



Continuous Production of Monoacylglycerols by Glycerolysis of
Palm Olein with Immobilized Lipase

Wiphum Kaewthong

Doctor of Philosophy Thesis in Biotechnology
Prince of Songkla University
2004

T

เลขหมู่: OK 495.P17 W57 2004	C.1
Bib Key..... 243342	
..... 2.7 D.A. 2547	

ชื่อวิทยานิพนธ์	การผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอลแบบต่อเนื่องโดยการกลีเซอไรไลซีสน้ำมันปาล์ม โอสีอินด้วยไลเปสตรังรูป
ผู้เขียน	นายวิภูมิ แก้วทอง
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา	2546

บทคัดย่อ

ในการคัดเลือกไลเปสที่เหมาะสมต่อการผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอลจากไลเปสทางการค้า 9 ชนิด พบว่าไลเปส PS จาก *Pseudomonas* sp. เป็นเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยากลิเซอไรไลซีสของปาล์มโอสีอินโดยใช้กลีเซอรอล สามารถผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอลได้ 28.05 เปอร์เซ็นต์ ที่ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นอกจากนี้พบว่าแอสคูเรล EP100 (<200 μm) เป็นตัวเร่งที่เหมาะสมต่อการตรึงไลเปส PS โดยมีสภาวะที่เหมาะสมในการตรึง คือ ใช้ไลเปส PS 50 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และตัวเร่ง 0.5 กรัม ใช้เวลาตรึง 30 นาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สามารถผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอลได้ 20.74 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้ไลเปส PS ตรึงรูป ทำปฏิกิริยาที่ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และเมื่อใช้ไลเปส PS ตรึงรูป (350 ยูนิต) ผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอลแบบต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์แบบถังกวน (CSTR) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4.5 เซนติเมตร สูง 6 เซนติเมตร และถังปฏิกรณ์แบบแพค-เบด (PBR) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.68 เซนติเมตร สูง 25 เซนติเมตร พบว่าเมื่อใช้อัตราการป้อนสับสเตรทเท่ากับ 0.02 มิลลิลิตรต่อนาที ให้ผลผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอลเฉลี่ย 14.27 และ 14 เปอร์เซ็นต์ ในเวลา 96 ชั่วโมง ตามลำดับ ในระหว่างการผลิตเกิดปัญหาหลายประการ คือ การแข็งตัวของผลิตภัณฑ์และสับสเตรทที่มีความหนืดสูง ทำให้เกิดการอุดตันในกระบวนการผลิตทั้งในถังปฏิกรณ์แบบ CSTR และ PBR ดังนั้นจึงนำตัวทำละลายอินทรีย์มาใช้ในการผลิตแบบต่อเนื่อง

แอสซีโตนและไอโซออกเทนผสม อัตราส่วน 3:1 เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอล สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตคือ ความเข้มข้นของน้ำมันปาล์มโอสีอินเท่ากับ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตรในแอสซีโตนและไอโซออกเทนผสม สัดส่วนโดยโมลของกลีเซอรอลต่อน้ำมันปาล์มโอสีอินเท่ากับ 8:1 โดยมีน้ำในกลีเซอรอล 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และใช้ไลเปส PS ตรึงรูป 50 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของน้ำมันปาล์มโอสีอิน ควบคุมอุณหภูมิที่ 45 องศาเซลเซียส สามารถผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอลได้สูงสุด 55.8 เปอร์เซ็นต์ ที่ 24 ชั่วโมง

การผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอลในตัวทำละลายอินทรีย์แบบต่อเนื่องด้วยถังปฏิกรณ์แบบ CSTR และ PBR ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส โดยใช้ไลเปส PS ตรังรูป 1.5 กรัม พบว่าสามารถผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอลได้เฉลี่ย 25.94 และ 51.24 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในช่วง 72 ชั่วโมง เมื่อใช้อัตราการป้อนสับสเตรทเท่ากับ 0.02 มิลลิลิตรต่อนาที สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอลในถังปฏิกรณ์แบบ PBR คือ ใช้ไลเปส PS ตรังรูป 1.5 กรัม ความเข้มข้นของน้ำมันปาล์มโอสีอินในเอซีโตนและไอโซออกเทนผสม (3:1, ปริมาตร/ปริมาตร) เท่ากับ 10 เปอร์เซ็นต์ สัดส่วนโดยโมลของกลีเซอรอลต่อน้ำมันปาล์มโอสีอิน เท่ากับ 12:1 ปริมาณน้ำในกลีเซอรอล เท่ากับ 10 เปอร์เซ็นต์ อัตราการป้อนสับสเตรท 0.02 มิลลิลิตรต่อนาที และควบคุมอุณหภูมิที่ 45 องศาเซลเซียส สามารถผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอลได้เฉลี่ย 55.84 เปอร์เซ็นต์ และมีความสามารถในการผลิตเท่ากับ 3×10^{-3} กรัมโมโนเอซิลกลีเซอรอลต่อยูนิตต่อวัน ในถังปฏิกรณ์แบบ PBR ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 216 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังสามารถผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอลได้นานถึง 780 ชั่วโมง เมื่อขยายขนาดการผลิตในถังปฏิกรณ์แบบ PBR โดยขยายขนาดเป็น 10 เท่าของปริมาตรเดิม (เส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 เซนติเมตร ยาว 50 เซนติเมตร) และใช้ไลเปส ตรังรูป 15 กรัม (5,400 ยูนิต) อัตราการป้อนสับสเตรท 0.2 มิลลิลิตรต่อนาที และควบคุมอุณหภูมิที่ 45 องศาเซลเซียส สามารถผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอลได้เฉลี่ย 61.30 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 96 ชั่วโมง และมีความสามารถในการผลิตเท่ากับ 3.32×10^{-3} กรัมโมโนเอซิลกลีเซอรอลต่อยูนิตต่อวัน

