สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยแม่โจ้

รายงานผลการวิจัย

เรื่อง การศึกษาผลของสารต้านอนุมูลอิสระต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันในไบโอดีเซล

Effect of antioxidants on the oxidative stability of biodiesel

ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัย ประจำปี 2553

จำนวน 90,000 บาท

หัวหน้าโครงการ นางอุทุมพร กันแก้ว

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์

30/มี.ค./2555

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง การศึกษาผลของสารต้านอนุมูลอิสระต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันในไบโอดีเซล (Effect of Antioxidants on the Oxidative Stability of Biodiesel) ได้สำเร็จลุล่วง โดยได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย จากสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ประจำปีงบประมาณ 2553 ผู้วิจัยขอขอบคุณ คณะวิทยาศาสตร์ หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิตสาขาวิชาเคมี ที่อนุเคราะห์เรื่องสถานที่ และอุปกรณ์บางอย่างที่ใช้ในการดำเนินการวิจัยให้เสร็จสิ้นสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรินทร ชวศิริ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์ด้านเครื่องมือวิเคราะห์และอุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์ในด้านการต้านอนุมูลอิสระ

อุทุมพร กันแก้ว

สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	ข
สารบัญภาพ	ง
อธิบายคำย่อหรือสัญลักษณ์	ฉ
บทคัดย่อ	1
Abstract	2
คำนำ	3
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	9
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	9
การตรวจเอกสาร	10
อุปกรณ์และวิธีการ	13
ผลการทดลอง และวิจารณ์ผลการวิจัย	20
สรุปผลการวิจัย	59
เอกสารอ้างอิง	60

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	ผลกระทบของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากกระบวนการออกซิเดชันของไบโอดีเซลต่อเครื่องยนต์	4
ตารางที่ 2	ผลการสังเคราะห์ 2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone โดยใช้ปฏิกิริยาการควบแน่นแบบอัลดอล	21
ตารางที่ 3	สัญญาณจากการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่ได้โดยใช้เทคนิค Flourier transform Infrared spectroscopy และ1H-NMR spectroscopy โดยแสดงลักษณะทางโครงสร้างของ 2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone	24
ตารางที่ 4	ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี DPPH radical scavenging assay	26
ตารางที่ 5	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm และค่า% inhibition ของสารมาตรฐานBHTโดยวิธี Spectrophotometric assay	27
ตารางที่ 6	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm และค่า % inhibition ของสารสังเคราะห์อนุพันธ์ไฮโดรควิโนน 2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone โดยวิธี Spectrophotometric assay	30
ตารางที่ 7	ผลการคำนวณค่า IC50จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง % DPPH inhibition กับความเข้มข้นของสารสังเคราะห์อนุพันธ์ไฮโดรควิโนน	31
ตารางที่ 8	ร้อยละผลผลิตของเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์ม น้ำมันที่เหลือใช้จากการทอด น้ำมันละหุ่ง และน้ำมันถั่วเหลือง	35
ตารางที่ 9	เวลาค่าคงค้างกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ของสารมาตรฐานที่มีจำนวนคาร์บอน 16-22	36
ตารางที่ 10	เวลาค่าคงค้างของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันปาล์ม	38
ตารางที่ 11	เวลาค่าคงค้างของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันที่เหลือใช้จากการทอด	39
ตารางที่ 12	เวลาค่าคงค้างของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันถั่วเหลือง	41
ตารางที่ 13	เวลาค่าคงค้างของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันถั่วลิสง	42
ตารางที่ 14	ร้อยละองค์ประกอบของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์ม	43

ตารางที่ 15	ร้อยละองค์ประกอบของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันที่เหลือใช้จากการทอด	44
ตารางที่ 16	ร้อยละองค์ประกอบของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันถั่วเหลือง	45
ตารางที่ 17	ร้อยละองค์ประกอบของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันถั่วเหลือง	46
ตารางที่ 18	ค่าสปอนนิฟิเคชันของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์ม	47
ตารางที่ 19	ผลการคำนวณค่าสปอนนิฟิเคชันของเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์ม น้ำมันที่เหลือใช้จากการทอด น้ำมันละหุ่ง และน้ำมันถั่วเหลือง	47
ตารางที่ 20	การคำนวณค่าไอโอดีนของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์ม น้ำมันที่เหลือใช้จากการทอด น้ำมันละหุ่ง และน้ำมันถั่วเหลือง	48
ตารางที่ 21	ผลการคำนวณค่าไอโอดีนของเมทิลเอสเทอร์จาก น้ำมันปาล์ม น้ำมันที่เหลือใช้จากการทอด น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันละหุ่ง	49
ตารางที่ 22	ผลการคำนวณค่าซีเทนของเมทิลเอสเทอร์จาก น้ำมันที่เหลือใช้ใช้จากการทอด น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันละหุ่ง	50
ตารางที่ 23	ผลการคำนวณค่าความร้อนของการเผาไหม้ (HG) ของเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์ม น้ำมันที่เหลือใช้จากการทอด น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันละหุ่ง	51
ตารางที่ 24	ผลการคำนวณค่าของกรดของเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์ม น้ำมันที่เหลือใช้จากการทอด น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันละหุ่ง	53
ตารางที่ 25	ผลการทดสอบค่าเสถียรภาพต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยเครื่อง Rancimat	53
ตารางที่ 26	ผลการเปรียบเทียบสมบัติทางเชื้อเพลิงของไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์มระหว่างไบโอดีเซลที่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระกับไบโอดีเซลที่ไม่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระ	54
ตารางที่ 27	ผลการเปรียบเทียบสมบัติทางเชื้อเพลิงของไบโอดีเซลจากน้ำมันที่เหลือใช้จากการทอดระหว่างไบโอดีเซลที่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระกับไบโอดีเซลที่ไม่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระ	56
ตารางที่ 28	ผลการเปรียบเทียบสมบัติทางเชื้อเพลิงของไบโอดีเซลจากน้ำมันถั่วเหลืองระหว่างไบโอดีเซลที่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระกับไบโอดีเซลที่ไม่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระ	57
ตารางที่ 29	ผลการเปรียบเทียบสมบัติทางเชื้อเพลิงของไบโอดีเซลจากน้ำมันละหุ่งระหว่างไบโอดีเซลที่ผสมและไม่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระ	58

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1	ปฏิกิริยาการสังเคราะห์ไบโอดีเซล	3
ภาพที่ 2	ปฏิกิริยาการสังเคราะห์อนุพันธ์ไฮโดรควิโนน	4
ภาพที่ 3	โครงสร้างของ 2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone และ 2-(2,3,4-Trihydroxybenzyl) hydroquinone	5
ภาพที่ 4	ลักษณะโครงสร้างของ 2-(4-Hydroxy-3,5-methoxybenzyl) hydroquinone และ Tetra-butyl hydroquinone	5
ภาพที่ 5	โครงสร้างของ butylated hydroxytoluene (BHT)	6
ภาพที่ 6	โครงสร้างของ DPPH radical (1,1-diphynyl 2- picrylhydrazyl radical)	8
ภาพที่ 7	ปฏิกิริยาต้านอนุมูลอิสระของสารกับ DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) กับความเข้มข้นของสารสังเคราะห์อนุพันธ์ไฮโดรควิโนน	8
ภาพที่ 8	ลักษณะของแผ่น TLC ก่อนและหลังการพ่น DPPH	15
ภาพที่ 9	ปฏิกิริยาการสังเคราะห์ 2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone โดยใช้ปฏิกิริยาการควบแน่นแบบอัลดอล	20
ภาพที่ 10	กลไกการเกิดปฏิกิริยาอัลดอลคอนเดนเซชัน	21
ภาพที่ 11	ลักษณะโครงสร้างของ2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone	22
ภาพที่ 12	สเปคตรัมของสารสังเคราะห์ 2-(3,4-dihydroxybenzyl) hydroquinone	23
ภาพที่ 13	ปฏิกิริยาต้านอนุมูลอิสระของสารกับ DPPHและลักษณะการฟอกจางสี DPPH ของสารสังเคราะห์อนุพันธ์ไฮโดรควิโนน	25
ภาพที่ 14	กราฟความสัมพันธ์ระหว่าง % DPPH inhibition กับสารมาตรฐานBHT ที่ความเข้มข้นต่างๆ	28
ภาพที่ 15	กราฟความสัมพันธ์ระหว่าง % DPPH inhibition กับความเข้มข้นของ 2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone	30
ภาพที่ 16	ธินเลเยอร์โครมาโทรกราฟีของเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์ม และน้ำมันที่เหลือใช้จาก การทอด	32
ภาพที่ 17	ธินเลเยอร์โครมาโทรกราฟีของเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันถั่วเหลือง	33

ภาพที่ 18	ธินเลเยอร์โครมาโทรกราฟีของเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันละหุ่ง	34
ภาพที่ 19	โครมาโตแกรมกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ของสารมาตรฐานที่มีจำนวนคาร์บอน 16-22ที่วิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ HP-5 (5% Phenyl Methyl Siloxane) ในช่วงอุณหภูมิ 150-300 °C	36
ภาพที่ 20	โครมาโตแกรมอนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันปาล์มที่วิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ HP-5 (5% Phenyl Methyl Siloxane) ในช่วงอุณหภูมิ 150-300 °C	37
ภาพที่ 21	โครมาโตแกรมอนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันที่เหลือใช้จากการทอดที่วิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ HP-5 (5% Phenyl Methyl Siloxane) ในช่วงอุณหภูมิ 150-300 °C	39
ภาพที่ 22	โครมาโตแกรมอนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันถั่วเหลืองที่วิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ HP-5 (5% Phenyl Methyl Siloxane) ในช่วงอุณหภูมิ 150-300 °C	40
ภาพที่ 23	โครมาโตแกรมอนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันถั่วลิสงที่วิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ HP-5 (5% Phenyl Methyl Siloxane) ในช่วงอุณหภูมิ 150-300 °C	42

การศึกษาผลของสารต้านอนุมูลอิสระต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันในไบโอดีเซล

Effect of Antioxidants on the Oxidative Stability of Biodiesel

อุทุมพร กันแก้ว

Uthumporn Kankeaw

คณะวิทยาศาสตร์ หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิตสาขาวิชาเคมี มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการสังเคราะห์ 2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone โดยอาศัยปฏิกิริยาการควบแน่นแบบอัลดอลระหว่าง 1,4-ไซโคเฮกเซนไดโอน กับ 3,4-ไดไฮดรอกซีเบนซัลดีไฮด์ ซึ่งมีลิเทียมคลอไรด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา และไพริดีนเป็นตัวทำละลาย หลังจากนั้นวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่ได้โดยใช้เทคนิค Flourier transform infrared spectroscopy จากสัญญาณสเปคตรัมพบสัญญาณที่สำคัญคือ FT-IR (KBr, cm^{-1}) : 3365 (br, O-H str), 2859 (w, C-H str of aromatic), 1465, 1633(s, C=C str of aromatic) และ 1165 (s, C-O str) ซึ่งเป็นไปตามลักษณะโครงสร้างของ 2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone และเมื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Radical scavenging assay และ Spectrophotometric assay พบว่า ผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ได้ แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 0.11 mg/ml จากนั้นจึงนำไปใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระในไบโอดีเซลที่เตรียมจากน้ำมันปาล์ม น้ำมันที่ใช้แล้วจากการทอด น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันละหุ่ง ที่ความเข้มข้น 250 ppm ซึ่งเมื่อทดสอบค่าเสถียรภาพต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยเครื่อง Rancimat ที่อุณหภูมิ110 องศาเซลเซียส พบว่า ไบโอดีเซลที่ไม่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระให้ค่าเสถียรภาพต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันต่ำกว่าไบโอดีเซลที่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระและมีค่าสมบัติทางเชื้อเพลิงของไบโอดีเซลที่ต่ำลงเมื่อถูกเก็บรักษาในระยะยาวเมื่อเปรียบเทียบกับไบโอดีเซลที่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระ

คำสำคัญ:ไบโอดีเซล สารประกอบไฮโดรควิโนน สารต้านอนุมูลอิสระ

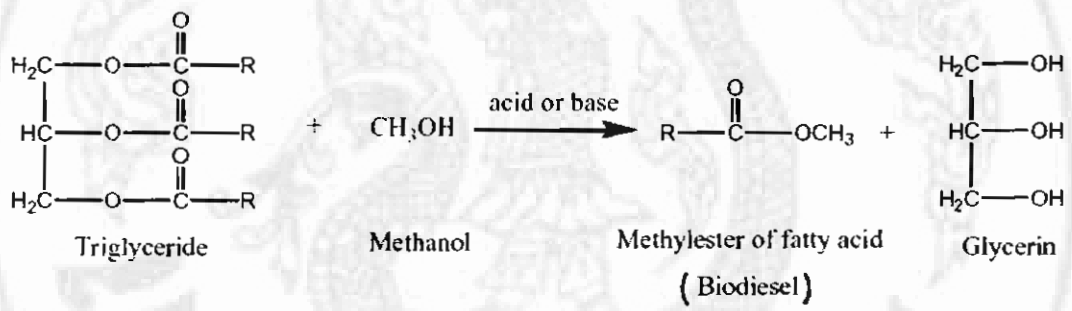
Abstract

This research due with the synthesis of 2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone *via* aldol condensation between 1,4-cyclohexanedione and 3,4-dihydroxybenzaldehyde in the presence of lithium chloride as a catalyst in pyridine. The synthesized products were analyzed by Flourier transform infrared spectroscopy. The result showed spectrum at FT-IR (KBr, cm^{-1}):3365 (br, O-H str), 2859 (w, C-H str of aromatic), 1465, 1633 (s, C=C str of aromatic) and1165 (s, C-O str) which is the characteristic of the hydroquinone structure. After that the synthesized products were explored for the antioxidant activity using DPPH Radical Scavenging Assay and Spectrophotometric Assay method, exhibited the high scavenging activity against DPPH radical with IC_{50}= 0.11 mg/ml.Then, the product use as antioxidant in biodiesel from palm oil, waste frying oil, soybean oil and castor oil respectively with the concentration of 250 ppm. After testing the oxidation stability at 110°C by Rancimat instrument, it was found that the non-antioxidant biodiesel gave the reduction time and property of biodiesel lower value than the antioxidant biodiesel.

Key words: Biodiesel, Hydroquinone derivative, Antioxidant

คำนำ

ปัจจุบันประเทศไทยมีความตื่นตัวในเรื่องของพลังงานมีการหาแหล่งพลังงานทดแทนน้ำมันกันอย่างมากโดยเฉพาะไบโอดีเซลได้ถูกนำมาใช้ทดแทนน้ำมันดีเซลในปัจจุบันรัฐบาลกำหนดให้น้ำมันดีเซลที่จำหน่ายอยู่ในท้องตลาดต้องมีส่วนผสมของไบโอดีเซล (B100) ในสัดส่วน 2% (B2) และส่งเสริมการใช้ไบโอดีเซล B5 นอกจากนี้ยังส่งเสริมการผลิตไบโอดีเซลระดับชุมชนเพื่อลดภาระรายจ่ายและสร้างความมั่นคงทางพลังงานอีกด้วย ปัจจัยสำคัญอีกประการหนึ่งที่ไบโอดีเซลได้รับการสนับสนุน คือการใช้น้ำมันไบโอดีเซลเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมมากกว่าการใช้น้ำมันดีเซล เนื่องจากปริมาณไอเสีย เช่นซัลเฟอร์ไดออกไซด์ คาร์บอนมอนอกไซด์ และสารประกอบไฮโดรคาร์บอนมีปริมาณที่น้อยกว่า โดยในกระบวนการผลิตนั้นจะผสมน้ำมันพืชหรือ น้ำมันสัตว์กับ แอลกอฮอล์ ทำปฏิกิริยา transesterification จนได้เชื้อเพลิง ดังสมการ



ภาพที่ 1 ปฏิกิริยาการสังเคราะห์ไบโอดีเซล

อย่างไรก็ตามพบว่าคุณสมบัติบางประการของไบโอดีเซลยังด้อยอยู่สำหรับการประยุกต์ใช้กับเครื่องยนต์ เช่นค่าความหนืดและความหนาแน่นที่สูงกว่าดีเซลซึ่งจะส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการเผาไหม้ ทำให้สมรรถนะของเครื่องยนต์ต่ำกว่าการใช้ดีเซลเป็นเชื้อเพลิง นอกจากนี้การนำไบโอดีเซลไปใช้งานแทนน้ำมันดีเซลยังคงมีปัญหา เช่นเรื่องความเข้ากันได้ของวัสดุ (Material compatibility) ระหว่างไบโอดีเซลกับชิ้นส่วนต่างๆของรถยนต์ เนื่องจากไบโอดีเซลผลิตจากน้ำมันที่ได้จากพืชในธรรมชาติ ซึ่งส่วนใหญ่ประกอบไปด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดพันธะคู่ (Unsaturated fatty acids) ซึ่งส่งผลกระทบต่อเสถียรภาพการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation stability) ทำให้ไบโอดีเซลเกิดการเสื่อมสภาพได้ง่าย โดยเฉพาะเมื่อถูกเก็บรักษาในระยะยาวหรือถูกกระตุ้นด้วยสิ่งต่างๆ เช่น แสง โลหะหรืออุณหภูมิ เมื่อไบโอดีเซลเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันค่าความเป็นกรดจะเพิ่มสูงขึ้นและส่งผลให้วัสดุที่เป็นโลหะเกิดการกัดกร่อนได้ง่าย นอกจากนี้ไบโอดีเซลยังมีความสามารถในการดูดความชื้นจากบรรยากาศได้ดี (Hygroscopic) เป็นผลให้เกิดปฏิกิริยา

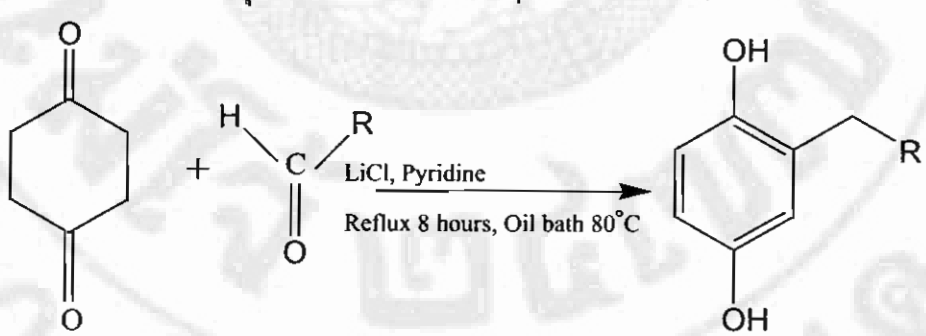
ไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) กรดไขมันอิสระที่ได้จากปฏิกิริยานี้จึงสามารถสร้างปัญหาการกัดกร่อนในถังน้ำมันเชื้อเพลิงเช่นกันดังตารางที่ 1 (อุกฤษฎ์ และคณะ, 2552)

ตารางที่ 1 ผลกระทบของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากกระบวนการออกซิเดชันของไบโอดีเซลต่อเครื่องยนต์

ผลิตภัณฑ์	ผลกระทบ
เปอร์ออกไซด์	- การเปราะของชิ้นส่วนยางบางชนิด
กรดไขมัน	- การกัดกร่อนของชิ้นส่วนโลหะ
	- การเกิดสบู่
Soluble polymers	- เกิดยางเหนียว
Insoluble polymers	- การอุดตันในหัวฉีดและชิ้นส่วนอื่น ๆ ของเครื่องยนต์

ดังนั้นงานวิจัยนี้ จึงได้สังเคราะห์ สารประกอบจำพวกไฮโดรควิโนน เพื่อเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในไบโอดีเซล ซึ่งจะช่วยแก้ปัญหาดังที่กล่าวไว้ข้างต้นได้

อนุพันธ์ไฮโดรควิโนนที่ใช้สังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยาการควบแน่นแบบอัลดอลระหว่าง 1,4-Cyclohexanedione และอนุพันธ์อัลดีไฮด์ชนิดต่างๆ แสดงในภาพที่ 2

