บทที่ 5
สรุป อภิปรายผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

การวิจัยเรื่องการสังเคราะห์กลีเซอรอลโมโนลอเรทจากกลีเซอรอลดิบ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา (1) การสังเคราะห์กลีเซอรอลโมโนลอเรทจากปฏิกิริยากลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวกับกลีเซอรอลดิบโดยการเร่งปฏิกิริยาของไลเปสจากยางมะละกอ และ (2) เปรียบเทียบร้อยละผลผลิตของกลีเซอรอลโมโนลอเรทที่สังเคราะห์ได้จากกลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวกับกลีเซอรอลดิบ และกลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวกับกลีเซอรอลบริสุทธิ์ ผู้วิจัยได้เริ่มต้นจากเก็บรวบรวมกลีเซอรอลดิบจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลแล้วนำมาทำให้บริสุทธิ์ เตรียมน้ำมันมะพร้าวโดยวิธีสกัดเย็นจากมะพร้าวขูด เก็บรวบรวมยางมะละกอสดจากผลมะละกอดิบที่ติดอยู่บนต้นเพื่อเตรียมเอนไซม์ไลเปส หลังจากตรวจสอบองค์ประกอบต่างๆในน้ำมันมะพร้าวและกลีเซอรอลดิบหลังการทำให้บริสุทธิ์ และตรวจสอบคุณสมบัติบางประการของเอนไซม์ไลเปสจากยางมะละกอแล้ว ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาปัจจัยต่างๆที่มีอิทธิพลต่อการเกิดปฏิกิริยากลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวซึ่งเร่งปฏิกิริยาโดยไลเปสจากยางมะละกอ และได้ศึกษาการสังเคราะห์กลีเซอรอลโมโนลอเรทจากปฏิกิริยากลีเซอโรไลซีสซึ่งใช้กลีเซอรอลดิบ และกลีเซอรอลบริสุทธิ์ เพื่อเปรียบเทียบร้อยละผลผลิต จากการศึกษาและการวิเคราะห์ข้อมูลทางการวิจัย สามารถสรุปผลได้ดังนี้

สรุป

1. การสังเคราะห์กลีเซอรอลโมโนลอเรทจากปฏิกิริยากลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวกับกลีเซอรอลดิบโดยการเร่งปฏิกิริยาของไลเปสจากยางมะละกอ

ปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการสังเคราะห์กลีเซอรอลโมโนลอเรทจากปฏิกิริยากลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวกับกลีเซอรอลดิบซึ่งเร่งด้วยไลเปสจากยางมะละกอ ได้แก่ (1) ชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้เติมลงไปในปฏิกิริยา เช่น 95% เอทานอล จะทำให้ได้ผลผลิตเพิ่มขึ้น 7 เปอร์เซ็นต์ (2) อัตราส่วนโดยโมลของกลีเซอรอลดิบต่อน้ำมันมะพร้าว พบว่าที่อัตราส่วนโดยโมล 8:1 (กลีเซอรอลดิบ : น้ำมันมะพร้าว) จะให้ผลผลิตกลีเซอรอลโมโนลอเรทสูงสุดเท่ากับ 39.59±1.77 เปอร์เซ็นต์ (3) อุณหภูมิที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา พบว่าที่อุณหภูมิ 45 °ซ ได้ผลผลิตของกลีเซอรอลโมโนลอเรทสูงที่สุดเท่ากับ 45.24±2.26 เปอร์เซ็นต์ (4) เวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 36 ชั่วโมง จะทำให้ได้ผลผลิตของกลีเซอรอลโมโนลอเรทสูงที่สุดเท่ากับ 53.18±2.65

เปอร์เซ็นต์ (5) ปริมาณเอนไซม์ พบว่าการใช้ปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 20 ของน้ำมันที่ใช้ จะทำให้ได้ร้อยละผลผลิตของกลีเซอรอลโมโนลอเรทสูงที่สุดเท่ากับ 58.35±2.91 เปอร์เซนต์ และ (6) ปริมาณน้ำเริ่มต้นของเอนไซม์ พบว่าเอนไซม์ไลเปสจากยางมะละกอที่มีปริมาณน้ำเริ่มต้นเท่ากับ 0.53 สามารถเร่งปฏิกิริยาแล้วให้ผลผลิตกลีเซอรอลโมโนลอเรทสูงที่สุดเท่ากับ 58.3±2.91 เปอร์เซ็นต์

