บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

วัสดุอุปกรณ์ในการทดลอง

ขวดแก้วพร้อมฝาสำหรับเตรียมตัวอย่างวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร
(Amani, Thailand)

คอลัมน์ HPLC (High Performance Liquid Chromatrography)
รุ่น Apollo Silica 5U ความยาว 250 มิลลิเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 4.6
มิลลิเมตร (Alltech, USA)

เครื่อง HPLC
รุ่น LC-20A (Shimadzu, Japan)

เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Sartorius, Germany)

เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Ohaus, USA)

เครื่องทำความร้อนแบบอัตโนมัติ (ใช้กับเครื่องปั่นกวนพร้อมอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ)
(Heto, Denmark)

เครื่องปั่นกวน (Combination, Thailand))

เครื่องปั่นกวนพร้อมอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (T.S. Instrument, Thailand)

เครื่องปั่นเหวี่ยง
(Hettich Zentrifugen, Germany)
(Heraeus Christ, Germany)

เครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ (Pharmacia, Sweden)

ตัวกรองสำหรับการเตรียมตัวอย่างวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ขนาดรูกรอง 0.45 µm
เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 17 มิลลิเมตร (Amani, Thailand)

แท่งแม่เหล็กสำหรับปั่นกวน ขนาด 52 x 10 มิลลิเมตร (LeoLab, Thailand)

ปั๊มดูดจ่ายของเหลว (peristaltic pump) (Ismatec, Switzerland)

สายยางซิลิโคน เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 0.70 เซนติเมตร
(N.C.R. RUBBER INDUSTRY, Thailand)

สายยางซิลิโคน เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 1.02 มิลลิเมตร (Ismatec, Switzerland)
สายยางโพลีเอทิลีน เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 0.635 มิลลิเมตร (Ismatec, Switzerland)
ออโต้ปิเปต (autopipette) (Labnet, Thailand)

สารเคมีในการทดลอง

1, 2 ไดโอเลอิน ความบริสุทธิ์ประมาณ 99% (1, 2 diolein) (Supelco, USA)
1, 3 ไดโอเลอิน ความบริสุทธิ์ประมาณ 99% (1, 3 diolein) (Supelco, USA)
กรดปาล์มมิติก ความบริสุทธิ์ประมาณ 99% (palmitic acid) (Sigma, USA)
กรดฟอร์มิก สำหรับเครื่อง HPLC (formic acid, HPLC grade) (Labscan, Thailand)
กรดลิโนเลอิก ความบริสุทธิ์ประมาณ 99% (linoleic acid) (Sigma, USA)
กรดสเทียริก ความบริสุทธิ์ประมาณ 99% (stearic acid) (Sigma, USA)
กรดอะซิติก (acetic acid) (BDH Chemical, England)
กรดโอเลอิก ความบริสุทธิ์ประมาณ 99% (oleic acid) (Sigma, USA)
น้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ (Morakot Brand, Thailand)
อิโคเซน ความบริสุทธิ์ประมาณ 99% (eicosane) (Aldrich, Germany)
เมทานอล (methanol) (Merck, Germany)
เมทิลปาล์มมิเตต ความบริสุทธิ์ประมาณ 99% (methyl palmitate) (Sigma, USA)
เมทิลลิโนลิเอต ความบริสุทธิ์ประมาณ 99% (methyl linoleate) (Sigma, USA)
เมทิลสเทียเรต ความบริสุทธิ์ประมาณ 99% (methyl stearate) (Sigma, USA)
เมทิลโอลิเอต ความบริสุทธิ์ประมาณ 99% (methyl oleate) (Sigma, USA)
เอทิลอะซิเตต สำหรับเครื่อง HPLC (ethyl acetate, HPLC grade) (Labscan, Thailand)
เฮกเซน (hexane) (J.T.Baker, Thailand)
เฮกเซน สำหรับเครื่อง HPLC (hexane, HPLC grade) (Labscan, Thailand)
โนโวไซม์ 435 (Novozym 435) (Novo Nordisk, Denmark)
โมโนโอเลอิน ความบริสุทธิ์ประมาณ 99% (monoolein) (Supelco, USA)
ไตรโอเลอิน ความบริสุทธิ์ประมาณ 99% (triolein) (Supelco, USA)
ไอโซโพรพานอล สำหรับเครื่อง HPLC (isopropanol, HPLC grade)
(Labscan, Thailand)

