

เอกสารอ้างอิง

- [1] Marchetti, J.M., Miguel, V.U. and Errazu, A.F. 2007. Possible method for biodiesel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 11: 1300-1311.
- [2] Suksri, P., Moriizumi, Y., Hondo, H. and Wake, Y. 2008. *An introduction of biodiesel to Thai economy-community biodiesel and oil palm-biodiesel complex*. Academic frontier project “digital Asia building: regional strategy design platform digital Asia regional strategy research center”. Digital Asia discussion paper series DP 08-003. [ระบบออนไลน์].
แหล่งที่มา http://www.hondo.ynu.ac.jp/hiroki/biodiesel_E.pdf
(30 มกราคม 2554)
- [3] Baldassarri, T.L., Battistelli, L.C., Conti, L., Crebelli, R., Berardis, D.B., Iamiceli, L.A., Gambino, M. and Iannaccone, S. 2004. Emission comparison of urban bus engine fueled with diesel oil and ‘biodiesel’ blend. *Science of the Total Environment*. 327: 147-162.
- [4] International Agency for Research on Cancer (IARC). 1989. Diesel and gasoline engine exhausts and some nitroarenes. In IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk to humans. Vol. 46. IARC, Lyon, France.
- [5] Mauderly, J.L. 1994. Toxicological and epidemiological evidence for health risks from inhaled engine emissions. *Environmental Health Perspectives*. 102: 165-171.
- [6] Health Effects Institute . 1999. Diesel emissions and lung cancer: epidemiology and quantitative risk assessment. A special report of the Institute's diesel epidemiology expert panel. Health Effects Institute, Cambridge, MA.
- [7] Bhatia, R., Lopipero, P. and Smith, A.H. 1998. Diesel exhaust exposure and lung cancer. *Epidemiology*. 9(1): 84-91.

- [8] Huisingsh, J., Bradow, R. and Jungers, R. 1978. Application of bioassay to the characterization of diesel particle emissions. In: Waters, MD; Nesnow, S; Huisingsh, JL; et al., eds. Application of short-term bioassays in the fractionation and analysis of complex environmental mixtures: Proceedings of a symposium; February; Williamsburg, VA. Environmental Science Research: Vol. 15. New York: Plenum Press. 383-418.
- [9] Bunger, J., Krahl, J., Franke, H.U., Munack, A. and Hallier, E. 1998. Mutagenic and cytotoxic effects of exhaust particulate matter of biodiesel compared to fossil diesel fuel. *Mutation Research*. 415: 13–23.
- [10] Sharma, Y.C. and Singh, B. 2009. Development of biodiesel: Current scenario. *Renewable and Sustainable Energy Review*. 13: 1646-1651.
- [11] ธรรมศักดิ์ พันธุ์แสนศรี และอนุกุล จันทร์แก้ว. รายงานการวิจัยเรื่อง การศึกษาสมรรถนะ เครื่องยนต์ดีเซลขนาดเล็กในการทำงานจริงโดยใช้ไบโอดีเซลจากน้ำมันพืชใช้แล้ว เป็นเชื้อเพลิง, เสนอต่อ สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้. ตุลาคม 2553.
- [12] ธนียา เจติยานุกรกุล, พรชัย เหลืองอากาศพงศ์, เจริญ ชินวานิชย์เจริญ, ชีระพงษ์ เสาวภาคย์ และกิติพงษ์ นาคภักดี. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์เรื่อง ผลกระทบด้านคุณภาพ อากาศจากการใช้ไบโอดีเซลชุมชน กรณีศึกษาในภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย, เสนอต่อ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 2551.
- [13] สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. 2550. การผลิตและการตรวจสอบมาตรฐานไบโอดีเซลเบื้องต้น. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.tistr.or.th/tistr/source/techno/bio200712.pdf> (10 มกราคม 2553)
- [14] พนิดา เทพขุน, พิศมัย เจนวนิชปัญญากุล, ยุทธนา ฐานมงคล และพงษ์ศักดิ์ พรหมกร. การศึกษาเปรียบเทียบเทคโนโลยีการผลิตไบโอดีเซลของสหรัฐอเมริกาและไทย. พิมพ์ครั้งที่ 1. สมุทรปราการ: พิมพ์พินิจการพิมพ์, 2551.
- [15] สุพรชัย มั่งมีสิทธิ์. ไบโอดีเซลชุมชนคนรากแก้ว วิธีการอยู่อย่างพอเพียง. พิมพ์ครั้งที่ 1. นครปฐม: สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร, 2550.

