

รหัสโครงการ SUT7-706-46-12-42



รายงานการวิจัย

การเร่งปฏิกิริยาเอสเตอริฟิเคชันระหว่างกรดไขมันอิ่มตัวในน้ำมันปลา
กับแอลกอฮอล์โดยเอนไซม์ไลเปสที่ถูกยึดตรึง

**Catalytic Esterification Reaction of Saturated Fatty Acid in Fish Oil
and Alcohol by Immobilized Lipase**

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว



รายงานการวิจัย

การเร่งปฏิกิริยาเอสเตอริฟิเคชันระหว่างกรดไขมันอิ่มตัวในน้ำมันปลา
กับแอลกอฮอล์โดยเอนไซม์ไลเปสที่ถูกยึดตรึง
**Catalytic Esterification Reaction of Saturated Fatty Acid in Fish Oil
and Alcohol by Immobilized Lipase**

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

อาจารย์ ดร. ชีระสุด สุขกำเนิด

สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี

สำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2546

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

กรกฎาคม 2554

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณบริษัท T.C. Union Agrotech จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์ให้น้ำมันปลา ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีที่ให้บริการวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันปลาและน้ำมันปลาที่ผ่านการปรับปรุงคุณสมบัติ และการวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2546



บทคัดย่อ

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาความเป็นไปได้ในการยัดตรึงเอนไซม์ไลเปส *Candida rugosa* และใช้เอนไซม์ไลเปสที่ถูกยัดตรึงปรับคุณภาพน้ำมันปลาเพื่อให้มีกรดไขมันไม่อิ่มตัว Ω -3 เพิ่มขึ้น จากการเปรียบเทียบการยัดตรึงเอนไซม์ไลเปสบน Alginate ที่มีการเติม Gelatin และ Glutaraldehyde และการยัดตรึงเอนไซม์ไลเปสบน Ion exchange resin ที่มีการเติม Arabic gum พบว่าการยัดตรึงเอนไซม์ไลเปสบน Ion exchange resin จะมี Activity สูงกว่าคือ 15.69 FFA/g bead/hr เมื่อเทียบกับ 7.843 mmol FFA/g bead/hr แต่ไลเปสที่ถูกยัดตรึงบน Ion exchange resin จะสูญเสีย Selectivity ในขณะที่ Selectivity ของไลเปสที่ถูกยัดตรึงบน Alginate ยังคงมีค่าเท่ากับไลเปสอิสระคือ 0.3536 mole DHA/mole free fatty acid เมื่อเทียบกับ 0.3874 mole DHA/mole free fatty acid ของไลเปสอิสระ เมื่อนำเอนไซม์ไลเปสที่ถูกยัดตรึงบน Alginate ที่มีการเติม Gelatin และ Glutaraldehyde ไปบรรจุในเครื่องปฏิกรณ์แบบเบดนิ่งเพื่อทำปฏิกิริยา Catalytic hydrolysis กับน้ำมันปลาพบว่ามีการผลิตไขมันหลังจากการทำปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 6 และสามารถเพิ่มสัดส่วนของ DHA ในน้ำมันปลาสูงจากร้อยละ 33 เป็นร้อยละ 44 เมื่อใช้เวลาในการทำปฏิกิริยา 30 นาที

ABSTRACT

This research project aims to investigate the feasibility of immobilizing enzyme lipase from *Candida rugosa* and using this immobilized lipase for improvement of fish oil so that the percentage of polyunsaturated Ω -3 fatty acid increases. From the comparison of immobilizing lipase on alginate with the addition of gelatin and glutaraldehyde and on ion exchange resin with the addition of Arabic gum, it is observed that immobilizing lipase on ion exchange resin yields higher lipase activity of 15.69 FFA/g bead/hr in comparison of 7.843 mmol FFA/g bead/hr for immobilized lipase on alginate. However, the selectivity of immobilized lipase on ion exchange is lost while the selectivity of immobilized lipase on alginate is 0.3536 mole DHA/mole free fatty acid which is close to the selectivity of free lipase of 0.3874 mole DHA/mole free fatty acid. By loading the immobilized lipase on alginate with the addition of gelatin and glutaraldehyde in a packed-bed reactor, it is found that the fish oil after the catalytic hydrolysis has the free fatty acid of 6% and the percentage of DHA in fish oil increases from 33% to 44% when the retention time in packed-bed reactor is 30 minutes.



สารบัญ

| | หน้า |
|--|------|
| กิตติกรรมประกาศ | ก |
| บทคัดย่อภาษาไทย | ข |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ | ค |
| สารบัญ | ง |
| สารบัญภาพ | ฉ |
| บทที่ 1 บทนำ | |
| ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย | 1 |
| วัตถุประสงค์ของการวิจัย | 2 |
| ทฤษฎีหรือกรอบความคิด | 2 |
| ขอบเขตของการวิจัย | 3 |
| ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย | 3 |
| บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย | |
| อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมีที่ใช้ในโครงการวิจัย..... | 4 |
| วิธีทำการทดลอง | 5 |
| บทที่ 3 ผลการวิจัย | |
| ผลการทดลองและอภิปรายผล | 9 |
| บทที่ 4 บทสรุป | |
| สรุปผลการวิจัย | 15 |
| ข้อเสนอแนะ | 16 |
| บรรณานุกรม | 17 |
| ภาคผนวก | 19 |
| ประวัติผู้วิจัย | 30 |

สารบัญรูป

| รูปที่ | หน้า |
|---|------|
| 3.1 การเกิดปฏิกิริยาของน้ำมันปลาสดโดยเอนไซม์ไลเปสที่อยู่ในสารละลายและเอนไซม์ไลเปสที่ถูกยึดตรึงบน Alginate..... | 9 |
| 3.2 การเกิดปฏิกิริยาของน้ำมันปลาสดโดยเอนไซม์ไลเปสที่อยู่ในสารละลายและเอนไซม์ไลเปสที่ถูกยึดตรึงบน Ion Exchange Resin..... | 11 |
| 3.3 ร้อยละของกรดไขมันอิสระและร้อยละของ DHA ที่ได้จากเครื่องปฏิกรณ์แบบเบดนิ่งที่มีการบรรจุด้วย Immobilized lipase บน Alginate ที่มีการเติม Gelatin และ Glutaraldehyde เมื่อใช้ Retention time ต่างๆ..... | 12 |
| 3.4 ร้อยละของกรดไขมันอิสระและร้อยละของ DHA ที่ได้จากเครื่องปฏิกรณ์แบบเบดนิ่งที่บรรจุด้วย Immobilized lipase บน Ion exchange resin ที่มีการเติม Arabic gum เมื่อใช้ Retention time ต่างๆ..... | 13 |

สารบัญตาราง

| ตารางที่ | หน้า |
|--|------|
| 3.1 Activity ของไลเปสอิสระและไลเปสที่ถูกยึดตรึงบน Alginate..... | 9 |
| 3.2 Activity ของไลเปสอิสระและไลเปสที่ถูกยึดตรึงบน Ion Exchange Resin | 11 |



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

งานวิจัยเกี่ยวกับผลของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ω -3 (Polyunsaturated ω -3 fatty acid) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Eicosapentaenoic acid (EPA) และ Docosahexanoic acid (DHA) ต่อสุขภาพของคน ได้ชี้ให้เห็นผลเชิงบวกของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ω -3 ในการบรรเทาอาการผิดปกติที่เกี่ยวข้องกับระบบการมองเห็น ระบบหมุนเวียนโลหิต ระบบสืบพันธุ์ และระบบประสาท (Yongmanitchai and Ward, 1989; Kinsella, 1987; Lees and Karel, 1990; Simopoulos, 1991) จากการค้นพบดังกล่าวจึงทำให้มีความต้องการกรดไขมันไม่อิ่มตัว ω -3 ที่มีความบริสุทธิ์สูงในปริมาณมากทั้งในรูปของ Tri eicosapentaenoic glyceride (glyceride ที่มีแต่ eicosapentaenoic) และกรดไขมันไม่อิ่มตัว ω -3 อิสระ (Polyunsaturated ω -3 free fatty acid) (Medina et al., 1999) ทั้งนี้ Belarbi et al. (2000) รายงานว่าราคาของ eicosapentaenoic acid (95% purity) อยู่ที่ US \$ 650 ต่อกิโลกรัม ทั้งนี้ ราคาของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ω -3 จะสูงขึ้นตามความบริสุทธิ์ที่มากขึ้น

โดยปกติ Eicosapentaenoic acid (EPA) และ Docosahexanoic acid (DHA) สามารถสกัดได้จากน้ำมันปลา (Fish oil) ทั้งนี้ EPA และ DHA จะปะปนอยู่กับกรดไขมันอิ่มตัวอื่นในรูปของ Triglyceride Bonnett และคณะ (Bonnett et al., 1974) ได้รายงานว่าในน้ำมันปลาจะมีกรดไขมันไม่อิ่มตัว ω -3 อยู่ประมาณ 20 – 30 % อนึ่ง การที่ EPA และ DHA อยู่ปะปนกันอยู่กับกรดไขมันอื่นในน้ำมันปลา ทำให้การสกัด EPA และ DHA เป็นกระบวนการที่ซับซ้อน

