บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 ผลของปัจจัยต่าง ๆ ต่อการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน

สรุปภาพรวมของการทดลองเรื่องผลของปัจจัยต่างๆ ต่อการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันเพื่อผลิตไบโอดีเซล หรือ FAME อย่างต่อเนื่องด้วยเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุได้ดังในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 การทดลองผลของปัจจัยต่างๆ ต่อการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน เพื่อผลิตไบโอดีเซลอย่างต่อเนื่องด้วยเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ

ปัจจัยทดลอง		ปัจจัยควบคุม				
		ประเภทของการบรรจุคอลัมน์	อัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ต่อเมทานอล	อุณหภูมิของเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ (องศาเซลเซียส)	อัตราการไหล (มิลลิลิตรต่อนาที)	ปริมาณโนโวไซม์ 435 (กรัม)
1. ประเภทของการบรรจุคอลัมน์	การบรรจุคอลัมน์แบบแยกโนโวไซม์ 435 และเม็ดแก้ว	-	1 : 0.5	40 (ควบคุมสารละลายผสมของสารตั้งต้นที่อุณหภูมิห้อง)	0.20	1
	การบรรจุคอลัมน์แบบผสมโนโวไซม์ 435 และเม็ดแก้ว					
2. อัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ต่อเมทานอล	1 : 0.5	แบบผสมโนโวไซม์ 435 และเม็ดแก้ว	-	40 (ควบคุมสารละลายผสมของสารตั้งต้นที่อุณหภูมิห้อง)	0.20	1
	1 : 1					
	1 : 1.5					
	1 : 2					
	1 : 3					

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ปัจจัยทดลอง		ปัจจัยควบคุม				
		ประเภทของการบรรจุคอลัมน์	อัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ต่อเมทานอล	อุณหภูมิของเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ (องศาเซลเซียส)	อัตราการไหล (มิลลิลิตรต่อนาที)	ปริมาณโนโวไซม์ 435 (กรัม)
3. อุณหภูมิของเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ (องศาเซลเซียส)	40	แบบผสมโนโวไซม์ 435 และเม็ดแก้ว	1 : 3	- (ควบคุมสารละลายผสมของสารตั้งต้นที่อุณหภูมิห้อง)	0.20	1
	50					
	60					
4. อัตราการไหล (มิลลิลิตรต่อนาที)	0.20	แบบผสมโนโวไซม์ 435 และเม็ดแก้ว	1 : 1	50 (ควบคุมสารละลายผสมของสารตั้งต้นที่อุณหภูมิห้อง)	-	1
	0.12					
	0.06					
5. ปริมาณโนโวไซม์ 435 (กรัม)	0.5	แบบผสมโนโวไซม์ 435 และเม็ดแก้ว	1 : 1	50 (ควบคุมสารละลายผสมของสารตั้งต้นที่อุณหภูมิห้อง)	0.20	-
	1.0					
	1.5					
	2.0					

คอลัมน์เบดบรรจุเป็นการบรรจุคอลัมน์แบบผสมโนโวไซม์ 435 และเม็ดแก้ว อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาของเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ เท่ากับ 40 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของสารละลายผสมของสารตั้งต้น เท่ากับ 0.20 มิลลิลิตรต่อนาที และปริมาณโนโวไซม์ 435 เท่ากับ 1 กรัม โดยมีอัตราส่วนโดยน้ำหนักของปริมาณโนโวไซม์ 435 ต่อเม็ดแก้วเป็น 1 : 4 พบว่า ที่อัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ต่อเมทานอล เท่ากับ 1 : 1.5, 1 : 2 และ 1 : 3 ให้เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์โดยเฉลี่ยเป็น 12.99, 12.12 และ 11.33 เปอร์เซ็นต์ และให้อัตราการผลิต คือ 3.12, 3.09 และ 2.67 มิลลิโมลต่อกรัมต่อชั่วโมง นาน 3, 2 และ 1 ชั่วโมง ตามลำดับ แล้วเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์จึงตกถึงศูนย์ ที่เป็นเช่นนี้เพราะการใช้อัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันต่อเมทานอลที่มากกว่า 1 : 1.5 ส่งผลให้โนโวไซม์ 435 ถูกยับยั้งความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาจากเมทานอลส่วนเกินที่ไม่ละลายในน้ำมัน สอดคล้องกับการศึกษาของ Shimada และคณะ (1999) ที่ศึกษาการผลิตไบโอดีเซลโดยใช้ไลเพสจาก *Candida antarctica* เร่งปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของน้ำมันพืชที่เป็นส่วนผสมของน้ำมันถั่วเหลืองกับน้ำมันเมล็ดเรพ กับเมทานอล พบว่า การใช้อัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันต่อเมทานอลที่มากกว่า 1 : 1.5 จะทำให้เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์ลดลงจากประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ และลดลงเรื่อยๆ ตามอัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันต่อเมทานอลที่มากขึ้น และการลดลงของเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์ ยังเกิดขึ้นได้จากการที่กลีเซอรอลซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ร่วมของปฏิกิริยาถูกดูดซึมติดกับวัสดุตรึงของโนโวไซม์ 435 เกิดเป็นชั้นของสารมีขั้วรอบๆ โนโวไซม์ 435 และขัดขวางการแพร่เข้าถึงของสารตั้งต้นที่เป็นสารไม่มีขั้ว ส่งผลให้โนโวไซม์ 435 สูญเสียประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยา สอดคล้องกับการทดลองของ Dossat และคณะ (1999) นอกจากนี้ Watanabe และคณะ (2000) ยังได้ให้เหตุผลเพิ่มเติมไว้ว่า จากการเกิดเป็นชั้นของกลีเซอรอลซึ่งเป็นสารมีขั้วรอบๆ ไลเพสนี้ส่งผลให้เมทานอลส่วนที่เกินจากการทำปฏิกิริยาละลายเข้ามาในชั้นนี้ด้วย จึงทำให้ไลเพสถูกยับยั้งความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาจากเมทานอลเหล่านี้ในที่สุด ส่วนการทดลองโดยใช้อัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ต่อเมทานอล เท่ากับ 1 : 0.5 ให้ผลของเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์โดยเฉลี่ยน้อยที่สุด คือ 11.02 เปอร์เซ็นต์ และให้อัตราการผลิต เท่ากับ 3.03 มิลลิโมลต่อกรัมต่อชั่วโมง ตลอดระยะเวลา 24 ชั่วโมง ในขณะที่ ที่อัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ต่อเมทานอล เท่ากับ 1 : 1 ให้ผลของเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์โดยเฉลี่ยกับอัตราการผลิตสูงที่สุด คือ 14.30 เปอร์เซ็นต์ กับ 3.93 มิลลิโมลต่อกรัมต่อชั่วโมง ตลอด 24 ชั่วโมง เช่นเดียวกัน ดังนั้น จึงกำหนดให้อัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ต่อเมทานอล เท่ากับ 1 : 1 เป็นปัจจัยควบคุมในการทดลองต่อไป