- [16] ผกาวดี แก้วกันเนตร, วรวุฒิ จุฬาลักษณ์านุกูล และ Alec E. James. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์: โครงการ ศักยภาพการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันที่ได้จากสาหร่าย. กรุงเทพฯ: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. 2552.
- [17] United States Environmental Protection Agency. 2002. Health risk assessment document for diesel exhaust. Washington, DC: EPA, USA.
- [18] นเรศ เชื้อสุวรรณ. กลุ่มงานสิ่งแวดล้อม กองพิสิทธ์และวิศวกรรม กรมวิทยาศาสตร์บริการ. *อันตรายของมลพิษจากไอเสียเครื่องยนต์ดีเซล*. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www1.stkc.go.th/stportal.php?app=stportalDetail.php&id=635> (16 ตุลาคม 2552).
- [19] Yadav, K.V., Prasad, S., Patel, K.D., Khan, H.A., Tripathi, M. and Shukla, Y. 2010. Identification of polycyclic aromatic hydrocarbons in unleaded petrol and diesel exhaust emission. *Environmental Monitoring and Assessment*. 168: 173–178.
- [20] Coburn, T.C., Kelly, K.J. and Bailey, B.K. 1998. Reduction in vehicle emissions attributable to alternative transportation fuels and its prospective impact on air quality and public health. *Applied Occupational and Environmental Hygiene*. 13: 395–405.
- [21] Wang, W.G., Lyons, D.W., Clark, N.N., Gautan, M. and Norton, P.M. 2000. Emissions from nine heavy trucks fueled by diesel and biodiesel blend without engine modifications. *Environmental Science & Technology*. 34: 933-939.
- [22] Phoungthong, K. “Characteristics of fine particles and associated polycyclic aromatic hydrocarbons from emission of agricultural diesel engine fueled by palm oil blends”. M.S. Thesis, Prince of Songkla University. 2009.
- [23] Srijainoi, M. “Comparison of polycyclic aromatic hydrocarbons levels in biodiesel exhaust particles from various communities in Northern Thailand”. M.S. Thesis, Chiang Mai University, 2011.
- [24] คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, สมาคมพิษวิทยาแห่งประเทศไทย และชมรมพันธุพิษแห่งประเทศไทย. *วิธีระยะสั้นสำหรับทดสอบสารก่อกลายพันธุ์ สารก่อมะเร็งและสารก่อภูมิคุ้มกัน* ในการประชุมเชิงปฏิบัติการ การทดสอบสารก่อกลายพันธุ์ สารก่อมะเร็งและสารก่อภูมิคุ้มกันด้วยวิธีตรวจระยะสั้น. 2534. บทที่ 1: 1-29.

- [25] Mortelmans, K. and Zeiger, E. 2000. The Ames *Salmonella*/microsome mutagenicity assay. *Mutation Research*. 455: 29-60.
- [26] Rosenkranz, H.S. and Speck, W.T. 1975. Mutagenicity of metronidazole: Activation by mammalian liver microsomes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 66: 520-525.
- [27] Rosenkranz, H.S. and Speck, W.T. 1976. Activation of nitrofurantoin to a mutagen by rat liver nitroreductase. *Biochemical Pharmacology*. 25: 1555-1556.
- [28] Ames, B.N., MacCann, J. and Yamasaki, E. 1975. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutation Research*. 31: 347-364.
- [29] Bunger, J., Krahl, J., Baum, K., Schroder, O., Muller, M., Westphal, G., Ruhnau, P., Schulz, T.G. and Hallier, E. 2000. Cytotoxic and mutagenic effects, particle size and concentration analysis of diesel engine emission using biodiesel and petrol diesel as fuel. *Archives of Toxicology*. 74: 490-498.
- [30] Krahl, J., Knothe, G., Munack, A., Ruschel, Y., Schroder, O., Hallier, E., Westphal, G. and Bunger, J. 2009. Comparison of exhaust emissions and their mutagenicity from the combustion of biodiesel, vegetable oil, gas-to-liquid and petrodiesel fuels. *Fuel*. 88: 1064-1069.
- [31] Airmetrics. 2001. "*MiniVolTM Portable Air Sampler; Operation Manual*". U.S.A.
- [32] Vinitketkumnuen, U., Kalayanamitra, K., Chewonarin, T. and Kamens, R.M. 2002. Particulate matter, PM10 and PM2.5 levels, and airborne mutagenicity in Chiang Mai, Thailand. *Mutation Research*. 519: 121-131.
- [33] Maron, D.M. and Ames, B.N. 1983. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutation Research*. 113(3-4): 173-215.
- [34] Varella, S.D., Pozetti, G.L., Vilegas, W. and Varanda, E.A. 2005. Mutagenic activity of sweepings and pigments a household-wax factory assayed with *Salmonella typhimurium*. *Food and Chemical Toxicology*. 42: 2029-2035.