จากการศึกษาการเก็บเกี่ยวโมโนเอซิลกลีเซอรอลจากผลิตภัณฑ์ผสมด้วยวิธี การตกผลึกในตัวทำละลายอินทรีย์ และการแยกโดยอาศัยคอลัมน์ซิลิกาเจล พบว่าการตกผลึกโมโนเอซิลกลีเซอรอลในเอซีโตนและไอโซออกเทนผสมอัตราส่วน 3:1 ที่อุณหภูมิ -5 องศาเซลเซียส เวลา 8 ชั่วโมง ให้ผลผลิตของการเก็บเกี่ยวเท่ากับ 25.58 เปอร์เซ็นต์ และมีความบริสุทธิ์เท่ากับ 87.76 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการตกผลึกในไอโซออกเทนที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส เวลา 8 ชั่วโมง ให้ผลผลิตของการเก็บเกี่ยวเท่ากับ 49.55 เปอร์เซ็นต์ และมีความบริสุทธิ์เท่ากับ 85.35 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการแยกโดยอาศัยคอลัมน์ซิลิกาเจลที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ะคอลัมน์ด้วยเฮกเซน ตามด้วย 5 เปอร์เซ็นต์ เอทานอลในเฮกเซน ให้ผลผลิตของการเก็บเกี่ยวเท่ากับ 87.6 เปอร์เซ็นต์ และมีความบริสุทธิ์เท่ากับ 95.36 เปอร์เซ็นต์

Thesis Title	Continuous Production of Monoacylglycerols by Glycerolysis of Palm Olein with Immobilized Lipase
Author	Mr. Wiphum Kaewthong
Major Program	Biotechnology
Academic Year	2003

Abstract

Nine commercial lipases were screened for monoacylglycerols (MAG) production. Lipase PS from *Pseudomonas* sp. was the most suitable enzyme for glycerolysis of palm olein with glycerol. This lipase provided a high yield of MAG with 28.05 % at 45 °C for 24 h. Accurel EP100 (<200 µm) was the best support to immobilize lipase PS. The optimum condition for immobilization included 5.0 mL enzyme solution (50 U/mL) and 0.5 g support. The mixtures were mixed at 30 °C for 30 min. In batch production, 20.74 % MAG was obtained when glycerolysis of palm olein by immobilized lipase PS (IM-PS) was performed at 45 °C for 24 h. The continuous production of MAG was performed with the IM-PS (350 U) in the continuous stirred-tank reactor (CSTR) (4.5 cm ID, 6 cm height) and the packed-bed reactor (PBR) (0.68 cm ID, 25 cm long) for 96 h at 45 °C. When the flow rate of the substrate mixture was 0.02 mL/min, the average yields of MAG were 14.27 and 14 % in CSTR and PBR, respectively. Because of product mixture becoming solid and high viscosity of substrate, clogging and pressure drops were occurred in CSTR and PBR. Thus, organic solvents were applied to overcome these problems.

Acetone/isooctane mixture at the ratio of 3:1 (v/v) was the suitable organic solvents for MAG production. The optimum condition for MAG production was found to be 10 %(w/v) of palm olein in acetone/isooctane mixture (3:1,v/v), the molar ratio of palm olein to glycerol 8:1, water content in

glycerol 10 % (w/w) and the amounts of IM-PS used was 50 % (w/w) of palm olein. The temperature was controlled at 45 °C. Under these conditions, the yield of 55.8 % MAG was obtained at 24 h.

The continuous MAG production in acetone/isooctane mixture (3:1,v/v) was performed with the IM-PS (1.5 g) in CSTR and PBR at 45 °C. The yields of MAG were 25.94 and 51.24 %, respectively at 72 h when the flow rate of the substrate mixture was 0.02 mL/min. The optimum conditions for continuous MAG production in PBR included, 1.5 g IM-PS and substrate mixture consisted of 10 % (w/v) palm olein in acetone/isooctane mixture (3:1,v/v), glycerol to palm olein molar ratio was 12:1 and 10 % (w/w) water in glycerol. The substrate flow rate was 0.02 mL/min and the temperature was controlled at 45 °C. Under these conditions, 55.84 % yield and 3.0×10^{-3} g MAG/U.day productivity of MAG were obtained after 216 h. Furthermore, a half life of the process was obtained after 780 h of production. When large scale (10 x) MAG production was performed continuously with IM-PS of 15 g (5,400 U) in PBR (1.5 cm ID, 50 cm long) at 45 °C, 61.30 % yield of MAG was obtained at the substrate flow rate 0.2 mL/min for 96 h. The productivity was 3.32×10^{-3} g MAG/U.day.

The crystallization in organic solvents and fractionation by silica gel column were used for recovery of MAG from product mixture. When MAG was crystallized in acetone/isooctane mixture (3:1,v/v) at -5 °C for 8 h, the yield and purity of MAG were 25.58 and 87.76 %, respectively. When MAG was crystallized in isooctane at 0 °C for 8 h, the yield and purity of MAG were 49.55 and 85.35 %, respectively. For the fractionation by silica gel column at 30 °C, the column was rinsed with hexane and eluted with 5 % ethanol in hexane. The yield and purity of MAG were 87.6 and 95.36 %, respectively.