รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ เรื่อง
การสังเคราะห์กลีเซอรอลโมโนลอเรทจากกลีเซอรอลดิบที่ได้จากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลโดยใช้เอนไซม์ไลเปสจากยางมะละกอ

พรทิพพา พิญญาพงษ์

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์
งานวิจัยฉบับนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2554 (ผ่าน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ)
ตุลาคม พ.ศ. 2555

ชื่อเรื่อง **การสังเคราะห์กลีเซอรอลโมโนลอเรทจากกลีเซอรอลดิบที่ได้จากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลโดยใช้เอนไซม์ไลเปสจากยางมะละกอ**

ชื่อผู้วิจัย **ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พรทิพพา พิญญาพงษ์**

คณะ **วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**

สถาบัน **มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์**

ปีการศึกษา **2555**

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ (1) ศึกษาการสังเคราะห์กลีเซอรอลโมโนลอเรทจากปฏิกิริยากลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวกับกลีเซอรอลดิบโดยการเร่งปฏิกิริยาของไลเปสจากยางมะละกอ และ (2) เปรียบเทียบร้อยละผลผลิตของกลีเซอรอลโมโนลอเรทที่สังเคราะห์ได้จากกลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวกับกลีเซอรอลดิบ และ ที่ได้จากกลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวกับกลีเซอรอลบริสุทธิ์

เอนไซม์ไลเปสจากยางมะละกอที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้เป็นเอนไซม์ที่ได้จากการกรีดยางจากผลมะละกอสด มีกิจกรรมในการย่อยสลายน้ำมันมะพร้าวเท่ากับ 925±23 ยูนิตต่อกรัมของตะกอนยางมะละกอแห้ง มีปริมาณความจุน้ำโดยเฉลี่ย 3.62 ± 0.17 เปอร์เซนต์ และ ปริมาณน้ำอิสระเท่ากับ 0.395 ± 0.02 มีอุณหภูมิและค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในการเร่งปฏิกิริยาย่อยสลายน้ำมันมะพร้าวเท่ากับ 45±2.2 °ซ และ พีเอช 7±0.35 ตามลำดับ มีปริมาณโปรตีนโดยเฉลี่ยเท่ากับ 9.85±0.15 เปอร์เซ็นต์

น้ำมันมะพร้าวที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้เป็นน้ำมันที่ได้จากการสกัดเนื้อมะพร้าวขูดโดยวิธีการสกัดเย็น ประกอบด้วยกรดคาร์โปรอิก, กรดคาร์พรีลิก, กรดคาร์ปริก, กรดลอริก, กรดไมริสติก, กรดปาล์มมิติก, กรดสเตียริก, กรดโอเลอิก และ กรดไลโนเลอิก เท่ากับ 0.5, 7.3, 6.5, 49.2, 17.4, 7.8, 3.0, 6.5 และ 1.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีค่าสปอนิฟิเคชันและค่าไอโอดีนเท่ากับ 256±12 mg KOH/g oil และ 8.4±0.42 ตามลำดับ

กลีเซอรอลดิบที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้เป็นกลีเซอรอลดิบที่เก็บรวบรวมจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลจากปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของน้ำมันใช้แล้ว หลังจากนำกลีเซอรอลดิบไปทำให้บริสุทธิ์โดยแยกสารเจือปนและสกัดด้วยเอทานอล กลีเซอรอลดิบที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์มีสีน้ำตาลอ่อน มีค่าพีเอช 7.11±0.35 มีปริมาณกลีเซอรอล 80.04±4.00 เปอร์เซนต์ ปริมาณเถ้า 1.90±0.09 เปอร์เซนต์ ปริมาณน้ำ 2.80±0.14 เปอร์เซนต์ ความหนาแน่น 1.205±0.06 g/cm^3 และ ความหนืด 108.40±5.42 cSt

