การตรวจเอกสาร

1. ปาล์มน้ำมันและน้ำมันปาล์ม

ปาล์มน้ำมันเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ การเพาะปลูกปาล์มน้ำมันมีมากในจังหวัดภาคใต้ของประเทศ นิยมปลูกกันมากในจังหวัด กระบี่ สุราษฎร์ธานี ชุมพร สตูล และตรัง ซึ่งผลผลิตของปาล์มน้ำมันในปัจจุบันมีแนวโน้มที่สูงขึ้นทุกปี น้ำมันปาล์มที่ได้จากผลปาล์มมีส่วนประกอบของกรดไขมันและการจัดเรียงตัวของกรดไขมันในตำแหน่งที่แตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของปาล์มน้ำมัน พื้นที่บริเวณเพาะปลูกและภูมิอากาศ ทั้งนี้น้ำมันปาล์มและน้ำมันจากเนื้อในเมล็ดปาล์มมีคุณสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ต่างกัน น้ำมันปาล์มมีเปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวในปริมาณที่ใกล้เคียงกันคือ 48.05 และ 51.95 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ไพจิตร จันทรวงศ์, 2530) ในขณะที่น้ำมันปาล์มจากเนื้อในเมล็ดปาล์มมีร้อยละของกรดไขมันอิ่มตัว 78.82 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในตารางที่ 1 จึงมีผลให้มีการนำไปใช้ประโยชน์ที่แตกต่างกันออกไป

กระบวนการสกัดน้ำมันปาล์มในประเทศไทยมีทั้งหมด 3 วิธี คือกระบวนการผลิตแบบใช้ไอน้ำ กระบวนการผลิตแบบย่างผลปาล์มหรือหีบน้ำมันผสม และกระบวนการผลิตแบบทอดผลปาล์ม ซึ่งจะได้น้ำมันปาล์ม 2 ชนิด คือ น้ำมันปาล์มจากเนื้อในเมล็ดปาล์ม (palm kernel) เรียกว่าน้ำมันเมล็ดปาล์ม (palm kernel oil) ส่วนที่ได้จาก mesocarp เรียกว่า น้ำมันปาล์ม (palm oil) เมื่อน้ำมันปาล์มไปแยกส่วนและทำให้บริสุทธิ์จะได้ส่วนของของเหลว เรียกว่าน้ำมันปาล์มโอเลอีน (palm olein) เป็นน้ำมันปาล์มที่ใช้กันทั่วไป และส่วนที่เป็นของแข็งเรียกว่า ปาล์มสเตียริน (palm stearin)

ตารางที่ 1 คุณสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของน้ำมันปาล์มและน้ำมันจากเนื้อในเมล็ดปาล์ม

Properties	Palm oil	Palm kernel oil
Iodine Value	43-59	14-20
Acid Value	15	20
Saponification Value	195-210	240-257
Unsaponification matter (%)	1	1
Colour (Lovibone)	Y : 2.5R	10Y : 1R25
Total saturated fatty acid (%)	48.05	78.82
Total unsaturated fatty acid (%)	51.95	21.18

ที่มา : ดัดแปลงจาก ไพจิตร จันทรวงศ์ (2530)

2. เอซิลกลีเซอรอล

เอซิลกลีเซอรอลเป็นเอสเทอร์ระหว่างกรดไขมันและแอลกอฮอล์กลีเซอรอลซึ่งพบได้ทั่วไปในน้ำมันพืชและไขมันสัตว์ เอซิลกลีเซอรอลแบ่งออกเป็น ไตรเอซิลกลีเซอรอล (triacyglycerol) ไดเอซิลกลีเซอรอล (diacyglycerol) และโมโนเอซิลกลีเซอรอล (monoacylglycerol)

2.1 ไตรเอซิลกลีเซอรอลหรือไตรกลีเซอไรด์

ไตรเอซิลกลีเซอรอลหรือไตรกลีเซอไรด์เป็นเอซิลกลีเซอรอลที่พบมากที่สุด ประกอบด้วยกรดไขมันที่มีพันธะเอสเทอร์กับหมู่ไฮดรอกซิลทั้งสามหมู่ของกลีเซอรอล ถ้าเป็นกรดไขมันชนิดเดียวกันเรียกไตรเอซิลกลีเซอรอลธรรมดา (simple triacylglycerol) เช่น ไตรปาลมิโตอิลกลีเซอรอล (tripalmitoyl glycerol) แต่โดยทั่วไปไตรเอซิลกลีเซอรอลจะประกอบด้วยกรดไขมันตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไป เรียกว่า ไตรเอซิลกลีเซอรอลผสม (mixed triacylglycerol) เช่น 1-ปาลมิโตอิลไดสเตียโรอิลกลีเซอรอล (1-palmitoyl distearoyl glycerol) (ญาใจ วิทยะพงศ์, 2548) โดยน้ำมันปาล์มมีโมเลกุลของไตรเอซิลกลีเซอรอลที่ประกอบด้วยกรดไขมันอิ่มตัว 2 ตำแหน่งมากที่สุดคิดเป็น 48 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาเป็นไตรเอซิลกลีเซอรอลที่ประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัว 2 ตำแหน่ง 34.6 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในตารางที่ 2 ซึ่งลักษณะโครงสร้างโมเลกุลของไตรเอซิลกลีเซอรอลมีผลโดยตรงกับการตกผลึกของน้ำมัน

2.2 โมโน และไดเอซิลกลีเซอรอล

โมโน และไดเอซิลกลีเซอรอลเป็นเอสเทอร์ของกลีเซอรอลกับกรดไขมันเพียงหนึ่งหรือสองโมเลกุล และมีหมู่ไฮดรอกซิลอิสระเหลืออยู่ ถ้าเป็นโมโนเอซิลกลีเซอรอลจะมีหมู่ไฮดรอกซิลอิสระเหลืออยู่ 2 หมู่ เอซิลกลีเซอรอลทั้งสองชนิดนี้ไม่ค่อยพบมากในธรรมชาติแต่พบในไขมันที่เกิดจากการไฮโดรไลซิสที่ไม่สมบูรณ์ โดยมีประโยชน์ในการนำไปใช้ประโยชน์ในการสังเคราะห์หรือดัดแปลงโครงสร้างไตรเอซิลกลีเซอรอลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ (วิภาวี ปริพัฒนไพโรจน์, 2546) นอกจากนี้มีการนำโมโนเอซิลกลีเซอรอลไปใช้ประโยชน์ในด้านอาหาร ยารักษาโรคและเครื่องสำอาง เช่น ครีม และโลชั่น (Kaewthong and H-Kittikun, 2005)

