction) สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้อีก, ปรเมษฐ์ น่วมเปี่ยม; และ สินศุภา จุ้ยจุลเจิม (2549: 13) พบว่าเอนไซม์อิสระให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์อิสระสูงกว่าเอนไซม์ตรึงรูป ภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส คือ ความเร็วรอบของการเขย่า 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส, เกียซี่; และคนอื่นๆ (Ghiaci; et al. 2009: 293)

พบว่าสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 7 ส่งผลให้ร้อยละของค่าแอคติวิตีเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* ในรูปของเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปมีค่าสูงสุด, ดุษฎี รัตนพระ (2549: 71) พบว่าเฮกเซนเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่ให้ปริมาณเมทิลเอสเทอร์สูงสุด เนื่องจากตัวทำละลายอินทรีย์ที่ไม่มีขั้ว จึงสามารถละลายเข้ากับน้ำมันได้ดี และนอกจากยังไม่มีผลกระทบต่อโครงรูปของเอนไซม์, ชอว์; และคนอื่นๆ (Shao; et al. 2008: 283) พบว่าใช้สารตั้งต้นที่มีส่วนผสมระหว่างไขสบู่เมล็ดเรดซีฟและเมทานอล อัตราส่วนโดยโมล 1:4 โดยใช้เอนไซม์ไลเปสจาก *Candida rugosa* ที่ถูกตรึงบน ไคโตซาน ด้วยวิธีเชื่อมไขว้ ที่อุณหภูมิ 45 °C สามารถผลิตเมทิลเอสเทอร์ได้สูงมากกว่าร้อยละ 95, เชิดศักดิ์ เมธาธไนศวรรย์ (2535: 45) พบว่า ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ทำให้การกระจายตัวของเอนไซม์และการสัมผัสสารตั้งต้นเกิดขึ้นได้ดี และถ้าใช้ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นการเขย่าด้วยแรงเหวี่ยงความเร็วสูงมากเกินไปทำให้เอนไซม์ซึ่งมีความหนาแน่นสูงกว่าส่วนของเหลวมารวมกันที่บริเวณจุดศูนย์กลาง ในขณะที่ส่วนของเหลวถูกเหวี่ยงไปอยู่ด้านนอกขอบของขวดทำปฏิกิริยา จึงมีผลให้การเกิดปฏิกิริยาลดลง, กามินิ; และ เลอฟูจิ (Kamini; & Iefuji. 2001: 409) พบว่า ที่เวลาสัมผัส 120 ชั่วโมง เกิดร้อยละของปริมาณเมทิลเอสเทอร์สูงสุด ปริมาณของเมทิลเอสเทอร์ที่เกิดขึ้นแปรผันตามเวลาสัมผัสที่เพิ่มขึ้น

3. การทดสอบคุณภาพไบโอดีเซล

ปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพไบโอดีเซลมีหลายปัจจัย เช่น คุณภาพของวัตถุดิบ องค์ประกอบกรดไขมันของน้ำมันพืช กระบวนการผลิต และวัสดุที่ใช้ในการผลิต การจัดการหลังการผลิต เพื่อให้สามารถใช้งานได้อย่างมั่นใจและปลอดภัยต่อชิ้นส่วนและอุปกรณ์ต่างๆ ภายในเครื่องยนต์ ดังนั้นหลังจากผลิตไบโอดีเซล (เมทิลเอสเทอร์) ได้ต้องนำไปทดสอบคุณภาพ เพื่อสะท้อนถึงปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพไบโอดีเซล โดยค่าที่ได้จากการทดสอบคุณภาพต่างๆ มีรายละเอียดดังต่อไปนี้ คือ

ร้อยละโดยน้ำหนักของเมทิลเอสเทอร์เท่ากับ 94.61 แสดงถึงความบริสุทธิ์ของไบโอดีเซล และความสมบูรณ์ของปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของไตรกลีเซอไรด์และเมทานอลในกระบวนการผลิตไบโอดีเซล มาตรฐานในเชิงพาณิชย์กำหนดให้มีปริมาณมากกว่าร้อยละ 96.5 โดยน้ำหนัก เมื่อปริมาณเมทิลเอสเทอร์ไม่ผ่านเกณฑ์ข้อกำหนดของกรมธุรกิจพลังงาน บ่งชี้ว่ายังมีโมโนกลีเซอไรด์ ไดกลีเซอไรด์ หรือไตรกลีเซอไรด์อยู่ในไบโอดีเซลในปริมาณสูงกว่าที่กำหนด ส่งผลให้ความหนืดของไบโอดีเซลมีค่าสูง และเกี่ยวเนื่องกับการอุดตันในหัวฉีด หรือกระบอกสูบของเครื่องยนต์

