

## บทที่ 4

### สรุปผลการทดลอง

#### 1. สภาพที่เหมาะสมในการตรึงเอนไซม์ไลเปสกับโซเดียมอัลจิเนต

##### 1.1 ความเข้มข้นของอัลจิเนตและแคลเซียมคลอไรด์

ผลของการศึกษาความเข้มข้นของอัลจิเนตและแคลเซียมคลอไรด์ ในการตรึงรูปเอนไซม์ไลเปส PS ด้วยโซเดียมอัลจิเนต พบว่าที่ความเข้มข้นของอัลจิเนตและแคลเซียมคลอไรด์ที่เหมาะสมคือ 2 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) และ 100 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ จะให้ค่าประสิทธิภาพการยึดเกาะ 99.4 เปอร์เซ็นต์ ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสตรึงรูป 2.78 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และค่ากิจกรรมหลังการยึดเกาะ 24.9 เปอร์เซ็นต์

##### 1.2 ความเข้มข้นเอนไซม์

ผลของการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์ไลเปส PS ในการตรึงรูปด้วยโซเดียมอัลจิเนต พบว่าที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ไลเปส PS ที่เหมาะสมคือ 30 ยูนิตต่อมิลลิลิตร จะให้ค่าประสิทธิภาพการยึดเกาะ 95.2 เปอร์เซ็นต์ ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสตรึงรูป 8.11 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และค่ากิจกรรมหลังการยึดเกาะ 22.2 เปอร์เซ็นต์

##### 1.3 ขนาดของเอนไซม์ตรึงรูป

ผลของการศึกษาขนาดของเอนไซม์ตรึงรูป ในการตรึงรูปเอนไซม์ไลเปส PS ด้วยโซเดียมอัลจิเนต พบว่าการใช้ขนาดของปลายเข็มที่ 24 G ในการตรึงรูปเอนไซม์ จะได้ขนาดของเอนไซม์ตรึงรูป 2 มิลลิเมตร และจะให้ค่าประสิทธิภาพการยึดเกาะ 95.2 เปอร์เซ็นต์ ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสตรึงรูป 8.11 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และค่ากิจกรรมหลังการยึดเกาะ 22.2 เปอร์เซ็นต์

#### 2. การเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอลโดยเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปด้วยอัลจิเนต

##### 2.1 การใช้ตัวทำละลาย 2-methyl-2-butanol ในปฏิกิริยากลิเซอโรไลซิส

ผลของการศึกษาการผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอล ด้วยการกลีเซอโรไลซิสน้ำมันปาล์มโอลีอิน และกลีเซอรอลด้วยเอนไซม์ไลเปสตรึงรูป ในระบบที่เติมตัวทำละลายอินทรีย์ 2-methyl-2-butanol ผลการทดลองพบว่าสามารถผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอลได้ 44.90 เปอร์เซ็นต์

## 2.2 การเติมกลีเซอรอลลงในกระบวนการตรึงรูปเอนไซม์ไลเปสด้วยอัลจินต

ผลของการศึกษาการผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอล ด้วยเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปที่เติมกลีเซอรอล ในระหว่างกระบวนการตรึงรูปพบว่าความเข้มข้นกลีเซอรอลที่ 70 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) ในสารละลายตรึงรูป พบว่าสามารถผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอลได้ 51.11 เปอร์เซ็นต์ โดยเพิ่มขึ้น 5.48 เปอร์เซ็นต์ของเอนไซม์ตรึงรูปที่ไม่ได้เติมกลีเซอรอลในระหว่างกระบวนการตรึง

## 2.3 การหุ้มเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปด้วยซิลิเกต

ผลของการศึกษาการผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอล ด้วยเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปที่เติมกลีเซอรอล และหุ้มด้วยซิลิเกตเป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง พบว่าสามารถผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอลได้ 55.16 เปอร์เซ็นต์ โดยเพิ่มขึ้น 4.05 เปอร์เซ็นต์ของเอนไซม์ตรึงรูปที่ไม่ได้หุ้ม

ในการทดสอบความคงตัวของเอนไซม์ตรึงรูป โดยการนำเอาเอนไซม์ตรึงรูปมาทำปฏิกิริยากลิเซอโรไลซีสซ้ำเป็นจำนวน 4 ครั้ง พบว่าการหุ้มเอนไซม์ตรึงรูปด้วยซิลิเกตสามารถรักษากิจกรรมของเอนไซม์ในการผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอลไว้ได้ดีกว่าเอนไซม์ตรึงรูปที่ไม่ได้หุ้ม และยังพบว่าหลังจากทำปฏิกิริยากลิเซอโรไลซีสในครั้งที่ 4 แล้ว เอนไซม์ตรึงรูปที่หุ้มด้วยซิลิเกตยังคงเหลือกิจกรรมการย่อยสลายอยู่ 66 เปอร์เซ็นต์ และผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอลได้ 58.7 เปอร์เซ็นต์เทียบจากจากการผลิตในครั้งที่ 1