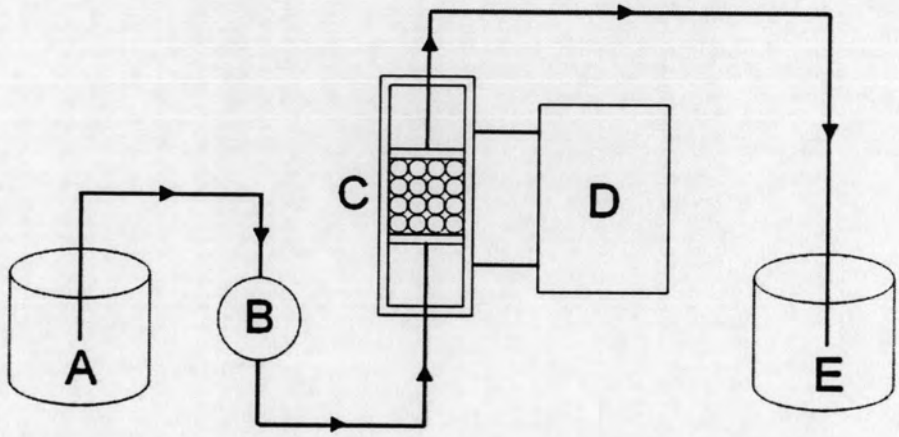
ขั้นตอนในการทดลอง

3.1 การทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันเพื่อผลิตไบโอดีเซลหรือเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (FAME) แบบต่อเนื่อง

ดัดแปลงระบบการผลิตไบโอดีเซลด้วยเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ จาก Chulalaksananukul และคณะ (2002) ดังอธิบายในหัวข้อ 3.1.1 และ 3.1.2 ต่อไปนี้

3.1.1 การควบคุมสารละลายผสมของสารตั้งต้นที่อุณหภูมิห้อง

จากแบบจำลองการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน ในรูปที่ 3 สามารถสรุปขั้นตอนของระบบการผลิตไบโอดีเซลแบบต่อเนื่องด้วยเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุได้ดังนี้



รูปที่ 3 ระบบการผลิตไบโอดีเซลแบบต่อเนื่องด้วยเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ โดยควบคุมให้สารละลายผสมของสารตั้งต้นอยู่ที่อุณหภูมิห้อง

เมื่อ A คือ สารละลายผสมของสารตั้งต้น

B คือ ปั๊มดูดจ่ายของเหลว

C คือ เครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ

D คือ อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ

E คือ ภาชนะเก็บผลิตภัณฑ์

3.1.1.1 บรรจุโนโวไซม์ 435 ลงในคอลัมน์ที่เป็นท่อแก้ว ให้มีความแน่นพอดี บริเวณนี้จะถือเป็นส่วนที่ใช้ผลิตไบโอดีเซล หรือเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ (C)

3.1.1.2 เตรียมสารละลายผสมของสารตั้งต้น (A) ซึ่งประกอบด้วยน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ผสมกับเมทานอล ในอัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ต่อเมทานอล ตามที่ต้องการทดลอง (การคำนวณแสดงไว้ในภาคผนวก ข)

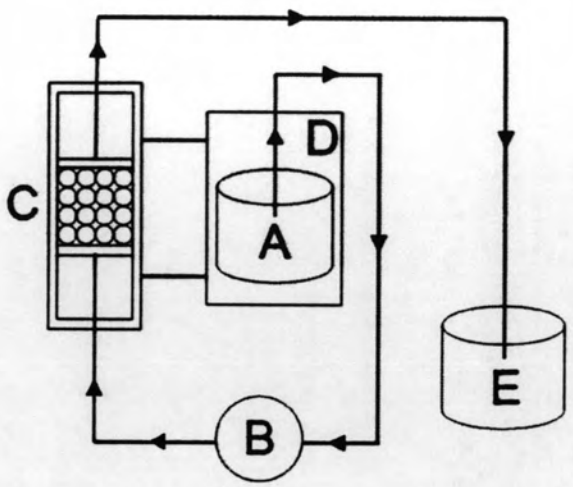
3.1.1.3 ผ่านสารละลายผสมของสารตั้งต้น (A) ที่ปั่นกวนตลอดเวลาในอัตราเร็ว 230 รอบต่อนาที เข้าในสายยาง โดยควบคุมอัตราการไหลของของเหลว ด้วยปั๊มดูดจ่ายของเหลว (B) ให้คงที่ ในอัตราการไหลตามที่ต้องการทดลอง สารละลายผสมของสารตั้งต้น (A) จะผ่านเข้าสู่เครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ (C) ทางด้านล่างของคอลัมน์ จากนั้น สารละลายผสมของสารตั้งต้น (A) จะออกจากคอลัมน์ทางด้านบน เข้าสู่ภาชนะเก็บผลิตภัณฑ์ (E)