- [35] ชิบดินทร์ แสงสว่าง. “การทำนายสมรรถนะของเครื่องยนต์ที่ใช้ น้ำมันดีเซลผสมน้ำมันปาล์มโดยใช้ทฤษฎีการถ่ายเทมวล”. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีอุณหภาพ. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, 2543.
- [36] Engine Mechanics [ระบบออนไลน์]
แหล่งที่มา http://www.tpub.com/content/engine/14075/css/14075_141.htm
(7 มีนาคม 2554).
- [37] กรมธุรกิจพลังงาน. 2549. ประกาศกรมธุรกิจพลังงาน เรื่องกำหนดลักษณะและคุณภาพของไบโอดีเซลสำหรับเครื่องยนต์การเกษตร (ไบโอดีเซลชุมชน) พ.ศ. 2549.
- [38] กรมธุรกิจพลังงาน. 2552. ประกาศกรมธุรกิจพลังงาน เรื่องกำหนดลักษณะและคุณภาพของไบโอดีเซลประเภทเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน พ.ศ. 2552.
- [39] กรมธุรกิจพลังงาน. 2554. ประกาศกรมธุรกิจพลังงาน เรื่องกำหนดลักษณะและคุณภาพของน้ำมันดีเซล (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2554.
- [40] Rakopoulos, C.D., Rakopoulos, D.C., Hountalas, D.T., Giakoumis, E.G. and Andritsakis, E.C. 2008. Performance and emission of bus engine using blends of diesel fuel with bio-diesel of sunflower or cottonseed oils derived from Greek feedstocks. *Fuel*. 87(2): 147-157.
- [41] Lapuerta, M., Armas, O. and Ballesteros, R. 2002. Diesel particulate emissions from biofuels derived from Spanish vegetable oils. *SAE paper*. 2002-01-1657.
- [42] Buyukkaya, E. 2010. Effects of biodiesel on a DI diesel engine performance, emission and combustion characteristics. *Fuel*. 89: 3099-3105.
- [43] Puhan, S., Vedaraman, N., Ram, B.V.B., Sankarnarayanan, G. and Jeychandran, K. 2005. Mahua oil (*Madhuca indica* seed oil) methyl ester as biodiesel-preparation and emission characteristics. *Biomass and Bioenergy*. 28: 87-93.
- [44] Utlu, Z. and Kocak, M.S. 2008. The effect of biodiesel fuel obtained from waste frying oil on direct injection diesel engine performance and exhaust emissions. *Renewable Energy*. 33: 1936-1941.
- [45] Gibson, T.L. 1983. Sources of direct-acting nitroarene mutagens in airborne particulate matter. *Mutation Research*. 122: 115-121.

- [46] Durant, J.L., Busby, J.r., Lafleur, A.L., Penman, B.W., Crespi, C.L. 1996. Human cell mutagenicity of oxygenated, nitrated and unsubstituted polycyclic aromatic hydrocarbons associated with urban aerosols. *Mutation Research*. 371: 123–157.
- [47] Murahashi, T., Miyazaki, M., Kakizawa, R., Yamagishi, Y., Kitamura, M. and Hayakawa, K. 1995. Diurnal concentration of 1,3-, 1,6-, 1,8-dinitropyrenes, 1-nitropyrene and benzo[*a*]pyrene in air in downtown Kanazawa and the contribution of diesel-engine vehicles. *Japanese Journal of Toxicology and Environmental Health*. 41: 328–333.
- [48] Wada, M., Kido, H., Kishikawa, N., Tou, T., Tanaka, M., Tsubokura, J., Shironita, M., Matsui, M., Kuroda, N. and Nakashima, K. 2001. Assessment of air pollution in Nagasaki city: determination of polycyclic aromatic hydrocarbons and their nitrated derivatives, and some metals. *Environmental Pollution*. 115: 139–147.
- [49] Yang, X.Y., Igarashi, K., Tang, N., Lin, J.M., Wang, W., Kameda, T., Toriba, A. and Hayakawa, K. 2010. Indirect- and direct-acting mutagenicity of diesel, coal and wood burning-derived particulates and contribution of polycyclic aromatic hydrocarbons and nitropolycyclic aromatic hydrocarbons. *Mutation Research*. 695: 29–34.
- [50] Nunto, N., Chetiyankornkul, T., Toriba, A., Kameda, T., Tang, N. and Hayakawa, K. 2010. Emissions of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and 1-Nitropyrene from an Agricultural Diesel Engine with Community-scale biodiesel, Thailand. Water and environment technology conference international forum for scientists and engineers, 25-26 June 2010, Yokohama National University.
- [51] วีรชัย เลิศสถาพรสุข, รัตนชัย ไพรินทร์ และ คณิต กฤษณังกูร. 2549. การใช้รังสีไมโครเวฟเร่งการผลิตไบโอดีเซลแบบต่อเนื่อง และผลกระทบของการใช้ไบโอดีเซลในเครื่องยนต์ดีเซลกำเนิดไฟฟ้าขนาด 100 kW. วารสารวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. 29(4): 463-481.
- [52] Li, Y.X., McLaughlin, N.B., Patterson, B.S. and Burt, S.D. 2006. Fuel efficiency and exhaust emissions for biodiesel blends in an agricultural tractor. *Canadian Biosystems Engineering*. 48: 2.15-2.22.

