บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาวิจัยเรื่องการสังเคราะห์เมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันที่เหลือจากการทอดอาหารโดยไลเปสจากยางมะละกอเพื่อผลิตเชื้อเพลิงไบโอดีเซล ผู้วิจัยได้ใช้กรอบแนวคิดทฤษฎีและองค์ความรู้ รวมทั้งผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องเป็นกรอบในการศึกษา ดังรายละเอียดต่อไปนี้

1. เชื้อเพลิงไบโอดีเซล
2. ปฏิกิริยาเมทานอไลซีส
3. เอนไซม์ไลเปสจากยางมะละกอ
4. การปรับปรุงความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาเมธานอไลซีสของเอนไซม์ไลเปส
5. น้ำมันที่เหลือจากการทอดอาหาร
6. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เชื้อเพลิงไบโอดีเซล

เชื้อเพลิงไบโอดีเซล (เมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันชนิดสายยาว) ที่สังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชัน (transesterification) ของน้ำมันกับเมทานอล หรือปฏิกิริยาเมทานอไลซีสของน้ำมัน สามารถนำไปใช้กับเครื่องยนต์ดีเซล ทดแทนการใช้น้ำมันดีเซลได้ (Bartholomew. 1981 : 286A-288A) เชื้อเพลิงไบโอดีเซลมีข้อดีหลายประการคือ (1) เป็นพลังงานเชื้อเพลิงที่ผลิตจากแหล่งทรัพยากรหมุนเวียน เช่น น้ำมันพืชไขมันสัตว์ หรือสาหร่าย เผาไหม้ได้สมบูรณ์ทำให้ลดควันดำ จึงช่วยลดการปล่อยก๊าซที่ก่อให้เกิดภาวะเรือนกระจก (greenhouse effect) โดยเฉพาะก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เพื่อแก้ปัญหาโลกร้อน (2) ไอเสียมีมลพิษต่ำกว่าการใช้น้ำมันดีเซล คือ ไม่มีกำมะถันและสารก่อมะเร็งเป็นองค์ประกอบ (3) เป็นเชื้อเพลิงที่สามารถผลิตใช้ได้เองภายในประเทศ ทำให้ลดการนำเข้าน้ำมันปิโตรเลียมจากต่างประเทศ ลดการสูญเสียเงินตราต่างประเทศในการนำเข้าน้ำมัน (4) เป็นเชื้อเพลิงที่สามารถย่อยสลายได้เอง ตามกระบวนการชีวภาพในธรรมชาติ (biodegradable) และไม่เป็นพิษ (non-toxic) (5) การนำน้ำมันที่ใช้แล้วมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซล ยังช่วยลดปริมาณน้ำมันทอดซ้ำซึ่งอาจเป็นอันตรายต่อร่างกายก่อให้เกิดมะเร็งในเม็ดเลือดขาว หรือเนื้องอกในอวัยวะต่างๆ ต่อผู้บริโภคได้ด้วย (Fukuda, Kondo & Noda. 2001 : 405-416) ไบโอดีเซลช่วยหล่อลื่นแทนกำมะถัน และลดฝุ่นละอองหรือควันดำ

(particulate matter) ให้ต่ำลง โดยไม่ทำให้เครื่องยนต์อุดตันเพราะว่าเผาไหม้หมด น้ำมันไบโอดีเซลตามมาตรฐานสากลมีคุณสมบัติเทียบเคียงได้กับน้ำมันดีเซลที่ผลิตจากน้ำมันปิโตรเลียม ดังนั้นผลกระทบต่อเครื่องยนต์ถือได้ว่าไม่มีผลทางด้านลบ หรือในกรณีของเครื่องยนต์เก่าอาจมีความจำเป็นต้องเปลี่ยนซีลยางบางส่วนเท่านั้นเอง โดยทั่วไปการใช้น้ำมันไบโอดีเซลในต่างประเทศนั้นนิยมนำไปผสมเป็นสูตรต่าง ๆ ดังนี้(ไบโอดีเซล. ออน-ไลน์. 2552)

- B2 (ไบโอดีเซล 2 % : ดีเซล 98 %) มีจำหน่ายทั่วไปในมลรัฐมินนิโซตา ประเทศสหรัฐอเมริกา และจะบังคับใช้ทั้งมลรัฐในปี พ.ศ2548

- B5 (ไบโอดีเซล 5% : ดีเซล 95 %) มีจำหน่ายทั่วไปในประเทศฝรั่งเศสโดยกว่าครึ่งหนึ่งของน้ำมันดีเซลที่จำหน่ายเป็นน้ำมันสูตรB5

- B20 (ไบโอดีเซล 20% : ดีเซล 80%) เป็นน้ำมันผสมที่คณะกรรมการไบโอดีเซลแห่งชาติและสำนักงานป้องกันสิ่งแวดล้อมของประเทศสหรัฐอเมริกา แนะนำให้ใช้ตามกฎหมายยานยนต์เชื้อเพลิงทดแทนของประเทศ ปัจจุบันนิยมใช้ในประเทศสหรัฐอเมริกา

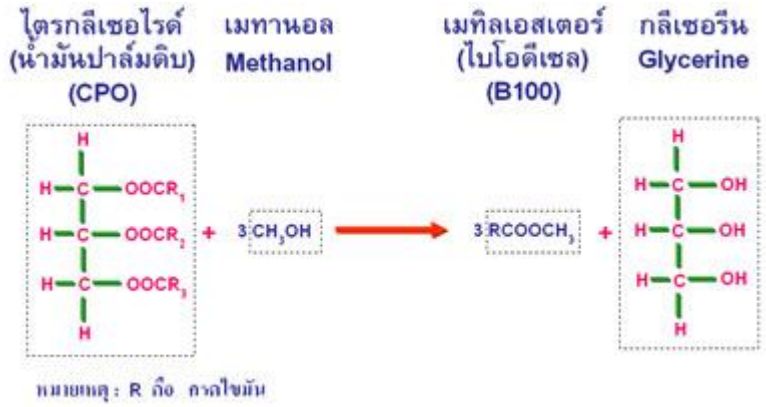
- B40 (ไบโอดีเซล 40 % : ดีเซล 60%) เป็นสูตรที่ใช้ในรถยนต์ขนส่งมวลชนในประเทศฝรั่งเศส ทั้งนี้เพื่อผลในการลดมลพิษ

- B100 (ไบโอดีเซล 100 %) เป็นน้ำมันไบโอดีเซล100 เปอร์เซ็นต์ ที่ใช้ในประเทศเยอรมนีและออสเตรีย โดยได้รับการรับรองจากบริษัทผู้ผลิตรถยนต์รายใหญ่ของประเทศ