3.1.1.4 ตลอดการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันเพื่อผลิตไบโอดีเซลนี้ จะมีการควบคุมอุณหภูมิของเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ (C) ตลอดเวลา ด้วยท่อน้ำที่ห่อหุ้มไว้ภายนอกของเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ (C) ซึ่งใช้น้ำไหลวนจากอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิโดยเครื่องทำความร้อนแบบอัตโนมัติ (D)

3.1.1.5 เก็บตัวอย่างที่ผ่านการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันจากเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ (C) ซึ่งจะออกมาจากปลายสายยางทางด้านบนของเครื่อง จากนั้นนำตัวอย่างนี้ ไปวิเคราะห์หาปริมาณเมทิลเอสเทอร์ด้วย HPLC ต่อไป

3.1.2 การควบคุมสารละลายผสมของสารตั้งต้นที่อุณหภูมิเดียวกันกับเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ

จากแบบจำลองการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน ในรูปที่ 4 การผลิตไบโอดีเซลอย่างต่อเนื่องด้วยเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุในหัวข้อนี้ มีขั้นตอนการทดลองเช่นเดียวกับในหัวข้อ 3.1.1 แต่เพิ่มการควบคุมอุณหภูมิของสารละลายผสมของสารตั้งต้น โดยวางภาชนะเก็บสารละลายผสมของสารตั้งต้น ไว้ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิพร้อมเครื่องปั่นกวน (D) ซึ่งใช้ควบคุมอุณหภูมิ ให้เป็นอุณหภูมิเดียวกันกับที่เครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ และปั่นกวนไปพร้อมๆ กัน



รูปที่ 4 ระบบการผลิตไบโอดีเซลแบบต่อเนื่องด้วยเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุโดยควบคุมให้สารละลายผสมของสารตั้งต้นอยู่ที่อุณหภูมิเดียวกันกับเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ
เมื่อ A คือ สารละลายผสมของสารตั้งต้น
B คือ ปั๊มดูดจ่ายของเหลว
C คือ เครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ
D คือ อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ
E คือ ภาชนะเก็บผลิตภัณฑ์

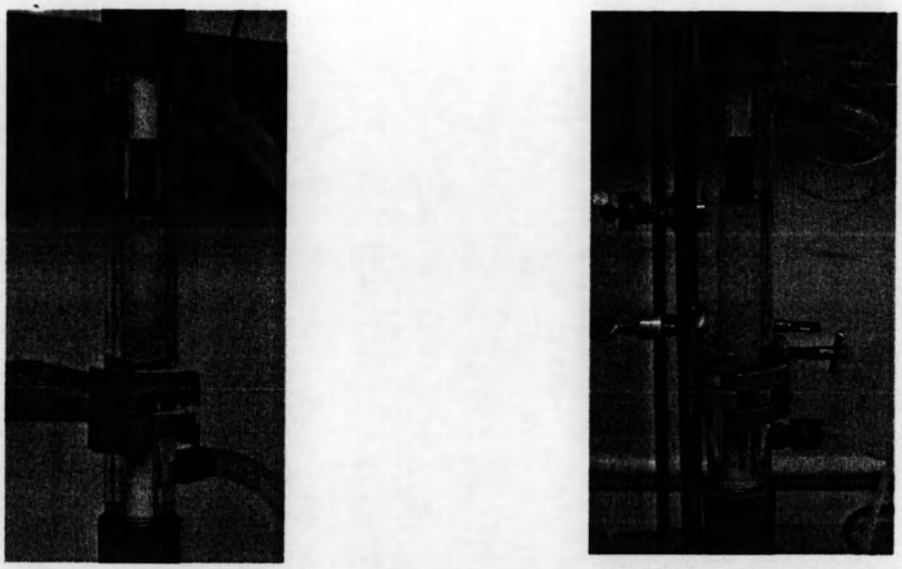
3.1.3 ผลของปัจจัยต่าง ๆ ต่อการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน

ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันเกิดขึ้นโดยนำสารตั้งต้นคือน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ และเมทานอลทำปฏิกิริยากัน โดยใช้โนโวไซม์ 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา การศึกษาในหัวข้อนี้จึงเป็นการศึกษาเกี่ยวกับผลของปัจจัยต่างๆ ที่เกิดขึ้นต่อการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน อันได้แก่

3.1.3.1 ประเภทของการบรรจุคอลัมน์

การทดลองเรื่องการบรรจุโนโวไซม์ 435 ลงในคอลัมน์แก้วเพื่อใช้เป็นเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ สามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภท ดังแสดงในรูปที่ 5

โดยใช้ปริมาณโนโวไซม์ 435 เริ่มแรก เท่ากับ 1 กรัม บรรจุลงในคอลัมน์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร สูง 6 เซนติเมตร



(ก) (ข)

รูปที่ 5 การบรรจุคอลัมน์เพื่อใช้เป็นเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ 2 ประเภท
เมื่อ (ก) คือ การบรรจุคอลัมน์แบบแยกโนโวไซม์ 435 และเม็ดแก้ว
(ข) คือ การบรรจุคอลัมน์แบบผสมโนโวไซม์ 435 และเม็ดแก้ว

3.1.3.1.1 การบรรจุคอลัมน์แบบแยกโนโวไซม์ 435 และเม็ดแก้ว

ในการบรรจุคอลัมน์ประเภทนี้ จะเริ่มต้นด้วยการบรรจุเม็ดแก้วจำนวนครึ่งหนึ่งลงในคอลัมน์แก้วก่อน นับเป็นชั้นที่ 1 แล้วจึงบรรจุโนโวไซม์ 435 ลงในคอลัมน์แก้วต่อ ซึ่งชั้นนี้จะนับเป็นชั้นที่ 2 และชั้นสุดท้าย เป็นการบรรจุเม็ดแก้วจำนวนอีกครึ่งหนึ่งของที่เหลือลงในคอลัมน์แก้วอีกครั้ง

3.1.3.1.2 การบรรจุคอลัมน์แบบผสมโนโวไซม์ 435 และเม็ดแก้ว

ในการบรรจุคอลัมน์ประเภทนี้ จะเป็นการบรรจุแบบผสมเม็ดแก้วทั้งหมดปนกับโนโวไซม์ 435 ลงในคอลัมน์แก้ว โดยไม่มีการแยกชั้นของเม็ดแก้วและโนโวไซม์ 435 และทำการบรรจุให้เม็ดแก้วกับโนโวไซม์ 435 คลุกเคล้ากันอย่างพอดี