ความหนาแน่นเท่ากับ 900 Kg/m^3 ยิ่งมีค่ามากยิ่งให้พลังงานความร้อนมากขึ้นตามไปด้วย ผ่านเกณฑ์ข้อกำหนดของกรมธุรกิจพลังงาน เป็นตัวแปรที่สำคัญในการออกแบบระบบหัวฉีดจ่ายน้ำมัน

ความหนืดเท่ากับ 28.56 cSt ไม่ผ่านเกณฑ์ข้อกำหนดของกรมธุรกิจพลังงาน ความหนืดของไบโอดีเซลที่ผลิตได้ขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำมันพืชที่เป็นวัตถุดิบ ความหนืดเกี่ยวข้องกับการไหล การฉีดเป็นฝอยของหัวฉีดในห้องเผาไหม้ เป็นดัชนีแสดงการเสื่อมสภาพของไบโอดีเซลเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันอีกทางหนึ่ง

จุดวาบไฟเท่ากับ 170 °C ผ่านเกณฑ์ข้อกำหนดของกรมธุรกิจพลังงาน จุดวาบไฟมีผลต่อการขนส่งเคลื่อนย้าย และการจัดเก็บ เพื่อความปลอดภัย

ค่าความเป็นกรดเท่ากับ 40 ไม่ผ่านเกณฑ์ข้อกำหนดของกรมธุรกิจพลังงาน เป็นผลมาจากปริมาณกรดไขมันอิสระในวัตถุน้ำมันพืชและปริมาณกรดที่ใช้ในกระบวนการผลิตไบโอดีเซล ซึ่งมีผลต่อการกัดกร่อนในเครื่องยนต์

สรุปภาพรวมของคุณภาพของไบโอดีเซลที่ผลิตได้ในการวิจัยครั้งนี้ พบว่า คุณสมบัติบางอย่างไม่ผ่านเกณฑ์ข้อกำหนดค่ามาตรฐานของไบโอดีเซลสำหรับเครื่องยนต์การเกษตร (ไบโอดีเซลชุมชน) ตามประกาศของกรมธุรกิจพลังงาน กระทรวงพลังงาน พ.ศ. 2549 ดังนั้นจะต้องปรับปรุงแก้ไขปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพไบโอดีเซล เช่น

คุณภาพของวัตถุดิบ องค์ประกอบกรดไขมันของน้ำมันพืช กระบวนการผลิต และวัสดุที่ใช้ในการผลิต การจัดการหลังการผลิตในอนาคต

4. การศึกษาสมรรถนะของเอนไซม์ตรึงรูปเพื่อนำเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปกลับมาใช้ซ้ำ

ปกติเราสามารถแยกเอนไซม์ตรึงรูปกลับมาใช้งานได้อีกหลายครั้งจนกว่าความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์จะลดต่ำลงมาก ทำให้ประหยัดกว่าการใช้เอนไซม์อิสระ แต่ผลจากการทดลองพบว่าเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปไม่สามารถนำกลับไปใช้ครั้งต่อไปได้ เพราะว่าในการผลิตไบโอดีเซลแต่ละครั้งใช้เวลาสัมผัสนาน ทำให้เอนไซม์มีโอกาสหลุดออกจากตัวพยุง ซึ่งมีแรงยึดเหนี่ยวอ่อน ทำให้เอนไซม์ที่ตรึงด้วยวิธีนี้จะมีแอคติวิตีสูงในช่วงแรกของการเกิดปฏิกิริยาและแอคติวิตีจะลดลงตามระยะเวลาของการใช้งาน แต่อย่างไรก็ตามเอนไซม์ ไลเปสตรึงรูปที่ใช้ในงานวิจัยนี้ มีข้อดีคือวิธีการเตรียมที่มีความสะดวกและสภาวะไม่รุนแรง ต้นทุนการตรึงต่ำ และสามารถนำกลับมาใช้ซ้ำได้ ในอนาคตต้องปรับปรุงเอนไซม์ตรึงรูปให้มีความเสถียรภาพต่อไป

ข้อเสนอแนะ

จากผลการวิจัยที่ไม่สอดคล้องกับสมมติฐานในการเทียบเคียงคุณภาพผลผลิตไบโอดีเซล (เมทิลเอสเทอร์) ที่ผลิตได้กับค่ามาตรฐานของไบโอดีเซลสำหรับเครื่องยนต์การเกษตร (ไบโอดีเซลชุมชน) ตามประกาศของกรมธุรกิจพลังงาน กระทรวงพลังงาน พ.ศ. 2549 จึงเสนอแนวทางในการนำไบโอดีเซลในการวิจัยครั้งนี้ไปใช้ให้เกิดประโยชน์ และข้อเสนอแนะที่ได้จากการวิจัยในครั้งนี้ ดังรายละเอียดต่อไปนี้