- [53] Capareda, S.C., Powell, J. and Parnell, C. 2008. Engine performance and exhaust emissions of cottonseed oil biodiesel. Beltwide Cotton Conferences, Nashville, Tennessee, USA, January 8-11. 556-562.
- [54] ไพบุญย์ ลีห้าน้อย, อโณทัย สุขแสงพนมรุ้ง และพิชัย อัยฉวมงคล. 2550. การศึกษาสมรรถนะของเครื่องยนต์ดีเซลที่ใช้ดีโซฮอล์ชนิดบิวทานอลเป็นส่วนผสม. การประชุมวิชาการเครือข่ายวิศวกรรมเครื่องกลแห่งประเทศไทยครั้งที่ 21, 17-19 ตุลาคม. ETM-26: 1288-1294.



ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ตาราง ก-1 มาตรฐานและคุณภาพของไบโอดีเซลชุมชนสำหรับเครื่องยนต์การเกษตร และไบโอดีเซลประเภทเมทิลเอสเตอร์ของกรดไขมัน ตามประกาศของกรมธุรกิจพลังงาน

รายการ	ข้อกำหนด	อัตราสูงต่ำ			วิธีทดสอบ ^{1/}
		ไบโอดีเซลชุมชน ^{1/}	เมทิลเอสเตอร์ ^{2/}	วิธีทดสอบ ^{1/}	
1	เมทิลเอสเตอร์ (Methyl ester) ร้อยละโดยน้ำหนัก (%Wt)	ไม่ต่ำกว่า	96.5	-	EN 14103
2	ความหนาแน่น ณ อุณหภูมิ 15°C (Density at 15°C)	ไม่ต่ำกว่า และไม่สูงกว่า กว่า	860 900	860 900	ASTM D 1298 ASTM D 1298
3	ความหนืด ณ อุณหภูมิ 40°C (Viscosity at 40°C)	เซนต์ิสโตกส์ ; ; ; ; ; ; กว่า	1.9 8.0	3.5 5.0	ASTM D 445 ASTM D 445
4	จุดวาบไฟ (Flash point)	ไม่ต่ำกว่า	120	120	ASTM D 93 ASTM D 93

รายการ	ข้อกำหนด	อัตราสุทธำ			วิธีทดสอบ ^{3/}		
		ไบโอดีเซล ชุมชน ^{1/}	เมทิลเอส เทอร์ ^{2/}	วิธีทดสอบ ^{1/}			
5	กำมะถัน (Sulphur)	ร้อยละโดยน้ำหนัก (%Wt)	ไม่สูงกว่า	0.0015	ASTM D 2622	ASTM D 2622	
6	กากถ่าน (ร้อยละ 10 ของกากที่ เหลือจากการกลั่น) (Carbon residue, on 10% distillation residue)	ร้อยละโดยน้ำหนัก (%Wt)	ไม่สูงกว่า	-	0.30	-	ASTM D 4530
7	จำนวนซีเทน (Cetane number)		ไม่ต่ำกว่า	47	51	ASTM D 613	ASTM D 613
8	เถ้าซัลเฟต (Sulphated ash)	ร้อยละโดยน้ำหนัก (%Wt)	ไม่สูงกว่า	0.02	0.02	ASTM D 874	ASTM D 874
9	น้ำ (Water)	ร้อยละโดยน้ำหนัก (%Wt)	ไม่สูงกว่า	-	0.050	-	EN ISO 12937
10	น้ำและตะกอน (Water and sediment)	ร้อยละโดยปริมาตร (%Vol.)	ไม่สูงกว่า	0.2	-	ASTM D 2709	-
11	สิ่งปนเปื้อนทั้งหมด (Total contaminate)	ร้อยละโดยน้ำหนัก (%Wt)	ไม่สูงกว่า	-	0.0024	-	EN 12662

รายการ	ข้อกำหนด	อัตราสูงต่ำ			วิธีทดสอบ ^{1/}	วิธีทดสอบ ^{3/}
		ไบโอดีเซล	เมทิลเอสเทอร์ ^{2/}	ไขมัน ^{1/}		
12	การกัดกร่อนแผ่นทองแดง (Copper strip corrosion)	ไม่สูงกว่า	หมายเลข 3	หมายเลข 1	ASTM D 130	ASTM D 130
13	เสถียรภาพต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ณ อุณหภูมิ 110°C (Oxidation stability at 110°C)	ไม่ต่ำกว่า	-	10	-	EN 14112
14	ค่าความเป็นกรด (Acid value)	ไม่สูงกว่า	0.80	0.50	ASTM D 664	ASTM D 664
15	ค่าไอโอดีน (Iodine value)	ไม่สูงกว่า	-	120	-	EN 14111
16	กรดลิโนเลนิกเมทิลเอสเทอร์ (Linolenic acid methyl ester)	ไม่สูงกว่า	-	12.0	-	EN 14103
17	เมทานอล (Methanol)	ไม่สูงกว่า	-	0.20	-	EN 14110

