บทคัดย่อ

ชื่อโครงการ การสังเคราะห์เอสเทอร์ของกรดไขมันจากน้ำมันปาล์มโดยไลเปสที่ผลิตจากเทอร์โมไฟล์ที่แยกได้จากน้ำพุร้อนในท้องถิ่น

ผู้เขียนรายงานวิจัย รองศาสตราจารย์ ดร.สุรีย์ ฟูตระกูล

ได้คัดเลือกเทอร์โมไฟล์ที่ผลิตไลเปสนอกเซลล์ในปริมาณสูง 15 ไอโซเลทจากเทอร์โมฟิลิคแบคทีเรียที่แยกได้จากน้ำพุร้อนจังหวัดเชียงใหม่ 30 ไอโซเลท และศึกษาการผลิตไลเปสและโปรติเอสพบว่ามี 5 ไอโซเลทที่ผลิตไลเปสนอกเซลล์ในปริมาณสูงและผลิตโปรติเอสต่ำจึงเลือกไว้ศึกษาต่อไป

ไลเปสนอกเซลจากเทอร์โมฟิลิคแบคทีเรีย 5 ไอโซเลท คือ TLS63, TLO13, TP434, T20 และ P1 เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวในภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญและการผลิตไลเปสและนำเอนไซม์ที่ได้มาทำให้เข้มข้นและทำให้บริสุทธิ์ขึ้นบางส่วนโดยการตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต ตามด้วยไดอะไลซีส นำไลเปสที่บริสุทธิ์ขึ้นบางส่วนไปดูดซับบน celite 545 ที่พีเอชที่เหมาะสมสำหรับแอคติวิตี้ของมันได้แอคติวิตี้ต่อกรัมของไลเปสดรึงที่เตรียมได้ของ TLS63, TLO13, TP434, T20 และ P1 เป็น 15.88, 14.14, 18.86, 14.14 และ 4.71 หน่วยตามลำดับ ปฏิกิริยาอัลกอฮอลไลซีสของไตรโอเลอินในเอซานอลและไอโซโปรปานอล ที่ปริมาณน้ำน้อย ๆ ของไลเปสที่เตรียมได้ที่ 30°ซ เทียบกับไลเปสจาก P. fluorescens จากบริษัท Amano ตรึงบน celite 545 และ Lipozyme IM20 ไลเปสจาก Mucor Meihei ดูดซับบน Duolite จากบริษัท Novo การวิเคราะห์ผลผลิตเอทิลและไอโซโปรปิลเอสเทอร์ที่ผลิตขึ้นใน 24 ชม. ในส่วนผสมของปฏิกิริยาโดยใช้โครมาโตกราฟีผิวบางและโครมาโทกราฟีกาซพบว่า Lipozyme ไลเปสจาก P. fluorescens และไลเปสจาก TLS63, T20 และ P1 สามารถเร่งปฏิกิริยา ethanolysis ของไตรโอเลอินได้ผลผลิตสูงเฉพาะ Lipozyme และ P. fluorescens ไลเปสเท่านั้นที่สามารถเร่งปฏิกิริยา isopropanolysis ของ triolein แล้วได้ผลผลิตสูงกว่า ethanolysis จากการศึกษาพบว่าไลเปสจากเทอร์โมไฟล์ 3 ไอโซเลท TLS63, T20 และ P1 มีแนวโน้มสูงในการนำไปใช้สังเคราะห์เอสเทอร์จากไขมันและน้ำมันในตัวทำละลายอินทรีย์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ได้ทำการเตรียมไลเปสตรึงจากเทอร์โมฟิลิคแบคทีเรีย 14 ไอโซเลทเพื่อศึกษาการเร่งปฏิกิริยา ethanolysis และ isopropanolysis ของน้ำมันปาล์มเทียบกับ Lipozyme IM20 เทอร์โมฟิลิคแบคทีเรียทั้ง 14 ไอโซเลทเลี้ยงในอาหารเหลวในภาวะที่เหมาะสมสำหรับแต่ละไอโซเลท สำหรับการเจริญและการผลิตไลเปสเอนไซม์ไลเปสที่ได้ทำให้เข้มข้นขึ้นโดย ultrafiltration ตามด้วยการตกตะกอนด้วย 50-60% สารละลายเกลือแอมโมเนียมซัลเฟทอิ่มตัว และดูดซับบน celite 545 ที่พีเอชที่เหมาะสมสำหรับแอคติวิตี้ของเอนไซม์ แอคติวิตี้ของ TLS63, TLO13, TP434, T20 และ P1 ไลเปสเป็น 15.88, 14.14, 18.86 และ 4.71 หน่วยต่อกรัมเอนไซม์ตรึงตามลำดับและมีค่า water activity (A_w) อยู่ในช่วง 0.45-6.0 ethanolysis และ isopropanolysis ของน้ำมันปาล์มที่ปริมาณน้ำต่ำโดยใช้ไลเปสตรึงเหล่านี้เทียบกับ Lipozyme IM20 ที่ 30°ซ พบว่า Lipozyme และไลเปสจาก TLS632, T20 และ P1 สามารถเร่งปฏิกิริยา ethanolysis ของน้ำมันปาล์มได้ผลผลิตเอสเทอร์สูงในภาวะที่ทำการทดลอง เฉพาะ Lipozyme เท่านั้นสามารถเร่งปฏิกิริยา isopropanolysis ซึ่งมีผลผลิตเอสเทอร์ต่ำกว่า ethanolysis เล็กน้อย ผลการทดลองชี้ให้เห็นแนวโน้มของการใช้ไลเปสจากเทอร์โมฟิลิคแบคทีเรีย 4 ไอโซเลทคือ TB611, TLS63, T20 และ P1 ในการเร่งปฏิกิริยา interesterification ของไขมันและน้ำมันในตัวกลางที่ไม่ใช่น้ำ ไลเปส จากเทอร์โมฟิลิคแบคทีเรียไอโซเลท P1 เป็นเอนไซม์ที่เหมาะสมที่สุดในบรรดาเทอร์โมไฟล์ที่คัดเลือกสำหรับการสังเคราะห์เอสเทอร์ของกรดไขมันจากน้ำมันปาล์ม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Abstract