1. ควรนำไบโอดีเซลที่ผลิตได้ไปใช้ในรูปของ ไบโอดีเซลลูกผสม โดยผสมไบโอดีเซลที่ผลิตได้กับน้ำมันดีเซลในอัตราส่วนต่างๆ คือ 50 : 50, 40 : 60, 30 : 70 เพื่อแก้ไขปัญหาเกี่ยวกับความหนืด และค่าความเป็นกรด นำไปใช้ประโยชน์กับเครื่องยนต์ดีเซลที่มีลูกสูบทำด้วยเหล็กหล่อชนิดพิเศษมีส่วนผสมของนิกเกิล ทองแดง และโครเมียม มีคุณสมบัติทนทานต่อการกัดกร่อนของกรดได้เป็นอย่างดี เช่น เครื่องยนต์เรือเดินสมุทร เครื่องยนต์เรือประมง เป็นต้น

2. สนับสนุนให้หน่วยงานหรือโรงงานอุตสาหกรรมทำการศึกษาถึงความเป็นไปได้ในการผลิตเอนไซม์ไลเปส แร่มอนต์มอริลโลไนต์จากดินเบนทอไนต์ในระดับอุตสาหกรรม เพื่อนำไปสู่การผลิตเพื่อเป็นการค้า และสามารถนำไปใช้งานได้จริง สำหรับทำเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในรูปของเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปที่มีความเสถียรภาพ สามารถใช้ในระดับอุตสาหกรรมได้ ลดการนำเข้าจากต่างประเทศ และมีต้นทุนต่ำ

ข้อเสนอแนะในการวิจัยครั้งต่อไป

1. ศึกษาในส่วนการตรึงเอนไซม์บนดินเบนทอไนท์ซึ่งมีแร่มอนต์มอริลโลไนต์เป็นส่วนประกอบที่มีแหล่งผลิตภายในประเทศ เพื่อใช้ทดแทนกัน หากยังไม่สามารถแยกแร่มอนต์มอริลโลไนต์ออกจากดินเบนทอไนท์ให้มีความบริสุทธิ์ได้ สามารถลดการนำเข้าจากต่างประเทศ ลดต้นทุนการผลิต

2. ศึกษาในส่วนของวิธีการตรึงเอนไซม์ด้วยวิธีอื่นๆ นอกเหนือจากการตรึงด้วยวิธีดูดซับทางกายภาพ เช่น การตรึงแบบการห่อหุ้มในเจล (Entrapment) การเชื่อมไขว้ (Cross-linking) การจับแบบโควาเลนต์ (Covalent binding) การห่อหุ้มในแคปซูลขนาดเล็ก (Encapsulation) เพื่อให้เอนไซม์มีเสถียรภาพมากขึ้นกว่าเดิม นำเอนไซม์กลับมาใช้ซ้ำและต่อเนื่องกันได้หลายครั้ง สามารถลดต้นทุนการผลิต

3. นำน้ำมันที่ใช้แล้ว หรือวัตถุดิบอื่นๆ มาเป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซล ซึ่งมีต้นทุนต่ำกว่าการนำน้ำมันปาล์มดิบมาใช้โดยตรง สามารถลดต้นทุนการผลิตและเป็นการเพิ่มมูลค่า

4. การทำวิจัยในครั้งนี้มีการนำเข้าวัตถุดิบและสารเคมีจากต่างประเทศ จึงทำให้ต้นทุนต่อหน่วยสูงมาก การวิจัยครั้งต่อไป ควรคำนึงถึงปัจจัยเหล่านี้ประกอบด้วยว่าจะใช้สิ่งใดมาทดแทน สามารถหาภายในประเทศได้ เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดในอนาคต

บรรณานุกรม

กรมธุรกิจพลังงาน กระทรวงพลังงาน. (2549). *ประกาศกรมธุรกิจพลังงาน เรื่อง กำหนดลักษณะและคุณภาพของไบโอดีเซลสำหรับเครื่องยนต์การเกษตร (ไบโอดีเซลชุมชน) พ.ศ. 2549 ลงวันที่30 มิถุนายน พ.ศ. 2549*. กรุงเทพฯ: ม.ป.พ.

