

LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

KONTINUÁLNÍ ENZYMOVÁ GLYCEROLÝZA SOJOVÉHO OLEJE

JIRÍ HETFLEJŠ^a, STANISLAV ŠABATA^a, JAN SÝKORA^a, GABRIELA KUNCOVÁ^a a TOMÁŠ VLČEK^b

^a Ústav chemických procesů AV ČR, v.v.i., Rozvojová 135, 165 02 Praha 6 - Suchbátka, ^b SYNPO, akciová společnost, S.K. Neumanna 1316, 532 07 Pardubice
kuncova@icpf.cas.cz

Došlo 31.3.11, přijato 21.4.11.

Klíčová slova: enzymová glycerolýza, enzymová transesterifikace, sojový olej, trimethylolpropan, kontinuální glycerolýza

Úvod

Výzkum glycerolýzy rostlinných olejů katalyzované volnými i zakotvenými lipasami prokázal její výhody zejména pro přípravu tepelně nestabilních monoacylglycerolů (MAG) využívaných jako emulgátory v potravinářském průmyslu a kosmetice. Ve srovnání s dosud průmyslově převážně provozovaným chemickým procesem, vyžadujícím vysoké teploty (až 250 °C) a alkalické hydroxidy jako katalyzátory, glycerolýza katalyzovaná enzymy probíhá za mírných podmínek (teploty do 60 °C), což má příznivý vliv na požadovanou vysokou čistotu

produktu. K přípravě MAG a diacylglycerolů (DAG) byla použita řada rostlinných olejů, především slunečnicový olej^{1–6}, v menší míře olivový⁷, řepkový^{8,9}, sojový^{10,11} a tuňákový olej^{12,13}, palmolein¹⁴ či triolein¹⁵. V případě sojového oleje však studiu faktorů ovlivňujících průběh jeho glycerolýzy byla věnována jen omezená pozornost. Dosud byla provedena jen bezrozpouštědlová v míchaném vsádkovém reaktoru a poskytla za optimálních podmínek a v přítomnosti autory vybraného nejúčinnějšího katalyzátoru (10 hm.% lipasy PS na olej (S)) při 40–55 °C produkt obsahující 45–48 % DAG a jen 28–30 % MAG.

Využití sojového oleje jako dominantní suroviny pro výrobu alkydů jeho chemickou glycerolýzou v českém lakařském průmyslu, spolu s uvedeným nedostatkem potřebných poznatků byla podnětem k níže popsanému studiu. Jeho cílem bylo porovnat účinnost vsádkového a kontinuálního procesu za použití komerčního katalyzátoru Novozym 435. Jeho vhodnost byla ověřena předchozím skreeningem provedeným v této laboratoři.

V této souvislosti byla sledována i možnost transesterifikace sojového oleje trimethylolpropanem jako zástupcem dalších vícefunkčních alkoholů používaných při výrobě alkydových pryskyřic.

Studované reakce jsou shrnuty ve Schématu 1.

Experimentální část

Chemikálie

Sojový olej (Aldrich, C16:0 10,2%, C18:0 3,5%, C18:1 21,5%, C18:2 56,2%, C18:3 8,8%; 0,065 mg H₂O/g), glycerol (Penta, p.a., >99%; 0,39 mg H₂O/g), *t*-butanol