5.1.1 ประเภทของการบรรจุคอลัมน์

ปัจจัยควบคุมในการทำปฏิกิริยาเพื่อทดลองในหัวข้อนี้ ได้แก่ อัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ต่อเมทานอลเป็น 1 : 0.5 อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาของเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ เท่ากับ 40 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของสารละลายผสมของสารตั้งต้นเท่ากับ 0.20 มิลลิลิตรต่อนาที และปริมาณโนโวไซม์ 435 เท่ากับ 1 กรัม โดยมีอัตราส่วนโดยน้ำหนักของปริมาณโนโวไซม์ 435 ต่อเม็ดแก้วเป็น 1 : 4 การศึกษาในหัวข้อนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อสังเกตความแตกต่างของรูปแบบการบรรจุโนโวไซม์ 435 ลงในคอลัมน์เพื่อใช้เป็นเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ ซึ่งพบว่า การบรรจุคอลัมน์แบบผสมโนโวไซม์ 435 และเม็ดแก้ว กับการบรรจุคอลัมน์แบบแยกโนโวไซม์ 435 และเม็ดแก้ว ให้ผลของเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์โดยเฉลี่ยตลอดระยะเวลา 24 ชั่วโมง คือ 11.09 และ 11.07 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ค่าของเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์โดยเฉลี่ยตลอดระยะเวลา 24 ชั่วโมงของทั้งสองรูปแบบไม่แตกต่างกันมากนัก เมื่อดูที่การคำนวณอัตราการผลิต พบว่า ตลอดระยะเวลา 24 ชั่วโมง การบรรจุคอลัมน์แบบผสมโนโวไซม์ 435 และเม็ดแก้ว กับการบรรจุคอลัมน์แบบแยกโนโวไซม์ 435 และเม็ดแก้ว ให้อัตราการผลิต คือ 3.03 และ 2.82 มิลลิโมลต่อกรัมต่อชั่วโมง ตามลำดับ โดยเม็ดแก้วที่ใช้ร่วมกับการบรรจุโนโวไซม์ 435 ลงในคอลัมน์ เป็นการเพิ่มการกระจายของสารละลายผสมของสารตั้งต้นให้มีพื้นที่ผิวสัมผัสกับโนโวไซม์ 435 ที่บรรจุอยู่ในคอลัมน์ให้มากขึ้น ดังเช่น ในการทดลองของ Royon และคณะ (2007) ที่ผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันเมล็ดฝ้ายอย่างต่อเนื่องด้วยเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ ซึ่งภายในมีโนโวไซม์ 435 ผสมกับเม็ดแก้วในอัตราส่วน 1 : 1.5 ดังนั้น การบรรจุคอลัมน์แบบผสมโนโวไซม์ 435 และเม็ดแก้ว น่าจะให้ประสิทธิภาพการผลิตที่ดีกว่า เนื่องจากการบรรจุคอลัมน์แบบผสมโนโวไซม์ 435 และเม็ดแก้วนั้น เม็ดแก้วเข้าไปแทรกปนอยู่ในโนโวไซม์ 435 จึงเพิ่มการกระจายของสารละลายผสมของสารตั้งต้นให้มีพื้นที่ผิวสัมผัสกับโนโวไซม์ 435 ที่บรรจุอยู่ในคอลัมน์ได้มากกว่าการบรรจุคอลัมน์แบบแยกโนโวไซม์ 435 และเม็ดแก้ว ที่เม็ดแก้วจะอยู่เพียงชั้นบนและชั้นล่างของคอลัมน์ ดังนั้น จึงกำหนดให้การบรรจุคอลัมน์แบบผสมโนโวไซม์ 435 และเม็ดแก้ว เป็นปัจจัยควบคุมในการทดลองต่อไป

5.1.2 ผลของอัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ต่อเมทานอล

จากการทดลองผลของอัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ต่อเมทานอล โดยมีปัจจัยควบคุมในการทำปฏิกิริยาเพื่อทดลองในหัวข้อนี้ ได้แก่ ลักษณะของเครื่องปฏิกรณ์แบบ