ในอนาคตการใช้ไบโอดีเซลจะได้รับความนิยมมากขึ้นตามลำดับ เพื่อลดการนำเข้าน้ำมันจากต่างประเทศ เพิ่มความมั่นคงด้านพลังงาน และเป็นการส่งเสริมการใช้พลังงานทดแทนจากพืชอันเป็นผลผลิตภายในประเทศ รวมทั้งการใช้เชื้อเพลิงจากพืชยังช่วยลดมลพิษทางอากาศ และพัฒนาคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้นของประชาชน และสิ่งที่สำคัญที่สุดคือเพื่อการพึ่งพาตนเองตามแนวทฤษฎีเศรษฐกิจพอเพียงของพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวฯ

2.2 ปฏิกิริยาเมทานอไลซีส

เมทานอไลซีส คือ ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของไตรกลีเซอไรด์กับเมทานอล กลไกการเกิดปฏิกิริยาแสดงได้ดังรูป 2.1 ใช้สังเคราะห์เมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน เป็นปฏิกิริยาที่สำคัญในเชิงพาณิชย์ เป็นวิธีเตรียมเอสเทอร์ของกรดไขมันอื่น ๆ ที่นอกเหนือไปจากไตรกลีเซอไรด์ มักเป็นวิธีที่เหมาะและสะดวกกว่าวิธีแตกตัวไขมันแล้วนำกรดไขมันที่ได้ไปทำให้เป็นเอสเทอร์อีกต่อหนึ่ง

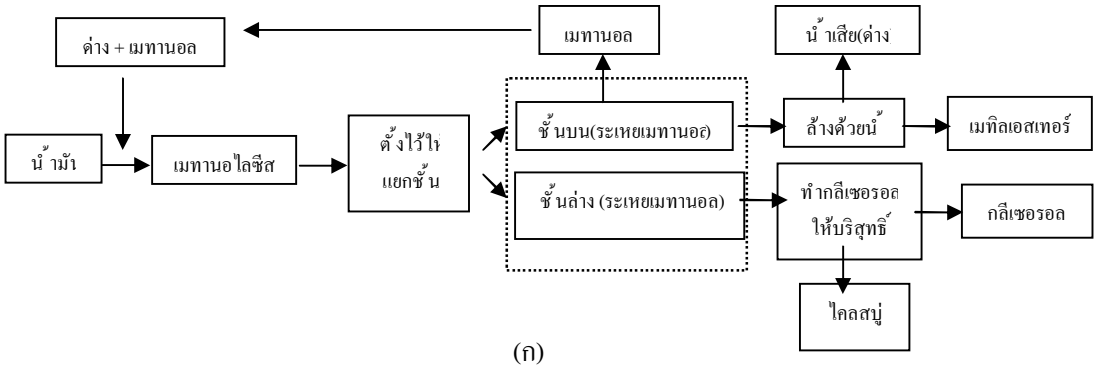


รูป 2.1 สมการทั่วไปของปฏิกิริยาเมทานอไลซีส
(ดัดแปลงจาก : บางจากกับพลังงานทดแทน. ออนไลน์. 2550)

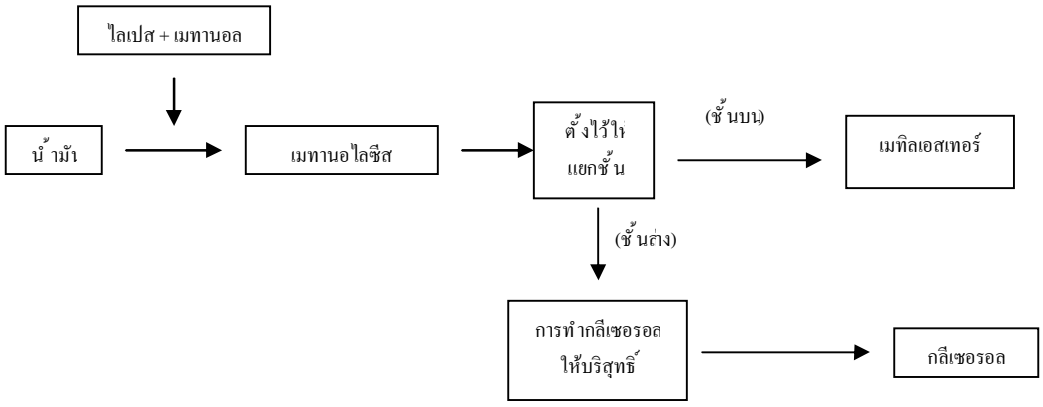
เมทิลเอสเทอร์ ในที่นี้หมายเฉพาะถึง เอสเทอร์ของกรดไขมันที่ส่วนแอลกอฮอล์ได้จากเมทานอล ในปฏิกิริยาการเกิดเอสเทอร์นี้อาจใช้กรดหรือด่างหรือเอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่ง แต่โดยทั่วไปเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรดกับด่าง พบว่าด่างเป็นตัวเร่งที่ดีกว่าในแง่ของความเร็ว ความสมบูรณ์ของปฏิกิริยา และอุณหภูมิของการเกิดปฏิกิริยาที่ต่ำกว่า(ด้วง พุธศุกร์. 2534 : 97-98) ภาชนะที่ใช้ในการเตรียมโดยใช้ด่างเป็นตัวเร่ง เป็นถังเปิดธรรมดา (ไม่จำเป็นต้องกันสนิมได้) แต่ไขมันที่ใช้เป็นสารตั้งต้นจะต้องสะอาด แห้ง (ปราศจากน้ำ) และค่อนข้างเป็นกลาง (มีค่าความเป็นกรด 0.1-0.3) นำมาอุ่นที่อุณหภูมิระหว่าง 60-80 องศาเซลเซียส แล้วเติมเมทานอลชนิดไม่มีน้ำ (99.7%) ซึ่งมีโซเดียมไฮดรอกไซด์หรือโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ละลายอยู่ 0.1-0.5% ปริมาณอัลกอฮอล์จะใช้ประมาณ 1.2-1.6 เท่าของปริมาณที่ต้องใช้ในทางทฤษฎี การใช้อัลกอฮอล์มากเกินกว่า