2. เปรียบเทียบร้อยละผลผลิตของกลีเซอรอลโมโนลอเรทที่สังเคราะห์ได้จากกลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวกับกลีเซอรอลดิบ และกลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวกับกลีเซอรอลบริสุทธิ์

ปริมาณของกลีเซอรอลโมโนลอเรทที่สังเคราะห์ได้จากกลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวกับกลีเซอรอลดิบเท่ากับ 46.73±2.33 เปอร์เซนต์ และปริมาณของกลีเซอรอลโมโนลอเรทที่สังเคราะห์ได้จากกลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวกับกลีเซอรอลบริสุทธิ์เท่ากับ 51.65±2.58 เปอร์เซ็นต์

อภิปรายผลการวิจัย

จากการวิจัยเรื่องการสังเคราะห์กลีเซอรอลโมโนลอเรทจากกลีเซอรอลดิบ สามารถนำมาอภิปรายผลได้ดังนี้

1. การสังเคราะห์กลีเซอรอลโมโนลอเรทจากปฏิกิริยากลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวกับกลีเซอรอลดิบโดยการเร่งปฏิกิริยาของไลเปสจากยางมะละกอ

การเติม 95% เอทานอลซึ่งเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีค่า log P -0.24 ลงไปในปฏิกิริยากลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวกับกลีเซอรอลดิบซึ่งเร่งด้วยเอนไซม์ไลเปสจากยางมะละกอแล้วทำให้ได้ผลผลิตโมโนกลีเซอไรด์เพิ่มขึ้น 7 เปอร์เซ็นต์ จากปฏิกิริยาที่ไม่มีการเติมตัวทำละลายอินทรีย์หรือเติมตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดอื่น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาผลของชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีค่าของ log P แตกต่างกันที่มีต่อปฏิกิริยาที่มีสารตั้งต้นเป็นสารที่ไม่ละลายน้ำซึ่งเร่งปฏิกิริยาด้วยเอนไซม์ไลเปสที่แสดงให้เห็นว่าปฏิกิริยากลีเซอโรไลซีสของน้ำมัน (log P = 18.6) กับกลีเซอรอล (log P = -3.0) เมื่อเติมเอทานอลลงไปในปฏิกิริยานี้จะช่วยให้ปฏิกิริยาเกิดได้ดีขึ้นเนื่องจากเอทานอลจะเป็นตัวช่วยประสานให้น้ำมันกับกลีเซอรอลเข้ากันได้ดีขึ้น และเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่ไม่ทำลายโครงสร้างของเอนไซม์ด้วย (Yang, Kuo, Hariyadi & Parkin. 1994 : 577-583) และสอดคล้องกับการศึกษาปฏิกิริยากลีเซอโรไลซีสของน้ำมันจากเมล็ดดอกทานตะวันซึ่งเร่งด้วยไลเปส Novozym 435 ในระบบที่มีตัวทำละลายอินทรีย์ จะให้ผลผลิตโมโนกลีเซอไรด์สูงที่สุดเท่ากับ 68-82 เปอร์เซนต์ (Damstrup, Jensen, Sparso, Kiil, Jensen & Xu. 2005 : 559-564)

อัตราส่วนโดยโมลของกลีเซอรอลดิบต่อน้ำมันมะพร้าวเท่ากับ 8:1 จะให้ผลผลิตกลีเซอรอลโมโนลอเรทสูงสุดเท่ากับ 39.59±1.77 เปอร์เซ็นต์ จะเห็นได้ว่าอัตราส่วนโดยโมลของกลีเซอรอลต่อน้ำมันมะพร้าวที่ใช้มีค่ามากกว่าอัตราส่วนที่ควรใช้ในทางทฤษฎีมาก (กลีเซอรอล : น้ำมัน = 2:1) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาการผลิตโมโนกลีเซอไรด์จากกลีเซอโรไลซีสของปาล์มโอเลอินในปฏิกิริยาที่มีการเติมสารตั้งต้นอย่างต่อเนื่องและเร่งด้วยไลเปสตรึงจาก *Pseudomonas* sp. ที่อุณหภูมิ 45 °ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าที่อัตราส่วนโดยโมลของกลีเซอรอลต่อปาล์มโอเลอินเท่ากับ 12 : 1 ให้ผลผลิตโมโนกลีเซอไรด์สูงที่สุด (70.1%) (H-Kittikun, Kaewthong & Cheirsilp. 2008 : 116-120)

