LIBRARY AND INFORMATION CENTER
MAHIDOL UNIVERSITY
28 JAN 1991

STUDIES ON FUNGAL LIPASES FOR INTERESTERIFICATION OF PALM OIL

NAPAWAN PROMKHATKAEW

อภินันทนาการ
จาก

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF

THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE

(BIOCHEMISTRY)

IN

FACULTY OF GRADUATE STUDIES

MAHIDOL UNIVERSITY

1990

Copyright by Mahidol University

16371

ชื่อวิทยานิพนธ์ : การศึกษาเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อราเพื่อใช้เร่งอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นในน้ำมันปาล์ม

ผู้วิจัย : นภาวรรณ พรหมขัติแก้ว

ปริญญา : วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีวเคมี)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ :

ประหยัด โกมารทัต, Ph.D.

ประพนธ์ วิไลรัตน์, Ph.D.

อมเรศ ภูมิรัตน, Ph.D.

วันที่สำเร็จการศึกษา 21 พฤษภาคม พ.ศ. 2533

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อหาแหล่งของเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อราสายพันธุ์ต่าง ๆ คือ *Aspergillus niger* 3240, *A. niger* MUCA, *A. niger* 3092, *Mucor* TISTR และ *Rhizopus delemar* ในจำนวน 5 สายพันธุ์นี้ *R. delemar* ซึ่งเลี้ยงในอาหารเหลว และ *A. niger* 3240 ซึ่งเลี้ยงกับรำข้าวสาลี สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสได้ในปริมาณมาก (800 หน่วย/มล และ 1400 หน่วย/กรัมของรำข้าว ตามลำดับ)

เอนไซม์ไลเปสที่แยกมาจากอาหารเพาะเลี้ยงและยังไม่ได้ทำให้บริสุทธิ์ มีคุณสมบัติของเอนไซม์ต่อการเกิดไฮโดรไลซิสของน้ำมันปาล์ม ดังนี้ optimal pH ที่ 5, optimal temperature ที่ 30°C และทนต่ออุณหภูมิได้สูงถึง 60°C เมื่อนำเอนไซม์มาทำให้บริสุทธิ์โดยตกตะกอนด้วย 70% แอมโมเนียมซัลเฟต ตามด้วย DEAE-cellulose และ Sephadex G-100 column chromatography ตามลำดับ เอนไซม์ที่ได้มีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 16 เท่า และ yield 43% ได้นำเอนไซม์ที่เตรียมได้มาตรึงบน celite เพื่อใช้เร่งปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นของน้ำมันปาล์มกับ [1-^{14}C]-stearic acid ในตัวทำละลายอินทรีย์ เอน

Copyright by Mahidol University

ไซม์ที่ถูกตรึงบนตัวค้ำจุนนี้ มี pH stability ในช่วง pH 3-9 และเร่งอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่น ที่ optimal temperature ที่ 45°C, optimal pH 3-5 และสามารถเร่งการแลกเปลี่ยนกรดไขมันในไตรกลีเซอไรด์ที่มีกรดไขมันขนาดยาวได้ดีกว่าชนิดที่มีกรดไขมันขนาดสั้นกว่า การแสดงผลการเกิดอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่น ทำโดยการวัด % incorporation ของ [1-^{14}C]-stearic acid เข้าไปในไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันปาล์ม

นอกจากนี้ได้นำเอนไซม์ไลเปสที่เตรียมได้ในสภาพตรึงบนซีไล้ท มาใช้เร่งปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่นของน้ำมันปาล์มกับ stearic, linoleic และ arachidonic acid โดยใช้ gas liquid chromatography วิเคราะห์ผลิตผลของปฏิกิริยา พบว่าไลเปสสามารถเร่งปฏิกิริยาการแทนที่ palmitic และ oleic acid ของไตรกลีเซอไรด์ในน้ำมันปาล์ม ด้วยกรดไขมันที่เติมเข้าไปได้ งานวิจัยขั้นต่อไปคือการปรับปรุงประสิทธิภาพของเอนไซม์และสภาวะที่เหมาะสมในการใช้เร่งปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชั่น

Copyright by Mahidol University

Thesis Title Studies on fungal lipases for interesterification of palm oil

Name Napawan Promkhatkaew

Degree Master of Science (Biochemistry)

Thesis Supervisory Committee

Prayad Komaratat, Ph.D.

Prapon Wilairat, Ph.D.

Amaret Bhumiratana, Ph.D.

Date of Graduation 21 May B.E. 2533 (1990)

ABSTRACT

Attempts were made to find out efficient lipase producers from five strains of fungi, namely *Aspergillus niger* 3240, *A. niger* MUCA, *A. niger* 3092, *Mucor* TISTR and *Rhizopus delemar*. Of these, *R. delemar* grown in submerged culture produced lipase of high activity (~800 unit/ml) and *A. niger* 3240 grown on wheat bran-based semi-solid culture also produced subtantial amount of lipase (1400 unit/g medium).

Crude lipase in the culture extract of *A. niger* 3240 had optimal pH at 5, optimal temperature at 30°C and heat stability up to 60°C. The enzyme was purified by ammonium sulfate precipitation followed by DEAE-cellulose and Sephadex G-100 column chromatography. The yield obtained was 43% with 16 fold purification. The partially purified lipase was immobilized on celite for being used in interesterification reaction of palm oil with [1-^{14}C]-stearic acid. The celite-adsorbed lipase had pH stability in the range of 3-9 and catalyzed incorporation of [1-^{14}C]-stearic acid into triglyceride of palm oil at optimum temperature 45°C, optimum pH 3-5 and was favorable to catalyze interesterification of triglycerides having long-chain fatty acid in water-saturated n-hexane.

Copyright by Mahidol University

The immobilized lipase was shown to be able to catalyze interesterification of palm oil with stearic, linoleic and arachidonic acids. The interesterified product analyzed by gas liquid chromatography showed the replacement of palmityl and oleoyl moieties in triglycerides of palm oil with the added fatty acids. Further work is required to improve efficiency of lipase-catalyzed interesterification of palm oil.

Copyright by Mahidol University