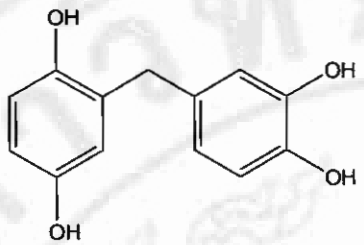


1, 4-Cyclohexanedione Aldehyde derivative Hydroquinone derivative

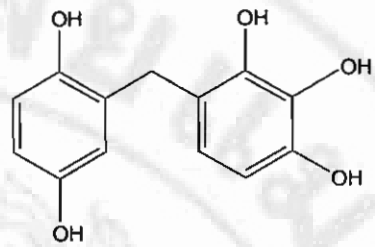
ภาพที่ 2 ปฏิกิริยาการสังเคราะห์อนุพันธ์ไฮโดรควิโนน

อนุพันธ์ไฮโดรควิโนนที่ใช้มากในอุตสาหกรรม ได้แก่ Tetra-butyl hydroquinone (TBHQ) และมีงานวิจัยอื่นที่ได้ทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ไฮโดรควิโนนซึ่งพบว่าแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในระดับสูงกว่า TBHQ ซึ่งจะใช้ในงานวิจัยนี้ ได้แก่ 2-(3,4-Dihydroxybenzyl)

hydroquinone2-(2,3,4-Trihydroxybenzyl) hydroquinoneและ2-(4-Hydroxy-3,5-methoxybenzyl) hydroquinone แสดงลักษณะโครงสร้าง ดังภาพที่ 3 และ 4

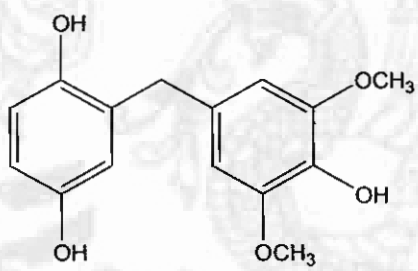


2-(3, 4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone

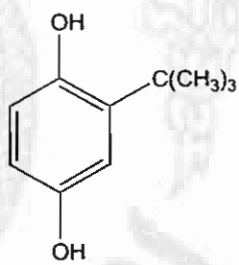


2-(2, 3, 4-Trihydroxybenzyl) hydroquinone

ภาพที่ 3 โครงสร้างของ 2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone และ 2-(2,3,4-Trihydroxybenzyl) hydroquinone



2-(4-Hydroxy-3,5-methoxybenzyl) hydroquinone



ภาพที่ 4 ลักษณะโครงสร้างของ 2-(4-Hydroxy-3,5-methoxybenzyl) hydroquinone และ Tetra-butyl hydroquinone

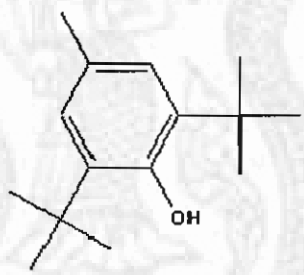
อนุมูลอิสระ (free radical)

อนุมูลอิสระ คือ อะตอมโมเลกุล หรือสารที่ไม่เสถียรเนื่องจากมีอิเลคตรอนเดี่ยวอยู่ในออร์บิทัลวงนอกสุดที่มีระดับพลังงานสูง ซึ่งรวมไปถึงอิออนของทรานซิชันส่วนใหญ่ และอะตอมของไฮโดรเจน นอกจากนี้โมเลกุลของออกซิเจนก็จัดว่าเป็นอนุมูลเพราะมีอิเลคตรอนจำนวน 2 อิเลคตรอน ซึ่งแต่ละอิเลคตรอนจะแยกกันอยู่เป็นอิเลคตรอนเดี่ยวในแต่ละออร์บิทัล ทั้งนี้การหมุนรอบตัวเอง (spin) ของอิเลคตรอนทั้งสองจะหมุนแบบคู่ขนานในทิศทางเดียวกัน

อนุมูลอิสระมีทั้งที่อยู่ในสภาวะที่เป็นกลางทางไฟฟ้า ($R^{\cdot}$) และในสภาวะที่มีประจุไฟฟ้า

($R^{-\bullet}$, $R^{+\bullet}$) อนุมุลที่มีน้ำหนักต่ำจะไวต่อการเกิดปฏิกิริยามากกว่าอนุมูลที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง เนื่องจากขาดอิเลคตรอนและพยายามที่จะจับคู่อิเลคตรอนกับอิเลคตรอนเดี่ยวอื่น โดยสารที่ถูกแย่งอิเลคตรอนไป จะเกิดความไม่เสถียรจึงต้องการอิเลคตรอนเข้ามาเพิ่มเพื่อให้ตนเองเสถียร จึงต้องแย่งสารอื่นไปเป็นทอด ๆ

อย่างไรก็ตาม ยังมีอนุมูลอิสระบางชนิดที่มีความเสถียร เช่น butylated hydroxytoluene (BHT) ภาพที่ 5 เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีตัวอย่างของอนุมูลอิสระที่มีความสำคัญทางชีวภาพที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยา คือ อนุมูลซุปเปอร์ออกซี ($O_2^{-\bullet}$) อนุมูลไฮดรอกซี ($^{\bullet}OH$) อนุมูลอัลคอกซี ($RO^{\bullet}$) และอนุมูลเปอร์ไฮดรอกซี ($OH_2^{\bullet}$) ส่วนอนุมูลอิสระที่มีความว่องไวรองลงมาได้แก่ ไนตริกออกไซด์ (NO) หรืออนุมูลไนตริกออกไซด์ ($^{\bullet}NO$) อนุมูลวิตามินอีและอนุมูลวิตามินซี



ภาพที่ 5 โครงสร้างของ butylated hydroxytoluene (BHT)

การเกิดอนุมูลอิสระมีได้หลายกลไกแตกต่างกัน ดังนี้

A.การแตกพันธะของโควาเลนท์แบบโฮโมไลซิส (homolysis)

$$R - R_1 \longrightarrow R^{\bullet} + R^{\bullet}_1$$

B.การเพิ่มอิเลคตรอน 1 ตัวให้แก่อะตอมที่เป็นกลาง (ทางไฟฟ้า)

$$R + e^{-} \longrightarrow R^{-\bullet}$$

C.การสูญเสียอิเลคตรอน 1 ตัว จากอะตอมที่เป็นกลาง (ทางไฟฟ้า)

$$R \longrightarrow R^{+\bullet} + e^{-}$$

โดยหลักการทางเคมีอนุมูลอิสระเกิดได้โดย ปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรเซชันแบบลูกโซ่แรดิคัล ซึ่งมีขั้นตอนการเกิด 3 ขั้นตอนดังนี้

A.ขั้นริเริ่ม (Initiation step) เป็นขั้นที่ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระ

$$I\text{-}1 \longrightarrow 2R^{\bullet}_1$$

เมื่อ I = ตัวริเริ่มปฏิกิริยา, $R^{\bullet}_1$ = free radical

B. ขั้นแผ่ขยาย (propagation step) เป็นขั้นที่มีการขยายออกของโมเลกุลพอลิเมอร์ โดยมีการเติมมอนอเมอร์เข้าไปที่ free radical มี 2 แบบ คือ

- แบบหัวต่อหาง (head to tail)

- แบบหัวต่อหัว (head to head)

ปฏิกิริยาการเติมมอนอเมอร์จะเกิดขึ้นเรื่อย ๆ จนเป็นพอลิเมอร์ยาวที่มีส่วนปลายเป็น free radical (head to head)

C.ขั้นสิ้นสุด (termination) เป็นการทำปฏิกิริยาของพอลิเมอร์ที่มีส่วนปลายเป็น free radical ด้วยวิธีใดวิธีหนึ่งต่อไปนี้

- การรวมตัว หรือการจับคู่ (combination or coupling) เป็นปฏิกิริยาที่เกิดจากการรวมตัวกันเองของโมเลกุลที่มี free radical ปฏิกิริยาเลยสิ้นสุดลง

- การแยกส่วน (disproportionation) เป็นปฏิกิริยาที่มีการย้ายไฮโดรเจนจากโมเลกุลข้างเคียง ซึ่งจะได้พอลิเมอร์ 1 โมเลกุลที่มีพันธะคู่ตรงปลายโมเลกุล

- การย้ายสายโซ่ (chain transfer) เป็นปฏิกิริยาที่มีการเติมสารที่สามารถให้โปรตอน (Chain transfer agent) แก่พอลิเมอร์ที่มีส่วนปลายเป็น free radical

เมื่อ TX = สารที่อะตอมว่องไวต่อปฏิกิริยา (active atom) ซึ่งอาจเป็นมอนอเมอร์ พอลิเมอร์ หรือ ตัวทำละลาย

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant)

เป็นสารที่สามารถ กำจัด ยับยั้ง หรือ ทำลายอนุมูลอิสระ โดยการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain breaking antioxidant) ในการยับยั้งหรือกำจัดอนุมูลอิสระ เช่น lipid alkoxyl และ peroxyl radical เป็นต้น โดยเป็นตัวให้ไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระเหล่านั้น โดยจะได้ผลิตภัณฑ์เป็นอนุมูลฟีนอกซิล ซึ่งเป็นสารที่มีความเสถียรมากกว่า เนื่องจากโครงสร้างของสารต้านอนุมูลอิสระเมื่อการเป็นอนุมูลอิสระแล้วโครงสร้างสามารถ Delocalize อิเลคตรอนได้ตลอดเวลาจึงมีความเสถียรมากขึ้น โดยกลไกเป็น ดังปฏิกิริยา โดยยกตัวอย่างสารจำพวก ฟลาโวนอยด์ ซึ่งมีโครงสร้างของไฮโดรควิโนนเป็นองค์ประกอบในโมเลกุล

$$\text{Flavonoid} - OH + R^{\bullet} \longrightarrow \text{Flavonoid} - O^{\bullet}$$

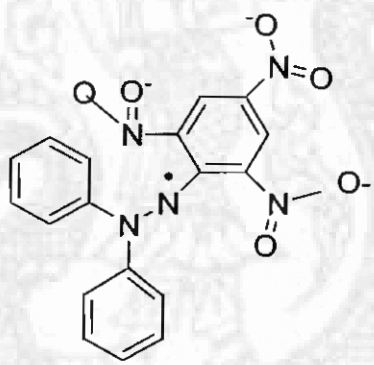
Flavonoid – OH : สารฟลาโวนอยด์

$R^{\bullet}$: อนุมูลอิสระในร่างกาย

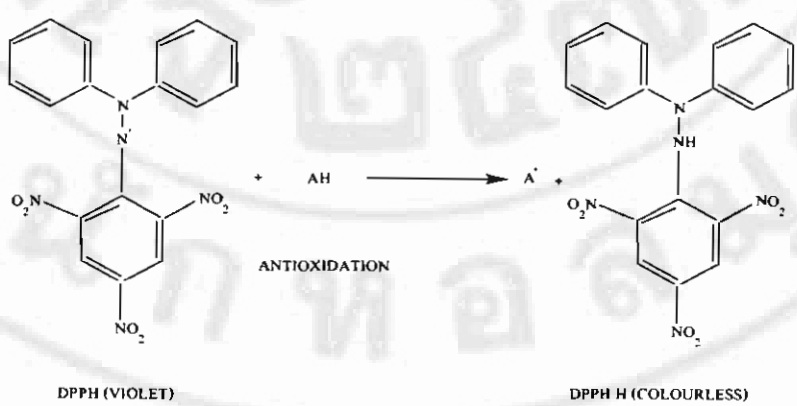
Flavonoid – O· : อนุมูลฟีนอกซิล

การทดสอบฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน

การทดสอบฤทธิ์ของสารในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสามารถตรวจสอบได้โดยการติดตามปริมาณผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยา โดยในงานวิจัยนี้ได้ทดสอบฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay (Yamasaki และคณะ, 1994) ซึ่งเป็นการทดสอบฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยให้สารตัวอย่างทำปฏิกิริยากับสาร DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่เสถียรมีสีม่วง เมื่อ DPPH ได้รับอิเล็กตรอนหรืออนุมูลอิสระไฮโดรเจน จะเปลี่ยนเป็น DPPH : H ติดตามผลการทดลองโดยวัดการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 517นาโนเมตร ซึ่งเป็นค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH โดยโครงสร้าง แสดงดังภาพที่ 6 และ กลไกการต้านอนุมูลอิสระแสดงในสมการ ภาพที่ 7



ภาพที่ 6 โครงสร้างของ DPPH radical (1,1-diphynyl 2- picrylhydrazyl radical)



ภาพที่ 7 ปฏิกิริยาต้านอนุมูลอิสระของสารกับ DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาการสังเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone โดยปฏิกิริยาการควบแน่นแบบอัลดอลระหว่าง1,4-Cyclohexanedioneกับ3,4 Dihydroxybenzaldehyde

2. เพื่อศึกษาลักษณะโครงสร้างของอนุพันธ์ไฮโดรควิโนนที่สังเคราะห์ได้ ด้วยเทคนิค furrier transform infrared spectroscopy และ เทคนิค ^{1}H nuclear magnetic resonance spectroscopy

3. เพื่อเปรียบเทียบคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของอนุพันธ์ไฮโดรควิโนนที่สังเคราะห์ได้ ด้วยเทคนิค DPPH scavenging test และเทคนิค spectrophotometric assay

4. เพื่อศึกษากระบวนการผลิตไบโอดีเซลจาก น้ำมันปาล์ม น้ำมันที่เหลือใช้จากการทอด น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันละหุ่ง รวมคุณภาพของไบโอดีเซลที่สังเคราะห์ได้

5. เพื่อศึกษาการต้านอนุมูลอิสระในไบโอดีเซลโดยใช้อนุพันธ์ที่สังเคราะห์ได้

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงกระบวนการสังเคราะห์ 2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone จากปฏิกิริยาการควบแน่นแบบอัลดอล

2. ทราบถึงกระบวนการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์ม น้ำมันที่เหลือใช้จากการทอด น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันละหุ่ง

3. ปรับปรุงคุณภาพของไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์ม น้ำมันที่เหลือใช้จากการทอด น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันละหุ่ง ที่มีการเติมสารต้านอนุมูลอิสระที่สังเคราะห์ง่าย และราคาไม่แพง

4. ถ่ายทอดความรู้โดยการเผยแพร่ผลงานวิชาการ เพื่อปรับใช้ในการปรับปรุงคุณภาพไบโอดีเซลในโครงการผลิตไบโอดีเซลตามแหล่งชุมชนต่างๆ

การตรวจเอกสาร

ณัฐพร บุญมาครอง (2553: 65) รายงานว่า การศึกษาการสังเคราะห์อนุพันธ์ไฮโดรควิโนนด้วยปฏิกิริยาการควบแน่นแบบอัลดอลระหว่าง 1,4-Cyclohexanedione กับอนุพันธ์ของอัลดีไฮด์ 4 ชนิด ได้แก่ 2,3,4-ไดรไฮดรอกซีเบนซัลดีไฮด์3-ไนโตรเบนซัลดีไฮด์ 3,4-ไดไฮดรอกซีเบนซัลดีไฮด์ และ 3,5-เมทอกซี-4-ไดไฮดรอกซีเบนซัลดีไฮด์ ซึ่งสารสังเคราะห์อนุพันธ์ไฮโดรควิโนนที่ได้คือ 2-(2,3,4-Trihydroxybzyl) hydroquinone, 2-(3-Nitrobenzyl) hydroquinone, 2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone และ 2-(4-Hydroxy-3,5-dimethoxybenzyl) hydroquinone จากผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเบื้องต้นด้วยวิธี DPPH radical scavenging ชี้ให้เห็นว่า สารสังเคราะห์อนุพันธ์ไฮโดรควิโนนทั้ง4ชนิดแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและเมื่อนำมาวิเคราะห์เชิงปริมาณโดยวิธี Spectrophotometric assay พบว่า 2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด ด้วยค่า IC_{50}เท่ากับ 0.11 mg/ml อีกทั้งได้นำสารสังเคราะห์อนุพันธ์ไฮโดรควิโนนทั้ง 4 ชนิด มาทดสอบเพื่อเป็น สารตัวเติมในน้ำยางข้นพบว่า ยางที่ผสมสารสังเคราะห์อนุพันธ์ไฮโดรควิโนนชนิด 2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone สามารถทนสารเคมีและตัวทำละลายได้ดีที่สุด ด้วยค่า Swelling ratio เท่ากับ 1.00 เมื่อเทียบกับสารมาตรฐานโลวินอกซ์ และเมื่อศึกษากระบวนการเปลี่ยนแปลงทางความร้อนโดยใช้เทคนิค Differential scanning calorimetry พบว่ายางที่ผสมสารสังเคราะห์อนุพันธ์ไฮโดรควิโนนทุกชนิดมีความเสถียรทางความร้อนที่ดีขึ้น โดยมีจุดหลอมเหลวที่สูงกว่าจุดหลอมเหลวของยางธรรมชาติ

วิมาลา เมืองอ่อน และศิริณา โพธิ์ดี (2544: 25) รายงานว่า การหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์มใช้แล้ว โดยใช้ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันและมีโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ซึ่งสภาวะที่ทำการศึกษาคือ อัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันต่อเมทานอล ปริมาณตัวเร่งปฏิกิริยาที่ใช้ อุณหภูมิ และเวลาในการทำปฏิกิริยา จากผลการศึกษาพบว่า ที่อัตราส่วนของน้ำมันต่อเมทานอลเท่ากับ 1: 6 ปริมาณตัวเร่งปฏิกิริยาเท่ากับ 0.3 กรัมในเมทานอล 25 มิลลิลิตร อุณหภูมิการทดลองเท่ากับ 75 องศาเซลเซียสเวลาในการทำปฏิกิริยาเท่ากับ 40 นาที ให้ร้อยละผลผลิตของไบโอดีเซลสูงที่สุดและไบโอดีเซลที่ได้มีคุณสมบัติทางเชื้อเพลิงใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซลปกติ ซึ่งสามารถใช้แทนน้ำมันดีเซลจากปิโตรเลียมได้

สิงห์ทอง หล่ำจันทึก และคณะ (2550: 1-7) พบว่า วิธีการผลิตที่มีผลต่อกระบวนการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากน้ำมัน 6 ชนิด ได้แก่ น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันปาล์ม น้ำมันบัว น้ำมันรำข้าว น้ำมันข้าวโพด และน้ำมันใช้แล้ว โดยใช้ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน แบบ 1 ขั้นตอน โดยแบ่งการทดลองเป็น 3 ชุด ดังนี้

ชุดที่ 1) 1% NaOH 10% Methanol ของน้ำมันและเวลาในการทำปฏิกิริยา 30 นาที

ชุดที่ 2) 0.6%NaOH 20% Methanol ของน้ำมัน และเวลาในการทำปฏิกิริยา 120 นาที

ชุดที่ 3) 0.35%NaOH 20% Methanol ของน้ำมัน และเวลาในการทำปฏิกิริยา 120 นาที

จากผลการศึกษาพบว่า การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันรำข้าว น้ำมันบัว น้ำมันข้าวโพด และน้ำมันที่ใช้แล้ว ควรใช้การผลิตด้วยการทดลองชุดที่2 ส่วนการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันปาล์มนั้น ควรใช้การผลิตด้วย การทดลองชุดที่ 3

