

## **POLYMERIZATION OF GLYSEROL MONOSTEARAT WITH AZELAIC ACID**

- 1. Nina Adriani, B.Sc (Hons), M.Sc.**
- 2. Prof Datin Dr. Zuriati Zakaria**

- 1. Chemistry Lecturer at The Teacher Training and Education Faculty of Maritim Raja Ali Haji University*
- 2. Lecturer at Faculty of Science and Technology of National University of Malaysia*

### **ABSTRACT**

In this study, polymerization reaction between glycerol monostearat (1g, 0.002mol) with azelaic acid (2g, 0.005mol) carried out. Production process of this polymer is made in temperature 60-80<sup>0</sup>C and pressure (~150Pa) by using Novozym's enzyme catalyst 435 for 3 hours. Starting material is glycerol monostearat (MAG) produced through esterification reaction in temperature 60-80<sup>0</sup>C for 4 hours by using enzyme catalyst are Rhizomucor miehei and Lipozim TL IM. After that purification of MAG carried out through winterization process by using centrifugal that separate MAG and hexane solution. It kept at 0<sup>0</sup>C for 24 hours until precipitation formed through centrifugation (3,500 rpm, 20 means, 4<sup>0</sup>C). After MAG produced, it will analyzed by HPLC and found as much as content 100% of both MAG. Further analysis are <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR and FTIR to know absorption spectrum and peak produced from MAG and polymer.

## PENDAHULUAN

Pempolimeran telah banyak dilakukan dalam kehidupan sehari-hari kerana mempunyai banyak manfaat. Dalam penyelidikan ini, bahan utama yang digunakan adalah gliserol, yang sangat berguna dalam metabolisme tubuh manusia. Gliserol mempunyai banyak kegunaan dalam produk boleh makan sintetik dan bahan kimia industri. Ia sendiri digunakan sebagai pelembab dalam sabun dan kosmetik. Selain ia juga merupakan salah satu stok suapan untuk menghasilkan pengemulsi dan detergen dalam industri surfaktan. Gliserin digunakan sebagai bahan pembinaan asas poliester untuk menghasilkan polimer uretan.

Dalam kajian ini, gliserol akan dipolimerkan dengan asam azelaik menggunakan mangkin enzim guna meningkatkan manfaat dari gliserol itu sendiri. Kajian ini belum pernah dilakukan sebelumnya, tetapi penghasilan dari polimer gliserol telah banyak digunakan seperti gliserol mono, di, dan triasetat yang juga mempunyai banyak kegunaan dalam industri kimia iaitu sebagai pemplastisan selulosa dalam penapis rokok dan sebagai pelarut minyak wangi (Anneken 1991). Di antara produk-produk ester gliserol iaitu poliol yang terdiri daripada campuran gliserol dan minyak yang mengandungi kumpulan -COOH- dan dengan menambahkan asid dibasik untuk melengkapkan tindak balas, sehingga poligliserol ini boleh meningkatkan fleksibiliti gliserol itu sendiri (Lide 1999).

Menurut penyelidikan-penyelidikan sebelumnya, tindak balas pengesteran bermangkin enzim jauh lebih baik daripada pengesteran bermangkin asid ataupun alkali. Ini ditunjukkan dengan beberapa kelebihan pengesteran bermangkin enzim iaitu tindak balas ini berlaku pada suhu bilik, tidak berlakunya degradasi, tindak balas tidak melibatkan penambahan bendasing dan juga tidak terbentuk warna yang tidak diinginkan.

Penyelidikan ini mempunyai empat objektif, iaitu seperti berikut:

1. Menyediakan bahan awal iaitu gliserol monostearat.
2. Mempolimerkan gliserol monostearat dengan asid azelaik.
3. Membandingkan gliserol monostearat yang dihasilkan daripada 2 jenis enzim iaitu *Rhizomucor miehei* dan Lipozim TL IM.
4. Membandingkan hasil analisis bagi gliserol monostearat dan polimer.

## KAJIAN KEPUSTAKAAN

### Gliserol

Gliserol iaitu sebatian oleokimia yang dikenali sebagai gliserin dan juga 1,2,3-propanetriol. Ia mempunyai kumpulan alkohol yang paling banyak ditemui dalam metabolisme manusia. Gliserol terdiri daripada 3 molekul karbon yang terikat setiap satunya kepada kumpulan hidroksil. Gliserol mempunyai banyak kegunaan dalam produk boleh makan sintetik dan bahan kimia industri. Gliserol sendiri digunakan sebagai pelembab dalam sabun dan kosmetik. Selain ia juga merupakan salah satu stok suapan untuk menghasilkan pengemulsi dan detergen dalam industri surfaktan.