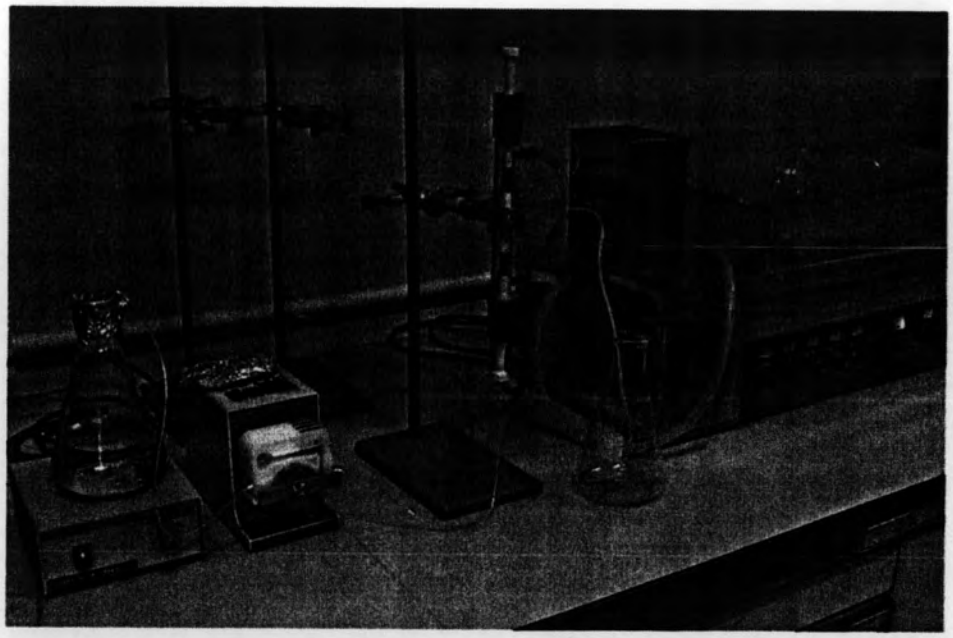
โดยปัจจัยควบคุมในการทำปฏิกิริยาเพื่อทดลองในหัวข้อ 3.1.3.1 นี้ ได้แก่ อัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ต่อเมทานอลเป็น 1 : 0.5 อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาของเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ เท่ากับ 40 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของสารละลายผสมของสารตั้งต้น เท่ากับ 0.20 มิลลิลิตรต่อนาที และปริมาณโนโวไซม์ 435 เท่ากับ 1 กรัม โดยมีอัตราส่วนโดยน้ำหนักของปริมาณโนโวไซม์ 435 ต่อเม็ดแก้วเป็น 1 : 4

3.1.3.2 ผลของอัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ต่อเมทานอล

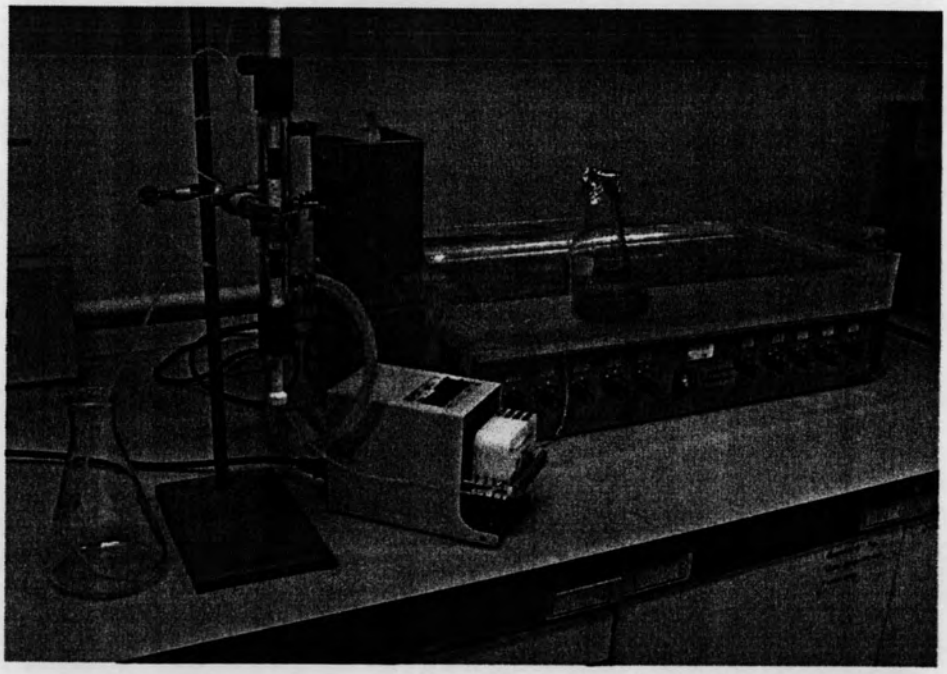
อัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ต่อเมทานอลที่ทำการทดลองเป็นดังนี้ 1 : 0.5, 1 : 1, 1 : 1.5, 1 : 2 และ 1 : 3 โดยปัจจัยควบคุมในการทำปฏิกิริยาเพื่อทดลองในหัวข้อนี้ ได้แก่ ลักษณะของเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุเป็นการบรรจุคอลัมน์แบบผสมโนโวไซม์ 435 และเม็ดแก้ว อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาของเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ เท่ากับ 40 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของสารละลายผสมของสารตั้งต้น เท่ากับ 0.20 มิลลิลิตรต่อนาที และปริมาณโนโวไซม์ 435 เท่ากับ 1 กรัม โดยมีอัตราส่วนโดยน้ำหนักของปริมาณโนโวไซม์ 435 ต่อเม็ดแก้วเป็น 1 : 4