ตารางที่ 2 การจำแนกชนิดของการเรียงตัวของกรดไขมันในโครงสร้างไตรเอซิลกลีเซอรอลของน้ำมันปาล์มตามคุณสมบัติความอิ่มตัว

Triglyceride Type	Composition (%)
Trisaturated (GS_3)	10.2
Disaturated (GS_2U)	48
Monosaturated (GSU_2)	34.6
Triunsaturated (GS_3)	6.8

ที่มา: Hui (1996)

3. กรดไขมัน (Fatty acid)

กรดไขมันเป็นกรดอินทรีย์ที่ส่วนใหญ่มีจำนวนคาร์บอน 4-24 อะตอม ปลายข้างหนึ่งเป็นหมู่คาร์บอกซิลปลายอีกข้างมีลักษณะเป็นสายโซ่ยาวของนอนโพลาร์ไฮโดรคาร์บอน ไฮโดรคาร์บอนทำให้กรดไขมันไม่ละลายน้ำ ในธรรมชาติกรดไขมันมีจำนวนคาร์บอนอะตอมเป็นเลขคู่ และเป็นโซ่ยาวที่อิ่มตัว (ไม่มีพันธะคู่) หรือไม่อิ่มตัว (มีพันธะคู่) หรือมีพันธะสาม 1 คู่หรือมากกว่า กรดไขมันแต่ละชนิดมีความยาวของสายโซ่ จำนวนและตำแหน่งของพันธะไม่อิ่มตัวแตกต่างกัน กรดไขมันที่พบในเซลล์พืชหรือสัตว์จะไม่พบในรูปอิสระแต่จะอยู่รวมกันเป็นลิปิดด้วยพันธะโควาเลนต์ ซึ่งถูกย่อยสลายได้โดยการใช้เอนไซม์หรือสารเคมี

กรดไขมันที่พบในพืชและสัตว์ชั้นสูงจะมีจำนวนคาร์บอนอะตอมเป็นเลขคู่ อยู่ระหว่าง 14-22 อะตอม โดยเฉพาะ C16 และ C18 พบมากที่สุด และถ้ามีพันธะคู่มากกว่า 1 คู่ จะเป็นแบบนอนคอนจูเกต (-CH=CH=CH2-CH=CH-) โดยมีคอนฟิกุเรชั่นแบบซีส กรดไขมันที่มีสายโซ่ยาวๆ (C16-C18) ละลายน้ำไม่ได้แต่เกลือของกรดไขมันดังกล่าวสามารถสร้างไมเซลล์ในน้ำได้และไมเซลสามารถคงรูปอยู่ได้ด้วยอันตรกิริยาแบบไฮโดรโฟบิก (ญาใจ วิทยะพงศ์, 2548)

4. ไบโอดีเซล

ไบโอดีเซล คือ น้ำมันพืชหรือน้ำมันสัตว์แปลงรูปเป็นแอลคิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน ซึ่งได้จากกระบวนการเคลื่อนย้ายหมู่เอสเทอร์ระหว่างสารตั้งต้นไตรกลีเซอไรด์กับแอลกอฮอล์ที่มีสายโซ่คาร์บอนสั้นๆ การเรียกชื่อขึ้นอยู่กับชนิดของแอลกอฮอล์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา เช่น เมทิลเอสเทอร์ เป็นเอสเทอร์ที่ได้จากการใช้เมทานอลเป็นสารในการทำปฏิกิริยา หรือ เอทิลเอสเทอร์ เป็นเอสเทอร์ที่ได้จากการใช้เอทานอล เป็นสารในการทำปฏิกิริยา เป็นต้น

ไบโอดีเซลโดยทั่วไปมีองค์ประกอบที่มีลักษณะโมเลกุลใกล้เคียงกับน้ำมันเชื้อเพลิงดีเซลปิโตรเลียม ซึ่งสามารถผลิตและพัฒนาได้จากไขมันและน้ำมันที่ได้จากพืชหรือสัตว์ แต่ส่วนใหญ่แล้วจะมุ่งเน้นเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่เตรียมได้จากปฏิกิริยาการเคลื่อนย้ายหมู่เอสเทอร์ โดยใช้ไตรกลีเซอไรด์ในไขมันและน้ำมันที่ได้จากพืชหรือสัตว์กับเมทานอลมากที่สุด (Krawczyk, 1996)

5. กรรมวิธีในการนำน้ำมันพืชมาใช้แทนน้ำมันดีเซล

5.1 การใช้น้ำมันพืชเสมือนเป็นน้ำมันเชื้อเพลิงดีเซลโดยตรง

การใช้ไขมันและน้ำมันที่ได้จากพืชหรือสัตว์เป็นแหล่งทดแทนน้ำมันเชื้อเพลิงดีเซลโดยตรง มักจะใช้น้ำมันพืชเท่านั้นเนื่องจากมีคุณสมบัติที่สัมพันธ์กับการเป็นแหล่งเชื้อเพลิงที่ดี และเหมาะสมกว่าไขมันสัตว์ มีประสิทธิภาพการใช้งานทดแทนสูงกว่า นอกจากนี้แล้วไขมันสัตว์มีจุด

หลอมเหลวสูงกว่า และมีลักษณะเป็นของแข็งที่อุณหภูมิห้องซึ่งเป็นอุปสรรคสำคัญในการนำมาใช้เสมือนเป็นน้ำมันเชื้อเพลิงดีเซลเพราะทำให้เกิดความยุ่งยากในการเตรียมไขมันสัตว์สำหรับการใช้งานโดยตรง (Ma and Hanna, 1999)

5.2 การเจือจางหรือการผสมตามส่วน

การเจือจางหรือการผสมตามสัดส่วนของน้ำมันพืชสามารถนำมาละลายเข้ากันได้อย่างสมบูรณ์ในวัตถุเหลวบางชนิดเท่านั้น เช่น น้ำมันเชื้อเพลิงดีเซล ตัวทำละลายไฮโดรคาร์บอนและแอลกอฮอล์ที่มีสายโซ่คาร์บอนสั้นๆ

5.3 วิธีไมโครอิมัลชั่น

ไมโครอิมัลชั่นเป็นกระบวนการที่ทำให้ของเหลวมีสารแขวนลอยกระจายตัวอยู่ เช่นการผสมน้ำมันพืชกับแอลกอฮอล์ซึ่งจะมีสภาพเป็นอิมัลชันและเมื่อนำไปใช้สามารถฉีดให้เป็นฝอยได้