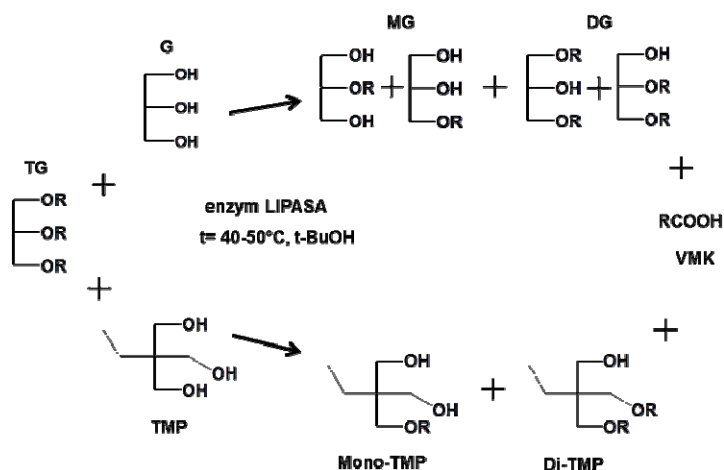


Schéma 1. Transesterifikace triglyceridů glycerinem a trimethylolpropanem

(Roanal, 99,5%; 3,1 mg H₂O/g), hexan (Aldrich, for HPLC, >98,5%), trimethylolpropan (Aldrich, GC, >98,5%; 0,0078 mg H₂O/g). Novozym 435 (Aldrich, imobilizovaná lipasa z *Candida antarctica* B, objemová hustota 430 kg m⁻³, průměr porézních sférických částic 300–900 μm, specifický povrch 80–150 m² g⁻¹, průměr pórů 140–170·10⁻¹⁰ m (cit.¹⁶).

Analýza produktů

Analýza acylglycerolů HPLC

K analýze produktů glycerolýzy sojového oleje byla použita metoda HPLC navržená Türkanem a Kalayem¹⁷. Měření byla prováděna přístrojem firmy Watrex, skládajícím se ze tří čerpadel SDS 150, UV detektoru a Evaporative Light Scattering detektoru PL-ELS 2100. Látky byly separovány kolonou Luna C18, 5 μm, 250×4,6 mm, s použitím předkolony C18, 4×3,0 mm.

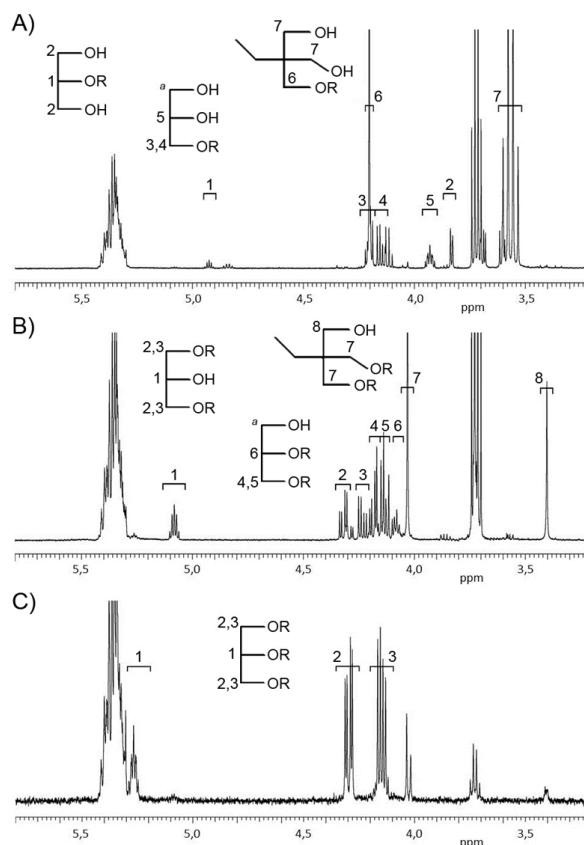
Byl zvolen následující postup: přibližně 100 mg vzorku bylo naváženo do 4ml mikrozkušavky a přidán 1 ml acetonu, nástřik byl 5–10 μmol. Mobilní fází byl acetonitril (AcN) a aceton (AC), její průtok byl 1 ml min⁻¹: 1–8 min izokratická eluce AcN:Ac (70:30), 8–13 min lineární gradientová eluce z AcN:Ac (70:30) na AcN:Ac (10:90) a 13 až 30 min izokratická eluce AcN:Ac (10:90). Před dalším nástřikem byla kolona 10 min ekvilibrována AcN:Ac (70:30). ELS detektor byl nastaven takto: teplota evaporace 60 °C, teplota nebulizace 90 °C, průtok dusíku 1.6 SLM. K vyhodnocení chromatogramů byl použit software Chrom Quest 4.2.

Tímto postupem byly separovány tři skupiny látek, jejichž retenční čas rostl s jejich klesající polaritou, tj. v pořadí volné mastné kyseliny (VMK) spolu s MAG (3 až 7 min), DAG (13–18 min) a triacylglyceroly (TAG) (20 až 25 min). Ke kalibraci byly použity následující standardy: kyselina linolová (Fluka), monolinolein (racemát), 1,3-dilinolein a trilinolein (vše Larodan, Malmo). Vzhledem k relativně malé ploše piku VMK ve srovnání s píky MAG, DAG a TAG byla koncentrace VMK stanovena acidobazickou titrací vzorku rozpuštěného ve směsi aceton-ethanol (1:1) 0,05 M-NaOH na fenolftalein.