สำหรับประเทศไทย อุตสาหกรรมประมงและอุตสาหกรรมต่อเนื่องจัดเป็นธุรกิจขนาดใหญ่ ในปี ค.ศ. 1991 Crough (Crough, 1991) รายงานว่า ประเทศไทยเป็นประเทศที่ส่งออกปลาทูน่ากระป๋อง และนำเข้าปลาทูน่าเป็นอันดับหนึ่งของโลก ในปี ค.ศ. 1995 มีโรงงานการผลิตปลาทูน่ากระป๋องรวมทั้งสิ้น 21 โรงงานและมีกำลังการผลิตรวม 647,000 ตัน (Srikumraitong et al., 1995) ซึ่งในการผลิตปลาทูน่าในประเทศไทยจะมีการตัดหัวปลาทูน่าทิ้ง ในปัจจุบัน โรงงานต่างๆ ได้นำหัวปลาทูน่ามาสกัดเอาน้ำมันปลาด้วยการบีบอัดก่อนที่จะส่งขายเป็นส่วนประกอบของอาหารสัตว์หรือใช้ประโยชน์อื่นๆ ต่อไป อย่างไรก็ดี น้ำมันปลาที่บีบสกัดได้จะมีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัว ω -3 ในความเข้มข้นที่ไม่สูง กล่าวคือ ประมาณ 19 – 25% (Chantachum, 2000) หากมีกระบวนการที่สามารถเพิ่มปริมาณของกรด

ไขมันไม่อิ่มตัว ω -3 ให้สูงขึ้นน่าจะเป็นประโยชน์ต่ออุตสาหกรรมประมงและอุตสาหกรรมต่อเนื่องของประเทศ

ดังนั้น คณะผู้วิจัยจึงตั้งเป้าหมายที่จะทำการศึกษการปรับปรุงคุณภาพของน้ำมันปลาที่ผลิตในประเทศไทยให้มีปริมาณของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ω -3 ที่สูงขึ้น โดยการทำปฏิกิริยาระหว่างน้ำมันปลากับแอลกอฮอล์ โดยมีเอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ทั้งนี้ เอนไซม์ไลเปสที่ผู้วิจัยเลือกใช้ได้มีกา รายงานไว้ในเอกสารต่างๆ แล้วว่ามีความเฉพาะเจาะจงกับกรดไขมันอิ่มตัว กล่าวคือ เอนไซม์ไลเปสที่ คณะผู้วิจัยเลือกใช้จะทำปฏิกิริยา Hydrolysis เฉพาะกับกรดไขมันอิ่มตัว โดยจะคงกรดไขมันไม่อิ่มตัวไว้กับ Glyceride ดังนั้น Triglyceride/Diglyceride/Monglyceride ที่ผ่านการทำปฏิกิริยา Hydrolysis ที่มี เอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาก็จะมีสัดส่วนของกรดไขมันไม่อิ่มตัวในปริมาณที่สูงขึ้น โดยในโครงการวิจัยนี้ ผู้วิจัยจะเน้นที่ผลของการยึดตรึง (Immobilization) เอนไซม์ไลเปสต่อ activity และ selectivity ทั้งนี้ เพราะการยึดตรึงเอนไซม์ไลเปสจะทำให้กระบวนการผลิตมีต้นทุนที่ต่ำลงเนื่องจากสามารถนำเอนไซม์ไลเปสยึดตรึงกลับมาใช้ใหม่ได้

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1.2.1 เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ของการปรับปรุงคุณภาพของน้ำมันปลาให้มีปริมาณของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ω -3 ในปริมาณที่สูงขึ้น
- 1.2.2 เพื่อศึกษาผลกระทบของการยึดตรึงเอนไซม์ต่อ activity และ selectivity
- 1.2.3 เพื่อศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิและอัตราส่วนของสารตั้งต้นต่อ Selectivity และ อัตราการเกิดปฏิกิริยา

1.3 ทฤษฎีหรือกรอบความคิด

ในน้ำมันปลา กรดไขมันต่างๆ จะจับตัวกับ Glyceride อยู่ในรูปของ Triglyceride (Hidajat et al., 1995) กรดไขมันเหล่านี้ประกอบไปด้วย EPA DHA และกรดไขมันอื่นๆ เนื่องจากการอยู่ปะปนกันของ EPA DHA และกรดไขมันอื่นๆ ทำให้การทำให้บริสุทธิ์ซับซ้อน

กระบวนการหนึ่งที่สามารถเพิ่มสัดส่วนของ EPA และ DHA ในน้ำมันปลา คือ การทำปฏิกิริยาระหว่าง Triglyceride กับแอลกอฮอล์โดยใช้เอนไซม์ไลเปส (Lipase) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Breirik and Haroldson, 1999; Medina et al., 1998) ทั้งนี้ เอนไซม์ไลเปสที่ใช้จะมีความเฉพาะเจาะจงกับกรดไขมันอิ่มตัว กล่าวคือ เอนไซม์ไลเปสจะเร่งปฏิกิริยาระหว่างกรดไขมันอิ่มตัวกับแอลกอฮอล์เกิด

เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันอิ่มตัว ซึ่งสามารถแยกออกจากสารประกอบที่เหลือจากการทำปฏิกิริยา อาทิ Triglyceride Diglyceride และ Monoglyceride ได้โดยการสกัดด้วยตัวทำละลาย การตกผลึก หรือการกลั่น ดังนั้น Triglyceride ที่ผ่านการทำปฏิกิริยาจะมีสัดส่วนของกรดไขมันไม่อิ่มตัวในปริมาณที่สูงขึ้น และขายได้ราคาแพงขึ้น

ทั้งนี้ จากการสำรวจเอกสาร พบว่าเอนไซม์ไลเปสจาก *Mucor miehei* *Candida cylindracea* *Candida rugosa* *Penicillium roquefortii* *Pseudomonas fluorescens* และ *Pseudomonas sp.* มี Selectivity ต่อกรดไขมันอิ่มตัวที่สูง (Breirik and Haroldsson, 1999) อย่างไรก็ดี งานดังกล่าวศึกษาโดยใช้เอนไซม์ไลเปสในรูปของสารละลายและไม่ได้ทำการศึกษาถึงผลกระทบของอุณหภูมิและอัตราส่วนของแอลกอฮอล์ต่อน้ำมันปลา ต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยาและต่อ Selectivity ดังนั้น ในโครงการวิจัยนี้ ผู้วิจัยจะทำการศึกษาผลของอุณหภูมิและอัตราส่วนของสารตั้งต้น และผลของการยึดตรึงเอนไซม์ (Bailey and Ollis, 1986; Bicker, 1997) ต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยา Esterification และ Selectivity

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

การศึกษาผลกระทบของการยึดตรึงเอนไซม์ไลเปสด้วยวิธีต่างๆ ต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยา และต่อ Selectivity ในเครื่องปฏิกรณ์แบบกะและแบบต่อเนื่อง

1.5 ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

1.5.1 เป็นพื้นฐานในการวิจัยต่อไป

1.5.2 เป็นพื้นฐานต่อการออกแบบกระบวนการผลิต

บทที่ 2

วิธีดำเนินการวิจัย

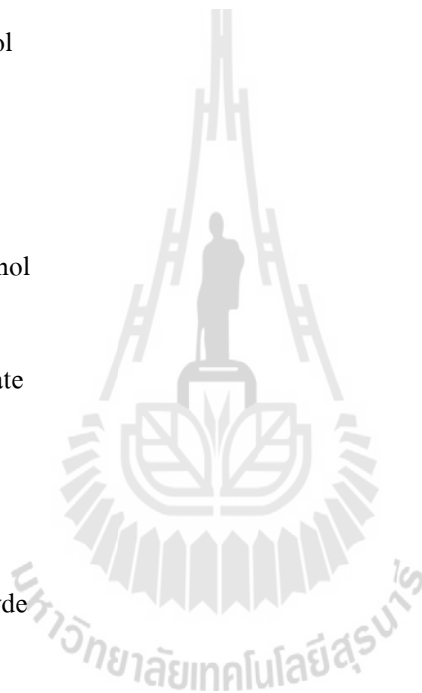
1.6 อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมีที่ใช้ในโครงการวิจัย

2.1.1 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

- บีกเกอร์
- ซ้อนตักสาร
- ขวดวัดปริมาตร
- หลอดทดลอง
- ปิเปตและไมโครปิเปต
- นาฬิกาจับเวลา
- บิวเรต
- ขวดรูปชมพู่
- ขวดน้ำกลั่น
- หลอดหยด
- กระจกดวง
- ขวดสำหรับซังสาร
- Magnetic stirrer
- Gas chromatography
- ขวดเก็บตัวอย่าง
- คอลัมน์แก้วเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.54 เซนติเมตร ยาว 60 เซนติเมตร
- Peristaltic pump
- Shaking water bath
- pH meter
- Vortex mixer
- Hot plate/stirrer
- เครื่องชั่งแบบละเอียด 4 ตำแหน่ง

2.1.2 สารเคมีที่ใช้ใน โครงการวิจัย

- Monobasic sodium phosphate
- Dibasic sodium phosphate
- Phosphoric acid
- Sodium hydroxide
- DI Water
- Lipase (*Candida rugosa*)
- Phenolphthalein
- BF_3 /Methanol
- Methanol
- Isooctane
- n-Hexane
- KOH/Methanol
- Tuna oil
- Sodium sulfate
- NaCl
- Na-alginate
- CaCl_2
- Glutaraldehyde



1.7 วิธีทำการทดลอง

2.2.1 การหาค่า Activity ของ Lipase ในรูปสารละลาย

1. ทำการผสมน้ำมันปลาพูน่าปริมาณ 5 ml กับสารละลาย Lipase ปริมาณ 5 ml ในขวดรูปชมพู่ซึ่งแช่อยู่ใน Shaking water bath ที่ความเร็วรอบ 180 rpm ณ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส
2. เก็บตัวอย่างสารละลายจำนวน 0.4 ml ที่เวลา 1, 2, 5 และ 30 นาทีตามลำดับ โดยเติมลงใน Ethanol 0.2 ml เพื่อหยุดปฏิกิริยา
3. นำตัวอย่างไปไทเทรตกับสารละลาย 0.1 M NaOH โดยใช้ Phenolphthalein เป็นอินดิเคเตอร์

4. คำนวณหาปริมาณกรดไขมันอิสระและ Activity ของเอนไซม์

2.2.2 การหาค่า Selectivity ของเอนไซม์ Lipase ในรูปสารละลาย

1. เก็บตัวอย่างสารละลาย Reaction mixture ปริมาตร 0.4 ml ที่เวลา 30 นาที โดยเติมลงใน iso-octane 1.2 ml เพื่อหยุดปฏิกิริยา
2. แยกเฉพาะส่วนชั้น Iso-octane ไปวิเคราะห์หากรดไขมันที่เหลืออยู่โดยทำปฏิกิริยา Transesterification เพื่อหากรดไขมันที่เหลืออยู่ใน Triglyceride/Diglyceride/Monoglyceride
3. เติม Methanol/BF₃ ผสมให้เข้ากันประมาณ 10 นาทีที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส
4. ตั้งทิ้งไว้จนสารละลายแยกชั้น
5. แยกเอาส่วนบนของสารละลายออกมาวัดปริมาตร
6. เจือจางให้ความเข้มข้นอยู่ในระดับที่พอเหมาะเพื่อนำไปฉีดเข้า Gas Chromatography
7. คำนวณค่า Selectivity

2.2.3 การเตรียม Immobilized lipase บน Alginate

1. ผสม Na-alginate 2.53 g ในน้ำกลั่นจำนวน 100 ml จนกระทั่ง Na-alginate ละลายเป็นเนื้อเดียวกันกับน้ำ
2. ละลาย Lipase 1 g ในน้ำกลั่น 100 ml
3. ผสมสารละลาย Na-alginate กับสารละลาย Lipase เข้าด้วยกัน เติมน้ำกลั่นเพื่อให้ได้ปริมาตร 250 ml
4. เติมสารละลาย Glutaraldehyde 25% ในน้ำปริมาตร 7.7 ml ลงในสารละลายในข้อ 3 ผสมให้เข้ากัน 15 นาที
5. ใช้เข็มฉีดยาหยดสารละลายในข้อ 4 ลงไปในบีกเกอร์ซึ่งมีสารละลาย 0.5 M CaCl₂ ปริมาตร 1000 ml ที่มีการกวนตลอดเวลา ที่ละหยด ตั้งทิ้งไว้ 1 คืน
6. ล้าง Bead ที่ได้ด้วยน้ำกลั่น 2-3 ครั้ง
7. ตากแห้ง 3 ชั่วโมง โดยการผึ่งลม
8. นำ Bead ที่ผ่านการตากแห้งมาแช่ใน 0.2 M Phosphate buffer, pH 7.2 อย่างน้อย 1 คืนก่อนนำไปใช้งาน

2.2.4 การเตรียม Immobilized lipase บน Alginate

1. ผสม Na-alginate 2.53 g ในน้ำกลั่นจำนวน 100 ml จนกระทั่ง Na-alginate ละลาย เป็นเนื้อเดียวกันกับน้ำ
2. ละลาย Lipase 1 g ในน้ำกลั่น 100 ml
3. ผสมสารละลาย Na-alginate กับสารละลาย Lipase เข้าด้วยกัน เติมน้ำกลั่นเพื่อให้ ได้ปริมาตร 250 ml
4. เติมสารละลาย Glutaraldehyde 25% ในน้ำปริมาตร 7.7 ml ลงในสารละลายในข้อ 3 ผสมให้เข้ากัน 15 นาที
5. ใช้เข็มฉีดยาหยดสารละลายในข้อ 4 ลงไปในบีกเกอร์ซึ่งมีสารละลาย 0.5 M CaCl_2 ปริมาตร 1000 ml ที่มีการกวนตลอดเวลา ที่ละหยด ตั้งทิ้งไว้ 1 คืน
6. ล้าง Bead ที่ได้ด้วยน้ำกลั่น 2-3 ครั้ง
7. ตากแห้ง 3 ชั่วโมง โดยการผึ่งลม
8. นำ Bead ที่ผ่านการตากแห้งมาแช่ใน 0.2 M Phosphate buffer, pH 7.2 อย่างน้อย 1 คืนก่อนนำไปใช้งาน