Title Synthesis of Fatty Acid Esters from Palm Oil by Lipase from Thermophiles Isolated from Local Hot Spring

Report by Associate Professor Dr.Suree Phutrakul

Fifteen isolates of thermophiles producing extracellular lipases have been selected from 30 isolates of thermophilic bacteria from Chiang Mai hot springs and studied for lipases and proteases production. Five isolates of thermophilic bacteria producing high activity of lipases and low activity of protease have been selected for further study.

Extracellular lipases from 5 isolates of the thermophilic bacterial TLS63, TLO13, TP434, T20 and P1 cultured at their optimal conditions were studied. The lipases were concentrated by ultrafiltration and partial purification by ammonium sulphate precipitation followed by dialysis. The partially purified lipases were adsorbed on celite 545 at their optimum pH. The lipase activity per gram of the immobilized preparations of TLS63, TLO13, TP434, T20 and P1 lipases were 15.88, 14.14, 18.86, 14.14 and 4.71 units respectively.

Alcoholysis of triolein in ethanol and isopropanol at low water content by the lipase preparations were carried out at 30°C in comparison to P. fluorescens lipase from Amano immobilized on celite 545 and Lipozyme IM20 lipase from *Mucor Meihei* adsorbed on Duolite from NOVO. The ethyl and isopropyl ester formed at 24 h in the reaction mixture were analysed by thin layer and gas chromatography. Lipozyme, P. fluorescens lipases and lipases from TLS63, T20 and P1 could catalyse ethanolysis of triolein with high percent conversions. Only Lipozyme and P.fluorescens lipases could catalyse isopropanolysis of triolein with high yield than that of ethanolysis. It could be seen from this study that lipases from three isolates of thermophilic bacteria, TLSS63, T20 and P1 had high potential application in ester synthesis from fats and oils in organic media.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Immobilized extracellular lipases from fourteen isolates of thermophilic bacteria were prepared to investigate their catalytic activities on ethanolysis and isopropanolysis of palm oil in comparison to Lipozyme IM20. The thermophiles were cultured at their optimum conditions for growth and lipase production. The crude lipases were concentrated by ultrafiltration followed by precipitation with 50-60% saturated ammonium sulphate and adsorbed on celite 545 at the optimum pHs for their activities. The activities of TLS63, TLO13, TP434, T20 and P1 lipases were 15.88, 14.14, 18.86 and 4.71 units per gram of the immobilized preparations respectively and exhibited water activities around 0.45-0.60.

Ethanolysis and isopropanolysis of palm oil at low water content by these immobilized preparations and Lipozyme IM20 were carried out at 30°C. Lipozyme and lipases from TLS63, T20 and P1 could catalyze ethanolysis of palm oil with relatively high percent conversions at the experimental condition. Only Lipozyme could catalyze isopropanolysis with slightly lower yield than that of ethanolysis. The experimental results indicated high potential application of lipases from four isolates of thermophilic bacteria : TB611, TLS63, T20 and P1 in interesterification of fats ad oils in non-aqueous media. Lipase from Thermophilic bacteria isolate P1 is the most suitable enzyme among thermophiles chosen for the synthesis of fatty acid ester from palm oil.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved