



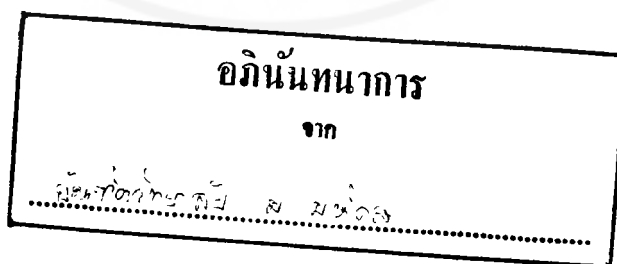
11 MAY 1992

APPLICATION OF FUNGAL LIPASE TO MODIFY PALM OIL
BY INTERESTERIFICATION

WIMON PHEAGVATANAKUN

๓

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FUFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE
(BIOCHEMISTRY)



IN
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY

1991

18854

ชื่อวิทยานิพนธ์ : การใช้ไลเปสในการตัดแปลงน้ำมันปาล์ม
โดยวิธีอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชัน
ผู้วิจัย : วิมล พงษ์วัฒนากุล
ปริญญา : วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีวเคมี)
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ :

ประหยัด โกมารทัต, Ph. D.

ประพนธ์ วิไลรัตน์, Ph. D.

วันที่สำเร็จการศึกษา 30 กันยายน พ.ศ 2534

บทคัดย่อ

เชื้อรา *Rhizopus delemar* ที่เลี้ยงในอาหารเหลวประกอบด้วย 6% เปปโตน 3% กลูโคส และเกลือแร่ต่างๆ (0.1% KH_2PO_4 , 0.1% NaNO_3 และ 0.05% MgSO_4) เป็นเวลา 5 วัน ที่ 30°C จะปล่อยไลเปสออกมานอกเซลล์ในปริมาณ 1500 หน่วย/มล. ได้ทำการแยกไลเปสจากอาหารเหลว และ ทำให้บริสุทธิ์พอประมาณด้วยวิธี ultrafiltration และ CM-cellulose column chromatography ไลเปสที่เตรียมได้มี specific activity 811 หน่วย/มล โปรตีน โดยอกทำให้บริสุทธิ์ขึ้น 16 เท่า และได้เอนไซม์กลับคืนมา 50% เอนไซม์ที่ได้นี้ทำงานได้ดีที่ pH 6 อุณหภูมิ 45°C ทนความร้อนได้ถึง 45°C และมีน้ำหนักโมเลกุล 43,000 ดาลตัน เอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *R. delemar* ที่เตรียมได้มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับเอนไซม์ไลเปสที่ผลิต จากบริษัทญี่ปุ่น Amano

ไลเปสจาก *R. delemar* ได้ถูกนำมาใช้ในสภาพที่ตรึงบนตัวตรึงชนิดต่างๆ ได้แก่ซีไลต์, ผงกระดูกป่น, ENT, ENTP, PU-3 และ PU-6. ไลเปสที่ตรึงบนผงกระดูกป่นที่มีเอนไซม์ 50% โดยน้ำหนัก จะสามารถเร่งปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันระหว่างน้ำมันปาล์มกับกรดสเตียริกในเฮกเซนได้ดีที่สุด สภาวะที่เหมาะสมในการเร่งอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชัน คือ ที่อุณหภูมิ 35°C , pH 5, ปริมาณน้ำ 6%, อัตราส่วนของสเตียริกต่อน้ำมันปาล์มประมาณ 2:1 (น/น)

และปริมาณเอโนไซม์ 40% ของน้ำหนักลีปัสเตอริก ค่า K_m ของไลเปสที่ถูกตรึงบนผงกระดูกป่นต่อกรดสเตียริกคือ 2.23×10^{-4} M และ V_{max} 0.98 โมล สเตียริก/ โมลไตรกลีเซอไรด์/ ช.ม. น้ำมันปาล์มหลังจากเกิดอินเตอร์เอสเตอริฟิเคชันเป็นเวลา 24 ชั่วโมงจะมีปริมาณกรดสเตียริกอยู่ในช่วง 40-50% น้ำมันปาล์มที่ตัดแปลงได้มี transition temperature เพิ่มขึ้นทั้งนี้จากการวัดโดยใช้เครื่อง differential scanning calorimeter



Thesis Title Application of Fungal Lipase to Modify
 Palm Oil by Interesterification

Name Wimon Pheagvatanakun

Degree Master of Science (Biochemistry)

Thesis Supervisory Committee

 Prayad Komaratat, Ph.D.
 Prapon Wilairat, Ph.D.

Date of Graduation 30 September B.E. 2534 (1991)

ABSTRACT

Rhizopus delemar grown in a shake-flask culture consisting of 6% peptone, 3% glucose and inorganic salts (0.1% KH_2PO_4 , 0.1% NaNO_3 and 0.05% MgSO_4) for 5 days at 30⁰C produced extracellular lipase approximately 1500 unit/ml. The lipase was partially purified by ultrafiltration and CM-cellulose column chromatography and obtained lipase with specific activity 811 unit/mg protein with 16 fold purification and 50% yield. The partially purified lipase preparation showed pH optimum at 6, temperature optimum at 45⁰C, heat stability upto 45⁰C and having molecular weight 43,000. The properties of *R. delemar* lipase prepared in this study was similar to that of *R. delemar* lipase from Amano.

R. delemar lipase was immobilized on various supports namely celite, pig bone powder, ENT, ENTP, PU-3

and PU-6. Lipase immobilized on pig bone powder at 50% enzyme loading show highest interesterification activity in the reaction mixture containing palm oil and stearic acid in n-hexane. Optimal conditions for lipase-catalyzed interesterification was at 35°C, pH 5, 6% water content when the ratio of substrates (stearic acid to palm oil) was two (wt/wt) and the enzyme content was 40% of substrate weight. The apparent K_m of pig bone-adsorbed lipase for stearic acid was 2.23×10^{-4} M, and V_{max} 0.98 mole stearic acid/mole triglyceride/hr. The maximum percentage of stearic acid in triglyceride of palm oil obtained after 24 hr interesterification was 40-50%. The modified palm oil showed an increase in transition temperature as determined by differential scanning calorimetry.