2.2.5 การเตรียม Immobilized lipase บน Ion Exchange Resin

1. เตรียมสารละลาย Phosphate buffer pH 7.2 ปริมาตร 100 ml แช่ Ion exchange resin 100 g ในสารละลาย Phosphate buffer
2. ละลาย Lipase 1 g ในน้ำกลั่น 10 ml
3. ผสมสารละลาย Phosphate กับสารละลาย Lipase เข้าด้วยกัน
4. ตั้งทิ้งไว้ 1 คืนที่อุณหภูมิห้อง
5. ล้าง Bead ที่ได้ด้วยน้ำกลั่น 2-3 ครั้ง
6. ตากแห้ง 3 ชั่วโมง โดยการผึ่งลม
7. นำ Bead ที่ผ่านการตากแห้งมาแช่ใน 0.2 M Phosphate buffer, pH 7.2 อย่างน้อย 1 คืนก่อนนำไปใช้งาน

2.2.6 การดำเนินปฏิกิริยา Esterification Reaction ใน Flow reactor

1. บรรจุ lipase-immobilized alginate bead หรือ Ion exchange resin ในคอลัมน์ที่มี ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 นิ้ว โดยใช้วิธี Wet loading โดยให้มี Porosity ประมาณ 0.35 – 0.40

2. ป้อนน้ำมันปลาเข้าไปในคอลัมน์ เก็บตัวอย่างทุก 10 นาทีและรอนจนกระทั่งถึงสถานะคงที่
3. นำตัวอย่างที่เก็บ 0.4 ml มาเจือจางด้วยเอทานอล 0.2 ml เพื่อหยุดปฏิกิริยา
4. นำไปวิเคราะห์โดยการไตเตรทด้วย 0.01 M NaOH และวิเคราะห์ด้วย GC



บทที่ 3

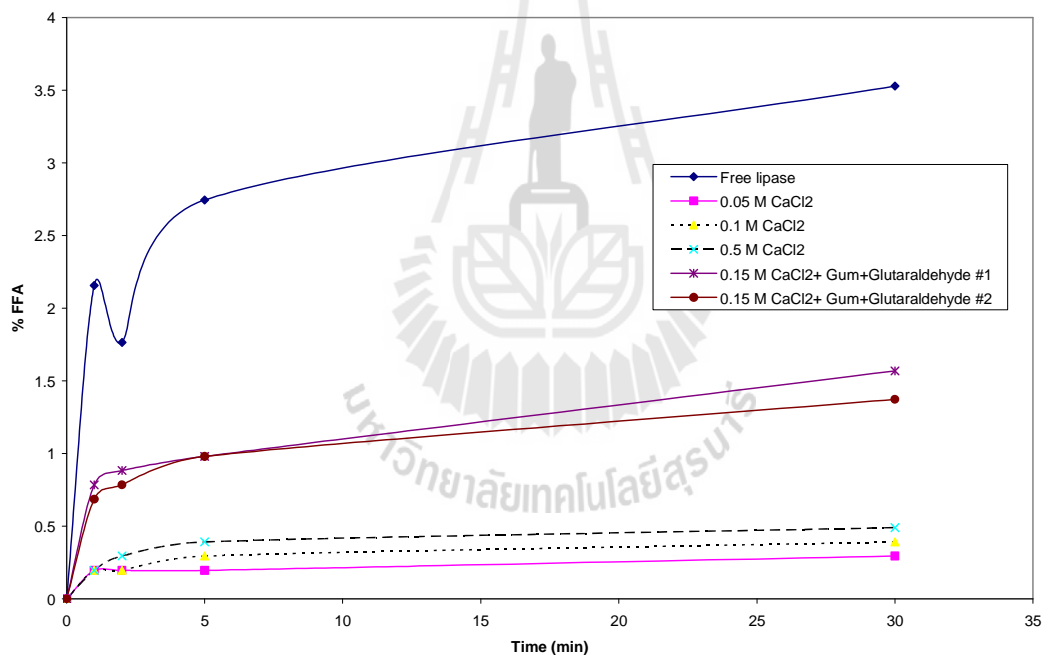
ผลการวิจัย

3.1 ผลการทดลองและอภิปรายผล

3.1 การยัดtringเอนไซม์ไลเปส

3.1.1 การยัดtringเอนไซม์ไลเปสบน Alginate

เพื่อตรวจสอบผลของการยัดtringเอนไซม์ไลเปสบน Alginate การเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ไลเปสที่อยู่ในสารละลายถูกนำมาเปรียบเทียบกับเอนไซม์ไลเปสที่ถูกยัดtringอยู่บน Alginate โดยดำเนินการเร่งปฏิกิริยากับน้ำมันปาล์ม ดังแสดงผลในรูปที่ 3.1 ทั้งนี้ ขนาดของ bead ที่ได้ อยู่ที่ประมาณ 0.30 – 0.60 เซนติเมตร



รูปที่ 3.1 การเกิดปฏิกิริยาของน้ำมันปาล์มโดยเอนไซม์ไลเปสที่อยู่ในสารละลายและเอนไซม์ไลเปสที่ถูกยัดtringบน Alginate