1.75 เท่าของปริมาณทางทฤษฎีจะไม่ทำให้ปฏิกิริยาเร็วขึ้นมากเท่าใดนัก และยังจะทำให้เกิดปัญหาในการแยกกลีเซอรอลในขั้นตอนต่อไป หลังเติมแอลกอฮอล์ คนส่วนผสม 3-4 นาที แล้วปล่อยทิ้งไว้ กลีเซอรอลจะเริ่มแยกตัวออกมาเกือบจะทันที โดยแยกเป็นชั้นอยู่ข้างล่างเนื่องจากเป็นสารที่หนักกว่าของเหลวส่วนอื่น ๆ และอยู่ในสภาพแอนไฮดรัสคือไม่มีน้ำปน การเกิดเมธิลเอสเทอร์จากไขมันจะมีความสมบูรณ์ 98% ตามปกติ หลังจาก 1 ชั่วโมงผ่านไป ของเหลวชั้นล่างซึ่งเป็นกลีเซอรอล จะมีกลีเซอรอลไม่ต่ำกว่า 90% ของที่มีอยู่ในไขมัน ส่วนชั้นบนจะประกอบด้วยเมธิลเอสเทอร์ อัลกอฮอล์ และด่างส่วนใหญ่ที่ไม่ได้ทำปฏิกิริยา กลีเซอรอลที่เหลือและสบู่ปริมาณเล็กน้อย สิ่งเจือปนเหล่านี้อาจกำจัดออกจากเอสเทอร์โดยการล้างด้วยน้ำอุ่นปริมาณเล็กน้อย 2-3 ครั้ง เมทานอลที่หลงเหลืออยู่อาจกำจัดได้อีกวิธีหนึ่ง โดยการดูดออกภายใต้ความดันต่ำ

ปฏิกิริยาเมทานอไลซีสของไตรกลีเซอไรด์ที่เร่งด้วยไลเปสซึ่งเป็นตัวเร่งทางชีวภาพมีข้อดีมากกว่าการใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาทางเคมี (กรด-เบส) หลายประการได้แก่ (Fukuda, Kondo & Noda. 2001 : 405-416) (1) อุณหภูมิที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาประมาณ 30-40 องศาเซลเซียส เป็นสภาวะที่ไม่รุนแรงและทำให้ไม่สิ้นเปลืองพลังงาน (2) สามารถลดปัญหาการเกิดไคลสบู่ จากการใช้ด่างเร่งปฏิกิริยาเมทานอไลซีสของน้ำมันที่ใช้แล้ว เนื่องจากเอนไซม์สามารถเปลี่ยนกรดไขมันอิสระที่อยู่ในน้ำมันที่ใช้แล้วเป็นเมทิลเอสเทอร์ได้ทันที (3) น้ำที่เจือปนอยู่ในน้ำมันที่ใช้แล้วไม่จำเป็นต้องกำจัดออกไป (4) ได้ผลผลิตเมทิลเอสเทอร์ในปริมาณมาก (5) การแยกกลีเซอรอลซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ข้างเคียงทำได้โดยง่ายและ (6) เมทิลเอสเทอร์ที่ผลิตได้มีความบริสุทธิ์สูงกว่าการใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาทางเคมี ซึ่งสามารถสรุปเปรียบเทียบการผลิตเชื้อเพลิงไบโอดีเซลโดยใช้เอนไซม์ไลเปสกับกรดหรือด่างได้ดังรูป 2.2



(ก)



(ข)

รูป 2.2 การเปรียบเทียบขั้นตอนการผลิตเชื้อเพลิงไบโอดีเซล โดยใช้ด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (ก) และ ใช้เอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (ข)

2.3 เอนไซม์ไลเปสจากยางมะละกอ

ยางมะละกอเป็นของไหลมีลักษณะคล้ายน้ำนมซึ่งประกอบด้วย 2 ส่วนคือ ส่วนที่เป็นน้ำ 85% และส่วนที่เป็นตะกอนไม่ละลายน้ำอีก 25% ส่วนที่ละลายน้ำประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต 10% เกลือ 10% และไขมัน 5% นอกจากนี้มีสารชีวโมเลกุลอื่นๆ อีกเช่น กลูตาไธโอนและซีสเตอีนโปรติเอส (30%) และโปรตีนอื่นๆ อีก 10% เอนไซม์ย่อยโปรตีนที่ได้จากยางมะละกอและมีการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารกันอย่างกว้างขวางคือ ปาเปน (Moussaoui et. al. 2001 : 556-570) ใช้ในอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์เบียร์ ไวน์และเครื่องดื่มอื่น ๆ โดยปาเปนจะทำหน้าที่ย่อยโปรตีนในผลิตภัณฑ์ และทำให้สารละลายใสไม่ขุ่นเมื่อเก็บไว้นานหรือเก็บในที่อุณหภูมิต่ำใช้ในโรงงานผลิตเนื้อสัตว์และปลา จะทำให้เนื้อสัตว์นั้นนุ่มเปื่อยเมื่อนำมาประกอบอาหาร ใช้ในอุตสาหกรรมยาและใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ โดยใช้เป็นองค์ประกอบของยาช่วยย่อยอาหาร นอกจากนี้ยังช่วยรักษาพวกแผลติดเชื้อ เนื่องจากปาเปนมีคุณสมบัติที่ทำให้เลือดแข็งตัวและยังสามารถใช้ฆ่าพยาธิในลำไส้ด้วย ใช้ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง โดยผสมปาเปนในน้ำยาแช่หนังจะทำให้หนังเรียบและนุ่มและใช้ในอุตสาหกรรมทอผ้าโดยจะใช้ปาเปนฟอกไหมให้หมดเมือก

การเก็บยางมะละกอควรทำในช่วงเช้าเพราะเป็นช่วงที่น้ำยางไหลสะดวก(Patron. 1952 : 57-61 และ Krishnamurthy et. al. 1960 : 433-436) ทำได้โดยกรีดผลมะละกอดิบตามแนวยาวลึกประมาณ 2.0 ถึง 2.5 มิลลิเมตร 3 รอยต่อหนึ่งผล นำถ้วยหรือแก้วพลาสติกมารองน้ำยางที่หยดลงมา หลังจากนั้นขูดยางที่แห้งติดอยู่ที่ผลมะละกอลงมาด้วย ยางมะละกอที่เก็บได้ควรเก็บไว้ที่อุณหภูมิ −20 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันการสูญเสียความสามารถของเอนไซม์ โดยหนึ่งผลของมะละกอสามารถเก็บได้ 2 ครั้ง ซึ่งแต่ละครั้งห่างกัน 4 วัน(Mardigal et. al. 1980 : 279-285)