----------. (2550). *ประกาศกรมธุรกิจพลังงาน เรื่อง กำหนดลักษณะและคุณภาพของไบโอดีเซลประเภทเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน พ.ศ. 2550 ลงวันที่ 30 เมษายน พ.ศ. 2550.*กรุงเทพฯ: ม.ป.พ.

กล้าณรงค์ ศรีรอต; และ คนอื่นๆ. (2546). *รายงานการวิจัยการศึกษาสถานภาพวัตถุดิบที่จะนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตไบโอดีเซล*. กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

คณะผู้แทนไทยประจำประชาคมยุโรป. (2549).*แนวโน้มสถานการณ์พลังงานของโลก: สถานการณ์ฟื้งพาด้านพลังงานของยุโรปและเอเชีย*. สืบค้นเมื่อ26 มีนาคม 2552, จาก http://news.thaieurope.net

เชิดศักดิ์ เมธาธไนศวรรย์. (2535). *การใช้เอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่งทางชีวภาพของปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชั่นของน้ำมันรำข้าว*. วิทยานิพนธ์ วท.ม. (วิทยาศาสตร์การอาหาร). กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ดุษฎี รัตนพระ. (2549). *การตรึงไลเปสจากPseudomonas fluorescens เพื่อผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันดอกทานตะวัน*. วิทยานิพนธ์ วศ.ม. (วิศวกรรมเคมี). กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นภาพร บัวบาน; และ คนอื่นๆ (2548, ธันวาคม). การศึกษากระบวนการบำบัดน้ำมันไฮดรอริกใช้แล้วโดยใช้กรดและดินเหนียว ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มอก. 1438-2540. *วารสารอุตสาหกรรมศึกษา*. 3(3): 10-16.

ปรเมษฐ์ น่วมเปี่ยม; และ สินศุภา จุ้ยจุลเจิม. (2549, กันยายน-ธันวาคม). การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสในสารตั้งต้นน้ำมันปาล์ม. *วารสารวิจัยและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล* 10(1): 13-20.

พิศมัย เจนวินิชปัญจกุล; และ ลลิตา อัตนโถ. (2549). *รอบรู้...เรื่องราว ไบโอดีเซล*. ปทุมธานี: สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.).เราเหลือพลังงานในโลก อีกแค่ไหน ?. (2551, 10-13 กรกฎาคม). *ประชาชาติธุรกิจ*. หน้า 43-44.

ศิริรัตน์ โรจนพิพัฒน์กุล และ วศินี พุมมา. (2548). *การทำทรานส์เอสเตอร์ริฟิเคชัน โดยใช้ตัวเร่งมอนท์มอริลโลไนต์*. โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์: ภาควิชาเคมีเทคนิค คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ศิริรัตน์ สาระเวก. (2528). *เอ็นไซม์*. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สุภาพร สุขสินชัย. (2542). *การศึกษาการตรึงเอนไซม์เพคติเนสจากเชื้อรา Rhizopus sp.26R และสมบัติของเอนไซม์ตรึงรูป*. วิทยานิพนธ์ วท.ม.(จุลชีววิทยา). กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สำนักงานนโยบายและแผนพลังงาน. (2553). *รายงานประจำปี 2552 EPPO*. กรุงเทพฯ: สำนักงานนโยบายและแผนพลังงาน กระทรวงพลังงาน.

Isidoro Emilio de Fuentes; et al. (2001). Different phyllosilicates as supports for lipase immobilization. *Molecular Catalysis B: Enzymatic*. (11): 657-663.

M. Ghiaci; et al. (2009). Enzyme immobilization Part 1. Modified bentonite as a new and efficient support for immobilization of *Candidarugosa* lipase. *Applied Clay Science*. (43): 289-295.

N.R. Kamini; & H. Iefuji. (2001). Lipase catalyzed methanolysis of vegetable oils in aqueousmedium by *Cryptococcus spp. S-2*. *Process Biochemistry*. (37): 405-410.

P. Vanessa Lara; & Enoch Y. Park. (2004). Potential application of waste activated bleaching earth on the production of fatty acidalkyl esters using *Candida cylindracea* lipase in organic solvent system. *Enzyme and Microbial Technology*. (34): 270-277.

Ping Shao; et al. (2008). Analysis of immobilized *Candida rugosa* lipase catalyzed Preparation of biodiesel from rapeseed soapstock. *Food and Bioproducts Processing*. (86): 283-289.

Shweta Shah; & Munishwar N. Gupta. (2007). Lipase catalyzed preparation of biodiesel from Jatropha oil in a solvent free system. *Process Biochemistry*. (42): 409-414.