5.4 วิธีการแตกตัวด้วยความร้อน

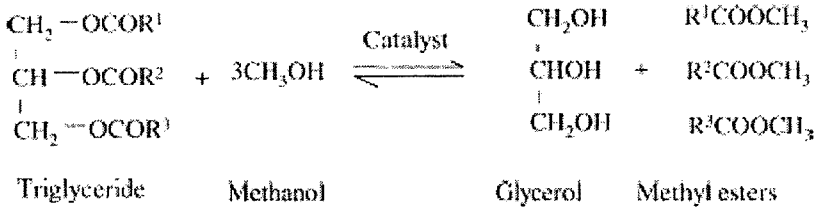
วิธีการแตกตัวด้วยความร้อยเป็นการให้ความร้อนกับน้ำมันพืชในสภาวะไร้ออกซิเจน เพื่อให้น้ำมันแตกตัวเป็นโมเลกุลที่เล็กลงให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติเหมาะสมหรือใกล้เคียงสำหรับการนำมาใช้ในเครื่องยนต์ดีเซลซึ่งการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบและโครงสร้างเนื่องจากความร้อนของไตรกลีเซอไรด์จะให้สารประกอบเคมีอินทรีย์หลายประเภท เช่น แอลเคน แอลคีน แอลคาไดอีน แอโรมาติก และกรดคาร์บอกซิลิก เป็นต้น

5.5 วิธีการเคลื่อนย้ายหมู่เอสเทอร์ หรือ ปฏิกิริยาทรานซ์เอสเทอริฟิเคชั่น (transesterification)

กระบวนการเคลื่อนย้ายหมู่เอสเทอร์หรือปฏิกิริยาทรานซ์เอสเทอริฟิเคชั่น ซึ่งบางครั้งนิยมเรียกว่า แอลกอฮอไลซิส (alcoholysis) เป็นปฏิกิริยาการแทนที่ของแอลกอฮอล์ในโมเลกุลของเอสเทอร์ด้วยแอลกอฮอล์อีกชนิดหนึ่ง โดยกระบวนการที่คล้ายกับ hydrolysis เพียงแต่ใช้แอลกอฮอล์แทนที่จะเป็นน้ำ กระบวนการนี้ช่วยทำให้ไตรกลีเซอไรด์ (น้ำมันพืช, สัตว์) มีความหนืดลดลง หากมีการใช้เมทธานอล ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจะเรียกว่า methanolysis ดังแสดงในภาพที่ 1 โดยหมู่เมทธิลของเมทธานอลเข้าไปแทนที่กลีเซอรอล ทำให้ได้โมเลกุลเอสเทอร์ที่มีขนาดเล็กลงซึ่งก็คือเมทธิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน ในกระบวนการเคลื่อนย้ายหมู่เอสเทอร์ส่วนใหญ่จะใช้แอลกอฮอล์ที่มีสายโซ่คาร์บอนสั้นในการทำปฏิกิริยาโดยเฉพาะเมทานอล ซึ่งเป็นแอลกอฮอล์ที่มีข้อได้เปรียบในเชิงพาณิชย์สูง เช่น มีราคาถูก และมีคุณสมบัติทางกายภาพ และเคมีที่เหมาะสม คือเป็นแอลกอฮอล์ที่มีสายโซ่คาร์บอนสั้นที่สุดและเป็นของเหลวมีขั้วสูง ซึ่งช่วยเพิ่มอัตราเร็วในการทำปฏิกิริยากับไตรกลีเซอไรด์ได้มากที่สุด

ปฏิกิริยาทรานซ์เอสเทอริฟิเคชั่นเกิดขึ้นได้ต้องอาศัย กรด ด่าง หรือเอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่ง ซึ่งในการผลิตไบโอดีเซลทางการค้ามักใช้กระบวนการที่มีด่าง เช่น NaOH หรือ KOH เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ซึ่งในการผลิตไบโอดีเซลโดยใช้ด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทรานซ์เอสเทอริฟิเคชั่นนั้นมีข้อจำกัด คือน้ำมันที่ใช้เป็นวัฤดิบในการผลิตจะต้องมีค่ากรดไขมันอิสระ (FFA) ต่ำกว่า 3% ปฏิกิริยาจึงจะเกิดได้อย่างสมบูรณ์ หากค่ากรดไขมันอิสระสูงขึ้นนอกจากมีผลทำให้ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนน้ำมันไปเป็นไบโอดีเซลต่ำลงแล้ว ยังเป็นสาเหตุทำให้เกิดสบู่ และการสูญเสียด่างที่เป็นตัวเร่ง

โดยถูกทำให้เป็นกลางด้วยกรดไขมันอิสระ ส่วนสบู่ที่เกิดขึ้นก็ไปขัดขวางการแยกเอากลีเซอรอลออกจากไบโอดีเซลที่ได้ ซึ่ง Ma และคณะ (1998 อ้างโดย Meher และคณะ, 2007) พบว่า ผลผลิตไบโอดีเซลจากไขมันวัว โดยใช้ปฏิกิริยาทรานซ์เอสเทอริฟิเคชั่นที่เร่งด้วย NaOH ลดลงเหลือน้อยกว่า 5%



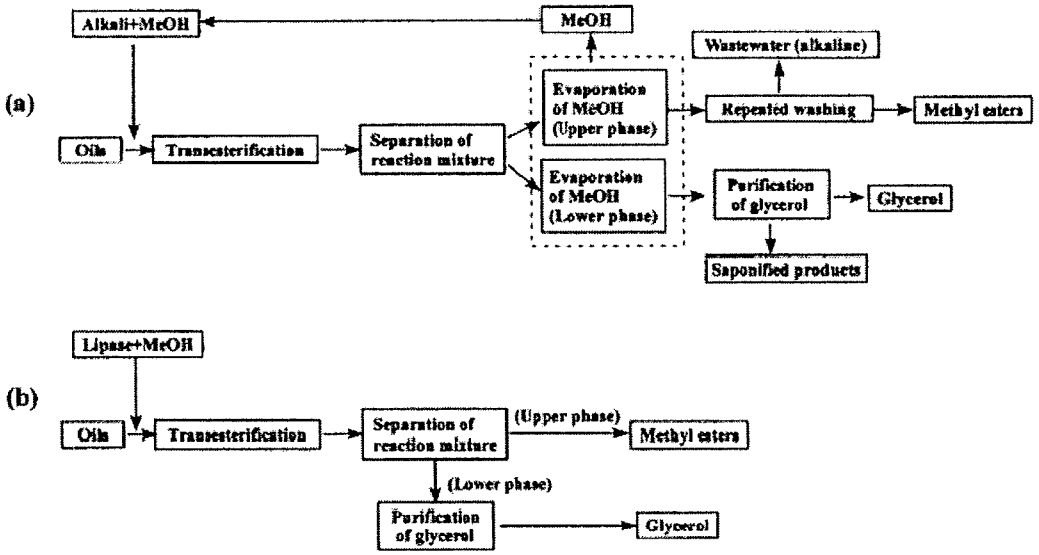
ภาพที่ 1 สมการเคมีของการเกิดปฏิกิริยาทรานซ์เอสเทอริฟิเคชั่นของไตรกลีเซอไรด์กับเมทธิลแอลกอฮอล์