3.1.3.3 ผลของอุณหภูมิต่อการทำปฏิกิริยา

ในตอนแรก ทำการทดลองเพื่อเปรียบเทียบการควบคุมสารละลายผสมของสารตั้งต้นที่อุณหภูมิห้อง (รูปที่ 6) กับการควบคุมสารละลายผสมของสารตั้งต้นที่อุณหภูมิเดียวกันกับเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ (40 องศาเซลเซียส) (รูปที่ 7) จากนั้น จึงทดลองทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิต่างๆ คือ 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส โดยกำหนดการควบคุมสารละลายผสมของสารตั้งต้นอยู่ที่อุณหภูมิเดียวกันกับเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ และกำหนดปัจจัยควบคุมในการทำปฏิกิริยาเพื่อทดลองในหัวข้อนี้ ได้แก่ ลักษณะของเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุเป็นการบรรจุคอลัมน์แบบผสมโนโวไซม์ 435 และเม็ดแก้ว อัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ต่อเมทานอล เท่ากับ 1 : 3 อัตราการไหลของสารละลายผสมของสารตั้งต้น เท่ากับ 0.20 มิลลิลิตรต่อนาที และปริมาณโนโวไซม์ 435 เท่ากับ 1 กรัม โดยมีอัตราส่วนโดยน้ำหนักของปริมาณโนโวไซม์ 435 ต่อเม็ดแก้วเป็น 1 : 4



รูปที่ 6 การผลิตไบโอดีเซลแบบต่อเนื่องด้วยเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุโดยควบคุมให้สารละลายผสมของสารตั้งต้นอยู่ที่อุณหภูมิห้อง



รูปที่ 7 การผลิตไบโอดีเซลแบบต่อเนื่องด้วยเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุโดยควบคุมให้สารละลายผสมของสารตั้งต้นอยู่ที่อุณหภูมิเดียวกันกับเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ

3.1.3.4 ผลของอัตราการไหลต่อการทำปฏิกิริยา

อัตราการไหลของสารละลายผสมของสารตั้งต้นที่ทำการทดลอง ได้แก่ 0.20, 0.12 และ 0.06 มิลลิลิตรต่อนาที โดยปัจจัยควบคุมในการทำปฏิกิริยาเพื่อทดลองในหัวข้อนี้ ได้แก่ ลักษณะของเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุเป็นการบรรจุคอลัมน์แบบผสมโนโวไซม์ 435 และเม็ดแก้ว อัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ต่อเมทานอล เท่ากับ 1 : 1 อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา เท่ากับ 50 องศาเซลเซียส และปริมาณโนโวไซม์ 435 เท่ากับ 1 กรัม โดยมีอัตราส่วนโดยน้ำหนักของปริมาณโนโวไซม์ 435 ต่อเม็ดแก้วเป็น 1 : 4

3.1.3.5 ปริมาณเอนไซม์

ปริมาณโนโวไซม์ 435 ที่ทำการทดลอง ได้แก่ 0.5, 1, 1.5 และ 2 กรัม โดยมีอัตราส่วนโดยน้ำหนักของปริมาณโนโวไซม์ 435 ต่อปริมาณเม็ดแก้ว เป็น 1 : 4 ซึ่งปัจจัยควบคุมในการทำปฏิกิริยาเพื่อทดลองในหัวข้อนี้ ได้แก่ ลักษณะของเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุเป็นการบรรจุคอลัมน์แบบผสมโนโวไซม์ 435 และเม็ดแก้ว อัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ต่อเมทานอล เท่ากับ 1 : 1 อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา เท่ากับ 50 องศาเซลเซียส และอัตราการไหลของสารละลายผสมของสารตั้งต้น เท่ากับ 0.20 มิลลิลิตรต่อนาที