เอนไซม์ไลเปสจากยางมะละกอจะอยู่ในส่วนที่เป็นตะกอนของยางมะละกอ (Caro et. al. 2000 : 891-901) ต้นมะละกอที่ต่างสายพันธ์กันจะมีความสามารถ(activity) ของเอนไซม์ไลเปสในยางมะละกอไม่เท่ากัน (ตาราง 2.1) เฉพาะยางมะละกอที่ยังไม่ผ่านขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์เท่านั้นที่แสดงความสามารถของเอนไซม์ไลเปส ดังตาราง 2.2 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ปาเปนที่บริสุทธิ์แล้วจะไม่พบความสามารถของเอนไซม์ไลเปสเพราะว่าเอนไซม์ไลเปสถูกกำจัดออกไประหว่างขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์

ตาราง 2.1 ความสามารถของเอนไซม์ไลเปสจากมะละกอต่างสายพันธุ์

แหล่งของเอนไซม์	ความสามารถของไลเปส (IU/g)*
มะละกอสายพันธุ์ MTQ2	587±18
มะละกอสายพันธุ์ Deshaies	814±38
มะละกอสายพันธุ์ Madagascar	145±17

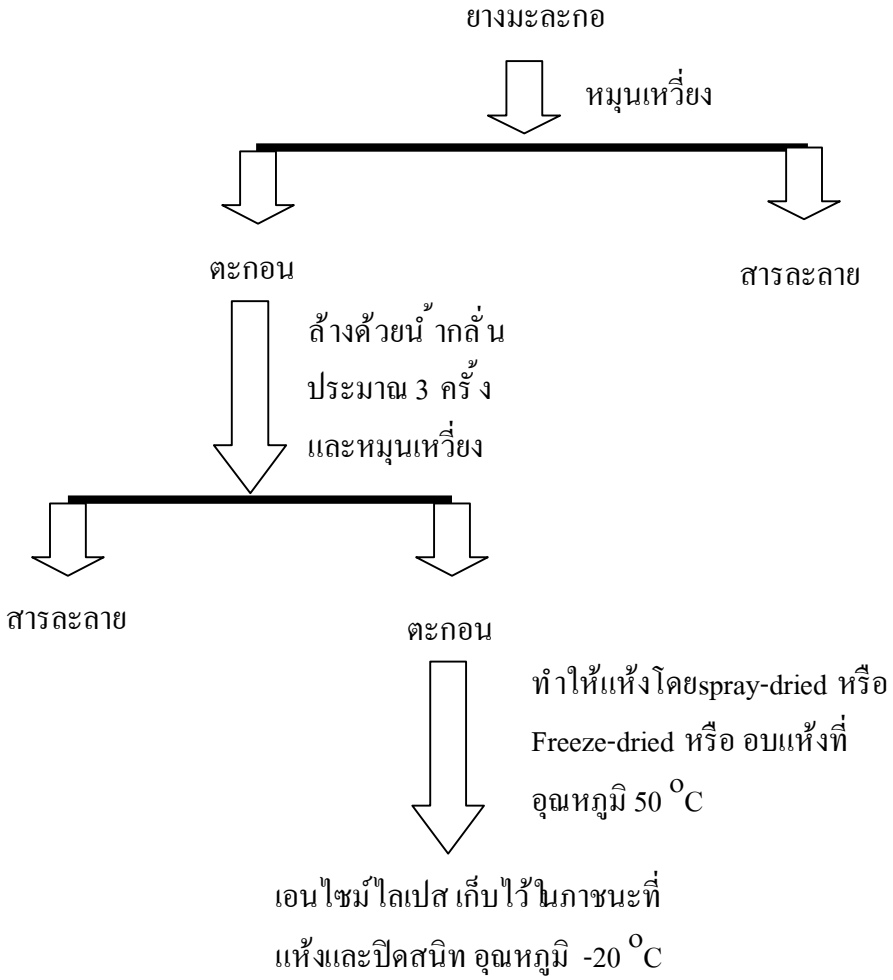
*IU/g คือ ปริมาณของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในหน่วยไมโครโมลจากการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ภายในเวลา 1 นาที ต่อ ปริมาณเอนไซม์ที่ใช้1 กรัม

ตาราง 2.2 ความสามารถของเอนไซม์ไลเปสในยางมะละกอและปาเปนบริสุทธิ์

แหล่งของเอนไซม์	ความสามารถของไลเปส (IU/g)*
ปาเปนบริสุทธิ์	ไม่มี
ปาเปนที่ละลายน้ำได้	ไม่มี
ปาเปนที่ยังไม่ได้ทำให้บริสุทธิ์	1,567±35

*IU/g คือ ปริมาณของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในหน่วยไมโครโมลจากการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ภายในเวลา 1 นาที ต่อ ปริมาณเอนไซม์ที่ใช้1 กรัม

การแยกเอนไซม์ไลเปสจากยางมะละกอออกมาจากส่วนของสารละลายทำได้โดยใช้เครื่องหมุนเหวี่ยง แล้วแยกส่วนที่เป็นตะกอนออกมาทำให้แห้งโดยใช้ตู้อบ หรือ เครื่องspray-dried หรือ เครื่อง freeze-dried ตามความสะดวก ขั้นตอนการเตรียมเอนไซม์ไลเปสสามารถสรุปเป็นแผนภาพได้ดังรูป2.3



รูป 2.3 แผนภาพการเตรียมเอนไซม์ไลเปสจากยางมะละกอ

2.4 การปรับปรุงความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาเมทานอไลซีสของเอนไซม์ไลเปส

การใช้เอนไซม์ไลเปสเร่งปฏิกิริยาเมทานอไลซีสเพื่อผลิตเมทิลเอสเทอร์ มีอุปสรรคที่สำคัญ 3 ประการคือ (1) ความสามารถของเอนไซม์ในการเร่งปฏิกิริยาค่อนข้างต่ำจึงทำให้การใช้เอนไซม์ เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาจะใช้เวลานาน (2) เอนไซม์ไลเปสตรึงที่ใช้มักจะถูกทำลายความสามารถไปได้โดยเมทานอล ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในปฏิกิริยาด้วย และ (3) ความไม่สามารถละลายซึ่งกันและกันได้ของน้ำมันกับเมทานอลที่ใช้เป็นสารตั้งต้น ดังนั้นก่อนนำเอนไซม์ไลเปสจากยางมะละกอไปใช้เร่งปฏิกิริยาเมทานอไลซีสควรมีการปรับปรุงความสามารถของเอนไซม์ก่อน โดยวิธีการปรับปรุงความสามารถของเอนไซม์ได้แก่