ที่มา Meher และคณะ (2006)

เมื่อมีการเติมกรดไขมันอิสระ 0.6% หากมีการเติมน้ำลงไปในระบบ 0.9% ผลผลิตลดลงเป็น 17% Freedman และคณะ (1984) แสดงให้เห็นว่าการใช้น้ำมันพืชบริสุทธิ์ในการผลิตโดยใช้ด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทรานซ์เอสเทอริฟิเคชั่นจะทำให้ได้ผลผลิตสูงถึง 93-98 % ในขณะที่น้ำมันดิบให้ผลผลิตเพียง 67-86% ดังนั้นในการผลิตไบโอดีเซลโดยใช้ด่างเป็นตัวเร่งจำเป็นต้องใช้น้ำมันพืชที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ ซึ่งถ้าเป็นน้ำมันปาล์มก็ตกลิตรละ 15-16 บาท ซึ่งทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้น ส่วนการเร่งปฏิกิริยาทรานซ์เอสเทอริฟิเคชั่นโดยโดยใช้กรดเป็นตัวเร่งนั้นสามารถใช้กับน้ำมันที่มีคุณภาพต่ำ เช่น น้ำมันดิบ หรือน้ำมันที่ผ่านการใช้แล้ว ได้ดีโดยให้ผลผลิตอัลคิลเอสเทอร์สูง แต่ปฏิกิริยาเกิดขึ้นช้ามาก และยังต้องใช้อุณหภูมิสูงถึง 100 °ซ มากกว่า 3 ชั่วโมงเพื่อทำให้ปฏิกิริยาเกิดอย่างสมบูรณ์ Freedman และคณะ (1984) พบว่าการเร่งปฏิกิริยาทรานซ์เอสเทอริฟิเคชั่นของน้ำมันถั่วเหลืองด้วย 1% HCl ที่อุณหภูมิ 65°ซโดยมีอัตราส่วนแอลกอฮอล์กับน้ำมันเป็น 30:1 จะต้องใช้เวลานานมากกว่า 20 ชั่วโมงในการทำปฏิกิริยา ในขณะที่การทำปฏิกิริยาที่ 117 และ 78°ซ ต้องใช้เวลา 3 และ 18 ชั่วโมง ตามลำดับ

การเร่งปฏิกิริยาทรานซ์เอสเทอริฟิเคชั่นโดยการใช้เอนไซม์ไลเปสเป็นวิธีที่สามารถหลีกเลี่ยงข้อจำกัดที่เกิดจากการเร่งปฏิกิริยาด้วยกรดหรือด่างได้ เนื่องจากเอนไซม์สามารถเข้าทำปฏิกิริยาได้กับทั้งไตรกลีเซอไรด์และกรดไขมันอิสระโดยไม่ก่อให้เกิดสบู่ ทำให้สามารถใช้กับน้ำมันที่มีความบริสุทธิ์ต่ำหรือน้ำมันที่มีราคาถูก เช่น น้ำมันดิบหรือน้ำมันที่ผ่านการใช้แล้วได้ดี เป็นวิธีที่ไม่ต้องใช้ความร้อนในการเร่งปฏิกิริยา ผลผลิตไบโอดีเซลที่ได้จากปฏิกิริยาที่เร่งโดยเอนไซม์ไลเปสนี้สามารถทำบริสุทธิ์ คือแยกออกจากกลีเซอรอลได้ง่าย โดยไม่มีปัญหาการเกิดอีมัลชั่นเนื่องจากสบู่ โดยภาพที่ 2 แสดงขั้นตอนการผลิตไบโอดีเซลโดยการใช้การเร่งด้วยเอนไซม์เปรียบเทียบกับการเร่งด้วยด่างซึ่งมีขั้นตอนการทำบริสุทธิ์ที่ซับซ้อนยุ่งยากกว่า

ในทางทฤษฎีสมดุลมวลสารสัมพันธ์ของปฏิกิริยาเคลื่อนย้ายหมู่เอสเทอร์ระหว่างแอลกอฮอล์และกลีเซอไรด์ที่สมบูรณ์ ต้องประกอบด้วยอัตราส่วนโมลของแอลกอฮอล์ต่อกลีเซอไรด์เป็น 3:1 แต่ในทางปฏิบัติกลับพบว่าปฏิกิริยาเคลื่อนย้ายหมู่เอสเทอร์สามารถผันกลับได้ ดังนั้นถ้าต้องการผลิตภัณฑ์แอลคิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน หรือน้ำมันดีเซลชีวภาพมากขึ้นต้องเพิ่มจำนวนโมลแอลกอฮอล์มากขึ้นด้วย เพื่อขับดันให้สภาวะสมดุลให้ภาวะสมดุลเลื่อนเข้าใกล้ผลิตภัณฑ์มากที่สุด



ภาพที่ 2 เปรียบเทียบผังการไหลของการผลิตไบโอดีเซลโดยใช้ด่าง (a) และเอนไซม์ไลเปส (b) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทรานซ์เอสเทอริฟิเคชั่น

ที่มา Fukuda และคณะ (2001)

ความแตกต่างของคุณสมบัติไบโอดีเซลแต่ละชนิดขึ้นกับองค์ประกอบของน้ำมันที่นำมาทำปฏิกิริยา ซึ่งน้ำมันแต่ละชนิดจะมีองค์ประกอบที่เป็นกรดไขมันแตกต่างกัน และมีประมาณกรดไขมันแต่ละชนิดไม่เท่ากัน โดยน้ำมันที่มีกรดไขมันชนิดอิ่มตัวสูงจะให้ค่าซีเทน (ตัวเลขแสดงคุณสมบัติการจุดระเบิดของน้ำมันภายใต้สภาวะมาตรฐาน) ของไบโอดีเซลสูงกว่ากรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว (ตารางที่ 3)

6. ข้อได้เปรียบของไบโอดีเซลเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันดีเซล

ข้อดีของไบโอดีเซลที่เหนือกว่าน้ำมันดีเซลปิโตรเลียมคือมีความปลอดภัยในการจัดเก็บเพราะไม่เป็นพิษและสามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้ สามารถผลิตได้จากวัตถุดิบที่ได้จากการเกษตร หรือน้ำมันที่ใช้แล้วจากกระบวนการอุตสาหกรรม นอกจากนี้ยังช่วยลดปัญหาเกี่ยวกับมลพิษทางอากาศและสิ่งแวดล้อมได้อีกด้วย เนื่องจากก๊าซเสียที่ได้จากการเผาไหม้เครื่องยนต์ซึ่งใช้น้ำมันไบโอดีเซลชีวภาพจะมีองค์ประกอบของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ คาร์บอนมอนนอกไซด์ เขม่า หรือองค์ประกอบ