3.1.4 การผลิตไบโอดีเซลอย่างต่อเนื่องโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ 3 คอลัมน์

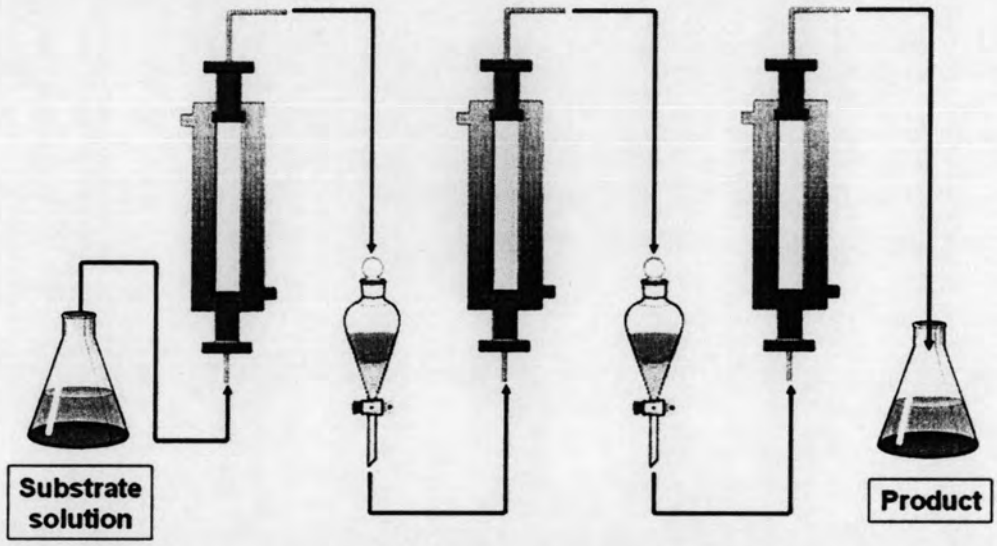
การทดลองในหัวข้อนี้ ดัดแปลงจาก Watanabe และคณะ (2001) มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

3.1.4.1 กำหนดปัจจัยควบคุมการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันเพื่อผลิตไบโอดีเซลอย่างต่อเนื่องโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ 3 คอลัมน์ โดยกำหนดปัจจัยควบคุมในหัวข้อนี้จากผลการทดลองที่ดีที่สุดของแต่ละปัจจัยที่ได้ทำการทดลองไป อันได้แก่ ลักษณะของเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุเป็นการบรรจุคอลัมน์แบบผสมโนโวไซม์ 435 และเม็ดแก้ว อัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ต่อเมทานอล เท่ากับ 1 : 1 อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา เท่ากับ 50 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของสารละลายผสมของสารตั้งต้น เท่ากับ 0.20

มิลลิลิตรต่อนาที และปริมาณโนโวไซม์ 435 เท่ากับ 0.5 กรัม โดยมีอัตราส่วนโดยน้ำหนักของปริมาณโนโวไซม์ 435 ต่อปริมาณเม็ดแก้ว เป็น 1 : 4

3.1.4.2 ทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันเพื่อผลิตไบโอดีเซลอย่างต่อเนื่องด้วยเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ โดยผ่านคอลัมน์ทั้งหมด 3 คอลัมน์ คือ คอลัมน์ที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ มีขั้นตอนการทดลองเช่นเดียวกับในหัวข้อ 3.1.2 โดยใช้ปริมาตรสารละลายผสมของสารตั้งต้นที่ผ่านแต่ละคอลัมน์ เท่ากับ 1 ลิตร (83.33 ชั่วโมง)

3.1.4.3 ระหว่างคอลัมน์ที่ 1 กับ 2 และ คอลัมน์ที่ 2 กับ 3 มีการล้างผลิตภัณฑ์ที่ได้ด้วยน้ำอุ่น อุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส ในอัตราส่วนของผลิตภัณฑ์ต่อน้ำ เท่ากับ 1 : 2 โดยปริมาตร แล้วใช้กรวยแยกสารเพื่อแยกชั้นของผลิตภัณฑ์กับน้ำ (รูปที่ 8 และ 9) จากนั้นจึงเติมเมทานอลในผลิตภัณฑ์ที่ล้างเสร็จแล้วนี้ ในอัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ต่อเมทานอล เท่ากับ 1 : 1 เพื่อใช้เป็นสายละลายผสมของสารตั้งต้น ทำปฏิกิริยาต่อในคอลัมน์ถัดไป



