วัชรกานต์ ศรีมหาพรหม : ศึกษาการแยกสารเมไทโอนีนไฮโดรคลอไรด์โดยการตกผลึกรูปแบบที่ต้องการ (A STUDY OF OPTICAL RESOLUTION OF METHIONINE HYDROCHLORIDE BY PREFERENTIAL CRYSTALLIZATION) อาจารย์ที่ปรึกษา : ศาสตราจารย์ ดร.เอเดรียน ฟลัด, 199 หน้า.

โปรตีนเป็นสิ่งที่จำเป็นในการบำรุงเสริมสร้างและซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอของร่างกาย อีกทั้งยังเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่เป็นส่วนประกอบสำคัญของเนื้อเยื่อและอวัยวะของร่างกายมนุษย์และสิ่งมีชีวิตทุกชนิด โครงสร้างของโปรตีนมีโมเลกุลของกรดอะมิโน (amino acid) เป็นองค์ประกอบที่สำคัญโดยมีลักษณะเป็นสารชีวโมเลกุล กรดอะมิโนจากการสังเคราะห์โปรตีนในร่างกายมีอยู่ 20 ชนิด แบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ กรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น (non-essential amino acids) 12 ชนิด และกรดอะมิโนจำเป็น (essential amino acids) 8 ชนิด

เมไทโอนีน (methionine, met) เป็นหนึ่งในกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย แต่ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นได้เอง จึงมีการสังเคราะห์เมไทโอนีนขึ้นมาด้วยกระบวนการทางเคมี ซึ่งกรดอะมิโนที่ได้จะอยู่ในรูปของดีแอลเมไทโอนีน (DL-methionine) แต่มีเฉพาะรูปของแอล (L-form) เท่านั้นที่จำเป็นและมีประโยชน์ต่อร่างกาย ดังนั้นจึงต้องทำการสกัดแยกเฉพาะแอลเมไทโอนีน (L-methionine) ออกจากดีแอลเมไทโอนีนด้วยวิธีการตกผลึก เนื่องจากเป็นกระบวนการแยกสารที่มีประสิทธิภาพค่อนข้างสูงและสะดวก วิธีการตกผลึกที่ใช้ในงานวิจัยนี้ คือ การตกผลึกรูปแบบที่ต้องการ (preferential crystallization) เพราะสามารถแยกแอลเมไทโอนีนออกจากดีเมไทโอนีน (D-methionine) ได้ แต่การแยกด้วยวิธีนี้จะต้องทำเมไทโอนีนให้อยู่ในรูปของเกลือไฮโดรคลอไรด์ (HCl salt) ก่อน จึงจะสามารถแยกด้วยกระบวนการตกผลึกรูปแบบที่ต้องการได้ เนื่องจากเมไทโอนีนในรูปของเกลือไฮโดรคลอไรด์ (met·HCl) จะอยู่ในรูปแบบของคอลโกลเมอร์เรท (conglomerate forming) ในขณะที่ผลึกของเมไทโอนีนบริสุทธิ์ซึ่งอยู่ในรูปแบบของราซิเมท (racemate forming) ไม่สามารถทำการแยกด้วยกระบวนการนี้ได้

จากการทดลองพบว่าความสามารถในการละลายในน้ำของเมไทโอนีนไฮโดรคลอไรด์ (met·HCl) มีค่าแปรผันโดยตรงกับอุณหภูมิ ซึ่งค่าความสามารถในการละลายในน้ำของเมไทโอนีนไฮโดรคลอไรด์จะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น จากผลของค่าความสามารถในการละลายในน้ำ เมื่อแสดงด้วยแผนภาพเฟสไดอะแกรมสำหรับระบบสารผสมสามองค์ประกอบ (ternary phase diagram) ของ แอลเมไทโอนีนไฮโดรคลอไรด์ (L-met·HCl) + ดีเมไทโอนีนไฮโดรคลอไรด์ (D-met·HCl) + น้ำ พบว่าสอดคล้องเป็นไปตามแผนภาพเฟสไดอะแกรมของสารประกอบคอลโกลเมอร์เรท

การศึกษาอัตราการเติบโตของผลึกแบบกระจาย (growth rate distribution) และจุดเริ่มต้นของการเกิดนิวคลีเอชั่น (nucleation threshold) มุ่งเน้นเพื่อใช้ในการออกแบบสภาวะการทดลองและดำเนินการทดลองสำหรับการตกผลึกรูปแบบที่ต้องการให้เหมาะสมที่สุด จุดเริ่มต้นของการเกิดนิวคลีเอชั่นแบบปฐมภูมิ (primary nucleation threshold) และจุดเริ่มต้นของการเกิดนิวคลีเอชั่นแบบทุติยภูมิ (secondary nucleation threshold) ถูกวัดก่อนการทดลองหาอัตราการเติบโตของผลึกเพื่อให้แน่ใจว่าไม่มีนิวคลีชั่นเกิดขึ้นในกระบวนการตกผลึก ด้วยวิธีการหาค่าความสัมพันธ์ระหว่างเวลาการเหนี่ยวนำให้เกิดนิวคลีเอชั่น (induction time) กับค่าความเข้มข้นยิ่งยวดสัมพัทธ์ (relative supersaturation) ของเมไทโอนีนไฮโดรคลอไรด์ที่มีค่าความเข้มข้นต่างๆ ซึ่งผลการทดลองพบว่าค่าเวลาการเหนี่ยวนำให้เกิดนิวคลีเอชั่นจะมีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อค่าความเข้มข้นยิ่งยวดสัมพัทธ์ของเมไทโอนีนไฮโดรคลอไรด์มีค่าลดลง ซึ่งเหมือนกันทั้งค่าจุดเริ่มต้นของการเกิดนิวคลีเอชั่นแบบปฐมภูมิและทุติยภูมิ

