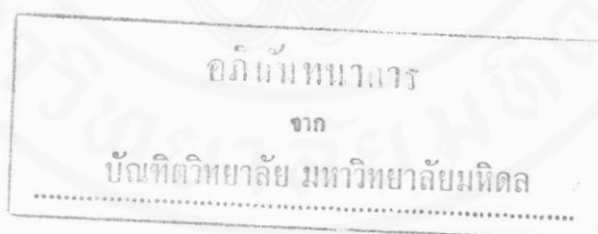


- 3 JUL 2001



**IMMOBILIZATION OF LIPASE FROM ACINETOBACTER CALCOACETICUS  
LP009 AND ITS POTENTIAL APPLICATION**

**WAEWRAWEE PRABNARONG**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR  
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)  
FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY**

2001

ISBN 974-665-668-6

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

TH

W 124 6

2001

C. 2

4136674 SCBT/M : MAJOR : BIOTECHNOLOGY; M.Sc.(BIOTECHNOLOGY)

KEY WORDS : *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* / LIPASE /  
CHARACTERIZATION / IMMOBILIZATION /  
MONOGLYCERIDE

WEAWRAWEE PRABNARONG : IMMOBILIZATION OF LIPASE FROM  
*ACINETOBACTER CALCOACETICUS* LP009 AND ITS POTENTIAL  
APPLICATION. THESIS ADVISOR : SAOVANEE DHARMSTHITI, Ph.D  
SITTIWAT LERTSIRI, Ph.D. MANOP SUPHANTHARIKA, Ph.D. 134 p. ISBN  
974-665-668-6

*Acinetobacter calcoaceticus* strain LP009, a lipase producing bacteria, was isolated from raw milk. The optimum condition for growth and lipase production was in LB supplemented with 1% (v/v) Tween80, pH6.0 at 15°C with 200 rpm agitation. Maximum lipase production was reached when the cell culture entered the stationary phase. Crude lipase from *A. calcoaceticus* LP009 (Lip009) was thermolabile, which was useful for some kinds of applications. The purpose of this research was to find a suitable method for immobilizing Lip009 in order to enhance the enzyme stability. Subsequently, the immobilized Lip009 was tested for an application in monoglyceride production. It was found that ionic binding on IRC-50(H<sup>+</sup>) retained high remaining activity and high stability. Both soluble and immobilized Lip009 were most stable and active at pH 7.0. Immobilized Lip009 resisted higher temperatures than the soluble enzyme. The optimum temperature for soluble Lip009 activity was at 50°C while that of the immobilized Lip009 was at 45°C. Both forms were relatively stable towards all detergents tested except for CTAB which strongly inhibited Lip009 activities. They were stable towards hexane. After 5 times repeated use, under standard condition the activity of the immobilized Lip009 reduced by 50%. The activity could easily be recovered by repeating the immobilization process. This form of Lip009 was used in attempt to produce monoglyceride from palm oil. The optimum conditions for monoglyceride production were at 45°C for 3 hours. This will be further tested for used as food and feed emulsifier which are value-added products obtained from cheap and highly available palm oil.

4136674 SCBT/M : สาขาวิชา : เทคโนโลยีชีวภาพ : วท.ม. (เทคโนโลยีชีวภาพ)

แวนระวี ปรามณรงค์ : การตรึงเอนไซม์ไลเปสของ *Acinetobacter calcoaceticus* สายพันธุ์ LP009 และการนำไปประยุกต์ใช้ (IMMOBILIZATION OF LIPASE FROM *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* LP009 AND ITS POTENTIAL APPLICATION) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : เสาวนีย์ ธรรมสถิต, Ph.D., สิทธิวัฒน์ เลิศศิริ, Ph.D., มานพ สุพรรณธริกา, Ph.D. 134 หน้า. ISBN 974-665-668-6

แบคทีเรีย *Acinetobacter calcoaceticus* LP009 ที่สามารถสร้างเอนไซม์ไลเปสในปริมาณสูงนี้ แยกได้จากตัวอย่างน้ำมันดิบ เชื้อนี้เจริญเติบโตและสร้างเอนไซม์ไลเปสได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB+1.0% (v/v) Tween 80, pH6.0 ที่ 15°C ในสภาวะที่มีการเขย่า 200 รอบต่อนาที ไลเปสที่ได้นี้ไม่ทนความร้อน ซึ่งทำให้เหมาะกับการใช้ประโยชน์บางประเภท ในการทำวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อหาวิธีการตรึงเอนไซม์ไลเปสที่เหมาะสมเพื่อเพิ่มความคงทนของเอนไซม์ จากนั้นจึงนำ immobilized lipase มาใช้ในการผลิต monoglyceride พบว่าวิธี ionic binding กับ 'Amberlite' resin IRC-50(H<sup>+</sup>) จะให้ประสิทธิภาพในการทำงานสูงและสามารถใช้ทำปฏิกิริยาซ้ำได้หลายครั้ง immobilized และ soluble lipase มีความคงทน และประสิทธิภาพสูงสุดที่ pH 7.0, immobilized lipase ทนได้ที่อุณหภูมิสูงกว่า soluble lipase อุณหภูมิที่เหมาะสมกับการทำงานของ immobilized และ soluble lipase คือที่ 45°C และ 50°C ตามลำดับ เอนไซม์ทั้ง 2 แบบยังทนต่อ detergent ทุกชนิดที่ทดสอบยกเว้น CTAB ซึ่งยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และยังมี ความคงทนต่อ hexane ด้วย เอนไซม์ไลเปสที่ตรึงบน 'Amberlite' resin IRC-50(H<sup>+</sup>) สามารถใช้ ซ้ำได้หลายครั้งและทำ recovery ได้ง่ายโดยทำการตรึงด้วยวิธีเดิม immobilized lipase ถูกนำมาใช้ในการผลิต monoglyceride จากน้ำมันปาล์มพบว่า สภาวะที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการผลิต monoglyceride จากน้ำมันปาล์มคือ ปฏิกิริยาที่ 45°C นาน 3 ชั่วโมง โดยผลการวิจัยนี้นำไปสู่การทดลองใช้ monoglyceride เป็น emulsifier ในอาหาร ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีราคาสูง โดยเป็นการเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสารตั้งต้นคือน้ำมันปาล์มที่มีราคาถูก