ของไฮโดรคาร์บอนซึ่งถูกเผาไหม้ไม่สมบูรณ์ในปริมาณที่ต่ำกว่าเครื่องยนต์ที่ใช้น้ำมันดีเซลจากปิโตรเลียม (Nelson *et al.*, 1996)

ตารางที่ 3 คุณสมบัติของเอสเทอร์ที่ได้จากกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว

Fatty acid ester (No. carbon atom: No. double bond	Mol.wt	Melting Point (C^o)	Boiling point (C^o)	Cetane No.	Heating value (Kj/Kg)
Methyl caprylate (8:0)	158.24	-	193	33.6	34716
Methyl caprate (10:0)	186.30	-	224	47.7	36495
Methyl laurate (12:0)	214.30	5	266	61.4	37877
Methyl myristate (14:0)	242.41	18.5	295	66.2	38904
Methyl palmitate (16:0)	270.46	30.5	415	74.5	39448
Methyl stearate (18:0)	298.51	39.1	442	86.9	40072
Methyl oleate (18:1)	296.49	-20	218.5	47.2	39908
Methyl linoleate (18:2)	294.48	-35	215	28.5	39697
Methyl linolenate (18:3)	292.46	-57	109	20.6	39342
Methyl erucate (22:1)	352.60	-	221	76	40496

ที่มา : กัญจนา บุณยเกียรติ (2544)

7. การผลิตแอลคิลเอสเทอร์โดยใช้เอนไซม์ไลเปส

การผลิตเมทิลเอสเทอร์จากปฏิกิริยาเคลื่อนย้ายหมู่เอสเทอร์สามารถเพิ่มอัตราเร็วด้วยตัวเร่งปฏิกิริยา 3 ชนิด ดังนี้

1. เบส
2. กรด
3. เอนไซม์

การผลิตไบโอดีเซลโดยวิธีทางเคมีโดยใช้กรดหรือเบสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยามีข้อจำกัดในด้านการทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิสูง และมีความยุ่งยากในการเก็บเกี่ยวกลีเซอรอล ปัจจุบันมีการศึกษาโดยใช้เอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ซึ่งวิธีนี้มีข้อได้เปรียบหลายประการคือปฏิกิริยาไม่รุนแรงสามารถเกิดได้ที่อุณหภูมิห้อง ปฏิกิริยามีความจำเพาะสูง ง่ายในการเก็บเกี่ยวกลีเซอรอลแต่การผลิตโดยใช้เอนไซม์ไลเปสต้องใช้ต้นทุนสูงดังแสดงในตารางที่ 4 และแผนภูมิการผลิตไบโอดีเซลเปรียบเทียบระหว่างการใช้เบสและเอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาแสดงดังภาพที่ 3

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบการผลิตไบโอดีเซลโดยใช้ไลเปสและแอลคาไลเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

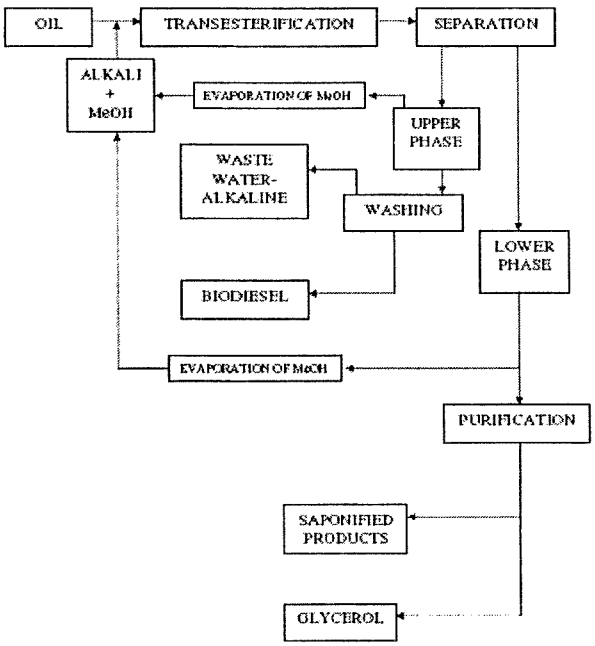
	Alkali-catalysis process	Lipase-catalysis process
Reaction temperature	60-70°C	30-40°C
Free fatty acids in raw materials	Saponified products	Methyl esters
Water in raw materials	Interference with the reaction	No influence
Yield of methyl esters	Normal	Higher
Recovery of glycerol	Difficult	Easy
Purification of methyl esters	Repeated washing	None
Production cost of catalyst	Cheap	Relatively expensive

ที่มา : Fukuda และคณะ (2001)