ผลการวิจัยพบว่าปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการสังเคราะห์กลีเซอรอลโมโนลอเรท จากปฏิกิริยากลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวกับกลีเซอรอลดิบโดยการเร่งปฏิกิริยาของไลเปสจากยางมะละกอ ได้แก่ (1) การเติม 95% เอทานอล ลงไปในปฏิกิริยา จะทำให้ได้ผลผลิตเพิ่มขึ้น 7 เปอร์เซ็นต์ (2) อัตราส่วนโดยโมลของกลีเซอรอลดิบต่อน้ำมันมะพร้าวเท่ากับ 8:1 จะให้ผลผลิตกลีเซอรอลโมโนลอเรทสูงสุดเท่ากับ 39.59±1.77 เปอร์เซ็นต์ (3) อุณหภูมิที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาที่ 45 °ซ ได้ผลผลิตของกลีเซอรอลโมโนลอเรทสูงที่สุดเท่ากับ 45.24±2.26 เปอร์เซ็นต์ (4) เวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาที่ 36 ชั่วโมง จะทำให้ได้ผลผลิตของกลีเซอรอลโมโนลอเรทสูงที่สุดเท่ากับ 53.18±2.65 เปอร์เซ็นต์ (5) ปริมาณเอนไซม์ที่ร้อยละ 20 ของน้ำมันที่ใช้ จะทำให้ได้ร้อยละผลผลิตของกลีเซอรอลโมโนลอเรทสูงที่สุดเท่ากับ 58.35±2.91 เปอร์เซนต์ และ (6) ปริมาณน้ำเริ่มต้นของเอนไซม์เท่ากับ 0.53 สามารถเร่งปฏิกิริยาแล้วให้ผลผลิตกลีเซอรอลโมโนลอเรทสูงที่สุดเท่ากับ 58.3±2.91 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณของกลีเซอรอลโมโนลอเรทที่สังเคราะห์ได้จากกลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวกับกลีเซอรอลดิบเท่ากับ 46.73±2.33 เปอร์เซนต์ และปริมาณของกลีเซอรอลโมโนลอเรทที่สังเคราะห์ได้จากกลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวกับกลีเซอรอลบริสุทธิ์เท่ากับ 51.65±2.58 เปอร์เซ็นต์

Research Title	**Synthesis of Glycerol Monolaurate from Crude Glycerol Dedived From Biodiesel Production using Lipase from *Carica papaya* Latex**
Name	**Assistance Professor Dr. Porntippa Pinyaphong**
Faculty	**Science and Technology**
University	**Uttaradit Rajabhat University**
Year	**2012**

Abstract

The purposes of this research were to; (1) study the synthesis of glycerolmonolaurate by glycerolysis of coconut oil and crude glycerol catalyzed by *Carica papaya* latex lipase and (2) compare the percentage yield of glycerolmonolaurate synthesized from glycerolysis of coconut oil with crude glycerol and glycerolysis of coconut oil with pure glycerol.

Carica papaya latex lipase obtained from the incision of unripe papaya fruit. It showed hydrolysis activity on coconut oil at 925±23 units/gram of dried particulate. The average water content and average water activity of this lipase were 3.62 ± 0.17 % and 0.395 ± 0.02, respectively. Optimal catalytic conditions for coconut oil hydrolysis were 45±2.2 $^{\circ}$C and pH 7±0.35. The average protein content was 9.85±0.15 %.

Coconut oil obtained from cold pressed extraction method. The fatty acid compositions of extracted coconut oil were caproic acid (0.5%), caprylic acid (7.3%), capric acid (6.5%), lauric acid (49.2%), myristic acid (17.4%), palmitic acid (7.8%), stearic acid (3.0%), oleic acid (6.5%) and linoleic acid (1.8%). Saponification value and iodine value of extracted coconut oil were 256±12 mg KOH/g oil and 8.4±0.42, respectively.

Crude glycerol obtained from the biodiesel production through transesterification of used-oil. The partially purified crude glycerol had light brown color, pH 7.11±0.35, glycerol content 80.04±4.00%, ash content 1.90±0.09%, water content 2.80±0.14%, density 1.205±0.06 g/cm^3 and viscosity 108.40±5.42 cSt.