## **Tindak balas pengesteran**

Pengesteran merupakan satu proses penghasilan ester yang boleh diperolehi melalui tindak balas antara alkohol dan asid karboksilik (esterifikasi), tindak balas antara alkohol dengan ester (alkoholisis) dan tindak balas antara ester dengan asid (asidolisis). Pengesteran yang terjadi antara alkohol dan asid lemak merupakan tindak balas berbalik hidrolisis berkenaan, sedangkan pengesteran yang terjadi antara asid lemak dengan gliserol pula ialah proses terbalik hidrolisis lemak (Gunstone 2004). Oleh kerana tindak balas pengesteran biasanya adalah tindak balas berbalik, maka pengesteran dapat dipercepatkan dengan menggunakan salah satu reaktan atau menyingkirkan salah satu daripada hasil tindak balas pengesteran iaitu air (Motlagh et al.2006).

Terdapat dua kaedah utama bagi tindak balas pengesteran iaitu pengesteran dengan kehadiran mangkin dan tanpa kehadiran mangkin. Pengesteran dengan kehadiran mangkin adalah lebih cekap berbanding pengesteran tanpa mangkin dan biasanya hanya memerlukan masa yang tidak begitu lama dengan suhu yang sesuai (Gladys et al.2006). Ini disebabkan kerana kehadiran mangkin dapat mempercepat kadar tindak balas. Selain itu, pengesteran tanpa mangkin melibatkan kos yang tinggi dan ester yang dihasilkan mungkin boleh tercemar dengan mangkin terutamanya mangkin yang beracun. Keselamatan penggunaan mangkin dalam proses penghasilan minyak makanan sentiasa dicurigai.

## **Pengesteran bermangkin**

Tindak balas pengesteran boleh dimangkin oleh mangkin beralkali, mangkin berasid dan enzim. Mangkin boleh dibahagikan kepada mangkin organik seperti naftalena-sulfonik dan mangkin bukan organik seperti  $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ . Pemilihan mangkin adalah mengikut kriteria tertentu. Peneutralan mangkin beralkali dan berasid perlu dilakukan setelah tindak balas pengesteran untuk memperolehi ester yang dihasilkan. Mangkin enzim yang selalunya digunakan dalam tindak balas pengesteran antara asid lemak dan gliserol adalah lipase. Sumber lipase biasanya didapati daripada tumbuhan dan haiwan. Pengesteran berenzim boleh dijalankan dalam kehadiran pelarut ataupun tanpa kehadirannya. Tindak balas yang lebih baik adalah tanpa menggunakan pelarut untuk pengesteran berenzim (Bornscheuer 1995).

## **Asid azelaik**

Asid azelaik iaitu asid dikarboksilik tepu yang terdiri daripada 9 karbon berantai lurus dan mempunyai 2 kumpulan berfungsi karboksilik di setiap hujungnya seperti Rajah 5 di bawah. Asid azelaik dihasilkan daripada pengoksidaan asid oleik menggunakan asid nitrik atau melalui esterifikasi asid lemak dengan ikatan ganda dua pertama pada kedudukan 9-10. Ia merupakan bahan alami yang dihasilkan daripada *Malassezia furfur* yang juga dikenali sebagai *Pityrosporum ovale* iaitu yis yang hidup pada kulit normal (Breathnach 1999).

Kegunaan daripada asid azelaik ini cukup banyak. Contohnya, ia digunakan sebagai antimikrob dalam folikel, membantu pertumbuhan kulit yang telah rosak dan juga tidak toksik kepada pengguna. Asid ini juga digunakan dalam rawatan jerawat yang bekerja dengan cara menghentikan pertumbuhan mikrob kulit yang menyebabkan tumbuhnya jerawat dan menjaga kulit tetap bersih. Selain itu, ia juga berguna untuk merangsang pertumbuhan rambut di kepala disebabkan asid ini mengandungi ion zink dan vitamin B (Stamatiadis et al. 1988).

## **Pempolimeran melalui pengesteran**

Polimer berupa ester poligliserol boleh didapati secara komersial sejak lebih 30 tahun yang lalu. Di dalam industri minyak masak, ia digunakan sebagai perencat pengkristalan yang tinggi mutunya tanpa menjejaskan warna atau rasa minyak tersebut. Penggunaan lainnya termasuklah sebagai agen anti merecik, lelemak untuk ais, dan lain-lain kegunaan sebagai pengemulsi. Lain-lain penggunaan ester poligliserol adalah pelincir gentian dalam alat solek serta farmaseutikal (Motlagh et al. 2006).