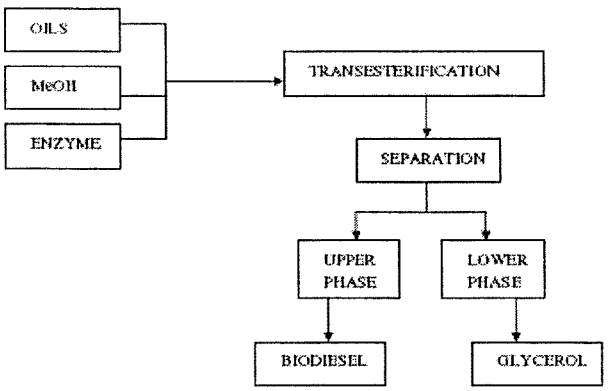
8. เอนไซม์ไลเปส

เอนไซม์ไลเปส (EC. 3.1.1.3) หรือกลีเซอรอลเอสเทอร์ไฮโดรเลส (glycerol ester hydrolase) เป็นเอนไซม์กลุ่มไฮโดรเลส ซึ่งเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสโมเลกุลของเอซิลกลีเซอรอลได้ผลิตภัณฑ์เป็น ไดเอซิลกลีเซอรอล โมโนเอซิลกลีเซอรอล กรดไขมัน และกลีเซอรอล นอกจากนี้ไลเปสเป็นเอนไซม์กลุ่มหนึ่งในเอสเทอเรสที่สามารถย่อยสลายเอสเทอร์ที่ไม่ละลายน้ำ เช่น ไตรเอซิลกลีเซอรอลได้ดี นอกจากนี้ไลเปสสามารถเร่งปฏิกิริยาย่อยสลายสารประกอบอื่นๆ ที่ประกอบด้วยหมู่คาร์บอกซิลิกเอสเทอร์ ซึ่งไม่ใช่เอซิลกลีเซอรอลทั้งที่มีในธรรมชาติหรือจากการสังเคราะห์ โดยที่ปฏิกิริยาจะมีความจำเพาะเจาะจงกับโครงสร้างไอโซเมอร์ของสับสเตรทสูง (Malcata *et al.*, 1992) ในปัจจุบันเอนไซม์ไลเปสถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการสังเคราะห์สารอินทรีย์ต่างๆ ทดแทนการสังเคราะห์ทางเคมีเพื่อผลิตสารที่สำคัญ ได้แก่ การสังเคราะห์ตัวยาที่ใช้ทางด้านเภสัชกรรม การสังเคราะห์สารตัวกลางและปรับปรุงโครงสร้างของไขมันธรรมชาติดังนั้นปัจจุบันไลเปสจึงถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ มากมาย เช่นอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องสำอาง ยา และเครื่องหนังเป็นต้น นอกจากนี้เอนไซม์ไลเปสสามารถเกิดปฏิกิริยาอินเทอร์เอสเทอริฟิเคชั่นของน้ำมันและไขมันเพื่อผลิตภัณฑ์ที่มีคุณค่า เช่น cocoa butter,fatty acid ester และผลิตสารประกอบกลีเซอไรด์ เช่น ไดเอซิลกลีเซอรอล หรือโมโนกลีเซอรอลและมีการนำเอนไซม์ไลเปสไปใช้ประโยชน์ในด้านการบำบัดน้ำเสียจากชุมชนและจากโรงงานอุตสาหกรรม (Sharma *et al.*, 2001)

(a)



(b)

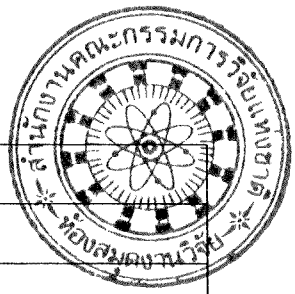


ภาพที่ 3 แผนภูมิการผลิตไบโอดีเซลโดยใช้อัลคาไล (a) และ ไลเปส (b) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา
ที่มา : Srivathsan และคณะ (2008)

8.1 แหล่งเอนไซม์ไลเปส

ไลเปสพบได้ทั่วไปในพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ที่คัดเลือกจากธรรมชาติหรือที่ได้จากการปรับปรุงสายพันธุ์ ซึ่งอาจผลิตเอนไซม์ไลเปสทั้งที่อยู่ภายในเซลล์ และปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ (Balcalo *et al.*, 1996) ไลเปสที่ได้จากพืชได้แก่ ไลเปสจากเมล็ดละหุ่ง เมล็ดฝ้าย และจากธัญพืชจาก ข้าวสาลี ข้าวไรย์ และข้าวบาร์เลย์ ไลเปสจากสัตว์จะพบในเนื้อเยื่ออวัยวะ เช่น ตับอ่อน หัวใจ ไต สมอง กล้ามเนื้อ และซีรั่ม สำหรับไลเปสจากตับอ่อนนิยมนำมาใช้มาก เนื่องจากมีความเข้มข้นสูง และสามารถสกัดแยกออกมาได้ ในปัจจุบันไลเปสจากจุลินทรีย์ได้รับความสนใจอย่างมาก เนื่องจากมีความคงตัวสูงกว่าไลเปสที่ได้จากพืชและสัตว์ (Malcata *et al.*, 1992) และสามารถผลิตเอนไซม์ได้ในปริมาณมากเนื่องจากจุลินทรีย์มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วควบคุมการผลิตได้ง่ายและคุณภาพ

สม่ำเสมอ นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มผลผลิตต่อหน่วยโดยวิธีการปรับปรุงทางพันธุกรรมของจุลินทรีย์ ทำให้ปัจจุบันมีจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ได้หลายชนิดดังแสดงในตารางที่ 5 จุลินทรีย์ทั้งยีสต์และราสามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสที่มีคุณสมบัติแตกต่างกัน ขึ้นกับชนิดของจุลินทรีย์และการควบคุมสภาวะในการผลิต



ตารางที่ 5 แหล่งจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ไลเปส

Microorganisms	References
Achrmobacter sp.	Mitsuda *et al.*, 1988
A. lipolyticum	Davranov 1994
Acinetobacter sp.	Barbaro *et al.*, 2001
A. radioresistens	Liu and Tsai 2003
Archaeglobus fulgidus	Jaeger *et al.*, 1999
Bacillus sp.	Nawani and Kaur 2000
B. alcalophilus	Ghanem *et al.*, 2000
B. atrophaeus	Bradoo *et al.*, 1999
B. subtilis	Jacger *et al.*, 1999
Cryptococcus sp.	Kamini *et al.*, 2000
Candida cylindracea	Tomizuka *et al.*, 1966; Kamini *et al.*, 2000
Geotrichum candidum	Tsujisaka *et al.*, 1973; Kamini *et al.*, 2000
Lactobacillus curvatus	Brune and Gotz. 1992
L. plantarum	Lops Mde *et al* ., 2002
Moraxella sp.	Jaeger *et al.*, 1999
Pseudomonas fluorescens	Pandey *et al.*, 1999
P. fragi	Ghanem *et al.*, 2000
P. luteola	Litthauer *et al.*, 2000
Staphylococcus aureus	Jaeger *et al.*, 1999
S. haemolyticas	Oh *et al.*, 1999
S. hyicus	Jaeger *et al.*, 1999
Saccharomycopsis lipolytica	Ota *et al.*, 1982; Kamini *et al.*, 2000
Trichosporon fermentans	Chen *et al.*, 1992; Kamini *et al.*, 2000
Vibrio chloreae	Jaeger *et al.*, 1999

ที่มา : Gupta และคณะ (2004)

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 1 8 มี.ค. 2555
เลขทะเบียน 243355

8.2 คุณสมบัติด้านเคมีและกายภาพของไลเปส

โดยทั่วไปแล้วไลเปสละลายได้ดีในน้ำ แต่ไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ที่ไม่มีขั้ว ส่วนใหญ่แล้วไลเปสที่ได้จากสัตว์มีพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานในช่วงที่เป็นด่าง (พีเอช 8-9) แต่จะขึ้นอยู่กับชนิดของสับสเตรท ปริมาณเกลือและชนิดของสารอิมัลซิฟายเออร์ที่ใช้ ซึ่งอาจมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชที่เหมาะสมให้อยู่ในช่วงที่เป็นกรดได้ ส่วนไลเปสจากจุลินทรีย์โดยทั่วไปจะทำงานได้ดีในช่วงพีเอช 5.6-8.5 และมีความคงตัวสูงในช่วงพีเอชที่เป็นกลาง ไลเปสส่วนใหญ่ทำงานได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส และไลเปสจากจุลินทรีย์มีความคงต่ออุณหภูมิสูงกว่าไลเปสจากพืชและสัตว์ ความคงตัวต่อความร้อนของไลเปสจะเพิ่มสูงขึ้นถ้ารวมอยู่กับสับสเตรท เป็นไปได้ว่าสับสเตรททำหน้าที่ช่วยจัดการน้ำส่วนเกินออกจากโครงสร้างสามมิติของเอนไซม์ได้ (Malcata *et al.*, 1992)