Stejný postup byl použit i při analýze produktů transesterifikace sojového oleje trimethylolpropanem.

NMR analýza transesterifikačních produktů

Vzorek transesterifikační směsi po odstranění *t*-butanolu byl rozpuštěn v CHCl₃ a jeho 200 μmol bylo podrobena preparativní GPC (PLgel, průtok 5 ml min⁻¹ CHCl₃). Separace složek byla monitorována při 210 nm. Byly získány tři frakce, které po odpaření CHCl₃ byly rozpuštěny v CDCl₃. ¹H NMR spektra vykazovala signály triacylglycerolů v první frakci, diacylglycerolů (případně diacyl-TMP) ve druhé a monoacylglycerolů (případně monoacyl-TMP) spolu s VMK ve třetí frakci. Signály protonů glycerolu a TMP byly integrovány a určen relativní obsah obou složek v jednotlivých frakcích. Typická



Obr. 1. ¹H-NMR spektra produktů transesterifikace sojového oleje TMP. A monoacylglyceroly a monoacyl-TMP, B diacylglyceroly a diacyl-TMP, C triacylglyceroly. ^a Nebyl identifikován

¹H NMR spektra jednotlivých frakcí transesterifikace sojového oleje TMP jsou na obr. 1.

Glycerolýza ve vsádkovém reaktoru

Vsádková glycerolýza byla provedena ve 100ml reaktoru. Reakční směs (20–36 ml) byla míchána magneticky (750 ot/min, teflonové magnetické míchadlo délky 1,5 cm a Ø 1 cm). Teplota byla regulována a kontrolována Pt teploměrem přímo v baňce pomocí IKA TC3.

Složení reakční směsi a reakční podmínky jsou uvedeny v tabulce I. Pro HPLC analýzu byly odebrané vzorky (cca 0,1 g) zředěny 1 ml acetonu p.a. V případech, kdy vzorky byly určeny k analýze stability produktů při jejich skladování, byly po odebrání zahřáty na 100 °C, aby se zamezilo případnému vlivu částic Novozym 435 uvolněných otěrem při míchání reakční směsi.

Produkt byl zbaven *t*-butanolu nejprve oddestilováním při 100 °C a jeho zbytky pak za sníženého tlaku (100 °C / 4 mm Hg). Porovnání s produktem před odstraněním rozpouštědla bylo potvrzeno, že tento postup nezpůsobuje výrazné změny v jeho složení (srovnej údaje v obr. 4).

Tabulka I

Glycerolýza sojového oleje v míchaném vsádkovém reaktoru - vliv reakčních podmínek

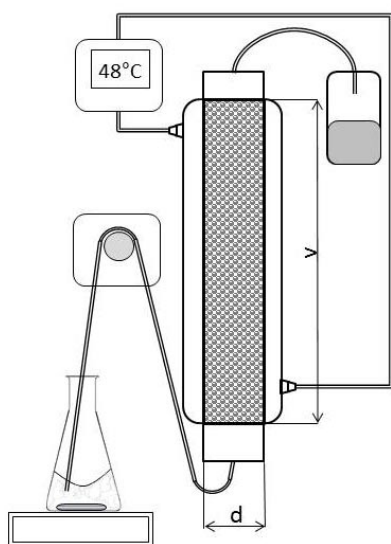
Pokus č.	Novozym 435 [%]	Mol. poměr		t [°C]	Čas [h]	MAG [%]	DAG [%]	TAG [%]	VMK [%]
		G/S	t-B/S						
1	2,0	2	40	45	5	82	13	0	5
2	3,5	2	20	45	5	5	39	50	6
3	4,5	2	4	52	1	76	8	8	8
4	4,5	2	4	52	2	82	8	3	7
5	4,5	2	4	52	4	82	10	1	7
6	9,0	2	10	45	1	68	23	1	8
7	9,0	2	10	45	2	73	19	1	7
8	9,0	3	20	52	2	87	7	0	6
9	9,0	3	20	52	4	89	4	0	7

Kontinuální glycerolýza

Schéma použitého reaktoru je na obr. 2. Magneticky míchaná reakční směs o složení uvedeném v tab. II byla ze zásobníku dávkována peristaltickou pumpou do reaktoru opatřeného vyhřívaným pláštěm.