ในรูปที่ 3.1 จะเห็นได้ว่าเอนไซม์ไลเปสที่อยู่ในสารละลายสามารถเร่งปฏิกิริยาได้ดีที่สุด การยัดtringไลเปสบน Alginate อย่างเดียวจะทำให้การเร่งปฏิกิริยาลดลง ดังนั้น จึงทำการเพิ่มการยัดtringโดยการเติม Gelatin และ Glutaraldehyde ลงไปในสารละลาย Na-Alginate การเติม Gelatin และ

Glutaraldehyde ลงไปทำให้การยึดตรึงดีขึ้นดังจะเห็นได้ว่าการเร่งปฏิกิริยาครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 มีความแตกต่างกันน้อยมาก

Activity ของไลเปสอิสระและไลเปสที่ถูกยึดตรึงสามารถแสดงดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 Activity ของไลเปสอิสระและไลเปสที่ถูกยึดตรึงบน Alginate

| ไลเปส | อิสระ | ด้วย 0.05 M | ด้วย 0.1 M | ด้วย 0.5 M | ด้วย 0.15 M, Gelatin และ Glutaraldehyde | |
|---|----------|-------------|------------|------------|---|------------|
| | | | | | ครั้งที่ 1 | ครั้งที่ 2 |
| Activity (μ mol FFA/mg lipase/hr) (mmol FFA/g bead/hr) | 1,142.31 | 1.471 | 1.961 | 2.451 | 7.843 | 6.863 |

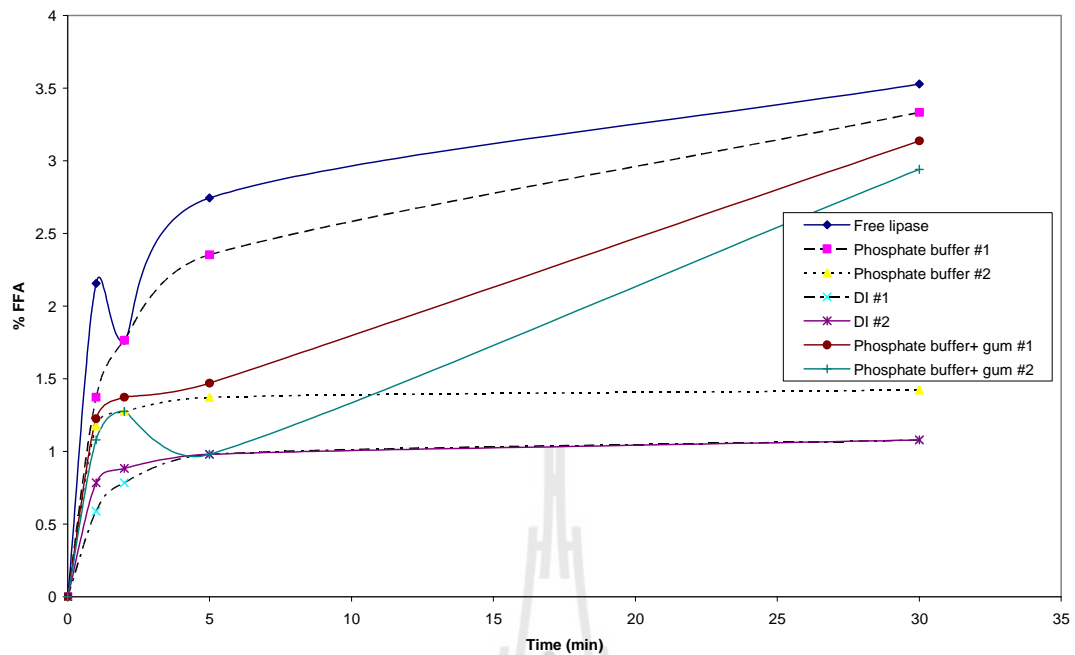
สำหรับ Selectivity ของเอนไซม์ไลเปสอิสระและที่ถูกยึดตรึงมีค่าแตกต่างกันอยู่ในความคลาดเคลื่อนของการวัด คือ 0.3874 mole DHA/mole free fatty acid และ 0.3536 mole DHA/mole free fatty acid จึงสรุปได้ว่าการยึดตรึงเอนไซม์บน Alginate ไม่มีผลต่อ Selectivity

เมื่อทดลองใช้เอนไซม์ไลเปสที่ถูกยึดตรึงบน Alginate ที่มีการเติม Gelatin และ Glutaraldehyde ไปทำปฏิกิริยากับน้ำมันปลาโดยทิ้งไว้ 1 คืนพบว่า มีกรดไขมันเกิดขึ้นหลังจากทำปฏิกิริยา 2.49% และปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัว ω -3 เพิ่มขึ้นจากเดิม 33.43% เป็น 41.32%