2.4.1 การทำปฏิกิริยาในสภาวะที่มีตัวทำละลายอินทรีย์

วิธีนี้ทำได้โดยเติมตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดที่ไม่ทำลายโครงสร้างของเอนไซม์ เช่น เฮกเซน ปิโตรเลียมอีเธอร์ เป็นต้น จะทำให้เอนไซม์สัมผัสกับเมทานอลได้น้อยลง เพราะตัวทำละลายอินทรีย์ไปเจือจางสารละลายปฏิกิริยา แต่การใช้ในระดับอุตสาหกรรมจะไม่ค่อยเหมาะสม เนื่องจากตัวทำละลายอินทรีย์จะไปลดอัตราการเกิดของปฏิกิริยา และต้องเพิ่มขั้นตอนการกำจัดตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ออกไปด้วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าน้ำมันที่ใช้เป็นน้ำมันที่ผ่านการใช้แล้วหลายๆ ครั้ง จะทำให้เกิดการระเบิดขึ้นได้ จากจุดนี้กระบวนการผลิตเมทิลเอสเทอร์แบบต่อเนื่องโดยไม่ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์จะเหมาะสมกับการใช้ในระดับอุตสาหกรรมมากกว่า

2.4.2 การเติมเมทานอลแบบไม่ต่อเนื่อง

วิธีการนี้เป็นการเติมเมทานอลลงไปในปฏิกิริยามากกว่า 1 ครั้ง โดยเติมทีละน้อยเพื่อป้องกันไม่ให้เมทานอลเข้าไปสัมผัสกับเอนไซม์มากนัก วิธีการนี้ใช้แล้วประสบความสำเร็จไม่ทำให้เอนไซม์ถูกทำลายด้วยเมทานอลได้ แต่มีข้อจำกัดคือการควบคุมความเข้มข้นของเมทานอลให้ต่ำๆ ซึ่งทำได้ยาก ดังนั้นจึงไม่เหมาะสม ที่จะใช้ในระดับอุตสาหกรรม

2.4.3 การล้างเอนไซม์ด้วยอัลกอฮอล์ที่มีจำนวนคาร์บอน 3 อะตอมหรือ 4 อะตอม

เอนไซม์ไลเปสมีความสามารถลดลงเมื่อเร่งปฏิกิริยาเมทานอไลซีสของน้ำมัน เนื่องจากเมทานอลเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วมักจะไม่ละลายกับน้ำมันซึ่งเป็นสารที่ไม่มีขั้ว วู และเชน (Wu and Chen. 2002 : Patent) ได้เสนอให้ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ล้างเอนไซม์ที่ถูกทำลายด้วยเมทานอลเพื่อแก้ไขให้เอนไซม์มีความสามารถกลับคืนมา โดยตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้จะต้องไม่

เป็นพิษต่อเอนไซม์และสามารถละลายน้ำมัน ขี้ผึ้งและเมทานอล หรือเอทานอลได้ ตัวอย่างเช่นอัลกอฮอล์ที่มีจำนวนคาร์บอน 3 หรือ 4 อะตอม (ไอโซโพรพานอล, 2-บิวทานอล และ เทอร์-บิวทานอล) สามารถจะทำให้เอนไซม์ที่ถูกทำลายด้วยเมทานอลมีความสามารถกลับคืนมาได้

2.5 น้ำมันที่เหลือจากการทอดอาหาร

น้ำมันที่ใช้สำหรับทอดอาหารที่นิยมใช้กันมากคือน้ำมันหมูและ น้ำมันพืชชนิดต่าง ๆ ขึ้นอยู่กับความนิยมของผู้บริโภค น้ำมันพืชที่บรรจุขวดจำหน่าย บางยี่ห้อเป็นน้ำมันพืชชนิดเดียว เช่น น้ำมันข้าวโพด น้ำมันถั่วเหลือง หรือน้ำมันงบางยี่ห้อเป็นน้ำมันพืชผสม อาจเป็นน้ำมันถั่วเหลืองผสมกับน้ำมันรำข้าว หรือผสมกับน้ำมันเมล็ดนุ่น เป็นต้น

ในการทอดอาหารไขมันหรือน้ำมันจะเป็นตัวนำความร้อนทำให้อาหารสุก ช่วยหล่อลื่น ไม่ให้อาหารติดกับภาชนะขณะทอด ทำให้อาหารมีสีและเพิ่มรสชาติ สมบัติของไขมันหรือน้ำมัน ทอดอาหารที่ดีต้องมีความคงตัว มีจุดหลอมเหลวต่ำ ทนทานต่อความร้อนได้ถึงอุณหภูมิประมาณ 325-375 องศาฟาเรนไฮต์ และต้องมีสมบัติสัมพันธ์กับอาหารที่ใช้ทอด เพราะกลิ่นและรสชาติของไขมันหรือน้ำมันจะติดไปกับอาหารที่ทอดแล้วด้วย

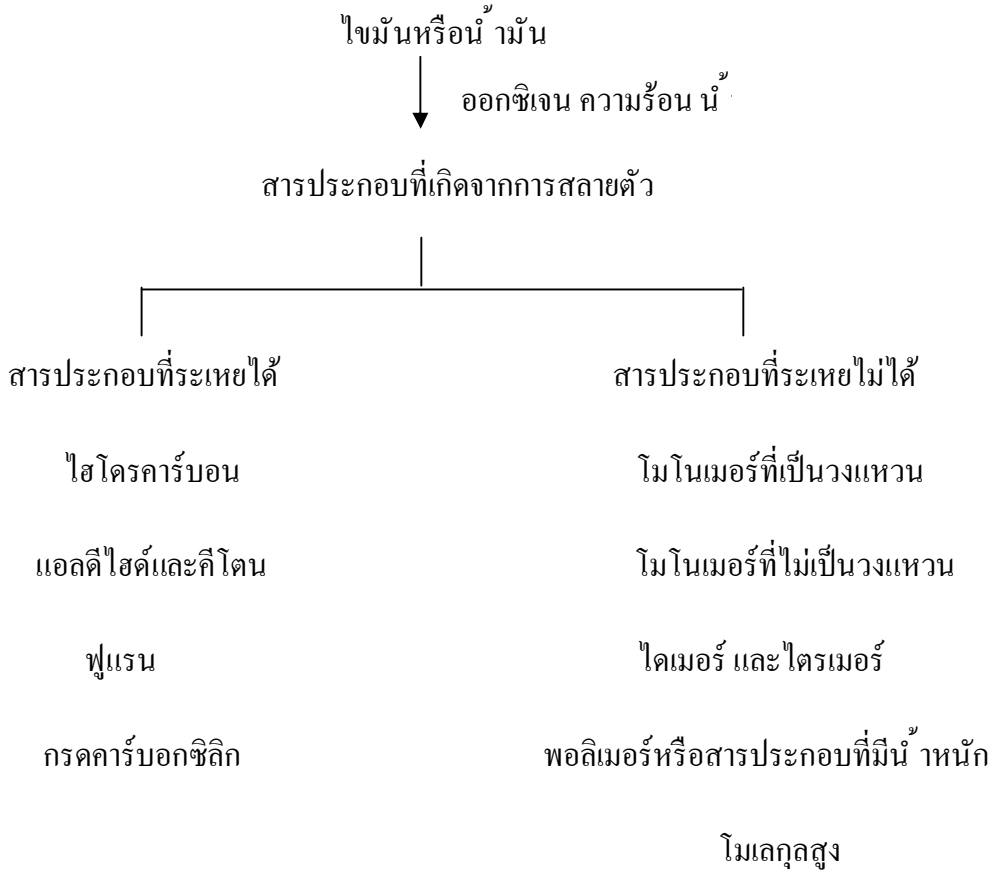
ไขมันหรือน้ำมันที่มีโมโน- หรือ ได-กลีเซอไรด์ หรือกรดไขมันอิสระผสมปนอยู่ด้วย จะทำให้เกิดควันได้ง่าย และทำให้อาหารที่ทอดมีกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ติดไป ไขมันหรือน้ำมันที่ผ่านกระบวนการเติมไฮโดรเจนจะมีความคงตัวเพิ่มขึ้น แต่ทำให้จุดหลอมเหลวสูงขึ้นด้วย ในโมเลกุลของไขมันหรือน้ำมันที่ใช้ทอดอาหารควรประกอบด้วย กรดไขมันชนิดอิ่มตัวที่มีจำนวนคาร์บอนน้อย เพื่อให้มีจุดหลอมเหลวต่ำมีความคงตัวดีโดยไม่ต้องผ่านกระบวนการเติมไฮโดรเจน แต่ก็มีข้อเสียคือ สามารถเกิดการหืน เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสได้ง่ายและทำให้มีกลิ่นหืนติดไปกับอาหารที่ทอดแล้วด้วย

น้ำมันพืชส่วนใหญ่จะมีปริมาณกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวมาก ซึ่งจะไวต่อการเกิดปฏิกิริยาออโตออกซิเดชัน หากไม่มีการเติมสารต้านออกซิเดชันลงไปในน้ำมันนั้น ๆ อย่างไรก็ตามในน้ำมันพืชตามธรรมชาติจะมีสารต้านออกซิเดชันให้แก่กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวได้

การทอดอาหารประเภทที่ต้องใช้น้ำมันมากๆ เรียกว่า deep-fat frying หากใช้ความร้อนสูงมากหรือใช้น้ำมันทอดอาหารซ้ำหลายๆครั้ง วิตามินอีจะถูกทำลายหมด ทำให้กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวถูกออกซิไดส์และเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันได้ง่าย โดยเฉพาะการทอดอาหารที่มีน้ำมาก เช่น การทอดไก่ ผลของปฏิกิริยาจะมีสารประกอบชนิดใหม่เกิดขึ้น ซึ่งสารที่เกิดขึ้นใหม่เหล่านี้เป็นสารพิษต่อร่างกายและบางชนิดก็เป็นสารก่อมะเร็งด้วย ดังนั้นน้ำมันที่เคยใช้ทอดอาหารมาแล้ว 2-3 ครั้ง หรือผ่านความร้อนสูงๆ มาแล้ว หากเหลือใช้ควรทิ้ง ไม่ควรนำกลับมา

ใช้ทอดอาหารซ้ำแล้วซ้ำอีก เพราะจะทำให้สารก่อมะเร็งติดปนอยู่ในอาหารที่ทอด ซึ่งจะทำให้ผู้บริโภคมีโอกาสเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งได้

การใช้ไขมันหรือน้ำมันในการทอดอาหาร ระหว่างที่ไขมันและน้ำมันได้รับความร้อนและขณะทอด จะมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นกับโมเลกุลของไตรเอซิลกลีเซอรอล ทำให้เกิดการสลายตัวที่มีความซับซ้อนเกิดขึ้น เนื่องจากการสลายตัวที่อุณหภูมิสูง (Thermolytic) และการเกิดออกซิเดชัน (Oxidative reaction) ซึ่งจะมีผลกระทบต่อ (ก) คุณค่าทางโภชนาการของไขมันและน้ำมัน ไขมันและน้ำมันที่ผ่านความร้อนสูงอาจทำให้เกิดความเป็นพิษได้ (ข) คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของน้ำมันและอาหารที่ทอดในน้ำมัน การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับไขมันและน้ำมันในขณะทอดอาหารที่เห็นได้ชัดเจน คือ น้ำมันมีสีคล้ำมากขึ้นมีความหนืดเพิ่มขึ้นจุดเกิดควัน (smoke point) ลดลง และเกิดฟองมากขึ้น นอกจากนี้ยังมีปฏิกิริยาของเคมีเกิดขึ้นกับไขมันและน้ำมันเมื่อได้รับความร้อน คือ (1) ไขมันและน้ำมันถูกไฮโดรไลซ์ได้เป็นกรด ไขมันอิสระ โมโนและ ไดเอซิลกลีเซอรอล (2)ไขมันถูกออกซิไดส์ ได้เป็นสารประกอบชนิดใหม่ ได้แก่ ไฮโดรเพอร์ออกไซด์ (Hydroperoxide) อีพอกไซด์ (Epoxides) ไฮดรอกไซด์ (Hydroxides) คีโตน และ conjugate dienoic acid สารประกอบเหล่านี้อาจเกิดการแตกตัวได้เป็นส่วนของโมเลกุลที่มีขนาดเล็กลง หรืออาจยังคงอยู่เป็นส่วนหนึ่งในโมเลกุลไตรเอซิลกลีเซอรอล หรืออาจมาจับตัวรวมกัน (cross-link) ทำให้เกิดเป็นไดเมอร์และพอลิเมอร์ สารประกอบที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันดังกล่าว สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่ม คือ สารประกอบที่ระเหยได้ สารประกอบที่เป็นโมโนเมอร์ และสารประกอบที่เป็นพอลิเมอร์ (3) ไขมันและน้ำมันสามารถเกิดพันธะใหม่ ระหว่างคาร์บอน-คาร์บอน ในภาวะที่ไม่มีออกซิเจนได้ ซึ่งถ้าเกิดพันธะใหม่ระหว่างคาร์บอนคาร์บอนภายในโมเลกุลของกรดไขมันเดียวกันจะทำให้เกิดวงแหวน (cyclic fatty acid) ถ้าเกิดพันธะใหม่ระหว่างคาร์บอนคาร์บอนจากกรดไขมันต่างโมเลกุลกันจะทำให้เกิดไดเมอร์ หรืออาจเกิดขึ้นได้ระหว่างกรดไขมันที่อยู่ในโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์เดียวกัน หรือต่างโมเลกุลกันก็ได้ ซึ่งจะทำให้เกิดเป็นพอลิเมอร์ของสารประกอบที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงดังแสดงในรูป 2.4