8.3 การทำงานของเอนไซม์ไลเปส

Gandhi (1997) แบ่งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสไว้ 2 กลุ่มหลักได้แก่ การย่อยสลายเอสเทอร์ (hydrolysis) และการสังเคราะห์เอสเทอร์ (synthesis) ซึ่งปฏิกิริยาการสังเคราะห์เอสเทอร์สามารถแบ่งย่อยออกเป็น 4 ชนิดคือ อะซิโดไลซิส (acidolysis) เอสเทอริฟิเคชั่น (esterification) อินเตอร์เอสเทอริฟิเคชั่น (interesterification) และแอลกอฮอล์ไลซิส (alcoholysis) สำหรับสามปฏิกิริยาหลังนี้นักวิจัยหลายคนจัดไว้ในกลุ่มเดียวกัน โดยใช้ชื่อว่าปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชั่น (tranesterification) อย่างไรก็ตามมีการจัดปฏิกิริยาอะมิโนไลซิส (aminolysis) อยู่ในกลุ่มเดียวกับทรานเอสเทอริฟิเคชั่น ดังแสดงในภาพที่ 4

1. Hydrolysis of ester

$$R\text{-}COO\text{-}R' + H_2O \rightleftharpoons R\text{-}COOH + HO\text{-}R'$$

2. Synthesis of ester

$$R\text{-}COOH + HO\text{-}R' \rightleftharpoons R\text{-}COO\text{-}R' + H_2O$$

3. Transesterification

3.1 Acidolysis

$$R_1\text{-}COO\text{-}R' + R_2\text{-}COOH \rightleftharpoons R_2\text{-}COOR' + R_1\text{-}COOH$$

3.2 Alcoholysis

$$R\text{-}COO\text{-}R_1 + HO\text{-}R_2 \rightleftharpoons R\text{-}COOR_2 + HO\text{-}R_1$$

3.3 Ester exchange (Interesterification)

$$R_1\text{-COO-}R_1' + R_2\text{-COO-}R_2' \rightleftharpoons R_1\text{-COO-}R_2' + R_2\text{-COO-}R_1'$$

3.4 Aminolysis

$$R\text{-COO-}R_1' + H_2N\text{-}R_2' \rightleftharpoons R\text{-CO-NH-}R_2' + R_2\text{-COO-}R_1$$

ภาพที่ 4 การเร่งปฏิกิริยาต่างๆ ของเอนไซม์ไลเปส
ที่มา: Yamane (1987)

9. ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเมทิลเอสเทอร์โดยใช้เอนไซม์ไลเปส

9.1 ชนิดน้ำมันพืช

Kamini และคณะ (2001) ศึกษาชนิดของน้ำมันพืชต่อปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสโดยใช้สับสเตรทที่มีส่วนผสมระหว่างน้ำมันมะกอก น้ำมันเรพสีด น้ำมันรำข้าว และน้ำมันถั่วเหลืองต่อเมทานอลอัตราส่วน 1: 1 (โมล/โมล) 10 กรัม โดยใช้เอนไซม์ไลเปสจาก *Cryptococcus spp.* S-2 500 ยูนิต ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าที่เวลา 96 ชั่วโมงเอนไซม์ไลเปสสามารถเร่งปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่อใช้น้ำมันรำข้าวเป็นสับสเตรท ซึ่งสามารถผลิตเมทิลเอสเทอร์ได้ 24.9 เปอร์เซ็นต์

9.2 ชนิดและความเข้มข้นของเอนไซม์ไลเปส

Kaieda และคณะ (1999) ศึกษาผลของปริมาณเอนไซม์ไลเปสอิสระต่อปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสโดยใช้สับสเตรทที่มีส่วนผสมระหว่างน้ำมันถั่วเหลืองต่อเมทานอลในอัตราส่วน 1: 1 (โมล/โมล) 10 กรัม และใช้เอนไซม์ไลเปสจาก *Rhizopus oryzae* ปริมาณ 1.05, 4.16, 15.8, 25.9,71.3 และ 179.3 ยูนิตต่อมิลลิลิตร พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ไลเปสปริมาณของเมทิลเอสเทอร์จะเพิ่มขึ้นถึง 60 ยูนิตต่อมิลลิตร สอดคล้องกับ Kamini และคณะ (2001) พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณเอนไซม์ไลเปสจาก Cryptococcus *spp.* S-2 ปริมาณ 500, 1000, 1500, 2000 และ 2500 ยูนิต ซึ่งทำปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสโดยใช้สับสเตรทที่มีส่วนผสมระหว่างน้ำมันรำข้าวและเมทานอล อัตราส่วน 1: 1 (โมล/โมล) 10 กรัม พบว่าเปอร์เซ็นต์ผลิตเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ไลเปส 500-2000 ยูนิต แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์มากกว่า 2000 ยูนิต เปอร์เซ็นต์ผลผลิตจะคงที่ เช่นเดียวกับการทดลองของ Shimada และคณะ (1999) ได้ศึกษาชนิดของเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสของน้ำมันพืชซึ่งใช้เอนไซม์ 5 ชนิด คือ เอนไซม์ไลเปสจาก *Rhizomucor miehei*, *Candida antarctica*, *Rhizopus delemar*, *Fusarium heterosporum* และ *Aspergillus niger* ปริมาณ 0.4 กรัม ทำปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสโดยใช้สับสเตรทที่มีส่วนผสมระหว่างน้ำมันพืช (น้ำมันถั่ว

เหลืองและน้ำมันเรพสีด) ต่อเมทานอล อัตราส่วน 1: 1 (โมล/โมล) 10 กรัม และเติมน้ำในปฏิกิริยาเริ่มต้น 0.2 มิลลิลิตร พบว่าเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปจาก *Candida Antarctica* สามารถผลิตเมทิลเอสเทอร์ได้สูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับเอนไซม์ตรึงรูปทั้งหมดที่นำมาคัดเลือก