The findings were as follows. The influences of the following variables on glycerolmonolaurate synthesis from glycerolysis of coconut oil with crude glycerol catalyzed by *Carica papaya* latex lipase were: (1) the addition of 95% ethanol into reaction, the percentage yield of product was 7% increased, (2) molar ratio of glycerol : coconut oil at 8:1 gave highest yield of glycerolmonolaurate (39.59±1.77%) compared to others molar ratio, (3) reaction temperature at 45°C produced highest glycerolmonolaurate at 45.24±2.26% when compared to different temperature, (4) reaction time for 36 hours gave 53.18±2.65% glycerolmonolaurate, (5) 20% of lipase dosage gave 58.35±2.91% glycerolmonolaurate, and (6) initial water activity of enzyme at 0.53 produced 58.3±2.91% glycerolmonolaurate. The percentage yields of glycerolmonolaurate synthesized from glycerolysis of coconut oil with crude glycerol was **46.73±2.33** and percentage yields of glycerolmonolaurate synthesized from glycerolysis of coconut oil with pure glycerol was 51.65±2.58.

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่องการสังเคราะห์กลีเซอรอลโมโนลอเรทจากกลีเซอรอลดิบที่ได้จากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลโดยใช้เอนไซม์ไลเปสจากยางมะละกอ ได้รับทุนสนับสนุนการทำวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินประจำปี พ.ศ. 2554 (เสนอผ่าน วช) เพื่อมุ่งหวังที่จะศึกษาการสังเคราะห์กลีเซอรอลโมโนลอเรทจากปฏิกิริยากลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวกับกลีเซอรอลดิบโดยใช้เอนไซม์ไลเปสจากยางมะละกอ และเปรียบเทียบร้อยละผลผลิตของกลีเซอรอลโมโนลอเรทที่สังเคราะห์ได้จากกลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวกับกลีเซอรอลดิบ และ ที่ได้จากกลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวกับกลีเซอรอลบริสุทธิ์ เพื่อใช้เป็นแนวทางในการเพิ่มมูลค่าของกลีเซอรอลดิบที่ได้จากกระบวนการผลิตไบโอดีเซล

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณสำนักงบประมาณ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์ และ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่ได้เห็นคุณค่าของโครงการวิจัยและให้การสนับสนุนเงินทุนวิจัยในครั้งนี้ ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ภาวิณี คณาสวัสดิ์ ผู้ล่วงลับไปแล้วที่ได้มอบความรู้ในการทำวิจัยแก่ผู้วิจัย และขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เพ็ญศิริ ศรีบุรี ที่ได้สละเวลาให้คำปรึกษาและข้อเสนอแนะที่มีคุณค่าต่อการวิจัย

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์ เจ้าหน้าที่ศูนย์บริการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (ศวท มช) ที่ได้สละเวลาอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ และ ขอขอบคุณคุณนพดล บุญญรัตนพันธุ์ ที่กรุณาในการเก็บรวบรวมกลีเซอรอลดิบจากห้องปฏิบัติการ

ท้ายสุดนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่ให้การสนับสนุนในด้านการศึกษามาโดยตลอด และขอขอบคุณกำลังใจจากครอบครัวที่รักยิ่ง ที่ทำให้โครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