อุณหภูมิที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาเท่ากับ 45 °ซ ได้ผลผลิตของกลีเซอรอลโมโนลอเรทสูงที่สุดเท่ากับ 45.24±2.26 เปอร์เซ็นต์ ถ้าใช้อุณหภูมิสูงกว่านี้ผลผลิตของกลีเซอรอลโมโนลอเรทจะลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาการผลิตโมโนกลีเซอไรด์จากกลีเซอโรไลซีสของน้ำมันปาล์มโอเลอินซึ่งเร่งด้วยไลเปสตรึงจาก *Pseudomonas* sp. พบว่าที่อุณหภูมิ 45 °ซ จะให้ผลผลิตสูงสุด (Kaewthong & H-Kittikun. 2004 : 218-222) จากปรากฏการณ์นี้สามารถใช้ทฤษฎีของปัจจัยที่มีผลต่อการเร่งปฏิกิริยาโดยเอนไซม์ได้ว่าโครงสร้างของเอนไซม์ซึ่งเป็นโปรตีนสามารถถูกทำลายได้ด้วยความร้อน จึงทำให้เอนไซม์มีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาลดลง (Linko, Lamsa, Wu, Uosukainen, Seppala & Linko. 1998 : 41-50)

เวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาเท่ากับ 36 ชั่วโมง จะทำให้ได้ผลผลิตของกลีเซอรอลโมโนลอเรทสูงที่สุดเท่ากับ 53.18±2.65 เปอร์เซ็นต์ ตามทฤษฎีปัจจัยของเวลาที่มีผลต่อการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์จะขึ้นอยู่กับชนิดของเอนไซม์ไลเปสที่นำมาใช้ และอุณหภูมิของปฏิกิริยาด้วย ดังเช่นการศึกษากลีเซอโรไลซีสของน้ำมันจากเมล็ดดอกทานตะวันซึ่งเร่งโดยไลเปสตรึงจาก *Candida Antarctica* ในระบบที่มีตัวทำละลายอินทรีย์ ให้ผลผลิตโมโนกลีเซอไรด์ประมาณร้อยละ 68-82 ภายในเวลา 2-3 ชั่วโมง (Damstrup, Jensen, Sparso, Kiil, Jensen & Xu. 2005 : 559-564) ในขณะที่ใช้เอนไซม์ไลเปสชนิดเดียวกันแต่อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาต่างกันจะใช้เวลาในการเกิดปกิกิริยาต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษากลีเซอโรไลซีสของน้ำมันปาล์มซึ่งเร่งด้วยไลเปสตรึงจาก *Pseudomonas* sp. ที่อุณหภูมิ 45 °ซ โดยใช้เวลา 24 ชั่วโมง จะให้ผลผลิตโมโนกลีเซอไรด์สูงสุดร้อยละ 20.74 (Kaewthong, Sirisansaneeyakul, Prasertsan & H-Kittikun. 2005 : 1525-1530) การผลิตโมโนกลีเซอไรด์จากกลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะกอกในสภาวะของปฏิกิริยาที่เป็นของแข็งที่อุณหภูมิ 5 °ซ ซึ่งเร่งโดยไลเปสตรึงจาก *Pseudomonas* sp. จะใช้เวลาในการเกิดปฏิกิริยา 72 ชั่วโมง จึงจะให้ผลผลิตสูงสุดร้อยละ 90 (Rosu, Uozaki, Iwasaki & Yamane. 1997 : 445-450)

ปริมาณเอนไซม์ที่ใช้เท่ากับร้อยละ 20 ของน้ำมันที่ใช้ จะทำให้ได้ร้อยละผลผลิตของกลีเซอรอลโมโนลอเรทสูงที่สุดเท่ากับ 58.35±2.91 เปอร์เซนต์ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาการผลิตโมโนกลีเซอไรด์จากกลีเซอโรไลซีสของน้ำมันปาล์มโอเลอินซึ่งเร่งด้วยไลเปสตรึงจาก *Pseudomonas* sp. ที่อุณหภูมิ 45 °ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อเปลี่ยนแปลงปริมาณของเอนไซม์ที่ใช้พบว่าการผลิตโมโนกลีเซอไรด์จากปฏิกิริยาดังกล่าวจะเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณของเอนไซม์เพิ่มมากขึ้น และที่ปริมาณเอนไซม์เท่ากับร้อยละ 50 ของน้ำมันที่ใช้จะให้ผลผลิตสูงสุด (54.83%) (Kaewthong & H-Kittikun. 2004 : 218-222) ซึ่งสามารถใช้ทฤษฎีอธิบายได้ว่าการที่เราเพิ่มปริมาณเอนไซม์เข้าไปในปฏิกิริยาจะทำให้เอนไซม์มีปริมาณมากพอที่จะเข้าไปจับกับโมเลกุลของซับสเตรทหรือสารตั้งต้นแล้วเปลี่ยนสารเหล่านี้ให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่เราต้องการ (Attanatho, Magmee & Jenvanitpanjakul. 2004 : 359-361)