รูป 2.4 แผนภูมิการเกิด สารประกอบชนิดใหม่ระหว่างการใช้ไขมันและน้ำมันทอดอาหาร

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาวิจัยเรื่องการสังเคราะห์เมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันที่เหลือจากการทอดอาหารโดยไลเปสจากยางมะละกอเพื่อผลิตเชื้อเพลิงไบโอดีเซล มีดังนี้

2.6.1 การเร่งปฏิกิริยาอัลกอฮอไลซีสโดยไลเปส

ผงไลเปสอิสระจาก *Candida rugosa* เร่งอัลกอฮอไลซีสของน้ำมันเรพซีดกับ 2-เอทิล-1-เฮกซานอล ได้ผลผลิตเอสเทอร์ 97% (Linko et.al. 1998 : 41-50) สำหรับอัลกอฮอไลซีสของน้ำมันจากเมล็ดมะม่วงและเนื้อปาล์ม โดยใช้ไลเปสตรึงจาก*Mucor miehei* หรือมีชื่อทางการค้า

ว่า Lipozyme IM-20 ในสภาวะที่ไม่มีตัวทำละลาย ทำให้ได้ผลผลิตเอสเทอร์ 86.8-99.2% (De, Bhattacharyya & Bandhu. 1999 : 451-453) ในขณะที่ไลเปสอิสระจาก *M. miehei* (Selmi & Thomas. 1998 : 691-695), *Candida Antarctica* (Breivik, Haraldsson & Kristinsson. 1997 : 1425-1429) และ *Pseudomonas cepacia* (Wu et. al. 1999 : 517-521) เร่งปฏิกิริยาเอธานอไลซีสของน้ำมันดอกทานตะวัน น้ำมันปลา และกรีส ตามลำดับได้ผลผลิตเอธิลเอสเทอร์มากกว่า 80% ไลเปสอิสระจาก *M. miehei* เร่งปฏิกิริยาอัลกอฮอไลซีสของไตรกลีเซอไรด์กับอัลกอฮอล์ปฐมภูมิในระบบที่มีเฮกเซนเป็นตัวทำละลายร่วมได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยได้ผลผลิตอัลคิลเอสเทอร์ 94.8-98.5% สำหรับไลเปสอิสระจาก *C. antarctica* มีประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยาอัลกอฮอไลซีสของไตรกลีเซอไรด์กับอัลกอฮอล์ชนิดทุติยภูมิในระบบที่มีเฮกเซนเป็นตัวทำละลายร่วมเช่นเดียวกัน ทำให้ได้ผลผลิตอัลคิลเอสเทอร์ 61.2-83.8% (Nelson, Foglia & Marmer. 1996 : 1191-1195) อัลกอฮอไลซีสของน้ำมันจากดอกทานตะวันกับเมธานอลและเอธานอลในสภาวะที่มีและไม่มีปิโตรเลียมอีเธอร์เป็นตัวทำละลายร่วม ได้ผลผลิตเอธิลเอสเทอร์มากกว่าเมธิลเอสเทอร์ (Mittelbach. 1990 : 168-170) ขณะที่ไลเปสอิสระจาก *P. cepacia* เร่งปฏิกิริยาอัลกอฮอไลซีสของน้ำมันจากเมล็ดปล้าม ได้ผลผลิตเอธิลเอสเทอร์ 72% ขณะที่ได้เมธิลเอสเทอร์เพียง 15% (Abigor et.al. 2000 : 979-981) จากงานวิจัยข้างต้นจะเห็นได้ว่าไลเปสอิสระและไลเปสตรึงสามารถเร่งปฏิกิริยาเมธานอไลซีสและเอธานอไลซีสได้ดีในสภาวะที่มีตัวทำละลายร่วม และสามารถเร่งปฏิกิริยาเอธานอไลซีสได้ดีกว่าเมธานอไลซีส

2.6.2 การเพิ่มประสิทธิภาพปฏิกิริยาเมธานอไลซีสที่เร่งด้วยไลเปส

ไลเปสตรึงจาก *C. Antarctica* เร่งปฏิกิริยาเมธานอไลซีสของน้ำมันถั่วเหลืองให้ผลผลิตเมธิลเอสเทอร์ 96-98% ภายในเวลา 48 ชั่วโมงโดยวิธีเติมสับสเตรทแบบไม่ต่อเนื่อง (fed-batch methanolysis) (Shimada et.al. 1999 : 789-793) และ ผลิตเมธิลเอสเทอร์ได้ 92-94% ภายในเวลา 7 ชั่วโมง โดยวิธีการเติมสับสเตรทแบบต่อเนื่อง 3 ครั้ง (three step flow methanolysis) (Watanabe et. al. 2000 : 355-360) สำหรับไลเปสตรึงจาก *C. antarctica* ที่ถูกบ่มด้วยเมธิลโอลีเอตและน้ำมันถั่วเหลือง ก่อนนำไปเร่งปฏิกิริยาเมธานอไลซีสของน้ำมันถั่วเหลืองแบบที่มีการเติมสับสเตรทไม่ต่อเนื่องได้ผลผลิตเมธิลเอสเทอร์ 97% ภายในเวลา 3.5 ชั่วโมง (Samukawa et.al. 2000 : 180-183) ไลเปสอิสระจาก *C. rugosa, P.cepacia* และ *P. fluorescens* สามารถเร่งปฏิกิริยาเมธานอไลซีสของน้ำมันถั่วเหลืองแบบไม่ต่อเนื่องที่มีการเติมสับสเตรท 3 ครั้ง ให้ผลผลิตเมธิลเอสเทอร์ 80-100% (Kaieda et. al. 2001 : 12-15) ในปฏิกิริยาเดียวกันเมื่อใช้ไลเปสอิสระจาก*R. oryzae* ซึ่งมีความจำเพาะแบบ 1 (3) ทำให้ได้ผลผลิตเมธิลเอสเทอร์ 80-90% (Kaieda et. al. 1999 : 627-631)