รายการ	ข้อกำหนด	อัตราส่วนค่า			วิธีทดสอบ ^{3/}
		ไปโอดีเซล ชุมชน ^{1/}	เมทิลเอส เทอร์ ^{2/}	วิธีทดสอบ ^{1/}	
18	โมโนกลีเซอไรด์ (Monoglyceride)	ร้อยละโดยน้ำหนัก (%Wt)	ไม่สูงกว่า 0.80	-	EN 14105
19	ไดกลีเซอไรด์ (Diglyceride)	ร้อยละโดยน้ำหนัก (%Wt)	ไม่สูงกว่า 0.20	-	EN 14105
20	ไตรกลีเซอไรด์ (Triglyceride)	ร้อยละโดยน้ำหนัก (%Wt)	ไม่สูงกว่า 0.20	-	EN 14105
21	กลีเซอรินอิสระ (Free glycerin)	ร้อยละโดยน้ำหนัก (%Wt)	0.02	0.02	EN 14105
22	กลีเซอรินทั้งหมด (Total glycerin)	ร้อยละโดยน้ำหนัก (%Wt)	ไม่สูงกว่า 1.5	0.25	EN 14105
23	โลหะกลุ่ม 1 (โซเดียมและโพแทสเซียม) (Group I metals, Na+K)	มิลลิกรัม/กิโลกรัม (mg/kg)	ไม่สูงกว่า 5.0	-	EN 14108 และ EN 14109

รายการ	ข้อกำหนด	อัตราสูงต่ำ			วิธีทดสอบ ^{1/}	วิธีทดสอบ ^{3/}
		ไบโอดีเซล ชุมชน ^{1/}	เมทิลเอส เทอร์ ^{2/}	วิธีทดสอบ ^{1/}		
โลหะกลุ่ม 2 (แคลเซียมและแมกนีเซียม) (Group II metals, Ca+Mg)	มิลลิกรัมกิโลกรัม (mg/kg)	ไม่สูงกว่า	5.0	-	-	pr EN 14538
24 ฟอสฟอรัส (Phosphorus)	ร้อยละโดยน้ำหนัก (%Wt)	ไม่สูงกว่า	0.0010	-	-	ASTM D 4951
25 สี (Colour)		ม่วง ^{3/}			ตรวจพินิจด้วย สายตา	
26 สารเติมแต่ง (Additive) (ถ้ามี)		ให้เป็นไปตามที่ได้รับความเห็นชอบจากอธิบดีกรมธุรกิจพลังงาน				

หมายเหตุ

^{1/} รายละเอียดแนบท้ายประกาศกรมธุรกิจพลังงาน เรื่อง กำหนดลักษณะและคุณภาพของไบโอดีเซลสำหรับเครื่องยนต์การเกษตร (ไบโอดีเซลชุมชน) พ.ศ.

2549 วิธีทดสอบอาจใช้วิธีอื่นที่เทียบเท่าก็ได้ แต่ในกรณีที่มีข้อโต้แย้งให้ใช้วิธีที่กำหนดในรายละเอียดแนบท้ายนี้ [37]

^{2/} รายละเอียดแนบท้ายประกาศกรมธุรกิจพลังงาน เรื่อง กำหนดลักษณะและคุณภาพของไบโอดีเซลประเภทเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน พ.ศ. 2552 วิธีทดสอบอาจใช้วิธีอื่นที่เทียบเท่าก็ได้ แต่ในกรณีที่มีข้อโต้แย้งให้ใช้วิธีที่กำหนดในรายละเอียดแนบท้ายนี้ [38]

^{3/} ใช้สารประกอบประเภท 1,4-dialkylamino anthraquinone และ alkyl derivatives of azobenzene-4-azo-2-naphthol

ตาราง ก-2 มาตรฐานและคุณภาพของน้ำมันดีเซล ตามประกาศของกรมธุรกิจพลังงาน

รายการ	ข้อกำหนด	อัตราสูงต่ำ	น้ำมันดีเซล		วิธีทดสอบ ^{1/}	
			หมุนเร็ว	หมุนช้า		
1	ความถ่วงจำเพาะ ณ อุณหภูมิ 15.6/15.6 °C (Specific Gravity at 15.6/15.6 °C)	ไม่ต่ำกว่า	0.81	-	ASTM D 1298	
		และไม่สูงกว่า	0.87	0.920		
2	จำนวนซีเทน (Cetane Number) หรือดัชนีซีเทน (Calculated Cetane Index) ก่อนวันที่ 1 มกราคม พ.ศ. 2555 ตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม พ.ศ. 2555 เป็นต้นไป	ไม่ต่ำกว่า	47	45	ASTM D 613	
		ไม่ต่ำกว่า	50	45	ASTM D 976	
3	ความหนืด (Viscosity) เซนติสโตกส์	3.1 ณ อุณหภูมิ 40 °C (at 40 °C) หรือ (cSt)	ไม่ต่ำกว่า	1.4	-	ASTM D 445
			และไม่สูงกว่า	4.1	8.0	
			ไม่สูงกว่า	-	6.0	
4	จุดไหลเท (Pour Point)	ไม่สูงกว่า	10	16	ASTM D 97	
5	กำมะถัน (Sulphur) ก่อนวันที่ 1 มกราคม พ.ศ. 2555 ตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม พ.ศ. 2555 เป็นต้นไป	ร้อยละโดยน้ำหนัก (%wt.)	0.035	1.5	ASTM D 4294	
		ไม่สูงกว่า	0.005	1.5	ASTM D 2622	

รายการ	ข้อกำหนด	อัตราสูงต่ำ	น้ำมันดีเซล		วิธีทดสอบ ^{1/}
			หมุนเร็ว	หมุนช้า	
6	การกัดกร่อนแผ่นทองแดง (Copper Strip Corrosion) . . .	ไม่สูงกว่า	หมายเลข 1	-	ASTM D 130
7	เสถียรภาพต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation Stability)	ไม่สูงกว่า	25	-	ASTM D 2274
8	กากถ่าน (Carbon Residue)	ไม่สูงกว่า	ร้อยละโดยน้ำหนัก (%wt.)	0.05	ASTM D 189
9	น้ำและตะกอน (Water and Sediment)	ไม่สูงกว่า	ร้อยละโดยปริมาตร (%vol.)	0.05	ASTM D 2709
10	เถ้า (Ash)	ไม่สูงกว่า	ร้อยละโดยน้ำหนัก (%wt.)	0.01	ASTM D 48
11	จุดวาบไฟ (Flash Point)	ไม่ต่ำกว่า	องศาเซลเซียส (°C)	52	ASTM D 93
12	การกลั่น (Distillation) อุณหภูมิของส่วนที่กลั่นได้โดยปริมาตรในอัตรา ร้อยละเก้าสิบ (90% recovered)	ไม่สูงกว่า	องศาเซลเซียส (°C)	357	ASTM D 86

รายการ	ข้อกำหนด	อัตราสูงต่ำ	น้ำมันดีเซล		วิธีทดสอบ ^{1/}
			หมุนเร็ว	หมุนช้า	
13	พอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (Polycyclic Aromatic Hydrocarbon) ก่อนวันที่ 1 มกราคม พ.ศ. 2555 ตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม พ.ศ. 2555 เป็นต้นไป	- ไม่สูงกว่า	- 11	- -	ASTM D 2425
14	สี (Colour)				
	14.1 ชนิดของสี (Hue)		เหลือง	น้ำตาล	
	14.2 ความเข้มของสี (Intensity)	ไม่ต่ำกว่า	-	4.5	ASTM D 1500
		และไม่สูงกว่า	4.0	7.5	
15	ไบโอดีเซลประเภทเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน ร้อยละโดยปริมาตร (Methyl Ester of Fatty Acid)	ไม่ต่ำกว่า	3	-	EN 14078
		และไม่สูงกว่า	5	-	
16	คุณสมบัติการหล่อลื่น, รอยขีดข่วน (Lubricity, Wear Scar)	ไม่สูงกว่า	460	-	CEC F-06-96
17	สารเติมแต่ง (ถ้ามี) (Additive)	ให้เป็นไปตามที่ได้รับความเห็นชอบจากอธิบดีกรมธุรกิจพลังงาน			

หมายเหตุ

^{1/} รายละเอียดแนบท้ายประกาศกรมธุรกิจพลังงาน เรื่อง กำหนดลักษณะและคุณภาพของน้ำมันดีเซล (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2554 วิธีทดสอบอาจใช้วิธีอื่นที่เทียบเท่าก็ได้ แต่ในกรณีข้อโต้แย้งให้วิธีที่กำหนดในรายละเอียดแนบท้ายนี้ [39]

ภาคผนวก ข

วิธีการเตรียมสารละลายต่างๆ สำหรับการทดสอบเอมส์ [25]

1. Minimal glucose agar plate

ส่วนผสม

1. Bacto agar	15	กรัม
2. Glucose, anhydrous	20	กรัม
3. Vogel-Bonner medium E (10X)	100	มิลลิกรัม
4. น้ำกลั่น	900	มิลลิกรัม

วิธีทำ

1. ละลาย agar ด้วยน้ำกลั่น 700 มิลลิลิตร ใน flask ขนาด 2 ลิตร
2. ละลาย glucose ด้วยน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร ใน flask ขนาด 500 มิลลิลิตร
3. ใส่ Vogel-Bonner medium E 100 มิลลิลิตร ใน flask ขนาด 250 มิลลิลิตร
4. นำสารละลายทั้งสามไป autoclave ที่อุณหภูมิ 120°C ความดัน 15 lbs, 20 นาที
5. เอาออกมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนอุณหภูมิของสารละลาย agar ประมาณ 65°C เทสารละลาย glucose ลงไป ตามด้วยสารละลาย Vogel-Bonner medium E ผสมให้เข้ากัน
6. นำไปเทลงใน plate ซึ่ง sterile ไว้แล้ว ปริมาณ plate ละ 30 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจน agar แข็งตัวจึงนำไปวางแบบพลิกกลับด้านในที่แห้ง 3-4 วัน จึงจะนำมาใช้ได้

2. Vogel-Bonner medium E (10X)

ส่วนผสม

1. $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	2	กรัม
2. Citric acid, monohydrate	20	กรัม
3. K_2HPO_4 (anhydrous)	100	กรัม
4. $NH_4H_2PO_4$	19.2	กรัม