ปริมาณน้ำเริ่มต้นของเอนไซม์เท่ากับ 0.53 จะทำให้เอนไซม์สามารถเร่งปฏิกิริยาแล้วให้ผลผลิตกลีเซอรอลโมโนลอเรทสูงที่สุดเท่ากับ 58.3±2.91 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งตามทฤษฎีในการเกิดปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนหมู่เอซิลซึ่งเร่งด้วยเอนไซม์ไลเปส จะประกอบด้วยปฏิกิริยาย่อย 2 ขั้นตอนคือ (1) ปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสไตรกลีเซอไรด์เพื่อสร้างกรดไขมันก่อนในปฏิกิริยานี้ต้องการน้ำ และ (2) ปฏิกิริยาการสร้างกลีเซอไรด์ขึ้นมาใหม่ในปฏิกิริยานี้ไม่ต้องการน้ำ ถ้าปริมาณน้ำเริ่มต้นของเอนไซม์น้อยกว่า 0.43 จะทำให้ปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสถูกจำกัดไม่ให้เกิดขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าการเติมน้ำปริมาณเล็กน้อยลงไปในวัฏภาคของกลีเซอรอลจะทำให้ไลเปสมีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยากลีเซอโรไลซีสได้เพิ่มมากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามปริมาณน้ำต้องไม่มากเกินไปเพื่อป้องกันการเกิดกรดไขมันที่มากเกินในปฏิกิริยา (Li & Ward. 1993 : 745-748) ซึ่งผลจากการศึกษาในครั้งนี้ไม่สอดคล้องกับการศึกษากลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะกอกซึ่งเร่งด้วยไลเปสตรึงจาก*Candida rugosa* พบว่าปริมาณน้ำเริ่มต้นของเอนไซม์เท่ากับ 0.23 จะทำให้ได้ผลผลิตโมโนกลีเซอไรด์สูงที่สุด (Ferreira-Dias, S. & Fonseca, M.M.R. 1995 : 327-337) อาจจะอธิบายได้ว่าการที่เอนไซม์ไลเปสจากยางมะละกอมีปริมาณน้ำเริ่มต้นเท่ากับ 0.53 อาจทำให้ปฏิกิริยาในขั้นตอนที่ (1) เกิดได้ดีมาก จึงทำให้มีกรดไขมันเกิดขึ้นมากเพียงพอที่จะนำไปใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์กลีเซอไรด์ต่อไปในขั้นตอนที่ (2) และเมื่อปฏิกิริยาดำเนินต่อไปปริมาณน้ำในเอนไซม์อาจจะละลายเข้าไปรวมอยู่กับกลีเซอรอลดิบที่เราใช้เป็นสารตั้งต้นอีกชนิดหนึ่งได้ แล้วทำให้เอนไซม์มีปริมาณน้ำเริ่มต้นลดลงจึงสามารถเร่งปฏิกิริยาการสังเคราะห์กลีเซอไรด์ต่อไปได้ ทั้งนี้เมื่อพิจารณาปริมารของกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นหลังจากปฏิกิริยาสิ้นสุดแล้วมีประมาณ 10.45 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้โดยธรรมชาติของเอนไซม์ไลเปสจากยางมะละกอมีความจำเพาะต่อตำแหน่งของกลีเซอไรด์แบบ 1(3)-specificity ดังนั้นในการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสจะทำให้ได้โมโนกลีเซอไรด์เป็นผลิตภัณฑ์หลักอยู่แล้ว

2. เปรียบเทียบร้อยละผลผลิตของกลีเซอรอลโมโนลอเรทที่สังเคราะห์ได้จากกลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวกับกลีเซอรอลดิบ และกลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวกับกลีเซอรอลบริสุทธิ์