รูปที่ 8 ระบบการทดลองเพื่อผลิตไบโอดีเซลอย่างต่อเนื่องโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ 3 คอลัมน์

รูปที่ 9 การแยกชั้นของผลิตภัณฑ์กับน้ำจากการทดลอง

3.2 การวิเคราะห์ปริมาณสาร

เก็บตัวอย่างจากหัวข้อ 3.1 มาวิเคราะห์ปริมาณไตรกลีเซอไรด์ 1, 2 ไดกลีเซอไรด์ 1, 3 ไดกลีเซอไรด์ โมโนกลีเซอไรด์ กรดไขมันอิสระ และเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (FAME) หรือไบโอดีเซลที่ผลิตได้ ด้วยเครื่อง HPLC (high performance liquid chromatography) ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น LC-20A จากประเทศญี่ปุ่น โดยใช้คอลัมน์ Apollo Silica 5U (ยาว 250 มิลลิเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 4.6 มิลลิเมตร) ต่อกับ ELSD ดีเทคเตอร์ ควบคุมให้อุณหภูมิ เท่ากับ 35 องศาเซลเซียส และใช้ก๊าซไนโตรเจนที่ความดัน 100 เมกะปาสคาล โดยมีสารละลาย A และ B เป็นเฟสเคลื่อนที่ สารละลาย A ประกอบไปด้วยอัตราส่วนของเฮกเซน : ไอโซโพรพานอล : เอทิล-อะซิเตต : กรดฟอร์มิก เป็น 85 : 10 : 10 : 0.1 โดยปริมาตร และสารละลาย B ประกอบไปด้วยอัตราส่วนของเฮกเซน : กรดฟอร์มิก เป็น 100 : 0.1 โดยปริมาตร ที่อัตราการไหล 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที และใช้อิโคเซนเป็นสารละลายมาตรฐานภายใน (internal standard) ซึ่งละลายในเฮกเซน (ภาคผนวก ค) โดยปรับปรุงวิธีการจาก Suppes และคณะ (2003) รวบรวมและประมวลผลโครมาโทแกรมที่ได้ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ LC solution ยี่ห้อ Shimadzu จากประเทศญี่ปุ่น จากนั้นนำข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC นี้ ไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์ (% conversion) และอัตราการผลิต (production rate) จากสูตรต่อไปนี้ (Chulalaksananukul และคณะ, 2002)

เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์

$$\% \text{ Conversion} = \frac{[\text{FAME}] \times 100}{3[\text{TAG}] + 2[1, 3\ \text{DAG}] + 2[1, 2\ \text{DAG}] + [\text{MAG}] + [\text{FFA}] + [\text{FAME}]}$$

เมื่อ % Conversion คือ เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์

[FAME] คือ ความเข้มข้นของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันจากโครมาโทแกรม

[TAG] คือ ความเข้มข้นของไตรกลีเซอไรด์จากโครมาโทแกรม

[1, 3 DAG] คือ ความเข้มข้นของ 1, 3 ไดกลีเซอไรด์จากโครมาโทแกรม

[1, 2 DAG] คือ ความเข้มข้นของ 1, 2 ไดกลีเซอไรด์จากโครมาโทแกรม

[MAG] คือ ความเข้มข้นของโมโนกลีเซอไรด์จากโครมาโทแกรม

[FFA] คือ ความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระจากโครมาโทแกรม

อัตราการผลิต

$$P = \left(\frac{FAME_{ave} \times D}{10^3}\right)\left(\frac{FR \times 60}{E}\right)$$

เมื่อ P คือ อัตราการผลิต (มิลลิโมลต่อกรัมต่อชั่วโมง)

$FAME_{ave}$ คือ ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (มิลลิโมลาร์)

D คือ Dilution factor จากการวิเคราะห์ด้วย HPLC เท่ากับ 500/3

FR คือ อัตราการไหล (มิลลิลิตรต่อนาที)

E คือ ปริมาณโนโวไซม์ 435 (กรัม)