9.3 ปริมาณน้ำ

Shimada และคณะ (1999) ศึกษาผลของน้ำต่อปฏิกิริยาเมทาโลไลซิสโดยใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปจาก *Candida antarctica* 0.4 กรัม ทำปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสโดยใช้สับสเตรท 10 กรัม เติมน้ำในปฏิกิริยา 0.2, 0.4, 0.6 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อเติมน้ำปริมาณมากขึ้นค่าเปอร์เซ็นต์ผลผลิตลดลง เช่นเดียวกับ Kamini และคณะ (2001) ศึกษาผลของน้ำต่อปฏิกิริยาเมทาโนไลซิส โดยใช้เอนซ์ไลเปสจาก *Cryptococcus spp.* ใช้สับสเตรทที่มีส่วนผสมระหว่างน้ำมันรำข้าวและเมทานอลอัตราส่วน 1: 4 (โมล / โมล) และใช้ปริมาณน้ำ 20-200 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสับสเตรท บ่มเป็นเวลา 96 ชั่วโมง พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณน้ำ 80-100 เปอร์เซ็นต์ สามารถผลิตเมทิลเอสเทอร์ได้สูงถึง 62.6-66.4 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพิ่มปริมาณน้ำมากกว่า 100 เปอร์เซ็นต์ การผลิตเมทิลเอสเทอร์ลดลง นอกจากนี้ Kaieda และคณะ (1999) ศึกษาผลของปริมาณน้ำต่อปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสโดยใช้สับสเตรทที่มีส่วนผสมระหว่าง น้ำมันถั่วเหลืองและเมทานอล อัตราส่วน 1: 1 (โมล/โมล) 10 กรัม โดยใช้เอนไซม์ไลเปสจาก *Rhizopus oryzae* 210 ยูนิต และเติมน้ำให้ได้สารละลายเอนไซม์ 0.6, 0.9, 1.2, 1.5, 1.8, 2.4, 3.0, 6.0, และ 9.0 มิลลิลิตร พบว่าเมื่อใช้สารละลายเอนไซม์ 1.2-9.0 มิลลิลิตร (ปริมาณน้ำ 4-30% ของน้ำหนักสับสเตรท) สามารถผลิตเมทิลเอสเทอร์เพิ่มสูงขึ้นถึง 80-90 เปอร์เซ็นต์

9.4 ปริมาณเมทานอล

Kaieda และคณะ (1999) ศึกษาผลของการเติมเมทานอลต่อปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสโดยใช้สับสเตรทที่มีส่วนผสมระหว่างน้ำมันถั่วเหลืองและเมทานอล อัตรส่วน 1: 1 (โมล/โมล) 30 กรัม โดยใช้เอนไซม์ไลเปส *Rhizopus oryzae* 180 ยูนิต พบว่าเมื่อเติมเมทานอลครั้ง 1 โมล อีกสองครั้งหลังจากเติมสับสเตรทเริ่มต้นสามารถผลิตเมทิลเอสเทอร์ได้เพิ่มขึ้นและปริมาณกรดไขมันที่ได้จากปฏิกิริยาการย่อยสลายลดลง นอกจากนี้ Kamini และคณะ (2001) ศึกษาผลของเมทานอลต่อปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสของน้ำมันรำข้าวโดยใช้สับเสตรทที่มีส่วนผสมระหว่างน้ำมันรำข้าวและเมทานอล อัตราส่วน 1: 2, 1:3, 1:4, 1:5 และ 1: 6 (โมล/โมล) โดยใช้เอนไซม์ไลเปส *Cryptococcus spp.* 2000 ยูนิต และใช้ปริมาณน้ำ 80 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสับสเตรท พบว่าที่เวลา 120 ชั่วโมง เมื่อใช้สับสเตรทที่มีส่วนผสมระหว่างน้ำมันรำข้าวและเมทานอล อัตราส่วน 1:4 (โมล/โมล) สามารถผลิตเมทิลเอสเทอร์ได้สูงถึง 79.7 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อใช้สับสเตรทที่มีส่วนผสมระหว่างน้ำมันรำข้าวและเมทานอล อัตราส่วน 1:6 (โมล/โมล) สามารถผลิตเมทิลเอสเทอร์ได้ต่ำเนื่องจากปริมาณเมทานอลสูงเกินไปทำให้เอนไซม์เกิดการเสียสภาพ

9.5 อุณหภูมิ

Kamini และคณะ (2001) ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสของน้ำมันรำข้าวโดยเอนไซม์ไลเปส ซึ่งทดสอบที่อุณหภูมิ 25, 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส พบว่าที่เวลา 24 ชั่วโมง ปริมาณเมทิลเอสเทอร์ลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น และที่เวลา 96 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สามารถผลิตเมทิลเอสเทอร์ได้สูงสุดเท่ากับ 62.3 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพิ่มอุณหภูมิมากกว่า 30 องศาเซลเซียส การผลิตเมทิลเอสเทอร์จะลดลง นอกจากนี้ Shimada และคณะ (1999) ศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิต่อปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสของน้ำมันพืชโดยเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida Antarctica* ศึกษาที่อุณหภูมิ 20, 30, 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส พบว่าหลังจากปฏิกิริยาดำเนินไป 6 ชั่วโมง เมื่อเพิ่มอุณหภูมิค่าเปอร์เซ็นต์ผลผลิตมากที่สุดเท่ากับ 29.9 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพิ่มอุณหภูมิมากว่า 60 องศาเซลเซียส การผลิตเมทิลเอสเทอร์จะลดลง

9.6 ชนิดตัวทำละลายอินทรีย์

Kamini และคณะ (2001) ศึกษาผลของตัวทำละลายอินทรีย์ต่อปฏิกิริยาเมทาโนไลซิสจากน้ำมันรำข้าวโดยเอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ 4 ชนิด คือ dimethysulfoxide, diethylether, n-hexane และ petroleum ether เติมลงไป 10 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักสับสเตรท พบว่าที่เวลา 120 ชั่วโมง เมื่อเติม dimethysulfoxide, n-hexane และ petroleum ether ปริมาณเมทิลเอสเทอร์เพิ่มขึ้น 4.8-7.0 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อเติม diethylether ปริมาณเมทิลเอสเทอร์ลดลง 9.8 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณเมทิลเอสเทอร์ที่ไม่เติมตัวทำละลายอินทรีย์ นอกจากนี้ Millqvist และคณะ (1994) ศึกษาผลของตัวทำละลายอินทรีย์ต่อปฏิกิริยาแอลกอฮอไลซิสจากไตรปาล์มมิติกโดยเอนไซม์ไลเปสตรึงรูป *Rhizopus arrhizus* เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ 6 ชนิด คือ methyl-tert-butyl ether, disopropyl ether, hexane, isooctane, methyl isobuthyl ketone และ toluene พบว่าเมื่อเติม methyl-tert-butyl ether จะให้ผลผลิตสูงสุดเท่ากับ 97 เปอร์เซ็นต์