Penyediaan ester poligliserol ini selalunya disediakan dari pempolimeran gliserol di bawah keadaan berakali yang bersuhu tinggi ataupun di bawah keadaan berenzim dalam suhu yang sesuai supaya tidak mengalami perencatan enzim. Tindak balas kondensasi melibatkan kumpulan  $\alpha$ -hidroksil dari 2 molekul gliserol yang bertindak membentuk ikatan eter diikuti dengan penyingkiran molekul air (Jumat et al. 2006). Dua kumpulan  $\alpha$ -hidroksil yang tertinggal pada molekul digliserol yang terbentuk itu boleh bertindakbalas lagi dengan molekul gliserol lain atau lain-lain molekul yang terpolimer.

## **METODOLOGI**

### **Pengesteran Asid lemak dengan Gliserol**

Kaedah yang diguna diubahsuaikan mengikut Jumat et al. 2006. Pada mulanya, asid stearik (1g, 0.003mol) dan gliserol (0.5g, 0.005mol) dimasukkan ke dalam kelalang dasar bulat 25 mL berpengacau magnet. Campuran direflukskan pada suhu 50°C. Setelah mencapai suhu keseimbangan, 5 % w/w mangkin enzim dimasukkan dan pengacauan masih diteruskan selama 4 jam. Suhu proses perlu dipastikan sentiasa berada sekitar 60-80°C. Selepas 4 jam, tindak balas diberhentikan dengan memisahkan enzim daripada campuran dengan menggunakan corong turas kaca tersinter dengan pam vakum. Hasil esterifikasi kemudian dikumpulkan ke dalam bikar 50 mL dan dilarutkan dalam larutan kloroform (50 mL). Keseluruhan larutan disimpan terlebih dahulu sebelum digunakan.

### **Penulenan MAG**

Campuran MAG, DAG, dan TAG yang dihasilkan daripada pengesteran asid stearik dan gliserol dilarutkan pada sejumlah larutan heksana. Larutan ini disimpan selama 24 jam pada suhu 0°C. Pemendakan terbentuk melalui pengemparan (3,500 rpm, 20 min, 4°C) untuk menghasilkan mendakan MAG dan memisahkannya dengan larutan heksana (Watanabe et al. 2006). Larutan heksana ini diasingkan dengan menggunakan pemutar wap supaya MAG yang diperolehi ini tulen dan boleh digunakan untuk kaedah selanjutnya.

### **Pempolimeran gliserol monostearat dengan asid azelaik**

Pempolimeran ini dimulakan dengan asid azelaik (2g, 0.005mol), gliserol monostearat (1g, 0.002mol) & 0.15 % w/w mangkin lipase iaitu Novozim 435 dimasukkan ke dalam kelalang dasar bulat 100 mL dan dipanaskan pada suhu 60-80°C pada tekanan (~150Pa) selama 3 jam hingga tindak balas pempolimeran lengkap terlarut campur. Hasil produk tindak balas antara gliserol monostearat dengan asid azelaik dilarutkan dalam larutan kloroform (50 mL) dan kemudian menggunakan penurasan vakum untuk menyingkirkan asid berlebihan. Selepas pemisahan enzim, maka larutan dibasuh dengan air suling sebanyak 3 kali untuk mengasingkan asid yang tidak diinginkan. Kemudian, pelarut yang digunakan disingkirkan menggunakan pemutar wap. Tindak balas pempolimeran diberhentikan dengan menyingkirkan mangkin yang digunakan melalui penurasan dan hasil produk dipanaskan dalam oven pada suhu 50°C selama 48 jam.

## **ANALISIS PENENTUAN STRUKTUR**

### **Kromatografi Cecair Berprestasi Tinggi (HPLC )**

Kromatografi cecair berprestasi tinggi juga dikenali sebagai kromatografi cecair tekanan tinggi. Ia merupakan satu kaedah kromatografi turus yang lebih mantap dan meluas digunakan dalam analisa kimia. Partikel yang memegang fasa pegun dalam kolum adalah sangat kecil iaitu 3-10  $\mu\text{m}$ . HPLC mempunyai fleksibiliti di mana dengan hanya mengubah fasa pegun atau bergerak, kaedah pemisahan yang berlainan dapat dilakukan. HPLC fasa berbalik pula dijalankan dengan menggunakan fasa bergerak yang berkutub dan fasa pegun yang tidak berkutub (Macrae 1982).