อภิญญา วัฒนา (2551: 26-27) พบว่า การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันเมล็ดส้มโอ โดยเร่งปฏิกิริยาทรานส์เมทิลเลชันด้วยไมโครเวฟในสภาวะด่าง ศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันโดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทรกราฟีและศึกษาความสามารถในการผลิตเป็นไบโอดีเซลของน้ำมันเมล็ดส้มโอผลการศึกษาพบว่า น้ำมันเมล็ดส้มโอประกอบด้วย กรดคาพริลิก กรดคาพริก กรดลอริก กรดไมริสติก กรดปาล์มิติก กรดปาล์มมิโตเลอิก กรดสเตียริก กรดเลอิก กรดลิโนเลอิก กรดอะราชิดิก กรดอีโคซาไดโนอิก กรดเบเฮนิกและกรดลิกโนเซอริก น้ำมันมีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 858.15 ศึกษาคุณสมบัติทางเชื้อเพลิง พบว่ามีค่าสปอนนิฟิเคชัน 194.88 ค่าไอโอดีน 96.70 ค่าซีเทน 52.55 และค่าความร้อนของการเผาไหม้ 39.95 MJ/Kg จากผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าน้ำมันเมล็ดส้มโอมีศักยภาพในการผลิตเป็นไบโอดีเซล

กาญจนา พงษ์ตระกูล และ มนตรี วงศ์ศรี (2550: 107-110) รายงานว่า การศึกษาผลของสารต้านออกซิเจนต่อเสถียรภาพเชิงออกซิเดทีฟของน้ำมันไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์มรีไฟน์น้ำมันปาล์มดิบและไขปาล์มสเตียรินโดยใช้สารต้านต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันคือสารประเภทฟีโนลิคสารผสมของอะลิฟาติคเอสเทอร์ (ผลิตภัณฑ์ทางการค้า) สารผสมของฟีนอล (ผลิตภัณฑ์ทางการค้า) โดยใช้ปริมาณที่ 100, 250 และ 500 ppm ที่อุณหภูมิ 110, 150 และ 200 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่องทดสอบ743รังสิแมท จากผลการการทดสอบพบว่าที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียสสารผสมของฟีนอลที่250ppmไขปาล์มสเตียริน จะให้ค่าเสถียรภาพต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Reduction time) สูงสุดคือ 41.06 ชั่วโมงสำหรับน้ำมันปาล์มดิบ และน้ำมันปาล์มรีไฟน์จะให้ค่าเสถียรภาพต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่20.76และ20.63ชั่วโมงตามลำดับ และเมื่อทำการ

ทดสอบคุณสมบัติทางเชื้อเพลิงต่าง ๆ ของน้ำมันปาล์มที่เติมสารต้านออกซิเดชันเช่นค่าความเป็นกรดกากถ่านไอโอดีนความหนืดปริมาณน้ำจุดวาบไฟโมโนกลีเซอร์ไรด์ไดกลีเซอร์ไรด์ไตรกลีเซอร์ไรด์กลีเซอรีนอิสระกลีเซอรีนทั้งหมดโดยทดสอบตามมาตรฐาน ASTM และ EN พบว่ามีคุณสมบัติเป็นไปตามมาตรฐานของไบโอดีเซล

Yung Chee Liang et al. (2009: 867-870) รายงานว่า การศึกษาผลของสารต้านออกซิเดชันของน้ำมันไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์มดิบ(ไม่เติมสารต้านออกซิเดชัน)เทียบกับน้ำมันปาล์มกลั่นบริสุทธิ์ (เติมสารต้านออกซิเดชัน)ซึ่งสารต้านออกซิเดชันที่ใช้ คือ BHT (Butylatedhydroxytoluene) และTBHQ (Tetra- butylhydroquinone)โดยใช้ปริมาณที่ 50, 250,500 และ 1000 ppm ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียสด้วยเครื่องทดสอบ743รังสิแมท จากผลการการทดสอบพบว่า BHT 250, 500 และ 1000 ppm ให้ค่าเสถียรภาพต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ 6.18, 7013.10 และ 16.60 ชั่วโมงตามลำดับ สำหรับ TBHQ จะให้ค่าเสถียรภาพต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ 8.85, 130.20 และ 48.00 ชั่วโมงตามลำดับ

อุปกรณ์และวิธีการ

สารเคมี

ชื่อสารเคมี	บริษัทผู้ผลิต	ประเทศ
1. Acetic acid (CH_3COOH)	Lab Scan Asia	Thailand
2. 1, 4-Cyclohexanedione	Sigma-Aldrich	Germany
3. 3, 4- Dihydroxybenzaldehyde	Sigma-Aldrich	Germany
4. Ethanol (CH_3CH_2OH)	J.T.Baker	USA.
5. Ethyl acetate ($C_4H_8O_2$)	Analytical Univar A.R	Australia
6. Hexane (C_6H_{14})	Lab Scan Asia	Thailand
7. Hydrochloric acid (HCl)	Analytical Reagent A.R	Thailand
8. Iodine monochroride (ICl)	Panreac Sintesis	E.U.
9. Lithium chloride (LiCl)	Ajax fine chemical	Australia
10. Methanol (CH_3OH)	Lab Scan Asia	Thailand
11. Pyridine (C_5H_5N)	Ajax fine chemical	Australia
12. Silica gel GF_{254}	Merck	Germany
13. Sodium chloride (NaCl)	Merck	Germany
14. Sodium hydroxide (NaOH)	Merck	Germany
15. Sodium sulphate (Na_2SO_4)	Ajax fine chemical	Australia
16. สารมาตรฐานกรดไขมัน (C16-22)	Sigma-Aldrich	Germany

เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องมือและอุปกรณ์	บริษัทผู้ผลิตและรุ่น	ประเทศ
1. Analytical Balance	Mettler Toledo รุ่น AB304 – S	Switzerland
2. Fourier Transform Infrared Spectrometer	Perkin Elmer	USA.
3. Gas Chromatography	Aeilent Technologies รุ่น 7890A	USA.
4. Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer	Bruker AMX	Australia
5. Rancimat	Metrohm 743	Switzerland
6. Rotary Evaporator	Butaehi รุ่น B-480	Switzerland
7. UV – Spectrophotometer	CA91786	USA.

วิธีการทดลอง

การสังเคราะห์ 2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone

นำ 1,4- Cyclohexane dione 0.01 mol, 3, 4- Dihydroxy benzaldehyde 0.01 mol และ Lithium chloride 0.01 mol และ Pyridine ปริมาตร 20 ml ลงในขวดก้นกลมขนาดนำไปทำปฏิกิริยาในชุดรีฟลักซ์โดยให้ความร้อนที่ 80 ^{0}C เป็นเวลา 8 ชั่วโมง

การสกัดสารสังเคราะห์

นำสารที่สังเคราะห์ได้ไปสกัดด้วย Ethyl acetate ปริมาตร 20 ml กับ 10 % HCl ปริมาตร 10 ml เขย่าประมาณ 10 นาทีและปล่อยให้สารแยกชั้นกันดี หลังจากนั้นสกัดต่อด้วย NaCl อิ่มตัว ปริมาตร 10 ml นำสารที่สกัดได้มากำจัดน้ำ โดยใช้ $NaSO_4$ (anhydrous) หลังจากนั้นระเหยด้วยเครื่องระเหยความดันไอต่ำ

การแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทรกราฟี (column chromatography)

ใช้เฟสเคลื่อนที่ Ethyl acetate : Hexane ที่อัตราส่วน 10:90 จนหมด ค่อยๆชะสารลงมา แล้วเพิ่มขั้วของเฟสคงที่ขึ้นเรื่อยๆ โดยเปลี่ยนอัตราส่วนของ Ethyl acetate : Hexane เป็น 20:80, 30:70, 40:60, 50:50, 60:40, 70:30, 80:20, 90:10, 100:0 หรือหยุดเพิ่มขั้วเมื่อ สารแยกออกมาจากคอลัมน์หมดแล้ว และทดสอบหาชนิดของสารสังเคราะห์ที่แยกออกจากคอลัมน์ด้วยเทคนิค TLC โดยใช้ Ethyl acetate: Hexane ที่อัตราส่วน 1:9 เป็นเฟสเคลื่อนที่

การวิเคราะห์สารโดยเทคนิค Fourier transform infrared Spectroscopy

นำสารสังเคราะห์อนุพันธ์ไฮโดรควิโนนที่บริสุทธิ์มาเตรียมโดยใช้วิธี KBr disc และนำไปทดสอบด้วย เครื่อง Fourier transform Infrared spectrometer

การวิเคราะห์โดยเทคนิค ^{1}H Nuclear magnetic resonance spectroscopy

2.3.5.1 นำสารสังเคราะห์อนุพันธ์ไฮโดรควิโนนที่บริสุทธิ์ ประมาณ 30 มิลลิกรัมใส่หลอด NMR tube โดยใช้ตัวทำละลาย คือ $CDCl_3$ ละลายจนเป็นเนื้อเดียว แล้วนำไปทดสอบด้วยเครื่อง Nuclear magnetic resonance spectrometer

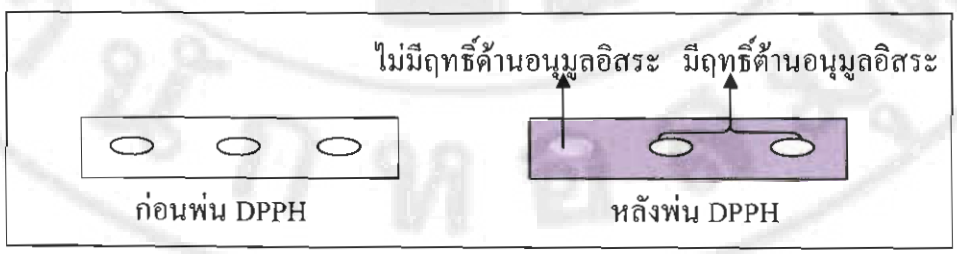
การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค DPPH radical scavenging assay

เตรียมสารละลายของ 2,2 – Diphenyl -1-picryhydrazyl (DPPH) ในเมทานอลโดยชั่ง DPPH ปริมาตร 11.80 มิลลิกรัม ละลายในเมทานอลแล้วปรับปริมาตรในขวดวัดปริมาตรให้เป็น 100.00 ml และป้องกันสารที่เตรียมเสร็จแล้วไม่ให้โดนอากาศและแสง

จุด (spot) สารที่สนใจทดสอบลงบนแผ่น TLC

พ่นสารละลาย DPPH ซึ่งเป็นสารสีม่วงเข้มลงบนแผ่น TLC ที่เตรียมไว้ให้ทั่วถึงพยายามพ่นให้เป็นละอองเล็ก ๆ และระวังอย่าให้แผ่น TLC เปียกโชกจนเกินไป

สังเกตผลที่เกิดขึ้นบนแผ่น TLC หากสารใดมีฤทธิ์ต้านในการด้านอนุมูลอิสระจะเกิดการฟอกจางสีของ DPPH บนแผ่น TLC เนื่องจากสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะทำปฏิกิริยากับDPPH radical ทำให้สีม่วงของ DPPH หายไป และควรมองเห็นสีของสารนั้นเป็นสีเดิม (สีก่อนพ่นDPPH ลงไป) ดังภาพที่ 8



ภาพที่ 8 ลักษณะของแผ่น TLC ก่อนและหลังการพ่น DPPH

ทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค Spectrophotometric assay

-นำสารสังเคราะห์ไฮโดรควิโนน 1.00 mg ละลายในเมทานอลปริมาตร 4 ml

ทำการเจือจางสารตัวอย่างให้มีความเข้มข้นเป็น 0.125000, 0.062500, 0.031250, 0.015625 และ 0.007813 mg/ml

- เติมสารตัวอย่างที่เตรียมไว้ในข้อ 3.7.2 ลงในไมโครเพลต ปริมาตร 50 µl โดยทำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

-เติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 200 µl ใส่ในไมโครเพลทที่เติมสารตัวอย่างไว้

-วางไว้ในที่มืด ณ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที

-นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เมทานอลเป็นสารมาตรฐานควบคุม

การกำจัดกรดไขมันอิสระในน้ำมันที่ใช้แล้ว

นำน้ำมันพืชที่ใช้แล้วมากรอง และตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน หลังจากนั้นต้มน้ำมันจนอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และเติมน้ำลงไปร้อยละ 20 ของน้ำมัน คนสม่ำเสมอจนถึงอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส ตั้งทิ้งไว้ 1 วัน จะเกิดการแยกตัว 2 ชั้นคือ ชั้นของน้ำมันและน้ำ นำชั้นของน้ำมันมาใช้ในขั้นตอนต่อไป (ข้อ 3.9)

การเตรียมเมทิลเอสเทอร์ (ไบโอดีเซล) จากน้ำมันที่ใช้ในการทดลอง

-นำน้ำมันพืชที่ใช้แล้ว และผ่านการกำจัดกรดไขมันอิสระแล้ว ปริมาณ 70 กรัม ลงในขวดก้นกลม

-เติมเมทอกไซด์ (เมทานอลร้อยละ 20 โดยน้ำหนักของปริมาณน้ำมัน ผสมกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ ร้อยละ 0.6 โดยน้ำหนักของปริมาณน้ำมัน)

-นำไปทำปฏิกิริยาในชุดรีฟลักซ์โดยให้ความร้อนที่ 70-75 ^{0}C ใน oil bath และคนสารตลอดการทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 2 ชั่วโมง และนำสารที่ได้ไปแยกด้วยกรวยแยก

- ทำการล้างไบโอดีเซลด้วยน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 60^{0}C จนสารละลายที่ได้เป็นกลาง หลังจากนั้นชั่งน้ำหนักสารละลายที่ได้ และนำมาคำนวณหาร้อยละผลผลิตที่ได้เทียบกับน้ำมันที่ใช้เริ่มต้น

-ทำการเตรียมไบโอดีเซลจาก น้ำมันปาล์ม น้ำมันละหุ่ง และน้ำมันถั่วเหลือง ได้โดยวิธีการเดียวกัน

การวิเคราะห์เมทิลเอสเทอร์ (ไบโอดีเซล) ด้วยเทคนิคโครมาโทรกราฟีผิวบาง

(Thin layer chromatography; TLC)

-หลังจากที่เตรียมเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันที่ใช้แล้ว น้ำมันปาล์ม น้ำมันงา และน้ำมันถั่วเหลือง แล้วต้องนำมาทดสอบคุณสมบัติความเป็นไบโอดีเซลโดยเทียบกับสารตั้งต้น (น้ำมันก่อนทำปฏิกิริยา) และสารมาตรฐานเมทิลเอสเทอร์ (C16:0; สารมาตรฐานทางการค้า)

- หยดน้ำมันตัวอย่างและกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ที่ต้องการวิเคราะห์ลงบนจุดเริ่มต้นบนแผ่น TLC ทิ้งไว้ให้แห้ง

-จุ่มลงในสารละลายผสมของ เฮกเซน 90 มิลลิลิตร เอทิลอะซีเตต 10 มิลลิลิตรและกรดซัลฟิวริก 1 มิลลิลิตร ทิ้งไว้จนสารละลายเคลื่อนที่ผ่านจุดหยดของตัวอย่างมาจนถึงขีดสิ้นสุดบนแผ่น TLC ทิ้งไว้สักครู่เพื่อให้แผ่น TLC แห้ง หลังจากนั้นนำแผ่น TLC ไปอังไอของเกล็ดไอโอดีนในสภาวะอิ่มตัวจะเกิดเป็นแถบของสารปรากฏขึ้น

การวิเคราะห์เมทิลเอสเทอร์ (ไบโอดีเซล) ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทรกราฟี (GC)

หลังจากทดสอบเมทิลเอสเทอร์ (ไบโอดีเซล) ด้วยเทคนิค TLC แล้วพบว่ามีคุณสมบัติเป็นไบโอดีเซล จึงนำมาวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทรกราฟี เพื่อตรวจสอบคุณสมบัติทางเชื้อเพลิงของไบโอดีเซล โดยใช้คอลัมน์ HP-5 (5% Phenyl Methyl Siloxane) และใช้ตัวตรวจวัดแบบเฟลมไอออไนเซชัน (FID)

สภาวะที่ใช้ในการทดลอง

แก๊สตัวพา (carrier gas)	: แก๊สไนโตรเจน
ความดันเกจ	: แก๊สไนโตรเจน 75 KPa
	: แก๊สไฮโดรเจน 60 KPa
	: แก๊สออกซิเจน 5 KPa
อุณหภูมิ	: อินเจคเตอร์ (injector port) 300 ^{0}C
	: เครื่องตรวจวัด (detector) 300 ^{0}C
	: เตาอบ (oven) แบบสภาวะโปรแกรมอุณหภูมิ (temperature program) ตั้งแต่ 150 - 300 ^{0}C
ปริมาณสารตัวอย่างที่ฉีดเข้าไป	: 1.3 ไมโครลิตร
	: split 100:1

การคำนวณผลจากการวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทรกราฟี

-วิเคราะห์สัดส่วนกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบ (% FA)

-วิเคราะห์ชนิดของกรดไขมัน ซึ่งหาได้จากการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน โดยเวลาในการแยกสาร โดย คำนวณค่าสปอนนิฟิเคชัน (SN) ได้จากการคำนวณค่าสัดส่วนของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบ คำนวณค่าไอโอดีน (IV) เป็นค่าบ่งชี้บอกระดับความไม่อิ่มตัวเฉลี่ยของไขมันซึ่งสามารถหาได้จากจำนวนพันธะคู่ที่วิเคราะห์ได้ในโมเลกุลและสัดส่วนของกรดไขมันอิสระ คำนวณค่าซีเทน (Cetane number) และค่าความร้อนของการเผาไหม้ (Heat combustion) ได้จากค่าสปอนนิฟิเคชันและค่าไอโอดีน

การเติมสารต้านอนุมูลอิสระในไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์มและน้ำมันใช้แล้ว

หลังจากที่ทดสอบเมทิลเอสเทอร์ที่สังเคราะห์ได้ ด้วยเทคนิค TLC และวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทรกราฟีนั้น ต้องพบว่า เมทิลเอสเทอร์ที่สังเคราะห์ได้แสดงคุณสมบัติเป็นไบโอดีเซลและมีคุณสมบัติทางเชื้อเพลิงเป็นไปตามมาตรฐานของไบโอดีเซล จึงจะสามารถเติมสารต้านอนุมูลอิสระได้ ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

-เตรียมไบโอดีเซลจากน้ำมันทั้ง 4 ชนิด อย่างละ 45 ml

-ชั่ง 2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone 0.0125 กรัม จากนั้นละลายด้วยEthanol 2 ml และ Hexane 3 ml

-เติมลงในไบโอดีเซลที่เตรียมไว้ ซึ่งจะได้ความเข้มข้น 250 ppm

-นำไปทดสอบค่าเสถียรภาพในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไบโอดีเซลด้วยเครื่อง Rancimat

การหาค่าของกรดและปริมาณกรดไขมันอิสระจากการไทเทรต

สารละลายที่ใช้และวิธีเตรียม

-เตรียมสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ในน้ำกลั่น ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล โดยชั่งโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 5.61 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 1 ลิตร

-สารผสมโพรพานอลกับโทลูอีนในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 โดยปริมาตร และทำให้เป็นกลางต่อฟีนอล์ฟทาลีนด้วยสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์

-สารละลายฟีนอล์ฟทาลีนอินดิเคเตอร์ โดยละลายฟีนอล์ฟทาลีน 1 กรัม ใน โพรพานอล ทำให้เป็น 100 มิลลิลิตร

วิธีวิเคราะห์

-ชั่งน้ำมัน 2.50 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่

-เติมสารผสมโพรพานอลกับโทลูอีน ปริมาณ 125 ml โดยใช้กระบอกตวง เขย่าให้น้ำมันละลาย อาจใช้ความร้อนในกรณีที่น้ำมันไม่ละลายในสารละลาย

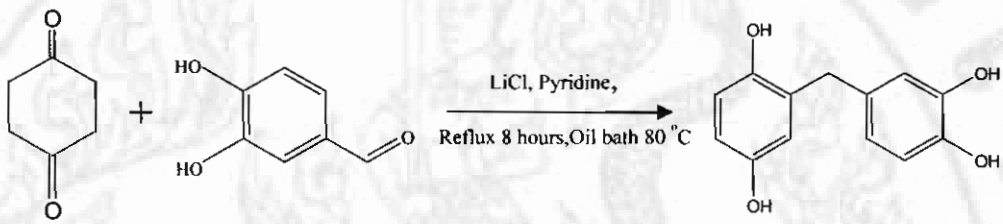
- เติมสารละลายฟีนอลฟ์ทาลีนอินดิเกเตอร์ ปริมาณ 2 มิลลิลิตร

-ไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ จนสารละลายเริ่มเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อนและคงตัวอยู่ 30 วินาที จากนั้นบันทึกปริมาตรของสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้

ผลการวิจัย และวิจารณ์ผลการวิจัย

การสังเคราะห์สารอนุพันธ์ไฮโดรควิโนน

จากการสังเคราะห์ 2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone โดยใช้ปฏิกิริยาการควบแน่นแบบอัลดอลระหว่างสาร1,4-Cyclohexanedione 0.01 molกับ3,4-Dihydroxybenzaldehyde 0.01 mol โดยมี Lithium chloride 0.01 molเป็นสารตัวเร่งปฏิกิริยาในตัวทำละลายไพริดีน ดังภาพที่ 9 กลไกการเกิดปฏิกิริยาแสดงดังภาพที่ 10 และผลการสังเคราะห์แสดงดังตารางที่ 2



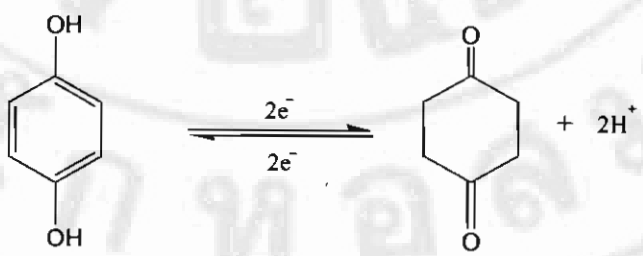
1,4-Cyclohexanedione 3,4-Dihydroxybenzaldehyde 2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone

ภาพที่ 9 ปฏิกิริยาการสังเคราะห์ 2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone โดยใช้ปฏิกิริยาการควบแน่นแบบอัลดอล

ปฏิกิริยาการควบแน่นแบบอัลดอลสามารถเขียนกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังนี้

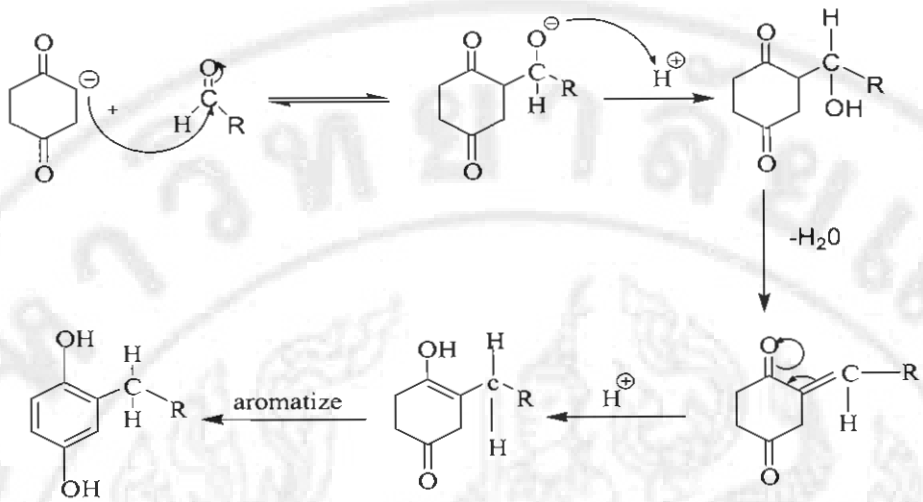
ขั้นที่ 1

โมเลกุลของสารไฮโดรควิโนนหรือ 1, 4-Cyclohexane เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันขึ้นเอง



1, 4-Cyclohexane1, 4-Cyclohexanedione

ขั้นที่ 2 โมเลกุลของไฮโดรควิโนนอยู่ในสภาวะสูญเสียโปรตอนทำให้อยู่ในภาวะที่เป็นคาร์แบนไอออนและเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของอัลดีไฮด์ตรงตำแหน่ง -C- ในหมู่คาร์บอนิล ของโมเลกุลสารอนุพันธ์อัลดีไฮด์



ภาพที่ 10 กลไกการเกิดปฏิกิริยาอัลดอลคอนเดนเซชัน

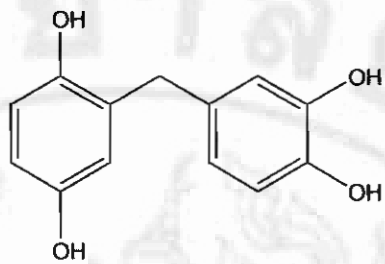
ตารางที่ 2 ผลการสังเคราะห์ 2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone โดยใช้ปฏิกิริยาการควบแน่นแบบอัลดอล

ชื่อสาร	ลักษณะผลึกและสี	melting point (^{0}C)	% yield
2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone	สีม่วงน้ำตาล	165-170	46.44

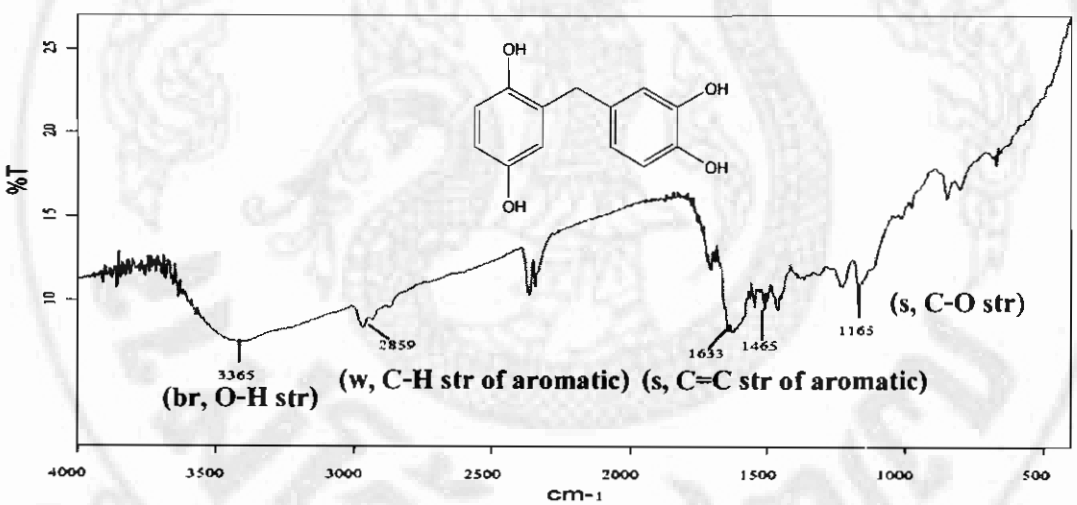
ผลการศึกษาเอกลักษณ์ของ 2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone ด้วยเทคนิค Furrier transform infrared spectroscopyและเทคนิค ^{1}H-NMR

จากการนำ2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinoneมาวิเคราะห์เพื่อพิสูจน์เอกลักษณ์เฉพาะด้วยเทคนิค Furrier transform infrared spectroscopy พบสเปคตรัมที่เด่นชัด คือ สเปคตรัมของหมู่ไฮดรอกซี(-OH) ดังภาพที่ 12 (ก) และจากการวิเคราะห์เพื่อพิสูจน์เอกลักษณ์เฉพาะด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR พบว่า ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคนี้ทำให้สามารถทราบตำแหน่งที่แน่นอนของสารองค์ประกอบและหมู่แทนที่ในโมเลกุล เมื่อวิเคราะห์สัญญาณที่ปรากฏแล้วพบว่าโมเลกุล

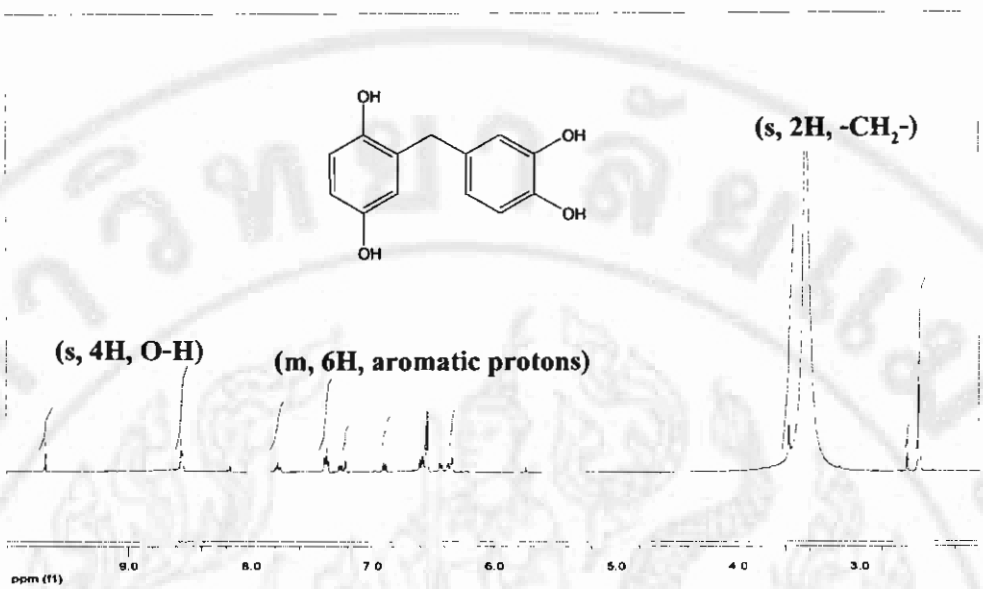
ของ2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinoneประกอบไปด้วยวงอะโรมาติก 2 วง เชื่อมต่อกันด้วยพันธะคาร์บอน และจะมีเอกลักษณ์ตามหมู่แทนที่ของวงอะโรมาติกที่ 2 ดังภาพที่ 11



ภาพที่ 11 ลักษณะโครงสร้างของ2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone



(ก)



(ข)

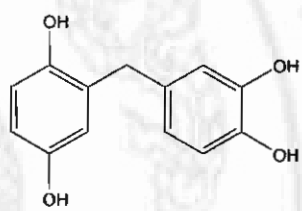
ภาพที่ 12 สเปคตรัมของสารสังเคราะห์ 2-(3,4-dihydroxybenzyl) hydroquinone

(ก) Furrier transform infrared spectroscopy

(ข) ^{1}H-NMR

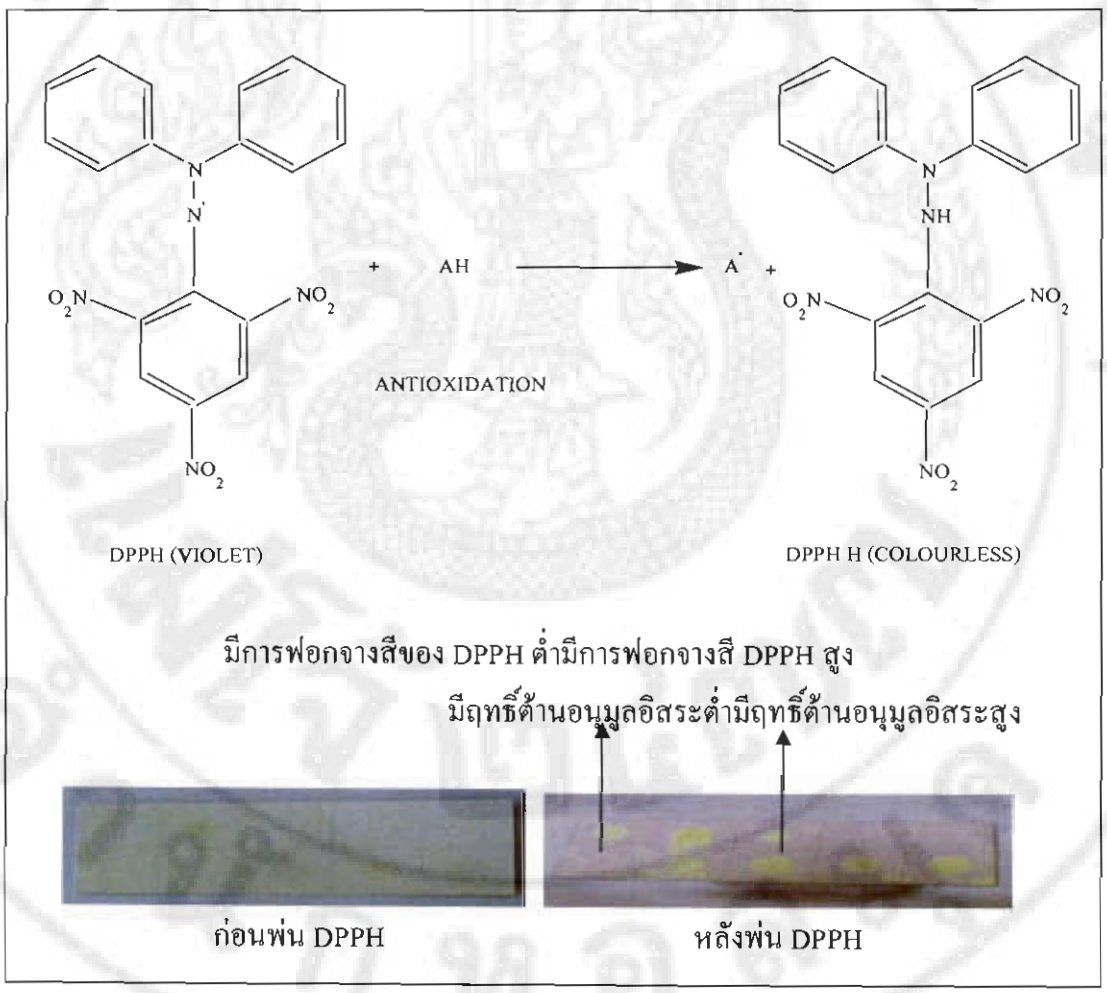
จากสัญญาณสเปคตรัมFurrier transform infrared spectroscopy พบสัญญาณที่สำคัญคือ FT-IR (KBr, cm^{-1}): 3365 (br, O-H str), 2859 (w, C-H str of aromatic), 1465, 1633 (s, C=C str of aromatic) และ 1165 (s, C-O str) ซึ่งสัญญาณที่พบดังกล่าว มีหมู่ฟังก์ชันเป็นไปตามโครงสร้างของ 2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinoneเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับสัญญาณสเปคตรัมของสารตั้งต้น แสดงดังภาคผนวก ก (รูป ก.1)พบว่า สัญญาณที่แสดงเอกลักษณ์หมู่ฟังชันก์ (-CHO) ของสารตั้งต้น ที่ประมาณ 1760-1670 (s, aldehyde stretch) หายไปจากสเปคตรัมของสารผลิตภัณฑ์ และเมื่อพิจารณาสเปคตรัม^{1}H-NMRพบสัญญาณที่สำคัญคือ^{1}H-NMR (400MHz, DMSO-d_6) δ (ppm) : 8.56, 9.68 (s, 4H, O-H), 6.34-7.72 (m, 6H, aromatic protons), และ 3.57 (s, 2H, -CH_2-) สรุปและวิเคราะห์ลักษณะโครงสร้างของสารได้ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 สัญญาณจากการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่ได้โดยใช้เทคนิค Flourier transform Infrared spectroscopy และ ^{1}H-NMR spectroscopy โดยแสดงลักษณะทางโครงสร้างของ 2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone

Flourier transform infrared spectrometry		**^{1}H Nuclear magnetic resonance spectroscopy**		**โครงสร้างของ 2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone**
v_{max} (cm^{-1})	หมู่ฟังก์ชัน	δ (ppm)	หมู่ฟังก์ชัน	
3365	(br, O-H str)	8.56, 9.68	(s, 4H, O-H)	
2859	(w, C-H str of aromatic)	6.34-7.72	(m, 6H, aromatic protons)	
1465, 1633	(s, C=C str of aromatic)	3.57	(s, 2H, -CH_2-)	
1165	(s, C-O str)	-	-	

การวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging assay (ณัฐพร, 2553)

จากการทดสอบฤทธิ์การต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเชิงคุณภาพเบื้องต้นของสารสังเคราะห์อนุพันธ์ไฮโดรควิโนน โดยวิธี DPPH radical scavenging assayโดยการเทียบเวลาที่สารสามารถฟอกจางสีของ DPPH จากสีม่วงไปเป็นสีเหลืองอ่อนได้ พบว่าสารสังเคราะห์ 2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone สามารถฟอกจางสีได้ทันทีที่ทำการพ่นสาร DPPH ลงบนแผ่น TLC เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Butyrate hydroxyl toluene (BHT) แสดงปฏิกิริยาและลักษณะการฟอกจางสีของ DPPH ดังภาพที่ 13 และผลการฟอกจากสีของDPPHแสดงดัง ตารางที่ 4



ภาพที่ 13 ปฏิกิริยาต้านอนุมูลอิสระของสารกับ DPPHและลักษณะการฟอกจางสี DPPH ของสารสังเคราะห์อนุพันธ์ไฮโดรควิโนน

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี DPPH radical scavenging assay

ชื่อสารผลิตภัณฑ์	การฟอกจางสี
2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone	++
Butyrate hydroxyl toluene (BHT)	+

หมายเหตุ: (++) ฟองจางสี 0-1 นาที, (+) เริ่มฟอกจางสีเริ่มจาก1-5นาที, (-) ไม่เกิดการฟอกจางสี

สำหรับผลการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเชิงคุณภาพ พบว่า สารสังเคราะห์ 2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone มีประสิทธิภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูง โดยแสดงการฟอกจางสีของ DPPH ได้ทันทีในขณะที่ BHT สามารถฟอกจางสีของ DPPH ได้เมื่อเวลาผ่านไป 1นาที

ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี Spectrophotometric assay (ณัฐพร, 2553)

เมื่อทดสอบฤทธิ์การต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของ 2-(3,4-Dihydroxybenzyl)hydroquinone เบื้องต้นด้วยเทคนิค DPPH scavenging assay พบว่า 2-(3,4-Dihydroxybenzyl)hydroquinone แสดงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ หลังจากนั้นนำสารสังเคราะห์มาทดสอบฤทธิ์การต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเชิงปริมาณด้วยเทคนิค Spectrophotometric assay ซึ่งเป็นเทคนิคการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วยเครื่อง UV-VIS spectrophotometer เพื่อนำข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงของสารมาคำนวณหา % inhibition จากสมการ 1

$$\% \text{ inhibition} = 100 \times \left(1 - \left(\frac{\text{Absorbance of sample}}{\text{Absorbance of control}}\right)\right) \qquad (1)$$

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยแม่โจ้

หลังจากนั้นนำข้อมูลค่า % inhibition มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง % DPPH inhibition กับความเข้มข้นของสารตัวอย่าง เพื่อนำไปเป็นข้อมูลในการคำนวณค่าIC_{50}ของสารจากสมการ 2

$$y = ax^2 + bx + c = 0 \quad (2)$$

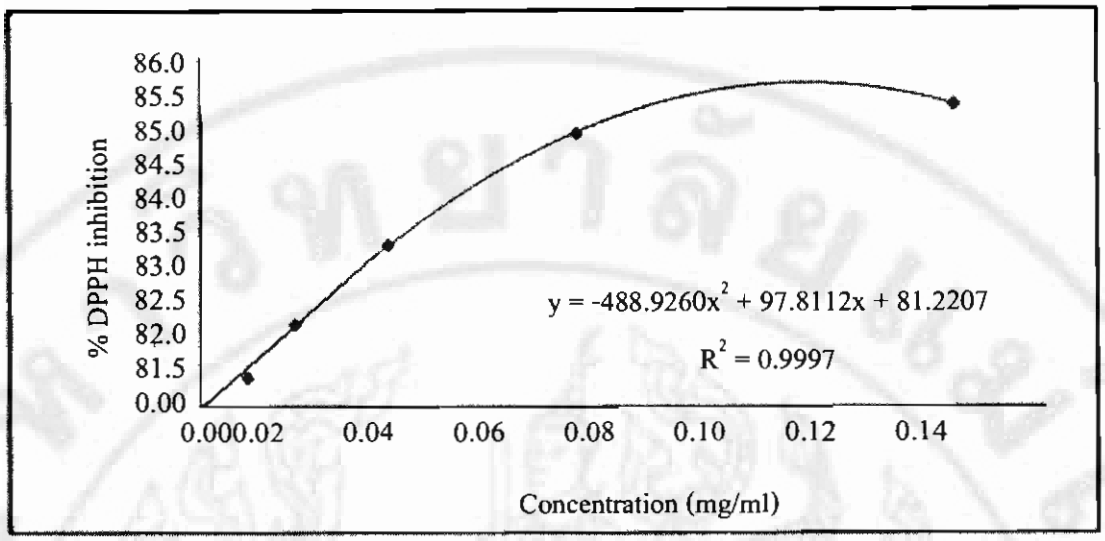
โดย y คือ เปอร์เซ็นต์ยับยั้งอนุมูลอิสระที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (% inhibition)

ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเชิงปริมาณด้วยเทคนิค Spectrophotometric assay ของสารสังเคราะห์ 2-(3,4-Dihydroxybenzyl)hydroquinone เป็นดังนี้

ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี Spectrophotometric assay ของสารมาตรฐาน BHT

ตารางที่ 5 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm และค่า% inhibition ของสารมาตรฐาน BHT โดยวิธี Spectrophotometric assay

ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน BHT	0.125	0.063	0.031	0.016	0.008	0.000 (control)
ครั้งที่	Absorbance (517 nm)					
1	0.243	0.251	0.278	0.297	0.310	1.789
2	0.244	0.250	0.279	0.299	0.312	1.750
3	0.245	0.252	0.278	0.298	0.311	1.620
Average	0.244	0.251	0.278	0.298	0.311	1.720
% inhibition	85.811	85.404	83.815	82.671	81.425	0.000



ภาพที่ 14 กราฟความสัมพันธ์ระหว่าง % DPPH inhibition กับสารมาตรฐานBHT ที่ความเข้มข้นต่างๆ

การคำนวณค่า IC_{50} จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง % DPPH inhibition กับความเข้มข้นของสารมาตรฐานBHT

จากสมการ $y = ax^2 + bx + c$

จากรูป $y = -488.9260x^2 + 97.8112x + 81.2207$

โดยy คือ เปอร์เซ็นต์ยับยั้งอนุมูลอิสระที่ 50 เปอร์เซ็นต์

ดังนั้น สมการที่ได้คือ $50 = -488.9260x^2 + 97.8112x + 81.2207$

จะได้ $0 = -488.9260x^2 + 97.8112x + 31.2207$

y จึงเท่ากับ $-488.9260x^2 + 97.8112x + 31.2207 = 0$

เมื่อหาค่า $y = ax^2 + bx + c$

x คือ ค่า IC_{50}หน่วย mg/ml

แทนค่าa = -488.9260, b = 97.8112, c = 31.2207

จากสมการ $x = \frac{-b \pm \sqrt{b^2 - 4ac}}{2a}$

แทนค่าในสมการ

$$x = -97.8112 \pm \frac{\sqrt{(97.8112)^2 - 4(-488.9260)(31.2207)}}{2(-488.9260)}$$

$$x = -97.8112 \pm \frac{\sqrt{9567.030845 + 61058.4479}}{-977.852}$$

กรณีที่ $\pm$ เป็นบวก $(+)$

จะได้ $$x = \frac{-97.8112 + \sqrt{70625.47875}}{-977.852}$$

$$x = \frac{-97.8112 + 265.754546}{-977.852}$$

$$x = \frac{167.943346}{-977.852}$$

$$x = -0.171747203 \approx -0.17$$

กรณีที่ $\pm$ เป็นลบ $(-)$ จะได้

$$x = \frac{-97.8112 - \sqrt{70625.47875}}{-977.852}$$

$$x = \frac{-97.8112 - 265.754546}{-977.852}$$

$$x = \frac{-363.35666}{-977.852}$$

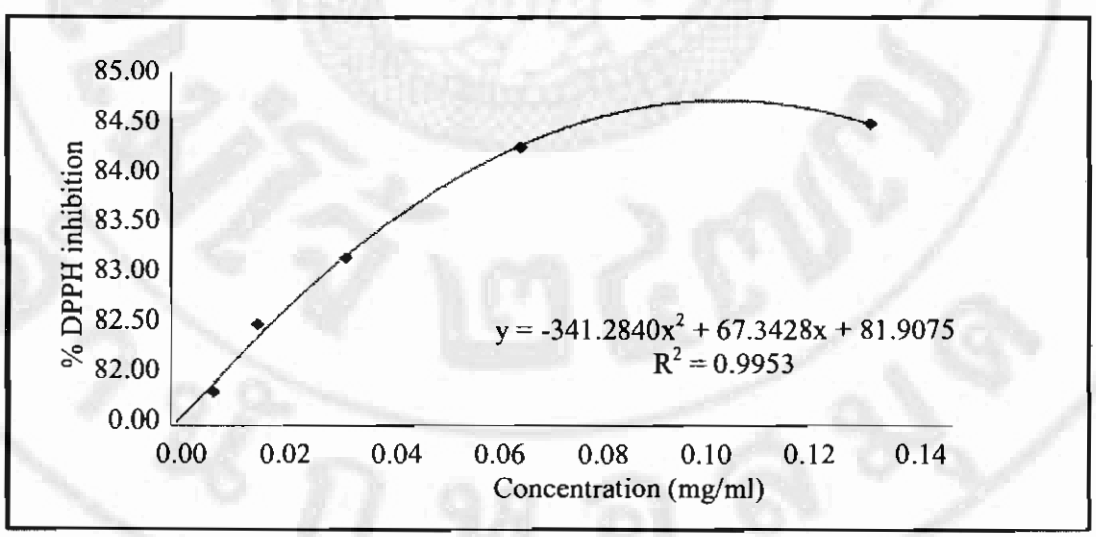
$$x = 0.371586559 \approx 0.37$$

ผลการคำนวณจากสมการ $y = ax^2 + bx + c = 0$ ได้ค่า x = -0.17 และ 0.37 ในการนำค่าไปใช้จะเลือกใช้กรณี $\pm$ เป็นบวก $(+)$ ดังนั้นสารมาตรฐาน BHT มีค่า IC_{50} = 0.37

ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี Spectrophotometric assay ของ 2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone

ตารางที่ 6 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm และค่า % inhibition ของสารอนุพันธ์ไฮโดรควิโนน สังเคราะห์ 2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone โดยวิธี Spectrophotometric assay

ความเข้มข้น	0.125	0.063	0.031	0.016	0.008	0.000 (control)
ครั้งที่	Absorbance (517nm)					
1	0.257	0.262	0.281	0.291	0.305	1.789
2	0.259	0.263	0.28	0.293	0.303	1.750
3	0.258	0.261	0.282	0.293	0.304	1.620
Average	0.258	0.262	0.281	0.292	0.304	1.719
% inhibition	84.997	84.764	83.659	83.000	81.322	0.000



ภาพที่ 15 กราฟความสัมพันธ์ระหว่าง % DPPH inhibition กับความเข้มข้นของ 2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone

การคำนวณค่า IC_{50} จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง % DPPH inhibition กับความเข้มข้นของ 2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone คำนวณเช่นเดียวกันกับสารมาตรฐาน BHT

ตารางที่ 7 ผลการคำนวณค่า IC_{50} จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง % DPPH inhibition กับความเข้มข้นของสารสังเคราะห์อนุพันธ์ไฮโดรควิโนน

ชื่อสาร	ค่า IC_{50} (mg/ml)
2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone	0.110
Butyrate hydroxyl toluene (BHT)	0.370

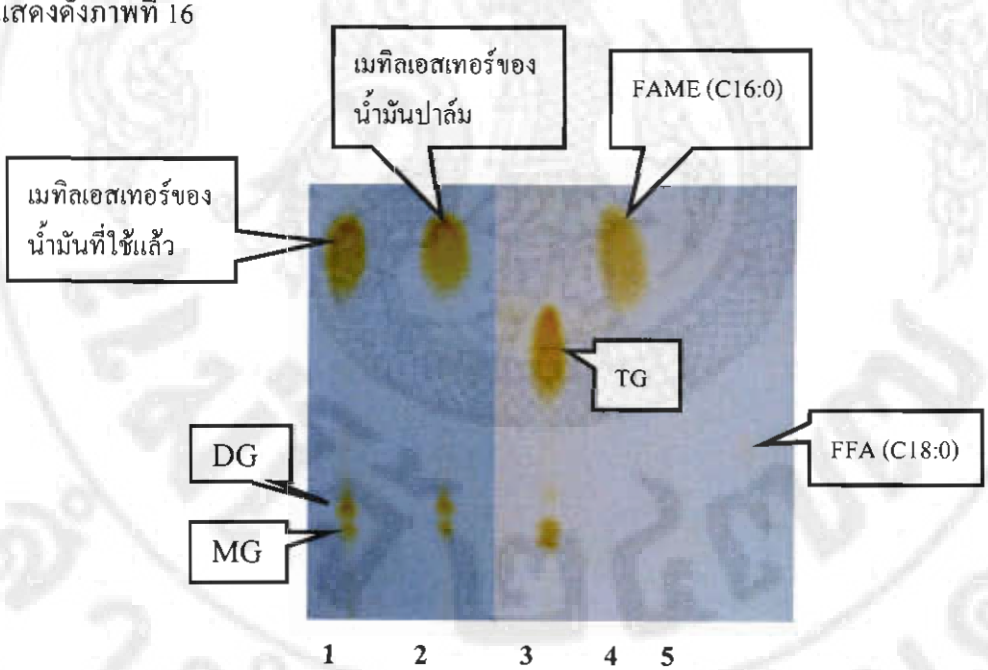
จากการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง % DPPH inhibition กับความเข้มข้นของ 2-(3,4-Dihydroxybenzyl)hydroquinoneและนำข้อมูลมาคำนวณหาค่า IC_{50} จากสมการ 2 ซึ่งแสดงตัวอย่างการคำนวณค่า IC_{50} ของสารมาตรฐาน BHT เพื่อเปรียบเทียบกับผลการคำนวณค่า IC_{50} ของสารสังเคราะห์ 2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone มีค่า IC_{50} น้อยกว่าสารมาตรฐาน BHT หมายถึง ความสามารถของสารที่สามารถทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลงที่ปริมาณความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ดังนั้นสารสังเคราะห์ 2-(3,4-dihydroxybenzyl) hydroquinone จึงมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.11 เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน BHTที่ให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.370 ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับผลการทดลองฤทธิ์การต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเชิงคุณภาพด้วยเทคนิค DPPH scavenging assay ที่สารสังเคราะห์2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone มีประสิทธิภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีที่สุด โดยสามารถแสดงการฟอกจางสีม่วงไปเป็นสีเหลืองอ่อนได้ทันทีที่ทำการพ่นสารละลาย DPPH ลงไปบนแผ่น TLCผลการคำนวณค่า IC_{50} แสดงดังตารางที่ 7

ผลจากการวิเคราะห์อนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์ด้วยธินเลเยอร์โครมาโทรกราฟี (TLC)

การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค TLC เป็นการวิเคราะห์เบื้องต้นเพื่อให้ทราบถึงองค์ประกอบของเมทิลเอสเทอร์ ที่ประกอบด้วย โมโนกลีเซอไรด์ ไดกลีเซอไรด์รวมไปถึงไตรกลีเซอไรด์ ซึ่งเป็นสารดั้งต้นอาจยังคงเหลืออยู่ หากการเตรียมอนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์นั้นเกิดปฏิกิริยาไม่สมบูรณ์ จึงเป็นการวิเคราะห์ที่ช่วยให้ทราบว่า อนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์ที่เตรียมได้นั้น มีคุณสมบัติเป็นไบโอดีเซลได้หรือไม่

3.5.1 ผลจากการวิเคราะห์เมทิลเอสเทอร์ที่ผลิตจากน้ำมันปาล์ม น้ำมันที่เหลือใช้จากการทอด น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันละหุ่ง ด้วยธินเลเยอร์โครมาโทรกราฟี

ผลจากการวิเคราะห์เมทิลเอสเทอร์ที่เตรียมจากน้ำมันปาล์มและน้ำมันที่ใช้แล้ว โดยเทียบกับสารตั้งต้น (น้ำมันก่อนทำปฏิกิริยา) และสารมาตรฐานเมทิลเอสเทอร์ (C16:0) แสดงดังภาพที่ 16



ภาพที่ 16 ธินเลเยอร์โครมาโทรกราฟีของเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์มและน้ำมันที่เหลือใช้จากการทอด

หมายเลข 1 คือ เมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันที่เหลือใช้จาก การทอด

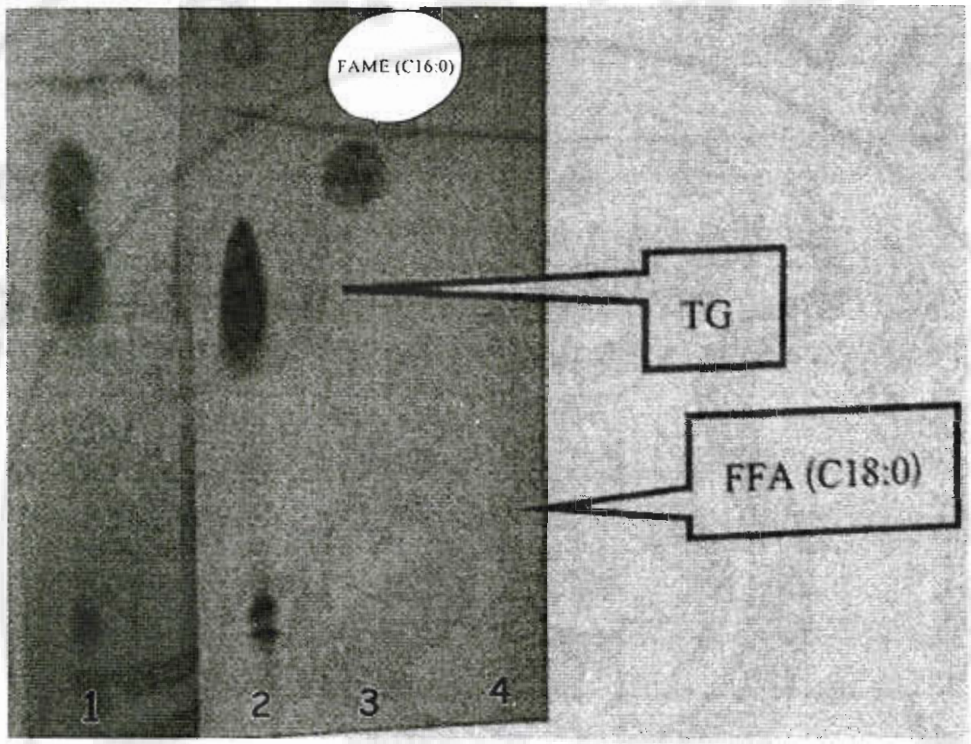
หมายเลข 2 คือ เมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันปาล์ม

หมายเลข 3 คือ น้ำมันปาล์มก่อนทำปฏิกิริยา

หมายเลข 4 คือ อนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์ของกรดปาล์มมิติก (C16:0)

หมายเลข 5 คือ กรดไขมันอิสระของกรดสเตียริก (C18:0)

เฟสเคลื่อนที่ คือ เฮกเซน 90 มิลลิลิตร เอทิลอะซีเตต 10 มิลลิลิตร และกรดซัลฟิวริก 1 มิลลิลิตร ผลจากการวิเคราะห์เมทิลเอสเทอร์ที่เตรียมจากน้ำมันถั่วเหลืองโดยเทียบกับสารตั้งต้น(น้ำมันก่อนทำปฏิกิริยา) และสารมาตรฐานเมทิลเอสเทอร์ (C16:0) แสดงดังภาพที่ 17



ภาพที่ 17 ธินเลเยอร์โครมาโทรกราฟีของเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันถั่วเหลือง

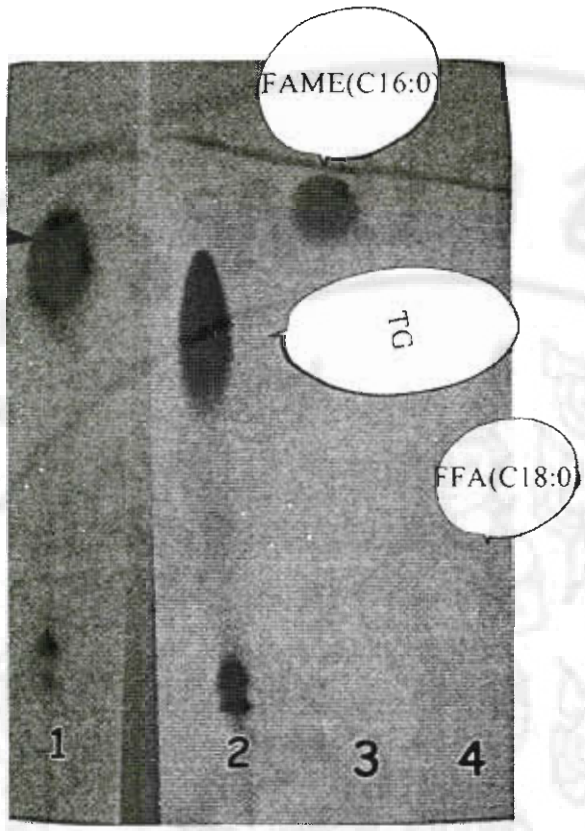
หมายเลข 1 คือ เมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันถั่วเหลือง

หมายเลข 2 คือ น้ำมันถั่วเหลือง

หมายเลข 3 คือ อนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์ของกรดปาล์มมิติก (C16:0)

หมายเลข 4 คือ กรดไขมันอิสระของกรดสเตียริก (C18:0)

เฟสเคลื่อนที่ คือ เฮกเซน 90 มิลลิลิตร เอทิลอะซีเตต 10 มิลลิลิตร และกรดซัลฟิวริก 1 มิลลิลิตร ผลจากการวิเคราะห์เมทิลเอสเทอร์ที่เตรียมจากน้ำมันละหุ่งโดยเทียบกับสารตั้งต้น(น้ำมันก่อนทำปฏิกิริยา) และสารมาตรฐานเมทิลเอสเทอร์ (C16:0) แสดงดัง **ภาพที่** 18



ภาพที่ 18 ธินเลเยอร์โครมาโทรกราฟีของเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันละหุ่ง

หมายเลข 1 คือ เมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันละหุ่ง

หมายเลข 2 คือ น้ำมันละหุ่ง

หมายเลข 3 คือ อนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์ของกรดปาล์มมิติก (C16:0)

หมายเลข 4 คือ กรดไขมันอิสระของกรดสเตียริก (C18:0)

เฟสเคลื่อนที่ คือ เฮกเซน 90 มิลลิลิตร เอทิลอะซีเตต 10 มิลลิลิตร และกรดซัลฟิวริก 1 มิลลิลิตร

จากผลการทดสอบด้วยธินเลเยอร์โครมาโตกราฟี (TLC) พบว่าเมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันปาล์ม น้ำมันที่ใช้แล้วจากการทอด น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันละหุ่ง จากปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันที่เร่งในสภาวะเบส ดำเนินไปเหมือนกับเมทิลเอสเทอร์ของกรดเฮกซะเดคาโนอิก (C16:0) ซึ่งเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ เนื่องจาก บนแผ่น TLC ไม่มีจุดของไตรกลีเซอไรด์เหลืออยู่แสดงว่าเมทิลเอสเทอร์ที่เตรียมนั้น สามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์ขั้นต่อไปได้ จึงนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบและคุณสมบัติทางเชื้อเพลิงของน้ำมันทั้งสี่ชนิดด้วยแก๊สโครมาโตกราฟีต่อไป

ตารางที่ 8 ร้อยละผลผลิตของเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์ม น้ำมันที่เหลือใช้จากการทอด น้ำมันละหุ่ง และน้ำมันถั่วเหลือง

น้ำมันที่ใช้เตรียมเมทิลเอสเทอร์	ร้อยละผลผลิต
น้ำมันปาล์ม	94.80
น้ำมันที่ใช้แล้วจากการทอด	85.54
น้ำมันละหุ่ง	91.12
น้ำมันถั่วเหลือง	88.98