5.1.3 ผลของอุณหภูมิต่อการทำปฏิกิริยา

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการทำปฏิกิริยา โดยในตอนแรก ทำการทดลองเพื่อเปรียบเทียบการควบคุมสารละลายผสมของสารตั้งต้นที่อุณหภูมิห้อง กับการควบคุมสารละลายผสมของสารตั้งต้นที่อุณหภูมิเดียวกันกับเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ (40 องศาเซลเซียส) ซึ่งเป็นการทดลองเพื่อเพิ่มการละลายของเมทานอลในน้ำมัน จึงได้ทดลองโดยใช้อัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันต่อเมทานอล เท่ากับ 1 : 3 อันเป็นจำนวนตามที่เป็นไปได้จริงของปฏิกิริยาตามทฤษฎี เพื่อดูความเป็นไปได้สูงสุดของการเกิดผลิตภัณฑ์ โดยมีปัจจัยควบคุม คือ ลักษณะของเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุเป็นการบรรจุคอลัมน์แบบผสมโนโวไซม์ 435 และเม็ดแก้ว อัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ต่อเมทานอลเป็น 1 : 3 อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาของเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ เท่ากับ 40 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของสารละลายผสมของสารตั้งต้น เท่ากับ 0.20 มิลลิลิตรต่อนาที และปริมาณโนโวไซม์ 435 เท่ากับ 1 กรัม โดยมีอัตราส่วนโดยน้ำหนักของปริมาณโนโวไซม์ 435 ต่อเม็ดแก้วเป็น 1 : 4 พบว่า การควบคุมให้สารละลายผสมของสารตั้งต้นที่อุณหภูมิเดียวกันกับเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ (40 องศาเซลเซียส) ให้เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์โดยเฉลี่ยในระยะเวลา 1 ชั่วโมง สูงกว่าการควบคุมให้สารละลายผสมของสารตั้งต้นที่อุณหภูมิห้อง คือ 16.38 และ 11.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อคำนวณอัตราการผลิตในระยะเวลา 1 ชั่วโมง พบว่า การควบคุมสารละลายผสมของสารตั้งต้นที่อุณหภูมิเดียวกันกับเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ (40 องศาเซลเซียส) กับการควบคุมสารละลายผสมของสารตั้งต้นที่อุณหภูมิห้อง ให้อัตราการผลิต คือ 2.99 และ 2.67 มิลลิโมลต่อกรัมต่อชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งถือว่าไม่แตกต่างกันมากนัก แต่เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์โดยเฉลี่ยในระยะเวลา 1 ชั่วโมง สูงกว่า จึงควบคุมสารละลายผสมของสารตั้งต้นที่อุณหภูมิเดียวกันกับเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ ในการทดลองทำปฏิกิริยาต่อมา ที่อุณหภูมิต่างๆ คือ 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส พบว่า ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ให้เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์โดยเฉลี่ยสูงที่สุด เท่ากับ 16.77 เปอร์เซ็นต์ และให้อัตราการผลิต 3.47 มิลลิโมลต่อกรัมต่อชั่วโมง ในระยะเวลา 1.5 ชั่วโมง รองลงมาคือ อุณหภูมิ 40 และ 60 องศาเซลเซียส โดยให้เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์โดยเฉลี่ยเป็น 16.38 และ 16.69 เปอร์เซ็นต์ และให้อัตราการผลิต คือ 2.99 และ 3.28 มิลลิโมลต่อกรัมต่อชั่วโมง ในระยะเวลา 1 ชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Shimada และคณะ (1999) ที่ศึกษาการผลิตไบโอดีเซลโดยใช้ไลเพสจาก *Candida antarctica* เร่งปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของน้ำมัน

พืชที่เป็นส่วนผสมของน้ำมันถั่วเหลืองกับน้ำมันเมล็ดเรพ กับเมทานอล และสอดคล้องกับการทดลองของ Kose และคณะ, 2002 ที่ศึกษาการผลิตไบโอดีเซลโดยใช้ไลเพสจาก *Candida antarctica* เร่งปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของน้ำมันเมล็ดฝ้าย กับแอลกอฮอล์ชนิดต่างๆ ในระบบปราศจากตัวทำละลาย โดยทั้งสองงานวิจัยพบว่า ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการเกิดปฏิกิริยา ซึ่งได้ผลิตภัณฑ์เมทิลเอสเทอร์สูงสุด ภายในระยะเวลาการทำปฏิกิริยา 6 และ 7 ชั่วโมง ตามลำดับ ส่วนที่อุณหภูมิสูงกว่านี้อาจส่งผลให้ไลเพสถูกยับยั้งการทำงานได้ นอกจากนี้ ที่อุณหภูมิการทำปฏิกิริยา 60 องศาเซลเซียส ใกล้เคียงกับจุดเดือดของเมทานอล (64.7 องศาเซลเซียส) จึงอาจส่งผลให้เกิดการสูญเสียเมทานอลไปจากระบบ และทำให้ได้เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์และอัตราการผลิตจากปฏิกิริยาลดลง ดังนั้น จึงกำหนดให้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นปัจจัยควบคุมในการทดลองต่อไป

5.1.4 ผลของอัตราการไหลต่อการทำปฏิกิริยา

จากการทดลองผลของอัตราการไหลต่อการทำปฏิกิริยา โดยมีปัจจัยควบคุมในการทำปฏิกิริยา ได้แก่ ลักษณะของเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุเป็นการบรรจุคอลัมน์แบบผสมโนโวไซม์ 435 และเม็ดแก้ว อัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ต่อเมทานอล เท่ากับ 1 : 1 อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา เท่ากับ 50 องศาเซลเซียส และปริมาณโนโวไซม์ 435 เท่ากับ 1 กรัม โดยมีอัตราส่วนโดยน้ำหนักของปริมาณโนโวไซม์ 435 ต่อเม็ดแก้วเป็น 1 : 4 พบว่า เมื่อใช้อัตราการไหล 0.06 มิลลิลิตรต่อนาที เกิดปัญหาการอุดตันของกรดไขมันอิสระ (วิเคราะห์ได้จากโครมาโทแกรมในภาคผนวก ข) ซึ่งมีลักษณะเป็นของแข็งหนืดในบริเวณสายยางด้านที่ออกจากคอลัมน์ที่ใช้ทำปฏิกิริยา ตั้งแต่หลังจากชั่วโมงที่ 2.5 ของการทำปฏิกิริยา จึงทำให้ต้องหยุดการทำปฏิกิริยาลงตั้งแต่หลังจากชั่วโมงที่ 2.5 เป็นต้นมา ในส่วนของผลการทดลองที่อัตราการไหล 0.20 มิลลิลิตรต่อนาที และที่อัตราการไหล 0.12 มิลลิลิตรต่อนาที พบว่า ที่อัตราการไหล 0.20 มิลลิลิตรต่อนาที ให้ผลของเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์โดยเฉลี่ย กับอัตราการผลิต สูงที่สุด คือ 14.66 เปอร์เซ็นต์ กับ 3.01 มิลลิโมลต่อกรัมต่อชั่วโมง ตลอดระยะเวลา 24 ชั่วโมง ส่วนที่อัตราการไหล 0.12 มิลลิลิตรต่อนาที ให้เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์โดยเฉลี่ยเป็น 12.70 และให้อัตราการผลิต คือ 1.62 มิลลิโมลต่อกรัมต่อชั่วโมง ตลอดระยะเวลา 24 ชั่วโมงเช่นเดียวกัน ในขณะที่ ที่อัตราการไหล 0.06 มิลลิลิตรต่อนาที ให้เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์โดยเฉลี่ยเป็น 10.43 เปอร์เซ็นต์ และให้อัตราการผลิต คือ 1.03 มิลลิโมลต่อกรัมต่อชั่วโมง ในระยะเวลา 2.5 ชั่วโมง โดยจะเห็นได้ว่า ไม่เป็นไปตามหลักการทั่วไป คือ เมื่ออัตราการไหลน้อยลง ทำให้เวลาในการทำปฏิกิริยาของสารตั้งต้น

(ระยะเวลาที่สารตั้งต้นอยู่ในคอลัมน์ที่ใช้ทำปฏิกิริยา) มากขึ้น จึงได้เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์มากขึ้นไปด้วย แต่จากผลการทดลองนี้ เป็นไปในลักษณะที่อัตราการไหลน้อยลง เวลาในการทำปฏิกิริยาของสารตั้งต้น (ระยะเวลาที่สารตั้งต้นอยู่ในคอลัมน์ที่ใช้ทำปฏิกิริยา) มากขึ้น แต่เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์น้อยลง ซึ่งตรงกับในงานวิจัยของ Hama และคณะ (2007) ที่ได้ศึกษาการผลิตไบโอดีเซลในเครื่องปฏิกรณ์แบบเบดบรรจุ โดยใช้ทั้งเซลล์ของ *Rhizopus oryzae* ที่ตรึงบนวัสดุ Biomass Support Particles (BSPs) เร่งปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของน้ำมันถั่วเหลืองกับเมทานอล โดยกล่าวให้เหตุผล (อ้างถึง Watanabe และคณะ, 2000) ไว้ว่า กลีเซอรอล ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ร่วมของปฏิกิริยาถูกดูดซับติดกับวัสดุตรึงของโนโวไซม์ 435 เกิดเป็นชั้นของสารมีขั้วรอบๆ โนโวไซม์ 435 ส่งผลให้เมทานอลส่วนที่เกินจากการทำปฏิกิริยาละลายเข้ามาในชั้นนี้ด้วย จึงทำให้ไลเพสถูกยับยั้งความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาจากเมทานอลเหล่านี้ในที่สุด โดยในอัตราการไหลที่ต่ำกว่า สามารถสังเกตเห็นชั้นของกลีเซอรอลปรากฏมากกว่า ดังนั้น ผลการทดลองจึงปรากฏในลักษณะ ที่อัตราการไหลต่ำๆ ให้เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์น้อยกว่าที่อัตราการไหลสูงๆ ด้วยเหตุนี้ จึงกำหนดให้ที่อัตราการไหล 0.20 มิลลิลิตรต่อนาทีเป็นปัจจัยควบคุมในการทดลองต่อไป

5.1.5 ปริมาณโนโวไซม์ 435

จากการทดลองเรื่องปริมาณโนโวไซม์ 435 โดยมีปัจจัยควบคุมในการทำปฏิกิริยา ได้แก่ ลักษณะของเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุเป็นการบรรจุคอลัมน์แบบผสมโนโวไซม์ 435 และเม็ดแก้ว อัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ต่อเมทานอล เท่ากับ 1 : 1 อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา เท่ากับ 50 องศาเซลเซียส และอัตราการไหลของสารละลายผสมของสารตั้งต้น เท่ากับ 0.20 มิลลิลิตรต่อนาที พบว่า เมื่อใช้ปริมาณโนโวไซม์ 435 จำนวน 2.0 กรัม และ 1.5 กรัม ให้เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์โดยเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 16.19 กับ 15.11 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเวลา 16 ชั่วโมง แต่ให้อัตราการผลิตต่ำที่สุด เท่ากับ 2.16 กับ 1.74 มิลลิโมลต่อกรัมต่อชั่วโมง ตามลำดับ โดยเกิดปัญหาเช่นเดียวกับในผลการทดลองหัวข้อ 5.1.4 ซึ่งเป็นปัญหาการอุดตันของกรดไขมันอิสระที่มีลักษณะเป็นของแข็งหนืดในบริเวณสายยางด้านที่ออกจากคอลัมน์ที่ใช้ทำปฏิกิริยา ตั้งแต่หลังจากชั่วโมงที่ 16 ของการทำปฏิกิริยา จึงทำให้ต้องหยุดการทำปฏิกิริยาลงตั้งแต่หลังจากชั่วโมงที่ 16 เป็นต้นมา ในขณะที่ เมื่อใช้ปริมาณโนโวไซม์ 435 จำนวน 0.5 กรัม และ 1.0 กรัม พบว่า ให้เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์โดยเฉลี่ยต่ำที่สุด คือ 10.02 กับ 14.66 เปอร์เซ็นต์ แต่ให้อัตราการผลิตสูงที่สุด คือ 5.36 กับ 3.01 มิลลิโมลต่อกรัมต่อชั่วโมง ตามลำดับ

ตลอดระยะเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งผลการทดลองที่ได้นี้ สอดคล้องกับ Chulalaksananukul และคณะ, 2002 ที่ได้ศึกษาการผลิตเจรานิลอะซิเตต (geranyl acetate) ในเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ โดยใช้ไลโพไซม์ตรึงรูปในการเร่งปฏิกิริยาการผลิต โดยเมื่อใช้ปริมาณเอนไซม์มากขึ้น ให้เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์โดยเฉลี่ยมากขึ้นด้วย แต่ขณะเดียวกันอัตราการผลิตจากปฏิกิริยาเป็นไปในทางตรงกันข้าม คือ เมื่อใช้ปริมาณเอนไซม์มากขึ้น ให้อัตราการผลิตจากปฏิกิริยาน้อยลง ทั้งนี้เพราะการคำนวณอัตราการผลิตจากปฏิกิริยาคิดเป็นต่อหน่วย 1 กรัมของเอนไซม์ ดังนั้น การใช้ปริมาณโนโวไซม์ เท่ากับ 0.5 กรัม จึงเป็นปัจจัยควบคุมในการทดลองต่อไป เมื่อพิจารณาจากอัตราการผลิตสูงสุด

5.2 การผลิตไบโอดีเซลอย่างต่อเนื่องโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ 3 คอลัมน์

จากการทดลองการผลิตไบโอดีเซลอย่างต่อเนื่องโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุ 3 คอลัมน์ โดยมีปัจจัยควบคุมในการทำปฏิกิริยา ได้แก่ ลักษณะของเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์เบดบรรจุเป็นการบรรจุคอลัมน์แบบผสมโนโวไซม์ 435 และเม็ดแก้ว อัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ต่อเมทานอล เท่ากับ 1 : 1 อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา เท่ากับ 50 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของสารละลายผสมของสารตั้งต้น เท่ากับ 0.20 มิลลิลิตรต่อนาที และปริมาณโนโวไซม์ 435 เท่ากับ 0.5 กรัม โดยมีอัตราส่วนโดยน้ำหนักของปริมาณโนโวไซม์ 435 ต่อปริมาณเม็ดแก้ว เป็น 1 : 4 พบว่า สามารถผลิตแอลคิลเอสเทอร์ของกรดไขมันหรือไบโอดีเซลได้อย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลา 83.33 ชั่วโมง (ปริมาตรรวมของสารละลายผสมของสารตั้งต้น เท่ากับ 1 ลิตร) โดยหลังจากทำปฏิกิริยาผ่านคอลัมน์ที่ 1, 2 และ 3 ให้ผลรวมของเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์โดยเฉลี่ย เท่ากับ 11.67, 16.25 และ 23.42 เปอร์เซ็นต์ และให้อัตราการผลิต 5.66, 7.34 และ 10.06 มิลลิโมลต่อกรัมต่อชั่วโมง ตลอดระยะเวลา 83.33 ชั่วโมง ซึ่งมากขึ้นตามลำดับ สอดคล้องกับการทดลองของ Watanabe และคณะ ในปี 2000 ที่ศึกษาการผลิตไบโอดีเซลแบบต่อเนื่องในเครื่องปฏิกรณ์แบบเบดบรรจุ โดยใช้ Novozym 435 (*Candida antarctica* lipase) เร่งปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของน้ำมันพืช (ส่วนผสมระหว่างน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันเมล็ดเรพ) กับเมทานอล ในเครื่องปฏิกรณ์แบบเบดบรรจุ 3 คอลัมน์ และในปี 2001 ที่ศึกษาการผลิตไบโอดีเซลแบบต่อเนื่องในเครื่องปฏิกรณ์แบบเบดบรรจุ โดยใช้ Novozym 435 (*Candida antarctica* lipase) เร่งปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของน้ำมันที่รับประทานได้ซึ่งใช้แล้วและจัดเป็นของเสีย กับเมทานอล ในเครื่องปฏิกรณ์แบบเบดบรรจุ 3 คอลัมน์ ซึ่งใช้วิธีการทำปฏิกิริยา

เพื่อผลิตไบโอดีเซล ในแบบเดียวกับปี 2000 จากคณะผู้วิจัยชุดเดียวกันนี้ จากผลการทดลองของงานวิจัยในทั้งสองปี พบว่า ให้เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์หลังจากทำปฏิกิริยาผ่านคอลัมน์ที่ 1, 2 และ 3 มากขึ้นตามลำดับ โดยค่าที่สูงที่สุดอยู่ที่ประมาณ 30, 60 และ 90 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ความแตกต่างในเรื่องของเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้รับในงานวิจัยนี้ เมื่อเทียบกับงานวิจัยทั้งสองข้างต้น เป็นไปได้ว่าอาจมีสาเหตุหลายประการ ได้แก่ ปริมาตรของคอลัมน์ที่ใช้ทำปฏิกิริยา และปริมาณโนโวไซม์ 435 ที่บรรจุอยู่ในคอลัมน์ ซึ่งในงานวิจัยทั้งสองข้างต้น ใช้คอลัมน์ขนาดเดียวกัน คือ 15 x 80 มิลลิเมตร และบรรจุโนโวไซม์ 435 ปริมาณ 3 กรัม แต่ในงานวิจัยนี้ ใช้คอลัมน์ขนาด 10 x 30 มิลลิเมตร และบรรจุโนโวไซม์ 435 ปริมาณ 0.5 กรัม ซึ่งถือได้ว่า ขนาดคอลัมน์ในงานวิจัยนี้น้อยกว่าในงานวิจัยทั้งสองประมาณ 6 เท่า และบรรจุโนโวไซม์ในปริมาณน้อยกว่า 6 เท่า นอกจากนี้ในงานวิจัยของ Nie และคณะ (2006) ซึ่งศึกษาการผลิตไบโอดีเซลแบบต่อเนื่องในเครื่องปฏิกรณ์แบบเบดบรรจุ โดยใช้โนโวไซม์ 435 (*Candida antarctica* lipase) ที่ตรึงบนแผ่นเยื่อสิ่งทอ (textile membrane) เร่งปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของน้ำมันสลัด และน้ำมันใช้แล้ว กับเมทานอล ในเครื่องปฏิกรณ์แบบเบดบรรจุ ได้เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์สูง 90 (น้ำมันสลัด) และ 92 (น้ำมันใช้แล้ว) เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในการทดลองนี้ มีวิธีการผลิตโดยทำปฏิกิริยาพร้อมๆ กันทั้ง 3 คอลัมน์ ต่อ 1 รอบของอัตราส่วนโดยโมลของน้ำมันต่อเมทานอลเท่ากับ 1 : 1 แต่ละคอลัมน์มีขนาด 18 เซนติเมตร x 1 เมตร ซึ่งมากกว่างานวิจัยนี้ประมาณ 32,400 เท่า และบรรจุโนโวไซม์ 435 คอลัมน์ละ 500 กรัม ถือว่ามากกว่างานวิจัยนี้ 3,000 เท่า นอกจากนี้ความแตกต่างในเรื่องของเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น ยังเป็นไปได้จากสาเหตุของกลีเซอรอลซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ร่วมที่เป็นผลพลอยได้ในปฏิกิริยา ถูกดูดซึมติดกับวัสดุตรึงของโนโวไซม์ 435 ซึ่งขัดขวางการเข้าถึงเอนไซม์ของสารตั้งต้นได้ (Dossat และคณะ, 1999)