### **Spektroskopi Resonans Magnet Nukleus (NMR)**

Analisis menggunakan spektroskopi resonans magnetik nukleus (NMR) bagi menentukan struktur dan juga sebatian yang dihasilkan daripada polimer dan gliserol monostearat. Alat spektroskopi NMR yang digunakan dalam penyelidikan ini bagi mendapatkan spektrum  $^1\text{H}$  dan  $^{13}\text{C}$  NMR ialah JEOL 400 MHz dengan pelarut  $\text{CDCl}_3$ . Secara umumnya, bagi spektrum  $^1\text{H}$  NMR, nilai anjakan kimia bagi kebanyakan proton terletak sebelah kiri TMS dalam julat 0-10 ppm berbanding  $^{13}\text{C}$  NMR yang mempunyai anjakan yang lebih besar iaitu antara 0-220 ppm (Lide 1999).

### **Spektroskopi Inframerah-Fourier Transform (FTIR)**

Spektrometer inframerah ini dari jenis model Spektrum BX jenama Perkin Elmer dijalankan ke atas polimer. Frekuensi serapan inframerah boleh diukur sama ada oleh pengukuran langsung menggunakan sebuah kisi-kisi atau prisma untuk memisahkan frekuensi secara individu atau dengan ukuran tidak langsung menggunakan interferometer Michelson. Kaedah langsung merakamkan frekuensi-frekuensi secara individu selepas mereka dipisahkan (Zhang et al. 2005).

## **HASIL DAN PERBINCANGAN**

### **Pengesteran gliserol dan asid stearik**

Gliserol yang dipolimerkan dengan asid stearik dapat menghasilkan sejumlah MAG, DAG dan TAG

### **Analisis Kromatografi Lapisan Nipis (KLN)**

Berdasarkan tompok-tompok pada plat KLN, didapati bahawa hasil pengesteran mengandungi sejumlah MAG, DAG dan TAG. Untuk menghasilkan gliserol monostearat sahaja maka sampel ini mesti dituliskan. Untuk menuliskan MAG, ada dua cara yang boleh digunakan. Pertama iaitu dengan menggunakan kromatografi turus yang menggunakan silika dan kedua iaitu menuliskan MAG dengan proses pengasingbekuan menggunakan sentrifugal. Dalam penyelidikan ini penyelidik menggunakan cara yang kedua kerana kuantiti sampel yang dihasilkan sedikit sehingga dijangka akan sulit untuk diasingkan menggunakan kaedah kromatografi turus. Jadi, berdasarkan keputusan KLN bahawa MAG berjaya dihasilkan dan siap untuk dituliskan.

### **Penulenan MAG**

Pecahan minyak dalam campuran tindak balas mengandungi MAG, DAG dan TAG, dan takat lebur bagi MAG adalah tertinggi di antara tiga komponen tersebut. Ini menunjukkan pelarut

bagi proses pengasingbekuan adalah berkesan untuk menuliskan MAG daripada satu campuran yang diperolehi daripada tindak balas bermangkin enzim (Watanabe et al.2006). Ketika heksana digunakan sebagai pelarut, endapan terbentuk dan MAG dijumpai dalam bentuk mendakan. Tetapi aseton dan etanol tidak dapat menghasilkan mendakan.

### **Penggunaan Enzim yang berbeza**

Tindak balas pengesteran asid stearik dengan gliserol dijalankan dengan menggunakan dua jenis enzim yang berbeza iaitu *Rhizomucor miehei* dan lipozim TL IM. Tindak balas pengesteran menggunakan 2 jenis enzim yang berbeza didapati menghasilkan produk yang berbeza dari segi fizikal. Hasil tindak balas oleh enzim *Rhizomucor miehei* menghasilkan produk yang agak kekuningan seperti warna asid stearik sedangkan enzim lipozim TL IM menunjukkan sampel berwarna putih seperti kristal. Jadi berdasarkan penyelidikan yang telah dijalankan ke atas dua jenis enzim ini berjaya menghasilkan dua jenis MAG yang berbeza

### **Analisis Kromatografi Cecair Berprestasi Tinggi (HPLC)**

Hasil bacaan analisis HPLC, bahawa MAG 1 pada masa ke 6.530 minit didapati peratus gliserol monostearat yang tulen menggunakan enzim *Rhizomucor miehei*. Juga dengan menggunakan enzim Lipozim TL IM, didapati bahawa kandungan gliserol monostearat adalah 100 % pada masa penahanan ke 6.671 minit. Jadi, berdasarkan analisis ini, MAG berjaya dihasilkan dengan tulen dengan kandungan kedua-dua enzim ialah 100 %.