5. NaOH	6.6	กรัม
6. น้ำกลั่น	1	ลิตร

วิธีทำ

ละลายสารตัวที่ 1 ในน้ำประมาณ 500 มิลลิลิตร จนสารละลายหมด เติมสารตัวที่ 2 ลงไปอีกจนละลายหมด จึงเติมสารตัวที่ 3 ฯลฯ ค่อยๆ เติมจนละลายหมดไปที่ละตัวตามลำดับจนครบ ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร และ pH = 7 นำไป autoclave เก็บไว้ในที่เย็น

3. Top agarส่วนผสม

1. Bacto agar	0.6	กรัม
2. NaCl	0.5	กรัม
3. น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

วิธีทำ

ผสมสารละลายเข้าด้วยกันแล้วนำไป autoclave 120°C 15 lbs, 20 นาที ตั้งทิ้งไว้จนอุณหภูมิประมาณ 55°C เติมสารละลายผสมฮิสทีดีนและไบโอติน (0.5 มิลลิโมลาร์) ลงไปในอัตราส่วน 10 มิลลิลิตร ต่อ top agar 100 มิลลิลิตร

ควรเตรียม top agar ให้พอดีต่อการทดลองแต่ละครั้ง ตามปริมาตรที่ใช้ 2 มิลลิลิตร/plate

4. 0.5 mM Histidine-Biotinส่วนผสม

1. D-Biotin	124	มิลลิกรัม
2. L-Histidine.HCl.H ₂ O	105	มิลลิกรัม
3. น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

วิธีทำ

ผสมสารเข้าด้วยกันจนละลายหมด Sterile โดยกรองผ่าน Millipore filter membrane (0.45 ไมครอน)

5. Nutrient Broth สำหรับเลี้ยงเชื้อ

ส่วนผสม

- | | | |
|------------------------------|-----|-----------|
| 1. Oxoid nutrient broth No.2 | 4 | กรัม |
| 2. น้ำกลั่น | 160 | มิลลิลิตร |

วิธีทำ

ละลายสารทั้งหมด แบ่งใส่หลอดๆ ละ 10 มิลลิลิตร แล้ว autoclave 20 นาที

6. 0.2 M phosphate buffer, PH 7.4

ส่วนผสม

- | | | |
|--|--------|------|
| 1. Na_2HPO_4 | 5.6784 | กรัม |
| 2. $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 5.5196 | กรัม |
| 3. น้ำกลั่น | | |
| 4. NaOH (1M) | | |

วิธีทำ

1. ละลายสารตัวที่ 1 ในน้ำประมาณ 180 มิลลิลิตร จนสารละลายหมด
2. เติมสารตัวที่ 2 ลงไปจนละลายหมด
3. ปรับ pH 7.4 ด้วย 1 M NaOH (เตรียม 4 กรัม NaOH ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร) และปรับปริมาตรให้เป็น 200 มิลลิลิตร
4. นำไป autoclave และเก็บไว้ในตู้เย็น

7. การเตรียม S9 mix

ส่วนผสมของ S9 mix 1 มล.

- | | | |
|--|-------|-----------|
| 1. 0.2 M sodium phosphate buffer, pH 7.4 | 0.5 | มิลลิลิตร |
| 2. 0.4 M MgCl_2 -1.65 M KCl | 0.02 | มิลลิลิตร |
| 3. 1.0 M Glucose-6-phosphate | 0.005 | มิลลิลิตร |
| 4. 0.1 M NADPH | 0.04 | มิลลิลิตร |
| 5. 0.1 M NADH | 0.04 | มิลลิลิตร |
| 6. Sterile H_2O | 0.295 | มิลลิลิตร |
| 7. S9 fraction | 0.1 | มิลลิลิตร |

วิธีทำ

ส่วนผสมนี้ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ต้องการใช้ และควรแช่ในน้ำแข็งตลอดเวลา ส่วนผสม S9 mix ที่เหลือจากการใช้และ S9 fraction ที่เหลือก็ควรทิ้งไป ปริมาณของ S9 mix ที่เตรียมแต่ละครั้งคำนวณจากปริมาณหลอดทดลองที่ต้องใส่ S9 mix เทียบจาก 1 หลอดทดลองเติม S9 mix 0.5 มิลลิลิตร

8. การเตรียม S9 fraction

การกระตุ้นเอนไซม์โดย Phenobarbital ร่วมกับ 5,6-naphthoflavone

วิธีทำ

เตรียมหนูขาวเพศผู้ (Sprague-Dawley หรือ Wistar rat) น้ำหนักประมาณ 200-250 กรัม ควรนำมาเลี้ยงล่วงหน้าประมาณ 1 อาทิตย์ก่อนทดลอง

วันที่ 1 : ฉีดสารละลาย phenobarbital ในน้ำเข้มข้น 30 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม โดยฉีดเข้าช่องท้อง (intraperitoneal) ควรทำตอนเช้า

วันที่ 2 : ฉีดสารละลาย phenobarbital ในน้ำเข้มข้น 30 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม โดยฉีดเข้า