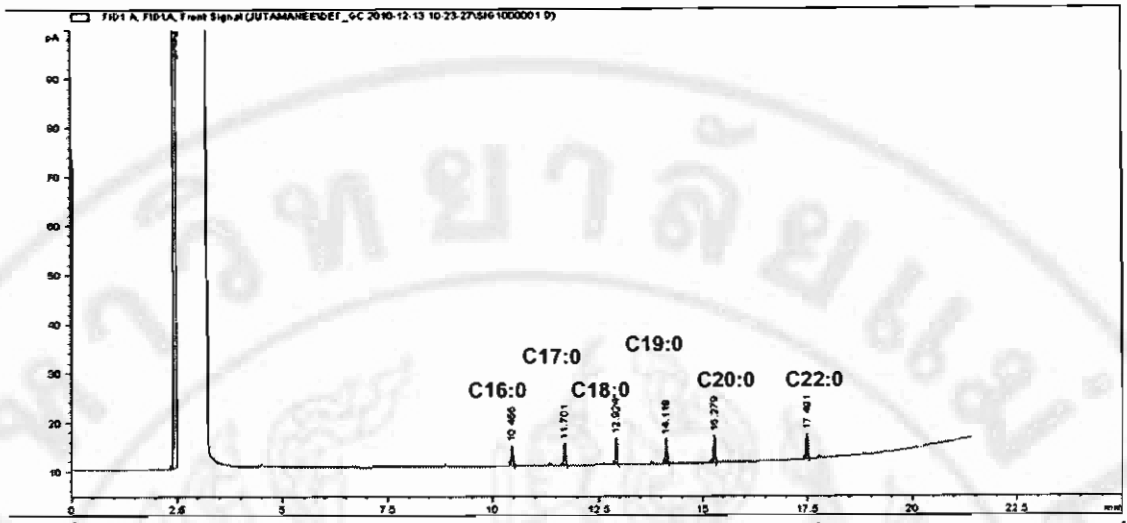
จากผลการวิเคราะห์ด้วยธินเลเยอร์โครมาโตกราฟี (TLC) พบว่ามีเมทิลเอสเทอร์เกิดขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเมทิลเอสเทอร์ที่เตรียมได้เป็นไบโอดีเซล และไม่มีไตรกลีเซอไรด์ (สารตั้งต้น) เหลืออยู่ และจากวิธีการเตรียมเมทิลเอสเทอร์ขั้นต้น พบว่าน้ำมันปาล์มเป็นน้ำมันที่ให้ร้อยละผลผลิตที่มากที่สุด

การวิเคราะห์องค์ประกอบเบื้องต้นของเมทิลเอสเทอร์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (GC)

หลังจากที่ศึกษาองค์ประกอบเบื้องต้นของเมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันปาล์ม น้ำมันที่ใช้แล้ว น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันละหุ่ง ด้วยเทคนิค TLC จึงนำเมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันทั้ง4 ชนิด มาวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันด้วยเทคนิค GC โดยเปรียบเทียบเวลาในการแยกกับสารมาตรฐานกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ที่มีจำนวนคาร์บอน 16-22

การวิเคราะห์สารมาตรฐานกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ที่มีจำนวนคาร์บอน 16-22

สารมาตรฐานที่วิเคราะห์ด้วย GC ได้แก่ อนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน C16:0 C17:0, C18:0, C19:0, C20:0 และ C22:0 ตามลำดับ โดยใช้คอลัมน์ HP-5 (5% Phenyl Methyl Siloxane)โครมาโตแกรมที่ได้แสดงดังรูป 3.10และค่าเวลาคงค้างของสารมาตรฐานดังกล่าว แสดงดังตารางที่ 9



ภาพที่ 19 โครมาโตแกรมกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ของสารมาตรฐานที่มีจำนวน คาร์บอน 16-22ที่วิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ HP-5 (5% Phenyl Methyl Siloxane) ในช่วงอุณหภูมิ 150-300 °C

ตารางที่ 9 เวลาค่าคงค้างกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ของสารมาตรฐานที่มีจำนวนคาร์บอน 16-22

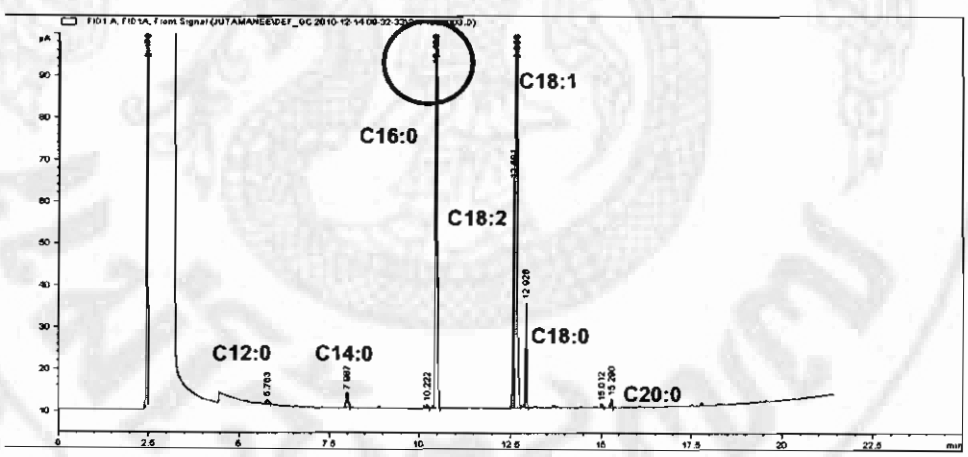
Peak	Name	T_R(min)
1	Hexane	2.472
2	Palmitic acid methyl ester (C16:0)	10.455
3	Heptadecanoic acid methyl ester (C17:0)	11.701
4	Steric acid methyl ester (C18:0)	12.924
5	Nonadecanoic acid methyl ester (C19:0)	14.119
6	Arachidic acid methyl ester (C20:0)	15.279
7	Behenic acid methyl ester (C22:0)	17.491

จากโครมาโตแกรมของสารมาตรฐานกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ตั้งแต่จำนวนคาร์บอน 16-22 พบว่าสารมาตรฐานกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ตั้งแต่จำนวนคาร์บอน 16-22 ประกอบด้วย กรดปาล์มมิติก (C16:0)กรดสเตียริก (C18:0) กรดไอโซอะราชิดิก (C19:0) กรดอะราชิดิก (C20:0) และกรดเบ

เฮนิก (C22:0) จากเวลาคงค้างของสารมาตรฐานแต่ละตัวแสดงถึงลำดับความมีขั้วของเมทิลเอสเทอร์แต่ละชนิด เนื่องจากคอลัมน์ที่ใช้คือ HP-5 (5% Phenyl Methyl Siloxane) ซึ่งเป็นคอลัมน์ไม่มีขั้ว ดังนั้น สารที่แยกออกมาลำดับแรกจะเป็นสารที่มีขั้วสูง จากตารางที่ 9 สารที่มีค่าคงค้างน้อยที่สุดคือ C16:0, C17:0, C18:0, C19:0, C20:0 และ C22:0 ตามลำดับสามารถนำไปใช้เป็นตัวเปรียบเทียบกับโครมาโตแกรมของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ที่พบในน้ำมันปาล์ม น้ำมันที่ใช้แล้วจากการทอดน้ำมันละหุ่ง และน้ำมันถั่วเหลือง เพื่อหาองค์ประกอบในกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ที่พบในน้ำมันดังกล่าวได้

การวิเคราะห์อนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันปาล์ม

นำเมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันปาล์มทดสอบด้วยเทคนิค GC เพื่อวิเคราะห์หาองค์ประกอบของกรดไขมัน โดยใช้คอลัมน์ HP-5 (5% Phenyl Methyl Siloxane) โครมาโตแกรมดังภาพที่ 20 และค่าคงค้างของสารดังแสดงในตารางที่ 10



ภาพที่ 20 โครมาโตแกรมอนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันปาล์มที่วิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ HP-5 (5% Phenyl Methyl Siloxane) ในช่วงอุณหภูมิ 150-300 °C

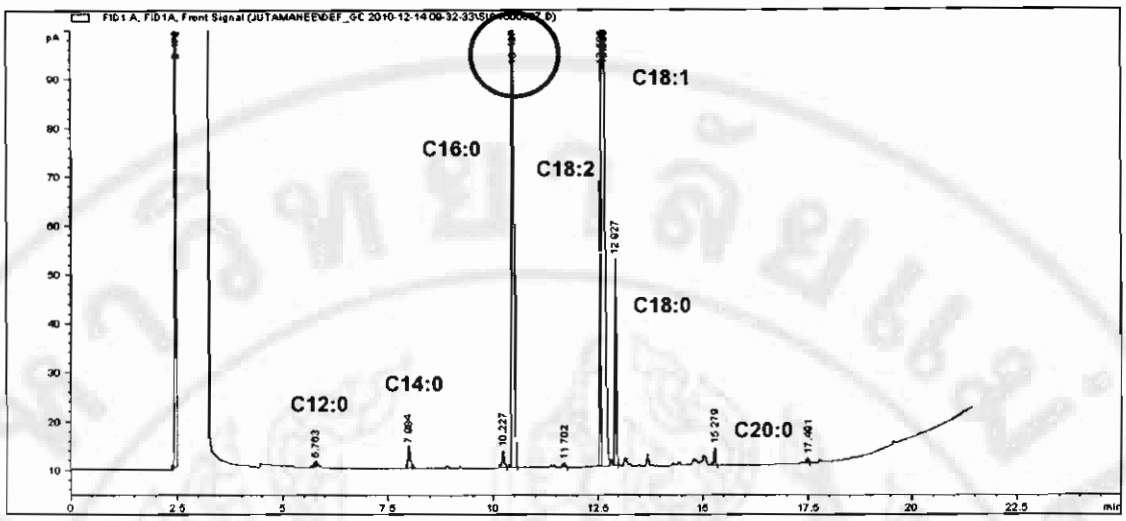
ตารางที่ 10 เวลาค่าคงค้างของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันปาล์ม

Peak	Name	T_R(min)
1	Hexane	2.479
2	Lauric acid methyl ester (12:0)	5.763
3	Myristic acid methyl ester (14:0)	7.987
4	Palmitic acid methyl ester (C16:0)	10.463
5	Steric acid methyl ester (C18:0)	12.926
6	Oleic acid methyl ester (C18:1)	12.653
7	Linoleic acid methyl ester (C18:2)	12.581
8	Arachidic acid methyl ester (C20:0)	15.28

จากโครมาโตแกรมของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ที่พบในน้ำมันปาล์ม พบว่าประกอบด้วยกรดไขมันทั้งอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว กรดไขมันอิ่มตัวประกอบด้วย กรดลอริก (C12:0) กรดไมริสติก (C14:0) กรดปาล์มมิติก (C16:0) กรดสเตียริก (C18:0) และกรดอะราชิดิก (C20:0) ส่วนกรดไขมันไม่อิ่มตัวประกอบด้วย กรดโอเลอิก (C18:1) และกรดลิโนเลอิก (C18:2) ซึ่งพีคที่ปรากฏเด่นชัดคือกรดปาล์มมิติก และกรดโอเลอิก เนื่องจากเป็นกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวที่พบมากที่สุดในน้ำมันปาล์ม

การวิเคราะห์อนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันที่เหลือใช้จากการทอด

นำเมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันที่เหลือใช้จากการทอดทดสอบด้วยเทคนิค GC เพื่อวิเคราะห์หาองค์ประกอบของกรดไขมัน โดยใช้คอลัมน์ HP-5 (5% Phenyl Methyl Siloxane) โครมาโตแกรมดังภาพที่ 21 และค่าคงค้างของสารดังแสดงในตารางที่ 11



ภาพที่ 21 โครมาโตแกรมอนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันที่เหลือใช้จากการทอดที่วิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ HP-5 (5% Phenyl Methyl Siloxane) ในช่วงอุณหภูมิ 150-300 °C

ตารางที่ 11 เวลาค่าคงค้างของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันที่เหลือใช้จากการทอด

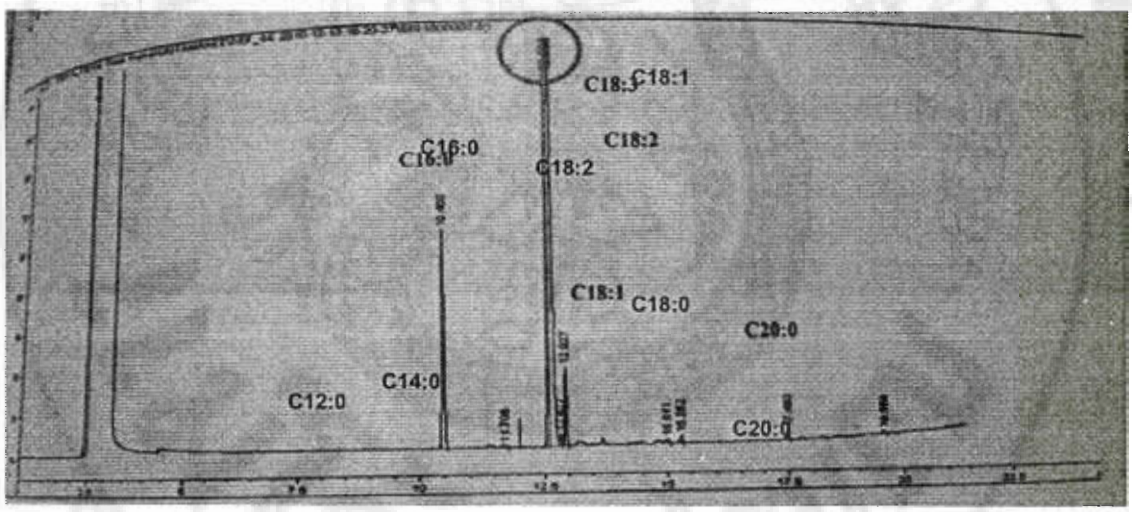
Peak	Name	T_R(min)
1	Hexane	2.479
2	Lauric acid methyl ester (12:0)	5.801
3	Myristic acid methyl ester (14:0)	7.984
4	Palmitic acid methyl ester (C16:0)	10.467
5	Steric acid methyl ester (C18:0)	12.927
6	Oleic acid methyl ester (C18:1)	12.659
7	Linoleic acid methyl ester (C18:2)	12.586
8	Arachidic acid methyl ester (C20:0)	15.279

จากโครมาโตแกรมของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ที่พบในน้ำมันที่ใช้แล้วจากการทอด พบว่าประกอบด้วยกรดไขมันทั้งอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวเหมือนกับที่พบในน้ำมันปาล์ม เนื่องจากเป็นน้ำมัน

ปาล์มเช่นเดียวกัน แต่ผ่านความร้อนจากการประกอบอาหารมาแล้ว ซึ่งกรดไขมันอิ่มตัวที่พบประกอบด้วย กรดลอริก (C12:0) กรดไมริสติก (C14:0) กรดปาล์มมิติก (C16:0) กรดสเตียริก (C18:0) และกรดอะราชิดิก (C20:0) ส่วนกรดไขมันไม่อิ่มตัวประกอบด้วย กรดโอเลอิก (C18:1) และกรดลิโนเลอิก (C18:2) ซึ่งพีคที่ปรากฏเด่นชัดคือ กรดปาล์มมิติก และกรดโอเลอิก เนื่องจากเป็นกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวที่พบมากที่สุดในน้ำมันปาล์ม

การวิเคราะห์อนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันถั่วเหลือง

นำเมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันถั่วเหลืองมาทดสอบด้วยเทคนิค GC เพื่อวิเคราะห์หาองค์ประกอบของกรดไขมัน โดยใช้คอลัมน์ HP-5 (5% Phenyl Methyl Siloxane) โครมาโตแกรมดังภาพที่ 22 และค่าคงค้างของสารดังแสดงในตารางที่ 11



ภาพที่ 22 โครมาโตแกรมอนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันถั่วเหลืองที่วิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ HP-5 (5% Phenyl Methyl Siloxane) ในช่วงอุณหภูมิ 150-300 °C

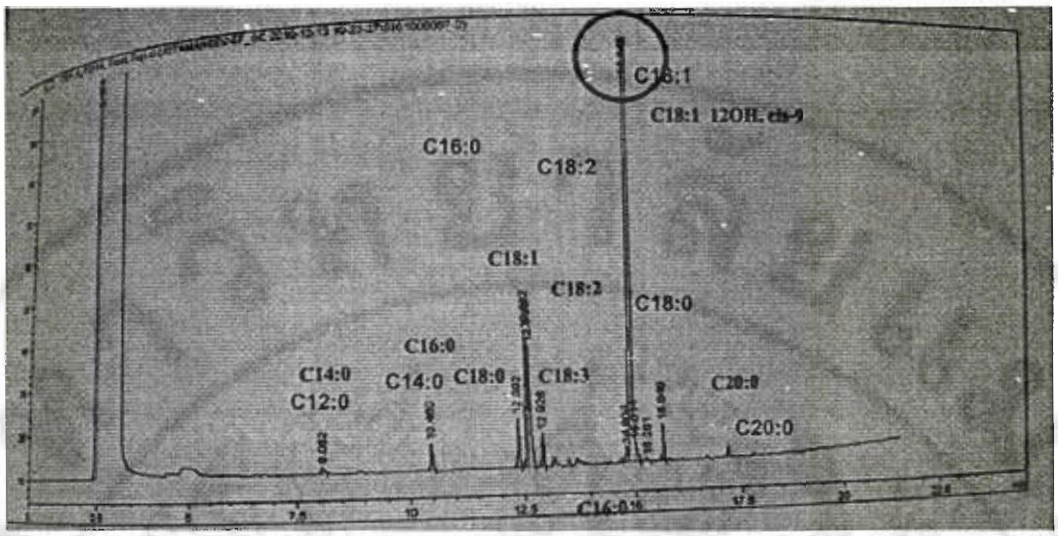
ตารางที่ 12 เวลาค่าคงค้างของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันถั่วเหลือง

Peak	Name	T_R(min)
1	Hexane	2.475
2	Palmitic acid methyl ester (16:0)	11.706
3	Linolenic acid methyl ester (18:3)	12.592
4	Linoleic acid methyl ester (C18:2)	12.653
5	Oleic acid methyl ester (C18:1)	12.827
6	Steric acid methyl ester (C18:0)	12.927
7	Eicosadienoic acid methyl ester (C18:2)	12.581
8	Arachidic acid methyl ester (C20:0)	15.282
9	Docosanoic acid methyl ester (C22:0)	17.493
10	Tetracosanoic acid methyl ester (C24:0)	19.559

จากโครมาโตแกรมของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ที่พบในน้ำมันถั่วเหลือง พบว่าประกอบด้วยกรดไขมันทั้งอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว ซึ่งพีคที่ปรากฏเด่นชัดคือ กรดลิโนเลอิก และกรดลิโนเลนิก เนื่องจากเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่พบมากที่สุดในน้ำมันถั่วเหลือง

การวิเคราะห์อนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันละหุ่ง

นำเมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันละหุ่งมาทดสอบด้วยเทคนิค GC เพื่อวิเคราะห์หาองค์ประกอบของกรดไขมัน โดยใช้คอลัมน์ HP-5 (5% Phenyl Methyl Siloxane) โครมาโตแกรมดังภาพที่ 23 และค่าคงค้างของสารดังแสดงในตารางที่ 13



ภาพที่ 23 โครมาโตแกรมอนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันถั่วเหลืองที่วิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ HP-5 (5% Phenyl Methyl Siloxane) ในช่วงอุณหภูมิ 150-300 °C

ตารางที่ 13 เวลาค่าคงค้างของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันถั่วเหลือง

Peak	Name	T_R(min)
1	Hexane	2.473
2	Myristic acid methyl ester (14:0)	8.052
3	Palmitic acid methyl ester (16:0)	10.460
4	Linolenic acid methyl ester (18:3)	12.392
5	Linoleic acid methyl ester (C18:2)	12.582
6	Oleic acid methyl ester (C18:1)	12.644
7	Steric acid methyl ester (C18:0)	12.928
8	Ricinoleic acid methyl ester (C18:1 12OH Cis-9	14.942

จากโครมาโตแกรมของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ที่พบในน้ำมันถั่วเหลือง พบว่าประกอบด้วยกรดไขมันทั้งอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว ซึ่งพีคที่ปรากฏเด่นชัดคือ กรดริซิโนเลอิก เนื่องจากเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่พบมากที่สุดในน้ำมันละหุ่ง

การวิเคราะห์ร้อยละองค์ประกอบของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์จาก น้ำมันเปาล์ม น้ำมันที่เหลือใช้จากการทอด น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันละหุ่ง ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี (GC)

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันจากน้ำมันปาล์ม น้ำมันที่ใช้แล้วจากการทอดน้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันละหุ่ง แสดงโครมาโตแกรม ดังภาพที่ 20-23 สามารถนำมาคำนวณร้อยละองค์ประกอบกรดไขมันได้ด้วยสมการ 3 ผลการคำนวณแสดงดังตารางที่ 14-17

$$\%\text{Fatty acid} = 100\left(A_x / \sum A_x\right) \quad (3)$$

โดย A_x = พื้นที่ของสาร x ในตัวอย่าง

ตารางที่ 14 ร้อยละองค์ประกอบของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์ม

Fatty acids methyl ester	**Carbon No.**	**Area(pA*s)**	**%Fatty acids**
Lauric acid methyl ester	C12:0	5.000	0.320
Myristic acid methyl ester	C14:0	13.300	0.850
Palmitic acid methyl ester	C16:0	595.600	38.230
Stearic acid methyl ester	C18:0	65.800	4.230
Oleic acid methyl ester	C18:1	737.100	47.310
Linoleic acid methyl ester	C18:2	135700	8.710
Arachidic acid methyl ester	C20:0	5.500	0.350
Total area and total %FA		**1558.0**	**100**
Total saturated fatty acids	-		**43.980**
Total unsaturated fatty acids	-		**56.020**

จากการคำนวณร้อยละองค์ประกอบกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์ม พบร้อยละองค์ประกอบของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ชนิดอิ่มตัวน้อยกว่ากรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว ซึ่งจะพบกรดโอเลอิกมากกว่ากรดปาล์มมิติก เนื่องจากน้ำมันที่ใช้เป็นน้ำมันปาล์มโอลีน จึงมีกรดโอเลอิกมากกว่ากรดปาล์มมิติก ส่งผลให้ร้อยละองค์ประกอบของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ชนิดอิ่มตัวน้อยกว่ากรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว

ตารางที่ 15 ร้อยละองค์ประกอบของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันที่เหลือใช้จากการทอด

Fatty acids methyl ester	**Carbon No.**	**Area(pA*s)**	**%Fatty acids**
Lauric acid methyl ester	C12:0	6.600	0.680
Myristic acid methyl ester	C14:0	16.900	0.710
Palmitic acid methyl ester	C16:0	828.700	37.840
Stearic acid methyl ester	C18:0	109.600	4.600
Oleic acid methyl ester	C18:1	1051.900	42.820
Linoleic acid methyl ester	C18:2	330.600	12.890
Arachidic acid methyl ester	C20:0	10.400	0.460
Total area and total %FA		**2378.760**	**100**
Total saturated fatty acids	-		**43.830**
Total unsaturated fatty acids	-		**56.170**

จากการคำนวณร้อยละองค์ประกอบกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันที่ใช้แล้วจากการทอด พบร้อยละองค์ประกอบของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ชนิดอิ่มตัวน้อยกว่ากรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว และพบกรดโอเลอิกมากกว่ากรดปาล์มมิติก เช่นเดียวกับที่พบในเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์ม แต่จะพบกรดโอเลอิก และกรดปาล์มมิติกน้อยกว่า เนื่องจากน้ำมันได้ผ่านการให้ความร้อนซึ่งความร้อนจะไปสลายกรดไขมันและวิตามินที่อยู่ในน้ำมัน รวมไปถึงการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ที่จะทำให้เกิดกรดไขมันอิสระขึ้น จึงทำให้ปริมาณกรดไขมัน ไม่อิ่มตัวเพิ่มมากขึ้น ซึ่งมีมากกว่าเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์ม

ตารางที่ 16 ร้อยละองค์ประกอบของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันถั่วเหลือง

Fatty acids methyl ester	**Carbon No.**	**Area(pA*s)**	**%Fatty acids**
Palmitic acid methyl ester	C16:0	9.700	11.370
Linolenic acid methyl ester	C18:0	44.600	3.560
Linoleic acid methyl ester	C18:1	7.100	0.330
Oleic acid methyl ester	C18:2	411.100	32.730
Steric acid methyl ester	C18:3	696.100	50.640
Eicosadienoic acid methyl ester	C20:2	3.100	0.250
Arachidic acid methyl ester	C20:0	4.400	0.350
Docosanoic acid methyl ester	C22:0	5.300	0.430
Tetracosanoic acid methyl ester	C24:0	1.600	0.130
Total area and total %FA		**1183.000**	**100**
Total saturated fatty acids	-		**15.749**
Total unsaturated fatty acids	-		**83.251**

จากการคำนวณร้อยละองค์ประกอบกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันถั่วเหลือง พบร้อยละองค์ประกอบของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ชนิดอิ่มตัวน้อยกว่ากรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว

ตารางที่ 17 ร้อยละองค์ประกอบของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันละหุ่ง

Fatty acids methyl ester	Carbon No.	Area(pA*s)	%Fatty acids
Myristic acid methyl ester	C14:0	96.200	0.450
Palmitic acid methyl ester	C16:0	17.000	1.230
Linolenic acid methyl ester	C18:0	18.600	1.340
Linoleic acid methyl ester	C18:1	88.100	6.360
Oleic acid methyl ester	C18:2	76.100	5.490
Steric acid methyl ester	C18:3	30.400	2.190
Ricinoleic acid methyl ester	C18:1 12OHcis-9	1134.700	81.90
Arachidic acid methyl ester	C20:0	13.000	0.100
Total area and total %FA		**1384.100**	**100**
Total saturated fatty acids	-		**3.116**
Total unsaturated fatty acids	-		**96.884**

จากการคำนวณร้อยละองค์ประกอบกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันละหุ่งพบร้อยละองค์ประกอบของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ชนิดอิ่มตัวน้อยกว่ากรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว

การคำนวณค่าสปอนนิฟิเคชัน (Saponification number) จากแก๊สโครมาโตกราฟี

ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมันด้วยแก๊สโครมาโตกราฟี สามารถนำมาคำนวณค่าสปอนนิฟิเคชันของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ได้โดยใช้สมการ 5 และคำนวณค่าสปอนนิฟิเคชันของไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์มและน้ำมันที่ใช้แล้วจากการทอดได้โดยใช้สมการ 4 (Krisnangkura et al., 1991: 56-58)

$$SN_{(lipid)} = \sum\left[\left(SN_{(FAME)} \times (\%FA)\right)/100\right] \qquad (4)$$

$$SN_{(FAME)} = \frac{56(1000)}{MW_{(FAME)}} \qquad (5)$$

ตารางที่ 18 ค่าสปอนนิฟิเคชันของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์ม

Fatty acids methyl ester	$SN_{(FAME)}$	$SN_{(FAME)}$*%FA
Lauric acid methyl ester	261.682	0.840
Myristic acid methyl ester	231.405	1.970
Palmitic acid methyl ester	207.407	79.290
Stearic acid methyl ester	187.919	7.950
Oleic acid methyl ester	189.189	89.500
Linoleic acid methyl ester	190.476	16.590
Arachidic acid methyl ester	171.779	0.600
$SN_{(lipid)}$	-	**196.740**

ดังนั้นค่าสปอนนิฟิเคชันของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์มที่วิเคราะห์ได้จากเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟีเท่ากับ 196.740

การคำนวณค่าสปอนนิฟิเคชันของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันที่ใช้แล้วจากการทอด น้ำมันละหุ่ง และน้ำมันถั่วเหลือง มีวิธีการคำนวณเช่นเดียวกับ การคำนวณค่าสปอนนิฟิเคชันของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์ม ซึ่งแสดงผลการทดลองที่ได้ ดังตารางที่ 19

ตารางที่ 19 ผลการคำนวณค่าสปอนนิฟิเคชันของเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์ม น้ำมันที่เหลือใช้จากการทอด น้ำมันละหุ่ง และน้ำมันถั่วเหลือง

เมทิลเอสเทอร์	ค่าสปอนนิฟิเคชัน (mg KOH/g)
จากน้ำมันปาล์ม	196.740
จากน้ำมันน้ำมันที่เหลือใช้จากการทอด	196.680
จากน้ำมันถั่วเหลือง	192.210
จากน้ำมันละหุ่ง	186.850

ค่าสปอนนิฟิเคชัน เป็นค่าที่สามารถบอกการสลายพันธะของไตรกลีเซอไรด์ (สารตั้งต้น)ได้ หากค่าสปอนนิฟิเคชันมีค่ามาก แสดงว่าไตรกลีเซอไรด์มีการสลายพันธะมาก โมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ก็จะมีขนาดเล็กลง แต่ถ้าค่าสปอนนิฟิเคชันน้อย แสดงว่าไตรกลีเซอไรด์มีการสลายพันธะน้อย โมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ยังคงมีขนาดใหญ่อยู่ ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า ค่าสปอนนิฟิชันของเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์ม และน้ำมันที่เหลือจากการทอด มีค่าสปอนนิฟิเคชันอยู่ในส่วนกำหนดของมาตรฐานไบโอดีเซล (196-210 mg KOH/g) แต่เมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันละหุ่ง ให้ค่าสปอนนิฟิเคชันต่ำกว่ากำหนดมาตรฐานของไบโอดีเซล เนื่องจากน้ำมันเหล่านี้อาจจะเกิดกรดไขมันอิสระซึ่งกรดไขมันอิสระจะเข้าไปทำปฏิกิริยากับตัวเร่งปฏิกิริยา ส่งผลให้มีการมีการสลายพันธะน้อยลง ทำให้ปฏิกิริยาเกิดขึ้นได้ไม่สมบูรณ์

การคำนวณค่าไอโอดีน (Iodine value) จากแก๊สโครมาโตกราฟี

ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมันด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี สามารถคำนวณ ค่า $IV_{(FAME)}$ ของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ได้โดยใช้สมการที่ 7 และคำนวณค่า $IV_{(lipid)}$ ของไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์ม น้ำมันที่ใช้แล้วจากการทอด น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันละหุ่งได้โดยใช้สมการ 6 (Krisnangkura et al., 1991: 56-58)

$$IV_{(lipid)} = \sum\left[\left(IV_{(FAME)} \times (\%FA)\right)/100\right] \qquad (6)$$

$$IV_{(FAME)} = \left[\frac{(126.9\times 2)\times 100\times \text{number of double bond}}{\text{MW of FA}}\right] \qquad (7)$$

ตารางที่ 20 การคำนวณค่าไอโอดีนของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์ม

Fatty acids methyl ester	$IV_{(FAME)}$	%FA	$IV_{(FAME)}\times$ %FA
C(18:1)	85.740	47.310	40.560
C(18:2)	172.650	8.710	15.040
$IV_{(lipid)}$	-	-	**55.600**

ดังนั้นค่าไอโอดีนของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์ม ที่วิเคราะห์ได้จากเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟีเท่ากับ 55.600

การคำนวณค่าไอโอดีนของเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันที่ใช้แล้วจากการทอด น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันละหุ่งมีวิธีคำนวณเช่นเดียวกับการคำนวณไอโอดีนของเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์ม ซึ่งแสดงผลการทดลองที่คำนวณได้ดังตารางที่ 21

ตารางที่ 21 ผลการคำนวณค่าไอโอดีนของเมทิลเอสเทอร์จาก น้ำมันปาล์ม น้ำมันที่เหลือใช้จากการทอด น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันละหุ่ง

เมทิลเอสเทอร์	ค่าไอโอดีน (กรัมไอโอดีน/100 กรัม)
จากน้ำมันปาล์ม	55.600
จากน้ำมันที่เหลือใช้จากการทอด	58.860
จากน้ำมันถั่วเหลือง	189.220
จากน้ำมันละหุ่ง	90.410

ค่าไอโอดีนจะแสดงถึงการมีสัดส่วนของกรดไขมันไม่อิ่มตัวในโครงสร้างไบโอดีเซล ซึ่งถ้ามีค่าไอโอดีนมาก แสดงว่ามีสัดส่วนของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง ซึ่งทำให้มีแนวโน้มในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันสูง แต่ถ้าค่าไอโอดีนต่ำ แสดงว่ามีสัดส่วนของกรดไขมันอิ่มตัวสูง ส่งผลให้ไม่มีแนวโน้มในการเกิดออกซิเดชัน ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า ค่าไอโอดีนของเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์ม และน้ำมันที่ใช้แล้วจากการทอด และน้ำมันละหุ่งมีค่าไอโอดีนอยู่ในส่วนกำหนดของมาตรฐานไบโอดีเซล (ไม่เกิน120 กรัมไอโอดีน/100 กรัม) แต่เมทิลเอสเทอร์ที่ได้จากน้ำมันถั่วเหลืองมีค่าไอโอดีนที่สูง เนื่องจากน้ำมันถั่วเหลืองมีสัดส่วนของกรดไขมันไม่อิ่มตัวอยู่ในปริมาณมาก

การคำนวณค่าซีเทน (Cetane number)

ค่าซีเทนเป็นค่าที่บอกว่าน้ำมันมีค่าการลุกติดไฟซึ่งวิธีการในการคำนวณมีความยุ่งยาก ดังนั้นในการทดลองนี้จึงได้ใช้สมการ 8 (Krisnangkura et al., 1991: 56-58)ในการคำนวณซึ่งมีความรวดเร็วกว่าการทดลองแบบปกติ ยกตัวอย่างการคำนวณค่าซีเทนของเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์ม ดังสมการ

$$CN = \frac{46.3 + 5458 - 0.22IV_{(lipid)}}{SN_{(lipid)}} \qquad (8)$$

$$= \frac{46.3 + 5458 - 0.22(55.60)}{196.74}$$

$$= 56.81$$

ดังนั้นค่าซีเทนมีค่าเท่ากับ 56.81

การคำนวณค่าซีเทนของเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันที่ใช้แล้วจากการทอด น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันละหุ่ง มีวิธีคำนวณเช่นเดียวกับการคำนวณค่าซีเทนของน้ำมันปาล์ม ซึ่งแสดงผลการทดลองที่คำนวณได้แสดงดังตารางที่ 22

ตารางที่ 22 ผลการคำนวณค่าซีเทนของเมทิลเอสเทอร์จาก น้ำมันที่เหลือใช้จากการทอด น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันละหุ่ง

เมทิลเอสเทอร์	ค่าไอโอดีน (กรัมไอโอดีน/100 กรัม)
จากน้ำมันปาล์ม	56.810
จากน้ำมันที่เหลือใช้จากการทอด	51.890
จากน้ำมันถั่วเหลือง	33.090
จากน้ำมันละหุ่ง	55.620

ค่าซีเทนเป็นค่าที่ทำให้ทราบถึงความสามารถในการจุดระเบิดและการลุกติดไฟได้เร็วซึ่งมีผลต่อการสตาร์ทติดของเครื่องยนต์ การเผาไหม้ และปริมาณมลพิษในไอเสียซึ่งถ้าค่าซีเทนมากจะยิ่งทำให้การสตาร์ทติดของเครื่องยนต์ง่ายขึ้น แต่ก็ไม่ควรมีค่าเกิน 60 จากผลการทดลองพบว่า ค่าซีเทนของเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์ม และน้ำมันที่ใช้แล้วจากการทอด น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันละหุ่ง มีค่าซีเทนอยู่ในส่วนกำหนดของมาตรฐานไบโอดีเซล

การคำนวณค่าความร้อนของการเผาไหม้ (heat of combustion)

เป็นค่าที่บอกปริมาณความร้อนที่ถูกปลดปล่อยออกมาเมื่อสารถูกเผาไหม้อย่างสมบูรณ์ในที่นี้สามารถหาค่า HGได้จากสมการ 9 (Krisnangkura et al., 1991: 56-58) ยกตัวอย่างการคำนวณ ค่าความร้อนของการเผาไหม้ ของเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์ม ดังสมการ

$$HG_{(FAME)} = \frac{618000}{SN_{(lipid)}} - 0.08IV_{(lipid)} - 430 \qquad (9)$$

$$= \frac{618000}{196.74} - 0.08(55.6) - 430$$

$$= 45.18 \quad MJ/Kg$$

ดังนั้นค่าความร้อนของการเผาไหม้มีค่าเท่ากับ 45.16 MJ/Kg

การคำนวณค่าความร้อนของการเผาไหม้ของเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันที่ใช้แล้วจากการทอด น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันละหุ่ง มีวิธีคำนวณเช่นเดียวกับการคำนวณเช่นเดียวกับการคำนวณค่าความร้อนของการเผาไหม้ของเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์ม ซึ่งแสดงผลการทดลองที่คำนวณได้ดังตารางที่ 23

ตารางที่ 23 ผลการคำนวณค่าความร้อนของการเผาไหม้ (HG) ของเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์ม น้ำมันที่เหลือใช้จากการทอด น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันละหุ่ง

เมทิลเอสเทอร์	$HG_{(FAME)}$ (MJ/Kg)
จากน้ำมันปาล์ม	45.160
จากน้ำมันที่เหลือใช้จากการทอด	45.080
จากน้ำมันถั่วเหลือง	40.490
จากน้ำมันละหุ่ง	41.950

ค่าความร้อนจากการเผาไหม้ เป็นค่าที่บอกปริมาณความร้อนที่ถูกปลดปล่อยออกมา เมื่อสารถูกเผาไหม้อย่างสมบูรณ์ โดยปกติ พลังงานจากการเผาไหม้ของไบโอดีเซลจะน้อยกว่าดีเซลร้อยละ 10 ถ้าดีเซลให้ค่าความร้อนของการเผาไหม้ 100 กิโลจูล/กรัมดีเซลไบโอดีเซลจะให้ความร้อน 90 กิโลจูล/กรัมไบโอดีเซล ซึ่งไบโอดีเซลจะใช้เชื้อเพลิงมากกว่าดีเซลร้อยละ10 แสดงว่า หากมีค่าความร้อนของการเผาไหม้มาก จะใช้ปริมาณเชื้อเพลิงน้อยลง แต่ไม่ควรมีค่าเกิน 46 ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า ค่าความร้อนของการเผาไหม้ของเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันทั้ง 4 ชนิด มีค่าความร้อนของการเผาไหม้อยู่ในส่วนกำหนดของมาตรฐานไบโอดีเซล

การคำนวณค่าของกรดจากการไทเทรต

ความเป็นกรดในน้ำมันไบโอดีเซลเป็นผลมาจากปริมาณกรดไขมันอิสระในวัตถุดิบน้ำมันพืชและปริมาณกรดที่ใช้ในกระบวนการผลิตไบโอดีเซลซึ่งมีผลต่อการกัดกร่อนในเครื่องยนต์ทำให้อายุการใช้งานของปั๊มและไส้กรองน้ำมันลดลงนอกจากนี้ยังแสดงถึงการเสื่อมสภาพของน้ำมันเนื่องจากเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลติกจากปริมาณน้ำที่ปนอยู่ในน้ำมันและผลของสภาวะในการจัดเก็บสามารถคำนวณได้จากสมการ 10 (Krisnangkura et al., 1991: 56-58) และแสดงผลการคำนวณดังตารางที่ 24

$$AV = \frac{56.1 \times N \times V}{m} \qquad (10)$$

AV = ค่าความเป็นกรด, มิลลิกรัมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์/กรัมน้ำมัน

N = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (นอร์มัล)

V = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไทเทรต (มิลลิลิตร)

m = น้ำหนักน้ำมันพืช (กรัม)

จากค่าของกรดสามารถนำมาคำนวณหาปริมาณกรดไขมันอิสระได้ (FFA = ปริมาณกรดไขมันอิสระ, ร้อยละโดยน้ำหนัก) จากสมการ 11 (Krisnangkura et al., 1991: 56-58)

$$\%FFA \text{ (as palmitic acid)} = \frac{AV}{2.19} \qquad (11)$$

ตารางที่ 24 ผลการคำนวณค่าของกรดของเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์ม น้ำมันที่เหลือใช้จากการทอด น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันละหุ่ง

เมทิลเอสเทอร์	$HG_{(FAME)}$ (mg KOH/g)
จากน้ำมันปาล์ม	0.220
จากน้ำมันที่เหลือใช้จากการทอด	0.320
จากน้ำมันถั่วเหลือง	0.230
จากน้ำมันละหุ่ง	0.220

ค่าของกรด สามารถบอกปริมาณกรดไขมันอิสระในวัตถุดิบน้ำมันพืชและปริมาณกรดที่ใช้ในกระบวนการผลิตไบโอดีเซล ซึ่งมีผลต่อการกัดกร่อนในเครื่องยนต์ และแสดงถึงการเสื่อมสภาพของน้ำมัน เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสจากปริมาณน้ำที่ปนอยู่ในน้ำมัน ซึ่งถ้าค่าของกรดมากการเสื่อมสภาพของน้ำมันก็จะเพิ่มขึ้นด้วย จากผลการทดลองพบว่า เมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันที่ใช้แล้วมีค่าความเป็นกรดมากกว่าเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันชนิดอื่น เนื่องจากน้ำมันที่ผ่านการให้ความร้อนมาแล้วนั้น จะเกิดกรดไขมันอิสระขึ้น ส่งผลให้มีค่าความเป็นกรดเพิ่มขึ้น

ผลจากการเติมสารต้านอนุมูลอิสระของไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์ม น้ำมันที่เหลือใช้จากการทอด น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันละหุ่ง

ผลจากการทดสอบค่าเสถียรภาพต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยเครื่อง Rancimat แสดงในตารางที่ 25

ตารางที่ 25 ผลการทดสอบค่าเสถียรภาพต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยเครื่อง Rancimat

ไบโอดีเซลที่ผลิตจาก	ค่าเสถียรภาพต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (ชั่วโมง)	
	ไม่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระ	ผสมสารต้านอนุมูลอิสระ
น้ำมันปาล์ม	15.300	24.800
น้ำมันที่เหลือใช้จากการทอด	6.600	9.100
น้ำมันถั่วเหลือง	7.700	9.700
น้ำมันละหุ่ง	14.000	42.300

ผลจากการเติมสารต้านอนุมูลอิสระที่สังเคราะห์ได้ (2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone)ในไบโอดีเซลที่เตรียมจากน้ำมันปาล์ม น้ำมันที่เหลือใช้จากการทอด น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันละหุ่งพบว่า ไบโอดีเซลที่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระ ให้ค่าเสถียรภาพต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่สูงกว่าไบโอดีเซลที่ไม่ได้ผสมสารต้านอนุมูลอิสระแสดงให้เห็นว่าสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำการสังเคราะห์ขึ้นสามารถด้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ และเมื่อจึงทำการเก็บรักษาไบโอดีเซลไว้เป็นระยะเวลานาน 1 เดือน แล้วทำการทดสอบคุณสมบัติทางเชื้อเพลิงของไบโอดีเซลอีกครั้ง เพื่อทำการเปรียบเทียบคุณสมบัติทางเชื้อเพลิงของไบโอดีเซลระหว่างไบดีเซลที่ผสมสารอนุมูลอิสระกับไบโอดีเซลที่ไม่ผสมสารอนุมูลอิสระ ดังตารางที่ 26-29

ผลจากการทดสอบสมบัติทางเชื้อเพลิงของไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์มระหว่างไบโอดีเซลที่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระกับไบโอดีเซลที่ไม่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 26 ผลการเปรียบเทียบสมบัติทางเชื้อเพลิงของไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์มระหว่างไบโอดีเซลที่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระกับไบโอดีเซลที่ไม่ผสมสารด้านอนุมูลอิสระ

คุณสมบัติทางเชื้อเพลิงของ ไบโอดีเซล	ค่ามาตรฐาน	ไบโอดีเซลที่เตรียมได้ครั้งแรก	ไบโอดีเซลเมื่อเวลาผ่านไป 1 เดือน	
			ผสมสารต้านอนุมูลอิสระ	ไม่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระ
$SN_{(lipid)}$ (mg KOH/g)	195 - 210	196.740	197.960	195.570
$IV_{(lipid)}$ (กรัมไอโอดีน/100g)	ไม่สูงกว่า 120	55.600	55.530	95.740
ค่าซีเทน	49 - 60	56.810	58.720	43.860
$HG_{(FAME)}$ (MJ/Kg)	45 - 46	45.180	45.200	45.020
ค่าของกรด (mg KOH/g)	ไม่สูงกว่า 0.50	0.220	0.110	0.350

ผลการเปรียบเทียบสมบัติทางเชื้อเพลิงของไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์มระหว่างไบโอดีเซลที่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระกับไบโอดีเซลที่ไม่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระพบว่า ไบโอดีเซลที่ไม่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระจะมีคุณสมบัติทางเชื้อเพลิงของไบโอดีเซลลดลง โดยเฉพาะค่าไอโอดีนและค่าของกรดจะมีค่าสูงขึ้นมาก เนื่องจากออกซิเจนในอากาศจะเข้าทำปฏิกิริยากับพันธะคู่บนสายของกรดไขมันในน้ำมันจนได้สารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์ซึ่งแตกตัวต่อไปได้เป็นอนุมูลอิสระของกรดไขมันและอนุมูลอิสระ hydroxyl ซึ่งไวต่อการออกซิไดซ์เข้าทำปฏิกิริยากับกรดไขมันในไบโอดีเซลตัวอื่นๆอย่างรวดเร็ว (Autocatalytic AutoOxidation) แบบปฏิกิริยาลูกโซ่ซึ่งจะยิ่งเพิ่มอนุมูลอิสระของกรดไขมันมากขึ้นและเกิดการออกซิไดซ์ต่อเนื่องอย่างรวดเร็วส่งผลให้ค่าของกรดเพิ่มขึ้น จึงทำให้คุณสมบัติทางเชื้อเพลิงอื่นๆ มีประสิทธิภาพต่ำลง ในขณะที่ไบโอดีเซลที่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระมีคุณสมบัติทางเชื้อเพลิงที่ดีขึ้น เนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระจะเข้าไปทำลายอนุมูลอิสระ โดยการให้หรือรับอิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระ ทำให้ปฏิกิริยาลูกโซ่สิ้นสุดลง ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระโดยตัวเองแล้วจะไม่กลายเป็นอนุมูลอิสระ เมื่อทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระเนื่องจากตัวมันเองมีความคงตัว ทั้งในรูปอิเล็กตรอนครบและอิเล็กตรอนขาดหรือเกิน จึงส่งผลให้คุณสมบัติทางเชื้อเพลิงของไบโอดีเซลมีประสิทธิภาพดีขึ้น

ผลจากการทดสอบสมบัติทางเชื้อเพลิงของไบโอดีเซลจากน้ำมันที่ใช้แล้ว ระหว่างไบโอดีเซลที่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระกับไบโอดีเซลที่ไม่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 27 ผลการเปรียบเทียบสมบัติทางเชื้อเพลิงของไบโอดีเซลจากน้ำมันที่เหลือใช้จากการทอดระหว่างไบโอดีเซลที่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระกับไบโอดีเซลที่ไม่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระ

คุณสมบัติทางเชื้อเพลิงของไบโอดีเซล	ค่ามาตรฐาน	ไบโอดีเซลที่เตรียมได้ครั้งแรก	ไบโอดีเซลเมื่อเวลาผ่านไป 1 เดือน	
			ผสมสารต้านอนุมูลอิสระ	ไม่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระ
$SN_{(lipid)}$ (mg KOH/g)	195 - 210	193.400	198.830	19.560
$IV_{(lipid)}$ (กรัมไอโอดีน/100g)	ไม่สูงกว่า 120	58.860	57.240	105.890
ค่าซีเทน	49 - 60	51.89	54.52	42.52
$HG_{(FAME)}$ (MJ/Kg)	45 - 46	45.08	45.16	44.82
ค่าของกรด (mg KOH/g)	ไม่สูงกว่า 0.50	0.32	0.22	0.45

ผลการเปรียบเทียบสมบัติทางเชื้อเพลิงของไบโอดีเซลจากน้ำมันที่ใช้แล้วระหว่างไบโอดีเซลที่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระกับไบโอดีเซลที่ไม่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระ พบว่า ไบโอดีเซลที่ไม่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระจะมีคุณสมบัติทางเชื้อเพลิงของไบโอดีเซลลดลง ซึ่งมีแนวโน้มเช่นเดียวกับน้ำมันปาล์ม แต่ไบโอดีเซลจากน้ำมันที่เหลือใช้จากการทอดจะมีคุณสมบัติทางเชื้อเพลิงของไบโอดีเซลที่ต่ำกว่า ไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์ม โดยเฉพาะไบโอดีเซลจากน้ำมันใช้แล้วที่ไม่เติมสารต้านอนุมูลอิสระ ให้ค่าของกรดและค่าไอโอดีนต่ำกว่าค่ามาตรฐาน ชี้ให้เห็นว่า สารต้านอนุมูลอิสระที่ทำการสังเคราะห์ขึ้น สามารถต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองในตารางที่ 26 และ 27

ผลจากการทดสอบสมบัติทางเชื้อเพลิงของไบโอดีเซลจากน้ำมันถั่วเหลืองระหว่างไบโอดีเซลที่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระกับไบโอดีเซลที่ไม่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 28 ผลการเปรียบเทียบสมบัติทางเชื้อเพลิงของไบโอดีเซลจากน้ำมันถั่วเหลืองระหว่างไบโอดีเซลที่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระกับไบโอดีเซลที่ไม่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระ

คุณสมบัติทางเชื้อเพลิงของ ไบโอดีเซล	ค่ามาตรฐาน	ไบโอดีเซลที่เตรียมได้ครั้งแรก	ไบโอดีเซลเมื่อเวลาผ่านไป 1 เดือน	
			ผสมสารต้านอนุมูลอิสระ	ไม่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระ
$SN_{(lipid)}$ (mg KOH/g)	195 - 210	192.210	196.600	197.570
$IV_{(lipid)}$ (กรัมไอโอดีน/100g)	ไม่สูงกว่า 120	189.220	49.680	95.740
ค่าซีเทน	49 - 60	33.070	58.720	43.860
$HG_{(FAME)}$ (MJ/Kg)	45 - 46	40.490	45.800	45.020
ค่าของกรด (mg KOH/g)	ไม่สูงกว่า 0.50	0.230	0.110	0.350

ผลการเปรียบเทียบสมบัติทางเชื้อเพลิงของไบโอดีเซลจากน้ำมันถั่วเหลืองระหว่างไบโอดีเซลที่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระกับไบโอดีเซลที่ไม่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระ พบว่า ไบโอดีเซลที่ไม่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระจะมีคุณสมบัติทางเชื้อเพลิงของไบโอดีเซลลดลง

ผลจากการทดสอบสมบัติทางเชื้อเพลิงของไบโอดีเซลจากน้ำมันละหุ่งระหว่างไบโอดีเซลที่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระกับไบโอดีเซลที่ไม่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 29 ผลการเปรียบเทียบสมบัติทางเชื้อเพลิงของไบโอดีเซลจากน้ำมันละหุ่งระหว่างไบโอดีเซลที่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระกับไบโอดีเซลที่ไม่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระ

คุณสมบัติทางเชื้อเพลิงของ ไบโอดีเซล	ค่ามาตรฐาน	ไบโอดีเซลที่เตรียมได้ครั้งแรก	ไบโอดีเซลเมื่อเวลาผ่านไป 1 เดือน	
			ผสมสารต้านอนุมูลอิสระ	ไม่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระ
$SN_{(lipid)}$ (mg KOH/g)	195 - 210	186.850	198.830	198.560
$IV_{(lipid)}$ (กรัมไอโอดีน/100g)	ไม่สูงกว่า 120	95.410	54.240	105.890
ค่าซีเทน	49 - 60	55.620	54.520	42.520
$HG_{(FAME)}$ (MJ/Kg)	45 - 46	41.950	45.40จ	44.820
ค่าของกรด (mg KOH/g)	ไม่สูงกว่า 0.50	0.220	0.200	0.450

ผลการเปรียบเทียบสมบัติทางเชื้อเพลิงของไบโอดีเซลจากน้ำมันละหุ่งระหว่างไบโอดีเซลที่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระกับไบโอดีเซลที่ไม่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระ พบว่า ไบโอดีเซลที่ไม่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระจะมีคุณสมบัติทางเชื้อเพลิงของไบโอดีเซลลดลง

สรุปผลการวิจัย

จากการสังเคราะห์อนุพันธ์ไฮโดรควิโนนจากการทำปฏิกิริยาการควบแน่นแบบอัลดอล ระหว่าง 1,4-Cyclohexanedione และสารประกอบอัลดีไฮด์ โดยใช้ ลิเทียมคลอไรด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ผลปรากฏว่า 2-(3,4-Dihydroxybenzyl) hydroquinone ให้ผลการต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด หลังจากนั้นทำการสังเคราะห์เมทิลเอสเทอร์ (ไบโอดีเซล) โดยใช้น้ำมันที่เป็นวัตถุดิบในการสังเคราะห์ที่แตกต่างกัน โดยใช้ น้ำมันปาล์ม น้ำทันที่เหลือจากการทอด น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันละหุ่ง และวิเคราะห์ค่ามาตราฐานต่างๆ เช่น การวิเคราะห์ร้อยละองค์ประกอบของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ ค่าสปอนนิฟิเคชันของกรดไขมัน ค่าไอโอดีนของกรดไขมัน ค่าซีเทน ค่าความร้อนของหารเผาไหม้ และค่ากรด ในเมทิลเอสเทอร์ พบว่า ค่าที่ได้อยู่ในช่วงมาตราฐานของไบโอดีเซล และหลังจากนำน้ำมันที่สังเคราะห์ได้มาเติม สารต้านอนุมูลอิสระที่สังเคราะห์ได้ที่ ความเข้มข้น 250 ppm และนำไปทดสอบค่าเสถียรภาพต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยเครื่อง Rancimat พบว่า เมทิลเอสเทอร์ที่เติมสารต้านอนุมูลอิสระ ให้ค่าเสถียรภาพต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่สูงกว่าไบโอดีเซลที่ไม่ได้ผสมสารต้านอนุมูลอิสระ แสดงให้เห็นว่าสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำการสังเคราะห์ขึ้นสามารถต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ และเมื่อจึงทำการเก็บรักษาไบโอดีเซลไว้เป็นระยะเวลานาน 1 เดือน แล้วทำการทดสอบคุณสมบัติทางเชื้อเพลิงของไบโอดีเซลอีกครั้ง เพื่อทำการเปรียบเทียบคุณสมบัติทางเชื้อเพลิงของไบโอดีเซลระหว่างไบดีเซลที่ผสมสารอนุมูลอิสระกับไบโอดีเซลที่ไม่ผสมสารอนุมูลอิสระ พบว่า ไบโอดีเซลที่เติมสารต้านอนุมูลอิสระให้ค่าที่อยู่ในเกณฑ์มาตราฐาน และให้ค่าคุณสมบัติที่ดีกว่า ไบโอดีเซลที่ไม่ได้เติมสารต้านอนุมูลอิสระ

เอกสารอ้างอิง

กาญจนาพงษ์ตระกูล และ มนตรี วงศ์ศรี. 2553. **ผลของสารต้านออกซิเจนต่อเสถียรภาพเชิงออกซิเดทีฟของน้ำมันไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์ม.** วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเคมี. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย: กรุงเทพฯ.

จิตโสภิณ สหพัฒน์สมบัติ. 2550. **การสังเคราะห์น้ำมันหล่อลื่นจากกระบวนการทรานเอสเทอริฟิเคชั่นของสารประกอบเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันปาล์มโดยใช้ไดรเมทิลออลโพรเพน.** วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเคมี. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ: กรุงเทพฯ.

ณัฐพร บุญมาครอง. 2553. **การสังเคราะห์อนุพันธ์ไฮโดรควิโนนโดยใช้อัลดีไฮด์ชนิดต่างๆ.** รายงานการวิจัยอิสระวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเคมี. มหาวิทยาลัยแม่โจ้: เชียงใหม่.

ประชาสันติ ไตรยสุทธิ์. 2548. **การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันเมล็ดยางพาราโดยวิธีกรดเอสเตอร์ริฟิเคชั่น และด่าง-ทรานเอสเตอร์ริฟิเคชั่น.** รายงานการวิจัยอิสระวิศวกรรมศาสตร์บัณฑิต สาขาวิศวกรรมเครื่องกล. มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี: อุบลราชธานี.

พนิดา ศิริบังเกิดผล และคณะ. 2544. **การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของน้ำมันดีเซลพืช และมลพิษที่เกิดขึ้นเมื่อใช้เป็นเชื้อเพลิง.** เอกสารกระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม: กรุงเทพฯ. 1-8.

ภูธร เรืองยิ่ง. 2545. **การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันมะพร้าวแบบต่อเนื่องโดยการเร่งปฏิกิริยาด้วยรังสีไมโครเวฟ.** รายงานการวิจัยอิสระวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี. มหาวิทยาลัยพระจอมเกล้าธนบุรี: กรุงเทพฯ.

แม้น อมรสิทธิ์ และอมร เพชรสม. 2543. **หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ.** สำนักพิมพ์ชวนพิมพ์: กรุงเทพฯ. 776 น.

วิมาลา เมืองอ่อน และ ศิริณา โพธิ์ดี. 2544. **การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันที่ใช้แล้วจากการทอด.** รายงานการวิจัยอิสระวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่: เชียงใหม่.

สิงห์ทอง หล่ำจันทึก และคณะ. 2550. **การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันพืชชนิดต่างๆ.** รายงานการวิจัยอิสระวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์: สงขลา.

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. 2553. **การผลิตและการตรวจสอบมาตราฐานไบโอดีเซลเบื้องต้น**. เอกสารสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย: กรุงเทพฯ.

อภิญญา วัฒนา. 2551. **การศึกษาองค์ประกอบกรดไขมันและการประเมินศักยภาพในการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันเมล็ดส้มโอ**. รายงานการวิจัยอิสระวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเคมี. มหาวิทยาลัยแม่โจ้: เชียงใหม่.

อุกฤษฎ์ สหพัฒน์สมบัติ และคณะ. 2552. **ผลกระทบของนิกเกิลอัลลอยด์ในวัสดุเคลือบถังน้ำมันต่อเสถียรภาพต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในไบโอดีเซล**. ศูนย์เทคโนโลยีและวัสดุแห่งชาติ. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย: กรุงเทพฯ. 1-8.

Fangrui M. and Milford A. H. 1999. Biodiesel production: a review. **Bio. Tech.** 21(4): 1-15.

Jittinan M. 2001. **Synthesis and structure-bioactivity relationship of sugar-esters.** M.S. Thesis. Chulalongkorn University: Bangkok.

Krisnangkura K. 1985. A simple method for estimation of cetane index of vegetable oil methyl ester. **J. of AOCS**. 63: 55-58.

Krisnangkura K. and Simaharnnop R. 1991. Estimation of heat of combustion of triglycerides and fatty acid methyl ester. **J. of AOCS**. 68: 56-58.

Mustafa B. and Havva B. 2010. Progess in biodiesel processing. **App. energy**. 87:1815-1835.

Yung L. 2009. The effect of natural and synthetic antioxidants on the oxidation stability of palm diesel. **Fuel**. 85: 867-870.