อัตราการเติบโตของผลึกแอลเมไทโอนีนไฮโดรคลอไรด์จะเติบโตได้ดีมากในสารละลายความเข้มข้นยิ่งยวดของแอลเมไทโอนีนไฮโดรคลอไรด์ แต่เติบโตไม่ดีในสารละลายความเข้มข้นยิ่งยวดของดีแอลเมไทโอนีนไฮโดรคลอไรด์ (DL-met·HCl) นอกจากนี้ยังพบว่าทั้งในสารละลายความเข้มข้นยิ่งยวดของแอลเมไทโอนีนไฮโดรคลอไรด์ และสารละลายความเข้มข้นยิ่งยวดของดีแอลเมไทโอนีนไฮโดรคลอไรด์ จะมีอัตราการเติบโตของผลึกแบบกระจายที่ค่อนข้างกว้างด้วยกันทั้งคู่ ในเวลาและค่าความเข้มข้นที่เท่ากัน

การตกผลึกรูปแบบที่ต้องการของสารละลายดีแอลเมไทโอนีนไฮโดรคลอไรด์ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ถูกศึกษาโดยกระบวนการตกผลึกแบบกะโดยใช้ตัวล่อ (seeded batch crystallization) เพื่อแยกสารอิแนนทิโอเมอร์ที่ต้องการ (L-met·HCl) ออกจากสารละลายราซิเมท (DL-met·HCl) ซึ่งผลความสำเร็จของงานวิจัยนี้แสดงด้วยค่าเปอร์เซ็นต์ความบริสุทธิ์ของผลึกแอลเมไทโอนีนไฮโดรคลอไรด์ โดยใช้วิธีการวัดสมบัติการหมุนแสง (optical activity) ผลการทดลองพบว่าเปอร์เซ็นต์ความบริสุทธิ์ของผลึกแอลเมไทโอนีนไฮโดรคลอไรด์มีค่าลดลงอย่างรวดเร็วเข้าสู่สภาวะสมดุล ณ ค่าหนึ่งๆ เมื่อเวลาผ่านไป ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากอิทธิพลของจุดเริ่มต้นของการเกิดนิวคลีเอชั่นของสารอิแนนทิโอเมอร์ที่ไม่ต้องการ (D-met·HCl) โดยสรุปการแยกสารอิแนนทิโอเมอร์ที่ต้องการ ออกจากสารละลายราซิเมทด้วยวิธีการตกผลึกรูปแบบที่ต้องการไม่สามารถแยกสารอิแนนทิโอเมอร์ที่ต้องการที่มีความบริสุทธิ์ 100 เปอร์เซ็นต์ได้

สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี ลายมือชื่อนักศึกษา _____

ปีการศึกษา 2554 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา _____

WATCHARAKARN SRIMAHAPROM : A STUDY OF OPTICAL RESOLUTION OF METHIONINE HYDROCHLORIDE BY PREFERENTIAL CRYSTALLIZATION. THESIS ADVISOR : PROF. ADRIAN E. FLOOD, Ph.D., 199 PP.

OPTICAL RESOLUTION/PREFERENTIAL CRYSTALLIZATION/AMINO ACID/METHIONINE HYDROCHLORIDE

Proteins are important for the treatment and repair of organs in the body. They are organic compounds that are the components of the cells and tissues of humans. Proteins consist of many amino acids bonded together with peptide bonds. Thus proteins and/or amino acids are essential for human and animal nutrition. Methionine (met) is an amino acid which is essential in the human diet. Methionine is not synthesized in humans, hence we must consume sufficient amounts of methionine or methionine-containing proteins.

For this reason, methionine has been chemically synthesized for commercial benefit and for other industrial users. Methionine from chemical synthesis is DL-methionine, however only the L-form is essential and beneficial for the humans; the D-form is not essential for the body. Therefore a crystallization process called preferential crystallization can be used to separate the D- and L-forms of methionine. The separation must be done on the HCl salt of methionine since this crystallizes as a conglomerate, while methionine crystallizes as a racemic crystal.

The experimental results reveal the solubility of methionine hydrochloride (met·HCl) in water is strongly dependent on the temperature and solubility increased with increasing temperature. The ternary solubility diagram of L-met·HCl + D-

met·HCl + water is in accordance with the typical ternary phase diagram for a conglomerate type compound. The growth rate distributions together with the nucleation thresholds data can be used to optimize operation of the preferential crystallization. The primary nucleation threshold (PNT) and secondary nucleation threshold (SNT) were determined by induction time measurement with relative supersaturations of DL-met·HCl solution, to ensure that growth of crystal was measured under convenient non-nucleating conditions. The induction time increasing as the relative supersaturation of the PNT and SNT decreases. The crystal growth rate of L-met·HCl depends strongly on the relative supersaturation from supersaturated solutions of pure L-met·HCl but not from racemic solutions (DL-met·HCl). Also there is a wide crystal growth rate distribution from both types of supersaturated solutions.

The preferential crystallization of DL-met·HCl aqueous solution at 10°C was studied via a seeded batch crystallization process, that will be used to separate the desired enantiomer (L-met·HCl) from the racemic solution (DL-met·HCl). The percent purity of L-met·HCl crystal was evaluated by means the optical activity measurement. The purity of L-met·HCl crystal decreased rapidly to the equilibrium value over time, due to the influence of the nucleation threshold of the counter-enantiomer (D-met·HCl) being small. Using preferential crystallization to separate the enantiomers of met·HCl from an aqueous solution to obtain a high purity product appears to be very difficult; this study cannot separate the desired enantiomer to close to 100% purity.

School of Chemical Engineering Student's Signature _____

Academic Year 2011 Advisor's Signature _____