พรทิพพา พิญญาพงษ์
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์
2555

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
รายการตารางประกอบ	ฌ
รายการภาพประกอบ	ญ
บทที่ 1 บทนำ	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญห	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
ขอบเขตของการวิจัย	3
นิยามเชิงปฏิบัติการ	3
สมมติฐานการวิจัย	4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย	4
กรอบแนวคิดในการวิจัย	4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
กลีเซอรอลดิบจากการผลิตไบโอดีเซล	5
ตลาดกลีเซอรอลดิบในปัจจุบันและการนำไปใช้	7
การเพิ่มความบริสุทธิ์ของกลีเซอรอลดิบ	7
การผลิตกลีเซอรอล โมโนลอเรทและการประยุกต์ใช้	11
ปัจจัยที่มีผลต่อปฏิกิริยากลีเซอโรไลซีสซึ่งเร่งด้วยเอนไซม์ไลเปส	14
การเก็บเกี่ยวผลผลิตโมโนกลีเซอไรด์	16
ไลเปสจากยางมะละกอ	17
น้ำมันมะพร้าว	20
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	23
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	26
การเก็บยางมะละกอ	26
การเตรียมเอนไซม์ไลเปสจากยางมะละกอ	27
การตรวจสอบคุณสมบัติของไลเปสจากยางมะละกอ	27

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
การสกัดน้ำมันจากมะพร้าวโดยวิธีบีบเย็	31
การวิเคราะห์องค์ประกอบและคุณสมบัติทางเคมีบางประการของน้ำมัมะพร้าว	31
การทำกลีเซอรอลดิบให้บริสุทธิ	32
การตรวจสอบองค์ประกอบของกลีเซอรอลดิบที่รวบรวมได้ก่อน และหลังทำให้บริสุทธิ์	33
ตรวจสอบกลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวกับกลีเซอรอลดิบที่เตรียมไ	33
การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อกลีเซอโรไลซีสของกลีเซอรอลดิบ	33
การแยกองค์ประกอบของสารผลิตภัณฑ์ด้วยวิธีทินแลเออร์โครมาโตกราฟี	35
การวิเคราะห์ปริมาณของผลิตภัณฑ์โดยcolorimetric method	36
การวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันมะพร้าวและผลิตภัณฑ์ด้วยวิGC-MS	36
เปรียบเทียบผลผลิตของกลีเซอรอล โมโนลอเรทจากกลีเซอโรไลซีสของน้ำมัมะพร้าวและกลีเซอรอลดิบ กับ ผลผลิตของกลีเซอรอล โมโนลอเรทจากกลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวและกลีเซอรอลบริสุทธิ์	36
บทที่ 4 ผลการวิจัย	38
คุณสมบัติของเอนไซม์ไลเปสจากยางมะละกอ	38
คุณสมบัติของน้ำมันมะพร้า	41
คุณสมบัติของกลีเซอรอลดิบก่อน- และ หลังการทำให้บริสุทธิ์	42
ผลของปัจจัยต่างๆที่มีต่อการสังเคราะห์กลีเซอรอล โมโนลอเรท	42
ร้อยละผลผลิตของกลีเซอรอล โมโนลอเรทที่สังเคราะห์ได้จากกลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวกับกลีเซอรอลดิบ และ ที่ได้จากกลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวกับกลีเซอรอลบริสุทธิ์	47
บทที่ 5 สรุป อภิปรายผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ	49
สรุป	49
อภิปรายผลการวิจัย	50
ข้อเสนอแนะ	53
บรรณานุกรม	55

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก ก โครมาโตรแกรมของไตรกลีเซอไรด์ที่เหลือจากปฏิกิริยากลีเซอโรไลซีส	61
ภาคผนวก ข โครมาโตรแกรมของโมโนกลีเซอไรด์ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยากลีเซอโรไล ซีส	62
ภาคผนวก ค โครมาโตรแกรมของไดกลีเซอไรด์ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยากลีเซอโรไลซีส	63
ภาคผนวก ง โครมาโตรแกรมของกรดไขมันที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยากลีเซอโรไลซีส	64
ภาคผนวก จ แมสสเปกตรัม	65
ภาคผนวก ฉ กราฟมาตรฐานของกรดลอริก	66
ภาคผนวก ช กราฟมาตรฐานของกลีเซอไรด์แต่ละชนิด	67