Jímaný produkt byl zbaven rozpouštědla destilací popsanou výše a podroben HPLC a NMR analýze. Souhrn provedených kontinuálních glycerolýz je uveden v tab. II a podmínek použitých při transesterifikaci sojového oleje trimethylolpropanem (TMP) v tab. III.

K porovnání výsledků získaných za různých navážek katalyzátoru a rychlostí dávkování byl jako jednotný parametr využit tzv. reakční čas τ (min) = $W/(v_o \cdot \rho)$, kde W je suchá váha Novozym 435 (g), ρ je jeho hustota (g cm^{-3}) a v_o je dávkování reakční směsi ($\text{cm}^3 \text{min}^{-1}$) (cit.⁴).



Obr. 2. Kontinuální reaktor s pevným ložem katalyzátoru. Průměr kolony $d = 3$ cm, výška lože $v = 15$, katalyzátor Novozym 435 (15 g)

Tabulka II

Vliv reakční doby na relativní složení produktu kontinuální glycerolýzy sojového oleje v *t*-butanolu při 48 °C (mol. poměr glycerolu ku oleji, G/S = 2 a *t*-butanolu k oleji, t-B/S = 4)

τ^a [min ⁻¹]	MAG [%]	DAG [%]	TAG [%]
10	33,7	26,7	39,6
25	34,5	40,0	25,5
40	38,4	41,0	20,6
90	40,0	42,3	17,7
120 ^b	30,3	46,3	23,4
120 ^c	85,3	14,7	0
280 ^b	28,1	46,2	23,7

^a $\tau = W/(v_o \cdot \rho)$; W – Novozym 435 v g, v_o průtok v ml min^{-1} a ρ je objemová hustota Novozym 435 = 0,45 g ml^{-1} . ^b G/S = 2 a t-B/S = 2. ^c G/S = 4 a t-B/S = 20

Výsledky a diskuse**Glycerolýza ve vsádkovém reaktoru**

Glycerolýza sojového oleje ve vsádkovém reaktoru byla využita k posouzení vlivu jednotlivých reakčních parametrů na průběh procesu. Předběžnými pokusy bylo zjištěno, že bez použití rozpouštědla je reakce velmi pomalá a poskytuje jen nízké výtěžky produktů. To je v souladu s bezrozpouštědlovou glycerolýzou tohoto substrátu katalyzovanou řadou komerčních zakotvených lipas¹⁰, kdy i v případě relativně vysoké navážky Novozym 435 (10 hm.% na olej) bylo při mol. poměru glycerol/olej (G/S) 8:1 dosaženo¹¹ při 50 °C rovnovážného složení produktu až po 24 h.

Tabulka III

Složení produktu kontinuální transesterifikace sojového oleje trimethylolpropanem (reakční podmínky v obr. 6)

Mono-estery ^a [%]			Di-estery ^b [%]			TAG [%]	VMK [%]
mono-TMP	1-MAG	2-MAG	di-TPM	1,2-DAG	1,3-DAG		
71	24	5	23	27	50	10	4

Celkový výtěžek ^a 44%, ^b 42%

Jak je zřejmé z výsledků uvedených v tab. I, výrazné urychlení studované glycerolýzy lze docílit použitím *t*-butanolu jako rozpouštědla. Jeho výběr vycházel z nedávno publikovaného vlivu fyzikálních vlastností 13 rozpouštědel na obsah monoglyceridů v produktech vsádkové glycerolýzy slunečnicového oleje³. Ve srovnání s výše zmíněnou bezrozpouštědlovou glycerolýzou způsobuje toto rozpouštědlo i výrazný posun ve složení produktů glycerolýzy ve prospěch monoglyceridů (srovnej např. pokus 4 v tab. I 82 % MAG, 10 % DAG, 1 % TAG a 7 % VMK s 23 % MAG, 50 % DAG, 20 % TAG a 8 % VMK pro G/S = 8, 10 % Novozym 435, 50 °C a 24 h v cit.¹¹).

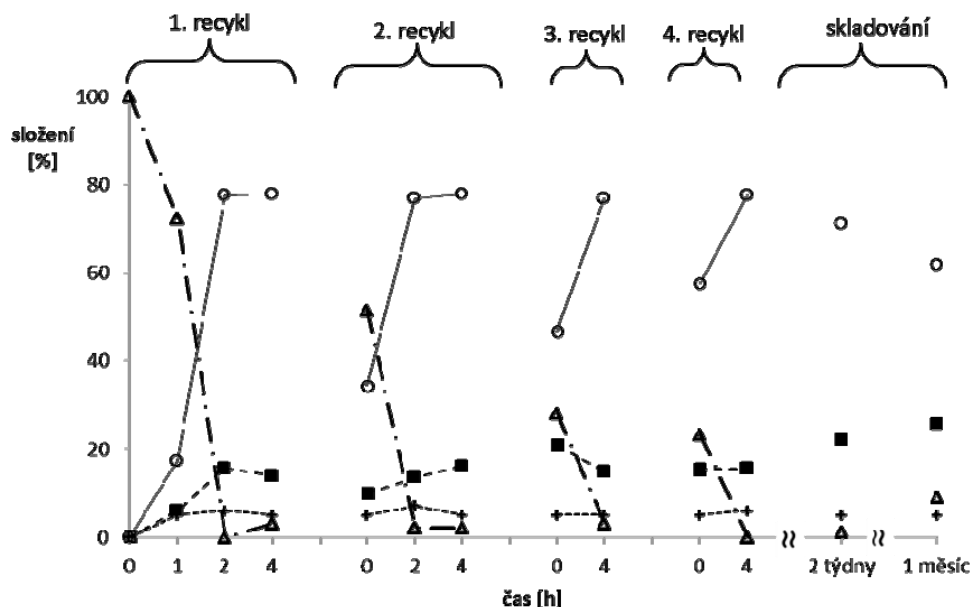
Jak ukazuje porovnání pokusů 3–5, prakticky úplné konverze TAG je dosaženo při dané navážce imobilizovaného enzymu a relativně nízkém molárním přebytku rozpouštědla (*t*-B/S = 4) již za 2 h. Vysoký obsah MG podporuje podle očekávání i zvýšení molárního poměru glycerolu k oleji (pokus 7 a 8). Snížení reakční teploty při současném zvýšení poměru *t*-B ku S (pokusy 6 a 7) vede naopak ke zvýšení obsahu DAG, aniž by byla snížena konverze TAG.

Téměř konstantní obsah VMK (6–8 %) ukazuje, že změna výše zmíněných reakčních parametrů nevede k výrazným změnám v poměru mezi hydrolytickou a transesterifikační aktivitou použité imobilizované lipasy.

Významným pro případnou aplikaci vsádkové glycerolýzy je snížení nákladů na katalyzátor jeho opakovaným použitím. Tato možnost však v případě sojového oleje nebyla dosud sledována. Proto byl proveden pokus, jehož výsledky jsou znázorněny v obr. 3.

Bylo zjištěno, že recyklace katalyzátoru je omezena jeho relativně nízkou stabilitou vůči mechanickému ořezu, k němuž dochází při nezbytném intenzivním míchání reakční směsi. To mělo za následek postupnou desintegraci polymerního nosiče enzymu (jde o lipasu z *C. antarctica* na makroporezním polyakrylátu), která prakticky znemožnila úplné oddělení výsledné reakční směsi od katalyzátoru sedimentací. Proto byla v další následné recyklaci vždy použita vrstva enzymu obsahující také jistý podíl MAG a DAG.

Na druhé straně se nedokonalé odstranění katalyzátoru z produktu glycerolýzy projevilo změnou jeho složení



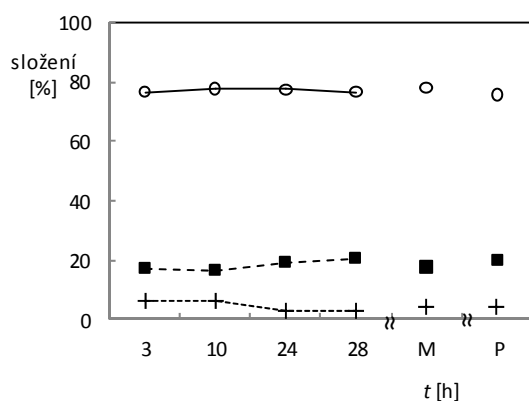
Obr. 3. Změny ve složení produktu vsádkové glycerolýzy sojového oleje v *t*-butanolu při opětovném použití Novozym 435. G/S = 3, *t*-B/S = 10, 52 °C; ○MAG, ■ DAG, ΔTAG, + VMK

při dlouhodobém skladování (viz úbytek MAG za současného zvýšení DAG v obr. 3).