### **Hasil pempolimeran (MAG)**

#### **MAG daripada enzim *Rhizomucor miehei***

MAG menggunakan enzim *Rhizomucor miehei* yang terhasil daripada tindak balas pengesteran daripada bahan-bahan diatas iaitu sebanyak 65.59 %.

#### **MAG daripada enzim Lipozim TL IM**

MAG menggunakan enzim Lipozim TL IM yang terhasil daripada tindak balas pengesteran daripada bahan-bahan diatas iaitu sebanyak 65.33 %

### **Analisis Kaedah Resonans Magnetik Nukleus (NMR)**

#### **Analisis $^1\text{H}$ dan $^{13}\text{C}$ NMR bagi gliserol monostearat**

Berdasarkan analisis  $^1\text{H}$  dan  $^{13}\text{C}$  NMR, bahawa kedua-dua enzim menghasilkan struktur MAG yang sesuai dan MAG berjaya dihasilkan.

#### **Analisis $^1\text{H}$ dan $^{13}\text{C}$ NMR bagi polimer**

Tindak balas pempolimeran antara gliserol monostearat dengan asid azelaik didapati bahawa polimer tidak berjaya dihasilkan, ini disebabkan spektrum  $^1\text{H}$  dan  $^{13}\text{C}$  yang dihasilkan tidak jauh berbeza dengan gliserol monostearat yang telah dianalisis sebelumnya sehingga struktur yang terbentuk masih seperti struktur MAG. Kumpulan ester bagi tindak balas gliserol monostearat dan asid azelaik juga tidak terbentuk.

### **Analisis Spektroskopi FTIR**

Berdasarkan analisis FTIR, polimer kurang berjaya dihasilkan dan sedikit membentuk serapan bagi gliserol monostearat.

## KESIMPULAN

Berdasarkan penyelidikan yang telah dilakukan, pembentukan polimer yang dicadangkan sebelumnya tidak berjaya dihasilkan. Ini mungkin disebabkan oleh nisbah yang digunakan adalah 1:1. Menurut jurnal yang ada, bahawa polimer tidak akan terbentuk apabila nisbah monomer 1:1 dan akan lebih baik jika menggunakan nisbah 1:4 bagi asid azelaik dan gliserol monostearat. Selain itu terjadinya kontak dengan udara ketika proses berlaku. Suhu yang kurang stabil dalam melakukan tindak balas dan jumlah bahan yang digunakan sangat terhad. Hal-hal ini dapat mempengaruhi analisis yang digunakan untuk mengetahui struktur polimer.

## RUJUKAN

- Anneken, D.J. 1991. *Glycerine : A Key Cosmetic Ingredient*. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Bornscheuer, U.T. 1995. Lipase-Catalyzed Synthesis of Monoacylglycerols. *Enzyme and Microbial Technology*. 17: 578-586.
- Breathnach, A.S., 1999. Azelaic Acid: Potential as a General Antitumoural Agent. *Material Research*. 52 : 221–226.
- Gladys, H.P., Cho, S.K., Yeong, T.L., Ooi, and C.H. Chuah. 2006. Glycerol Esters from the Reaction of Glycerol with Dicarboxylic Acid Esters. *JSD*. 9 : 147–152.
- Gunstone, F.D. 2004. *The Chemistry of Oils and Fats Sources, Composition, Properties and Uses*. UK: Blackwell Publishing.
- Jumat Salimon., Mamot Said., Suria Ramli., dan Mohamad Azwani Shah Mat Lazim., 2006. *Oils and Fats Analysis*. Bangi: Penerbit Universiti Kebangsaan Malaysia.
- Lide, D.R. 1999. *CRC Handbook of Chemistry and Physics*. 80th Edition. Boca Raton: CRC Press.
- Motlagh, D., Yang, J., Lui, K.Y., Webb, A.R., and Ameer Guillermo A., 2006. Hemocompatibility Evaluation of Poly(glycerol-sebacate) in Vitro for Vascular Tissue Engineering. *Biomaterials*. 27 : 4315-4324.
- Macrae, R. 1982. *HPLC in Food Analysis*. Reading: Academic Press, inc.
- Stamatiadis, D., Bulteau P.M.C., and Mowszowicz, I. 1988. Inhibition of 5 Alpha-Reductase Activity in Human Skin by Zinc and Azelaic Acid. *Br J Dermatol* . 119 : 627–632.
- Watanabe, Y., Nagao, T., Kanatani, S., Kobayasi, T., Terai, T., and Shimada, Y. 2006. Purification of Monoacylglycerol with Conjugated Linoleic Acid Synthesized through a Lypase-Catalyzed Reaction by Solvent Winterization. *Journal of Oleo Science*. Vol. 55, No.10, 537-543.