ช่องท้อง (intraperitoneal) ควรทำตอนเช้าเช่นเดียวกัน

วันที่ 3 : ตอนเช้า - ฉีดสารละลาย phenobarbital ในน้ำเข้มข้น 30 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

: ตอนบ่าย - ฉีดสารละลาย 5,6-naphthoflavone ละลายใน corn oil เข้มข้น 80 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม โดยฉีดเข้าช่องท้อง

วันที่ 4 : ตอนเช้า - ฉีดสารละลาย phenobarbital ในน้ำเข้มข้น 60 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม โดยฉีดเข้าช่องท้อง

: ตอนกลางวัน - จำกัดอาหารที่ใช้เลี้ยงหนูอาจให้เพียง 1 เม็ด แต่ให้น้ำตามปกติ

วันที่ 5 : ทำการฆ่าหนูทั้งหมดโดย cervical dislocation แล้วแยกตับหนูทุกตัวออกมาโดย sterile technique ชั่งน้ำหนักตับทั้งหมด

วิธีเตรียม S9 เอนไซม์

ทุกขั้นตอนต้องทำที่อุณหภูมิ 0-4°C สารละลายและเครื่องมือที่ใช้ต้องผ่านการฆ่าเชื้อ

1. ล้างตับหนูในบีกเกอร์ที่เติม 0.15 โมลาร์ KCl ปริมาตร 1 มิลลิลิตร/น้ำหนักตับ 1 กรัม ควรล้างหลายๆ ครั้งด้วย fresh, chilled KCl เพื่อการ sterile ที่มั่นใจและเพื่อกำจัดฮีโมโกลบิน
2. นำตับหนูใส่ในบีกเกอร์ที่มี 0.15 โมลาร์ KCl ปริมาตร 3 เท่าของน้ำหนักตับ

3. Minced ด้วยกรรไกรที่สะอาดแล้วนำไป homogenize
4. นำ homogenate ไปปั่นที่ 9,000 รอบ เป็นเวลา 10 นาที
5. Supernatant ที่ได้คือ S9 fraction ที่มีเอนไซม์ของระบบเมแทบอลิซึม
6. แบ่งเป็น aliquot 1 หรือ 2 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดพลาสติกที่มีฝาปิด (cryotube) นำไปเก็บที่อุณหภูมิ -80°C เมื่อต้องการใช้ให้นำออกมาใช้ตามจำนวนปริมาตรที่ต้องการ
7. แบ่งบางส่วนไปหาปริมาณโปรตีน ซึ่งควรจะมีค่าความเข้มข้นของโปรตีนไม่น้อยกว่า 35-40 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร
8. ทดสอบ sterility ของ S9 fraction โดย spread 0.1 มิลลิลิตร ของ supernatant ลงบน minimal glucose agar plate ที่มีฮิสทีดินและไบโอติน
9. สามารถเตรียม S9 fraction จากเนื้อเยื่ออื่นๆ ได้เช่นเดียวกัน เช่น จากไต ถ้าใส่เล็ก และปอด นอกจากนี้สามารถเตรียมจากสัตว์ทดลองอื่นๆ ได้ เช่น hamster, guinea pig

9. การเตรียม overnight culture ของแบคทีเรีย

- การเตรียม overnight culture ของแบคทีเรีย inoculate เชื้อจาก master copy 20 ไมโครลิตร ต่อ nutrient broth 10 มิลลิลิตร จำนวนจากการใช้ overnight culture 0.1 มิลลิลิตร/plate
- Nutrient broth เตรียมโดยละลาย oxoid nutrient broth No.2 25 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร แบ่งใส่หลอดที่จะเลี้ยงเชื้อหลอดละ 10 มิลลิลิตร นำไป autoclave ใช้อุณหภูมิ 120°C 15 lbs 20 นาที สารละลายนี้สามารถเก็บได้ที่อุณหภูมิห้องจนกว่าจะใช้

10. การเก็บรักษาเชื้อแบคทีเรีย

แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ อาจจะถูกเก็บรักษาไว้เป็น master copy ได้ โดยเก็บที่อุณหภูมิ -80°C

วิธีทำ

1. เตรียม overnight culture ของแบคทีเรีย
2. เติม DMSO ลงไปในอัตราส่วน culture 1 มิลลิลิตร ต่อ DMSO 0.09 มิลลิลิตร เขย่าให้ DMSO ละลายเข้ากันกับสารละลายแบคทีเรีย
3. แบ่งสารละลายเป็นส่วนๆ (aliquot) โดยปิเปตใส่ในหลอดพลาสติก (cryotube) หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร
4. นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80°C จนกว่าจะใช้
5. เมื่อต้องการใช้ก็นำมาใช้ที่หลอด



ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล

วลัยพร อรกิจ

วัน เดือน ปี เกิด

7 มกราคม 2528

ประวัติการศึกษา

วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยนเรศวร
ปีการศึกษา 2550

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ปีการศึกษา 2554