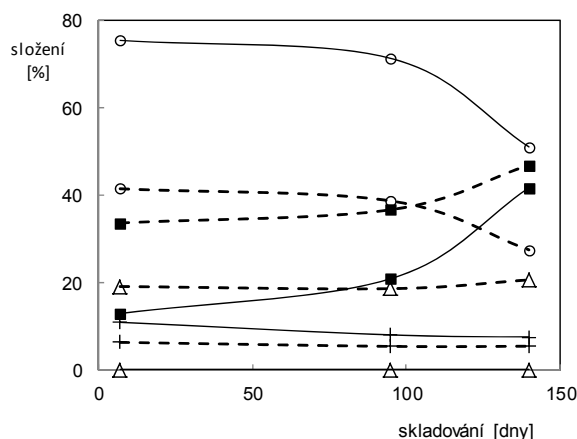
Kontinuální glycerolýza

Poznatky získané posouzením vlivu reakčních parametrů na průběh glycerolýzy ve vsádkovém reaktoru byly využity při výběru podmínek pro kontinuální proces. Z několika ověřených řešení /kontinuální míchaný reaktor (např.^{18–20}), reaktor s fluidním ložem, membránový reaktor (např.^{21,22}) či enzymem plněný kolonový reaktor (např.^{6,13}) byl vybrán reaktor s pevným ložem, jehož schéma a technické parametry jsou uvedeny na obr. 2. Poměrně široký rozsah dávkování reakční směsi ($0,3\text{--}5\text{ ml min}^{-1}$) umožnil nalézt optimální podmínky pro získání produktu o požadovaném složení. Jak bylo uvedeno již v experimentální části, k posouzení průběhu glycerolýzy za rozdílných podmínek (výšky náplně kolony, rychlosti dávkování, reakční teploty) byla jako jednotný parametr použita tzv. reakční doba vyjádřená výrazem uvedeným v pozn.^a v tab. II. Z ní je zřejmé, že za zvolených reakčních podmínek se složení produktů blízké rovnovážnému dosahuje již za 25–30 min. Na rozdíl od vysokého podílu MAG v případě míchaného reaktoru a prakticky úplné konverze TAG (tab. I, pokusy 3–5) se při kontinuální glycerolýze a shodném molárním poměru *t*-butanolu k oleji (*t*-B/S = 4) blíží distribuce produktů hodnotám nalezeným při bezrozpouštědlové glycerolýze tohoto oleje (srovnej 28–30 % MAG, 45–48 % DAG a 8 % VMK v cit.¹¹). Vysoký výtěžek MAG (80–85 %) lze docílit několikanásobným zvýšením objemu rozpouštědla (srovnej údaje v tab. II pro $\tau = 120\text{ min}$, označené 120^b a 120^c).

Prakticky konstantní složení produktů nalezené při dlouhodobé glycerolýze (obr. 4) svědčí o stabilní aktivitě katalyzátoru (pokus byl po uvedené době přerušen kvůli vysoké spotřebě materiálu, ne z důvodů poklesu aktivity enzymu).



Obr. 4. Průběh kontinuální glycerolýzy sojového oleje. Novozym 435, mol. poměr G/S = 4, *t*-B/S = 12, doba zdržení v reaktoru 35 min, 48 °C, ○MAG, ■ DAG, + VMK, M = složení před odpařením *t*-B, P = složení po odpaření