สารบัญตารางประกอบ

ตาราง		หน้า
2.1	องค์ประกอบและคุณสมบัติของกลีเซอรอลดิบที่ได้จากการผลิตไบโอดีเซล	6
2.2	กระบวนการแยกโดยโครมาโตกราฟี	11
2.3	การกระจายตัวของกรดไขมันในโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ที่พบเป็นส่วนประกอบของน้ำมันมะพร้าว	21
4.1	การย่อยสลายน้ำมันมะพร้าวของเอนไซม์ไลเปสซึ่งแยกได้จากยางมะละกอสด	39
4.2	ปริมาณความจุน้ำ (C_W) และ ปริมาณน้ำอิสระ (A_W) ของไลเปสที่แยกได้จากยางมะละกอ	39
4.3	ชนิดและปริมาณของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันมะพร้าว	41
4.4	องค์ประกอบของกลีเซอรอลดิบก่อน- และหลังการทำให้บริสุทธิ์	42
4.5	องค์ประกอบของโมโนกลีเซอไรด์ที่ผลิตได้จากกลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวซึ่งเร่งด้วยไลเปสจากยางมะละกอ	48

สารบัญภาพประกอบ

ภาพที่		หน้า
2.1	ทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของไตรกลีเซอไรด์กับอัลกอฮอล์ซึ่งให้อัลคิลเอสเทอร์ และกลีเซอรอลเป็นผลผลิตของปฏิกิริยา	6
2.2	การแยกกรดไขมันและตัวเร่งปฏิกิริยาออกจากกลีเซอรอลดิบ	8
2.3	กระบวนการทำให้กลีเซอรอลบริสุทธิ์	10
2.4	ไฮโดรไลซีส หรือ อัลกอฮอไลซีส ของไตรกลีเซอไรด์ ในการผลิต 2-โมโนกลีเซอไรด์	13
2.5	กลีเซอโรไลซีสของไตรกลีเซอไรด์ในการผลิตโมโนกลีเซอไรด์	13
2.6	เอสเทอริฟิเคชันของกลีเซอรอลให้ผลผลิตเป็นสารผสมของ 1(3)-และ 2-โมโนกลีเซอไรด์	14
2.7	(ก) ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเทอริฟิเคชันของสารผสมไตรกลีเซอไรด์ซึ่งเร่งปฏิกิริยาด้วยสารเคมีหรือเอนไซม์ไลเปสที่ไม่มีความจำเพาะเจาะจงต่อตำแหน่ง และ (ข) ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเทอริฟิเคชันของสารผสมไตรกลีเซอไรด์ซึ่งเร่งปฏิกิริยาด้วยเอนไซม์ไลเปสชนิดที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อตำแหน่งที่ 1 และ 3 ของไตรกลีเซอไรด์	18
4.1	อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายน้ำมันมะพร้าวของไลเปสจากยางมะละกอ	40
4.2	ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในการเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายน้ำมันมะพร้าวของไลเปสจากยางมะละกอ	40
4.3	ร้อยละผลผลิตของกลีเซอรอล โมโนลอเรทที่ได้จากกลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวซึ่งเร่งด้วยไลเปสจากยางมะละกอที่มีการเติมตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ	43
4.4	ร้อยละผลผลิตของกลีเซอรอล โมโนลอเรท เมื่อใช้อัตราส่วนโดยโมลของกลีเซอรอลต่อน้ำมันมะพร้าวตั้งแต่ 2:1 ถึง 12:1	44
4.5	ร้อยละผลผลิตของกลีเซอรอล โมโนลอเรท เมื่อทำปฏิกิริยากลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวที่อุณหภูมิต่างๆ	45
4.6	ร้อยละผลผลิตของปฏิกิริยาจากกลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวที่เวลาต่างๆ	46

สารบัญภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.7	ร้อยละผลผลิตของกลีเซอรอล โมโนลอเรท จากกลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวซึ่งใช้ไลเปสจากยางมะละกอที่ปริมาณต่างๆ เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา	46
4.8	ร้อยละผลผลิตของกลีเซอรอล โมโนลอเรท จากกลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวซึ่งเร่งโดยไลเปสจากยางมะละกอซึ่งมีปริมาณน้ำเริ่มต้นต่างๆ เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา	47