จากงานวิจัยข้างต้นจะเห็นได้ว่าการเติมสับสเตรทแบบต่อเนื่องจะทำให้ได้ผลผลิตอัลคิลเอสเทอร์สูงกว่าการเติมแบบไม่ต่อเนื่อง และเอนไซม์ที่ถูกบ่มด้วยสารตั้งต้น หรือ สารผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยา ก่อนนำไปเร่งปฏิกิริยาจะทำให้เอนไซม์ไลเปสมีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นด้วย

2.6.3 การล้างเอนไซม์ด้วยอัลกอฮอล์ที่มีจำนวนคาร์บอน 3 อะตอม หรือ 4 อะตอม

เอนไซม์ตรึงชนิด Novozyme 435 มีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาเมธานอไลซีสของน้ำมันถั่วเหลืองต่ำมาก ให้ผลผลิตของเมธิลเอสเทอร์เท่ากับ 2.5 % โดยน้ำหนัก หลังจากแช่เอนไซม์ ในไอโซ-โพรพานอล (iso-propanol) 2-บิวทานอล (2-butanol) และ เทอร์-บิวทานอล (tert-butanol) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง มีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น โดยทำให้ได้ผลผลิตของเมธิลเอสเทอร์สูงขึ้น 7-10 เท่า (Chen & Wu. 2003 : 466-469)

2.6.4 การเตรียมเอนไซม์ไลเปสจากยางมะละกอ

ในปี 1935 ได้มีรายงานการพบความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ไลเปสในยางมะละกอ แต่ในเรื่องการหาลักษณะเฉพาะของเอนไซม์กำลังมีการดำเนินการศึกษาอย่างต่อเนื่อง (Giordani, Moulin & Verger. 1991 : 1069-1072) จากการตรวจสอบความสามารถในการย่อยสลายไตรบิวทิลกลีเซอรอลของเอนไซม์ไลเปสจากยางมะละกอพบว่า ในยางมะละกอมีความสามารถในการย่อยสลายไตรบิทิลกลีเซอรอล 2,500 IU ขณะที่ในส่วนของสารละลายเพียงอย่างเดียวไม่พบความสามารถในการย่อยไตรบิวทิลกลีเซอรอล แต่ในส่วนของตะกอนพบความสามารถในการย่อยไตรบิวทิลกลีเซอรอล โดยหลังจากสกัดส่วนไขมันออกจากตะกอนแล้วมีความสามารถในการย่อยไตรบิวทิลกลีเซอรอลเหลืออยู่ 72 %

การศึกษาเพื่อสกัดแยกเอนไซม์ไลเปสออกจากยางมะละกอโดยวิธีต่าง ๆ เช่น การใช้เอนไซม์ย่อยโปรตีน การใช้สารซักฟอกชนิด SDS หรือ อัลคิลไดเมทิลเบนซิลแอมโมเนียมคลอไรด์ หรือ ทวีน 80 หรือ ไทรทัน x-100 ก็ไม่สามารถแยกเอนไซม์ไลเปสออกมาจากตะกอนของยางมะละกอได้ แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ไลเปสจากยางมะละกอเกาะติดแน่นอยู่กับส่วนตะกอนของยางมะละกอ (Giordani, Moulin & Verger. 1991 : 1069-1072) ดังนั้นการนำเอนไซม์ไลเปสจากยางมะละกอมาใช้ จะใช้ได้โดยนำส่วนที่เป็นตะกอนมาใช้โดยไม่ต้องมีการแยกให้บริสุทธิ์

2.6.5 ความจำเพาะของเอนไซม์ไลเปสจากยางมะละกอ

ในการเร่งปฏิกิริยาย่อยสลาย (Hydrolysis) ไตรกลีเซอไรด์ของไลเปสจากยางมะละกอแสดงให้เห็นว่าไลเปสจากยางมะละกอมีความจำเพาะต่อชนิดของกรดไขมัน โดยไตรกลีเซอไรด์ที่มีกรดไขมันชนิดสายยาวจะเป็นสับสเตรทที่ดีกว่าไตรกลีเซอไรด์ที่มีกรดไขมันชนิดสายสั้น และไลเปสจากยางมะละกอเร่งปฏิกิริยาที่มีไตรบิวทีรินเป็นสับสเตรทได้ดีที่สุด(Giordani et. al. 1991 : 1069-1072)

ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน (Esterification) ของกรดไขมันชนิดต่าง ๆ กับ 1-บิวทานอลในสภาวะที่ใช้กรดไมริสทิกเป็นสารอ้างอิง โดยใช้เอนไซม์ไลเปสจากยางมะละกอเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา พบว่าเอนไซม์มีความจำเพาะต่อกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดที่มีพันธะแบบซีส (*cis*-5) เช่น กรดไอโคซะเพนตะอีโนอิก และซีส-9 (*cis*-9) เช่น กรดโอเลอิคและกรดแอลฟา-ไลโนเลนิคมากกว่า กรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดที่มีพันธะแบบซีส4 (*cis*-4) เช่น กรดโดโคซาเฮกซาโนอิค ซีส-6 (*cis-6*) เช่นกรดพีโทรซีลินิค กรดแกมมา-ไลโนเลนิค และกรดสเตียริโดนิค และซีส-8 *(cis*-8) เช่น กรดไดโฮโม-แกมม่า-ไลโนเลนิค นอกจากนี้ไลเปสจากยางมะละกอสามารถเร่งปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมันชนิดที่มีหมู่ไฮดรอกซี หมู่อีพอกซี และหมู่ไซโคเพนทีนิลได้ดีอีกด้วย (Mukherjee & Kiewitt. 1996 : 1948-1952)

สำหรับปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดออคทาโนอิคกับอัลกอฮอล์ชนิดต่าง ๆ ในสภาวะที่มีเฮกซานอลเป็นสารอ้างอิง โดยใช้เอนไซม์ไลเปสจากยางมะละกอเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา พบว่าไลเปสมีความจำเพาะต่ออัลกอฮอล์ที่มีหมู่อะโรมาติก เช่นเบนซิลอัลกอฮอล์ มากกว่าอัลกอฮอล์ชนิดเส้นตรง สำหรับกลุ่มของอัลกอฮอล์ที่มีหมู่เทอร์พีน ไลเปสจากยางมะละกอมีความจำเพาะต่อบีตา-ซิโทรเนลลอล >> เจอรานิออล > นีรอล >> เทอร์พินีออล สำหรับอัลกอฮอล์ชนิดทุติยภูมิ (secondary alcohol) ชนิดตติยภูมิ (tertiary alcohol) และอัลกอฮอล์ชนิดแตกกิ่ง (branching alcohol) เอนไซม์ไลเปสจากยางมะละกอสามารถเร่งปฏิกิริยาได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น (Gandhi & Mukherjee 2000 : 566-570)