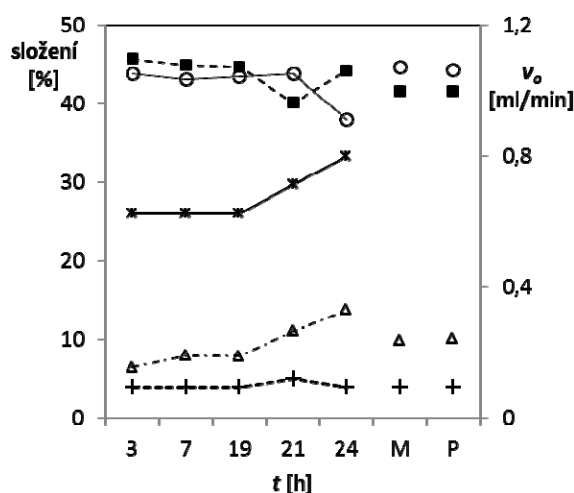
Obr. 5. Vliv skladování na složení produktu kontinuální glycerolýzy sojového oleje. ○MAG, ■ DAG, △ TAG, + VMK. Výchozí složení reaktantů: plná čára G/S = 4, *t*-B/S = 20, čárkovaná G/S = 2, *t*-B/S = 4, 48 °C

Na rozdíl od produktu glycerolýzy v míchaném reaktoru, u něhož neodstraněné zbytky katalyzátoru způsobovaly relativně rychlé změny v jeho složení při delším skladování při normální teplotě, v tomto případě byly tyto změny výrazně nižší v období prvních 3 měsíců a jejich trend nezávisel na výchozím složení skladovaného produktu (obr. 5).

Kontinuální transesterifikace sojového oleje trimethylolpropanem

Pozitivní výsledky získané při glycerolýze byly podnětem k ověření, zda kontinuální proces lze uplatnit i při transesterifikaci sojového oleje trimethylolpropanem. Stojí za zmínku, že příprava odpovídajících TMP esterů za použití enzymů byla popsána jen v případě bezrozpouštědlové transesterifikace methylesterů řepkového oleje²³.

Složení produktů transesterifikace je zřejmé z obr. 6. Ten zahrnuje i změny v relativním zastoupení mono- a diesterů vyvolané změnou rychlosti dávkování reakční směsi. Z údajů vyplývá, že i v tomto případě se dosahuje vysokých konverzí TAG (až 90 %), za tvorby přibližně stejného celkového množství mono- a diacylderivatů (ca 42 vs. 45 %) a nízkého obsahu VMK (4 %). Z ¹H NMR analýzy (obr. 1) struktury acylderivatů v jednotlivých frakcích uvedené v tab. III vyplývá, že hlavními ve frakci monoacylovaných produktů jsou mono-TMP (71 % vs. 29 % MAG), zatímco u diacylovaných sloučenin je zastoupení DAG a di-TMP opačné (77 % DAG vs. 23 % di-TMP). Příznivý je nízký obsah VMK (ca 4 %).



Obr. 6. Kontinuální transesterifikace sojového oleje (S) trimethylolpropanem (TMP) v t-butanolu katalyzovaná Novozym 435. Mol. poměr TMP/S = 4, t-B/S = 12, 48 °C. ○MAG, ■ DAG, △ TAG, + VMK, * v₀. M = složení před odpařením t-B, P = složení po odpaření

Závěr

Výsledky této studie prokazují, že za optimálních podmínek poskytuje vsádková i kontinuální glycerolýza sojového oleje katalyzovaná imobilizovaným enzymem *Candida antarctica* (Novozym 435) za použití *tert*-butanolu jako rozpouštědla produkt s vysokým obsahem monoglyceridů (až 85 %). Nevýhodou vsádkového provedení je postupná desintegrace katalyzátoru mechanickým otěrem, jež výrazně snižuje možnost jeho recyklace. V kontinuálním procesu prokázal Novozym 435 dlouhodobě stálou katalytickou aktivitu, bez ohledu na složení výchozí reakční směsi a podmínky reakce.

Změny výchozích reakčních podmínek umožňují v relativně širokém rozmezí ovlivnit konečné složení produktu glycerolýzy. Ten ve všech případech vykazoval vyhovující stabilitu při skladování při okolní teplotě po dobu několika měsíců.

Transesterifikace sojového oleje trimethylolpropanem poskytla při vysoké konverzi TAG (90 %) směs monoacyl- a diacylderivátů, s převažujícím zastoupením TMP derivátu ve frakci monoacylovaných produktů (70,6 % mono-TMP vs. 29,4 % 1-MAG + 2-MAG).

Tato práce byla provedena za finanční podpory MPO ČR v rámci projektu ENZALKYD (ID:2A-3TP1/108).

LITERATURA

1. Yang T., Rebsdorf M., Engelrud U., Xu X.: J. Food Lip. 12, 299 (2005).
2. Yang T., Rebsdorf M., Engelrud U., Xu X.: J. Agric. Food Chem. 53, 1475 (2005).
3. Damstrup M. L., Jensen T., Sparsø F. V., Kiil S. Z., Jensen A. D., Xu X.: J. Am. Oil Chem. Soc. 82, 559 (2005).
4. Damstrup M. L., Abildskov J., Kiil S. Z., Jensen A. D., Sparsø F. V., Xu X.: J. Agric. Food Chem. 54, 7113 (2006).
5. Damstrup M. L., Jensen T., Sparsø F. V., Kiil S. Z., Jensen A. D., Xu X.: J. Am. Oil Chem. Soc. 83, 27 (2006).
6. Damstrup M. L., Kiil S. Z., Jensen A. D., Sparsø F. V., Xu X.: J. Agric. Food Chem. 55, 7786 (2007).
7. Ferreira-Dias S., Correia A. C., Baptista F. O., da Fonseca M. M. R.: J. Mol. Catal., B: Enzymatic 11, 699 (2001).
8. Elfman-Börjesson I., Härröd M.: J. Am. Oil Chem. Soc. 76, 701 (1999).
9. Barrough N., Plombo G., Goli T., Baréa B., Pina M., Lago R., Villeneuve P.: J. Food Lipids 15, 13 (2008).
10. Nouredini H., Harmeier S. E.: J. Am. Oil Chem. Soc. 75, 1359 (1998).
11. Fregolente P. B. L., Fregolente L. V., Pinto G. M. F., Batistella B. C., Wolf-Maciél M. R., Filho R. M.: Appl. Biochem. Biotechnol. 146, 165 (2008).
12. Pawongrat R., Xu X., H-Kittikun A.: Food Chem. 104, 2512 (2007).
13. Pawongrat R., Xu X., H-Kittikun A.: J. Sci. Food Agric. 88, 256 (2008).
14. H-Kittikun A., Kaewthong W.: Enzyme Mikrob. Technol. 35, 218 (2004).
15. Rendón X., López-Munguia P., Castillo E.: J. Am. Oil Chem. Soc. 78, 1061 (2007).
16. Novozymes A/S: Novozym 435, Product Sheet, Oil and Fats/2001-06950-03.pdf. Novozymes A/S, Bagsvaerd, Denmark 2001, str. 1.
17. Türkan A., Kalay S.: J. Chromatography, A 1127, 34 (2006).
18. Berger M., Schneider M. P.: J. Am. Oil Chem. Soc. 69, 961 (1992).
19. Sirisaneeyakul S., Prasertsan P. W., H-Kittikun A.: Proc. Biochem. 40, 1525 (2005).
20. Chan P. S., Rhee J. S., Kim J. J.: Biotechnol. Bioeng. 38, 115 (1991).
21. Trude S., Shukun M. B., Sai M. B., Bornscheuer U. T.: Fett-Lipid 99, 246 (1997).
22. Garcia H. C., Yang K. L., Parkin K. L.: Food Res. Int. 28, 605 (1996).
23. Linko Y. Y., Tervankas T., Lämsä M., Linko P.: Biotechnol. Tech. 11, 889 (1997).

**J. Hetflejš^a, S. Šabata^a, J. Sýkora^a, G. Kuncová^a,
and T. Vlček^b** (^a*Institute of Chemical Process Fundamentals,
Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague,*
^b*SYNPO Co., Pardubice*): **Continuous Enzymatic Glycerolysis of Soybean Oil**

Enzymatic glycerolysis of soybean oil catalyzed with the commercial lipase catalyst Novozym 435 has been carried out at 45–52 °C in a stirred tank and fixed-bed reactor, using *tert*-butyl alcohol as a solvent. The effects of reaction conditions on the glycerolysis were evaluated and optimum parameters found for the monoacylglycerol (MAG) production (yield > 85 %). Unlike the batch glycerolysis, in the packed bed reactor, the catalyst retained its activity in long-term operation, regardless of the reaction conditions used. The continuous transesterification of the oil with trimethylolpropane (TMP) afforded a mixture of monoacyl- and diacylglycerols in 90% yield. The high yield of monoacyl-TMP (71 %) along with 24 % of 1-monoacyl- and 5 % of 2-monoacylglycerol gives evidence of the efficiency of the process.