ปริมาณของกลีเซอรอลโมโนลอเรทที่สังเคราะห์ได้จากกลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวกับกลีเซอรอลดิบเท่ากับ 46.73±2.33 เปอร์เซนต์ และปริมาณของกลีเซอรอลโมโนลอเรทที่สังเคราะห์ได้จากกลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวกับกลีเซอรอลบริสุทธิ์เท่ากับ 51.65±2.58 เปอร์เซ็นต์ จะเห็นได้ว่าปริมาณของกลีเซอรอลโมโนลอเรทที่ได้จากการใช้กลีเซอรอลบริสุทธิ์จะสูงกว่าปริมาณที่ได้จากการใช้กลีเซอรอลดิบหลังทำให้บริสุทธิ์ไม่เกิน 5 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าสามารถใช้กลีเซอรอลดิบที่เป็นผลผลิตพลอยได้จากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์โมโนกลีเซอไรด์ชนิดกลีเซอรอลโมโนลอเรทได้โดยใช้เอนไซม์ไลเปสจากยางมะละกอเป็นตัวเร่งปฏิกิริยากลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวกับกลีเซอรอลดิบ

ข้อเสนอแนะ

จากการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ข้อสรุปเป็นข้อเสนอแนะที่อาจเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาในครั้งต่อไปประกอบด้วยข้อเสนอแนะทั่วไป และข้อเสนอแนะในการทำวิจัยในครั้งต่อไป ดังนี้

ข้อเสนอแนะทั่วไป

จากการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยมีข้อเสนอแนะทั่วไปดังนี้

1. จากผลการวิจัยพบว่ากลีเซอรอลดิบซึ่งเป็นผลผลิตพลอยได้จากการผลิตไบโอดีเซลสามารถนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์กลีเซอรอลโมโนลอเรทจากปฏิกิริยากลีเซอโรไลซีสซึ่งเร่งด้วยไลเปสจากยางมะละกอได้ ซึ่งเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับกลีเซอรอลดิบ จึงควรมีการศึกษาการใช้กลีเซอรอลดิบเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สารชนิดอื่นที่มีประโยชน์และมีราคาแพง เช่น การใช้กลีเซอรอลดิบเป็นวัตถุดิบในการผลิตพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอต

2. จากผลการวิจัยพบว่าเอนไซม์ไลเปสจากยางมะละกอเป็นเอนไซม์ที่หาได้ง่ายจากวัตถุดิบในท้องถิ่น เนื่องจากมะละกอเป็นพืชในท้องถิ่นของประเทศต่างๆ ในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ รวมทั้งประเทศไทยด้วย ทำให้เอนไซม์ไลเปสจากยางมะละกอมีราคาถูกกว่าไลเปสทางการค้า อีกทั้งมีความจำเพาะต่อตำแหน่งของกลีเซอไรด์ด้วย จึงควรมีการศึกษาการใช้เอนไซม์ไลเปสจากยางมะละกอเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาสังเคราะห์สารชนิดอื่นๆ เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าของมะละกอ เช่น การใช้เอนไซม์ไลเปสจากยางมะละกอเร่งปฏิกิริยาการสังเคราะห์น้ำมันไขมันต่ำเพื่อใช้ในการบริโภค

ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยในครั้งต่อไป

จากการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยมีข้อเสนอแนะในการทำวิจัยในครั้งต่อไปดังนี้

1. ควรมีการศึกษาการคัดเลือกตัวแปรหรือปัจจัยที่สำคัญและมีอิทธิพลสูงสุดต่อการผลิตกลีเซอรอลโมโนลอเรทจากกลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวกับกลีเซอรอลดิบซึ่งเร่งด้วยไลเปสจากยางมะละกอ เพื่อให้ได้สภาวะที่เหมาะสมในการผลิต

2. ควรมีการศึกษาการเพิ่มขนาดการผลิตกลีเซอรอลโมโนลอเรทจากกลีเซอโรไลซีสของน้ำมันมะพร้าวกับกลีเซอรอลดิบซึ่งเร่งด้วยไลเปสจากยางมะละกอให้มีขนาดใหญ่ขึ้น เพื่อเป็นแนวทางพัฒนากระบวนการเข้าสู่ระดับอุตสาหกรรม