## 3. สภาพที่เหมาะสมในการผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอลด้วยปฏิกิริยากลิเซอโรไลซีส

ในการศึกษาสภาพที่เหมาะสมของการผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอลโดยเอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูปด้วยอัลจินตในระบบที่มีตัวทำละลายอินทรีย์ 2-methyl-2-butanol พบว่า ปริมาณน้ำที่เติมในระบบไม่มีผลต่อการผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอล สักส่วนโดยโมลของกลีเซอรอลต่อน้ำมันปาล์มที่ 10:1 ใ้การผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอลและอัตราการผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอลเริ่มต้นสูงสุด นอกจากนี้ยังพบว่าความเข้มข้นของน้ำมันปาล์มในตัวทำละลายอินทรีย์ 2-methyl-2-butanol 10 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) และเอนไซม์ไลเปสตรึงรูป 150 beads ให้ผลผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอลและอัตราการผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอลเริ่มต้นสูงสุด และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตคืออุณหภูมิห้อง (29-32 องศาเซลเซียส)

## 4. การนำเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปด้วยอัลจินตกลับมาใช้ใหม่

ในการศึกษานำเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปกลับมาใช้ใหม่ โดยใช้สภาพที่เหมาะสมในการผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอล พบว่าสามารถนำเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปด้วยอัลจินตกลับมาใช้ซ้ำได้ถึง

8 ครั้ง ซึ่งสามารถให้ปริมาณ โมโนเอซิลกลีเซอรอลที่ 22.77 เปอร์เซ็นต์ หรือคิดเป็น 54.14 เปอร์เซ็นต์ ของผลผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอลในการผลิตครั้งแรก

### 5. ศึกษาจลนพลศาสตร์ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาไกลเซอโรไลซิส

ผลของการศึกษาจลนพลศาสตร์ ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาไกลเซอโรไลซิสสำหรับน้ำมันปาล์มโอลีอินและกลีเซอรอลโดยใช้เอนไซม์ไลเปสที่ตรึงรูปด้วยอัลจินต โดยวิเคราะห์หาค่าคงที่สำหรับเอนไซม์ ( $K_m$ ) และค่าความเร็วปฏิกิริยาสูงสุดของเอนไซม์ต่อสับสเตรท ( $V_{max}$ ) โดยใช้วิธี Lineweaver-Burk plot พบว่าเอนไซม์ไลเปสที่ตรึงรูปด้วยอัลจินตจะให้ค่าคงที่สำหรับเอนไซม์คือ 0.85 มิลลิโมล และค่าความเร็วปฏิกิริยาสูงสุดของเอนไซม์ต่อสับสเตรทคือ 1.25 มิลลิโมลต่อชั่วโมง ในระบบของสารละลายน้ำมัน 3.2 กรัม

### ข้อเสนอแนะ

เพื่อให้งานวิจัยเกี่ยวกับการผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอล โดยใช้เอนไซม์ไลเปสที่ตรึงรูปด้วยอัลจินตในปฏิกิริยาไกลเซอโรไลซิส น้ำมันปาล์มโอลีอินมีความสมบูรณ์แบบมากยิ่งขึ้น ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในประเด็นต่างๆ ดังต่อไปนี้

1. ในการผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอลด้วยปฏิกิริยาไกลเซอโรไลซิส โดยใช้เอนไซม์ไลเปสที่ตรึงรูปด้วยอัลจินต พบว่ายังมีปริมาณกรดไขมันอิสระในปริมาณที่สูง หากมีการศึกษาการเติมกลีเซอรอลในระหว่างการทำปฏิกิริยาและลดปริมาณน้ำเพื่อควบคุมไม่ให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส จะทำให้ได้โมโนเอซิลกลีเซอรอลในปริมาณที่สูงขึ้น

2. เนื่องจากตัวทำละลายที่ใช้ 2-methyl-2-butanol มีราคาค่อนข้างสูง หากนำไปใช้ในอุตสาหกรรมก็จะทำให้ต้นทุนสูงขึ้น ดังนั้นอาจมีการศึกษาการผสมตัวทำละลายชนิดอื่นที่ไม่ให้ส่งผลกระทบต่อกิจกรรมของเอนไซม์และการผลิตโมโนเอซิลกลีเซอรอล เช่น hexane, acetone, isooctane และ 2-methyl-2-propanol เป็นต้น ก็จะสามารลดต้นทุนการผลิตได้