อนึ่ง ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัว ω -3 ในน้ำมันปลาที่มีการวิเคราะห์ได้คือ 33.43% นั้น สูงกว่าที่มีการรายงานไว้โดย Chantachum และคณะ (Chantachum et al., 2000) ที่มีการรายงานไว้ที่ 25.5%

3.1.2 การยึดตรึงเอนไซม์ไลเปสบน Ion Exchange Resin

เพื่อตรวจสอบผลของการยึดตรึงเอนไซม์ไลเปสบน Ion Exchange Resin การเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ไลเปสที่อยู่ในสารละลายถูกนำมาเปรียบเทียบกับเอนไซม์ไลเปสที่ถูกยึดตรึงอยู่บน Ion exchange resin โดยดำเนินการเร่งปฏิกิริยากับน้ำมันปลา ดังแสดงผลในรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 การเกิดปฏิกิริยาของน้ำมันปาล์มโดยเอนไซม์ไลเปสที่อยู่ในสารละลายและเอนไซม์ไลเปสที่ถูกยึดตรึงบน Ion Exchange Resin

ในรูปที่ 3.2 จะเห็นได้ว่าเอนไซม์ไลเปสที่อยู่ในสารละลายสามารถเร่งปฏิกิริยาได้ดีที่สุด การยึดตรึงไลเปสบน Ion exchange resin อย่างเดียวจะทำให้การเร่งปฏิกิริยาลดลง ดังนั้น จึงทำการเพิ่มการยึดตรึงโดยการเติม Arabic Gum ลงในสารละลาย Phosphate buffer การเติม Arabic Gum ลงไปทำให้การยึดตรึงดีขึ้นดังจะเห็นได้ว่าการเร่งปฏิกิริยาครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 มีความแตกต่างกันน้อยมาก

Activity ของไลเปสอิสระและไลเปสที่ถูกยึดตรึงบน Ion exchange resin สามารถแสดงดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 Activity ของไลเปสอิสระและไลเปสที่ถูกยึดตรึงบน Ion Exchange Resin

| ไลเปส | อิสระ | ใน Phosphate buffer | | ใน DI water | | ด้วย 0.15 M และ Gum | |
|---|----------|---------------------|------------|-------------|------------|---------------------|------------|
| | | ครั้งที่ 1 | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 1 | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 1 | ครั้งที่ 2 |
| Activity ($\mu\text{mol FFA}/\text{mg lipase}/\text{hr}$) ($\text{mmol FFA}/\text{g bead}/\text{hr}$) | 1,142.31 | 16.67 | 7.108 | 5.392 | 5.392 | 15.69 | 14.71 |

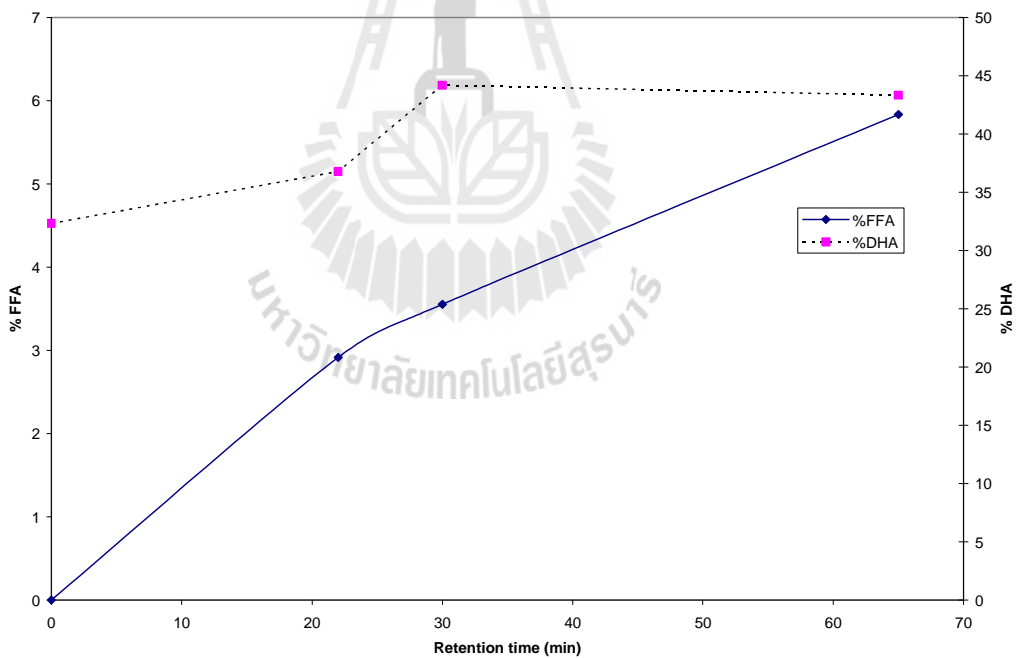
เมื่อทดลองใช้เอนไซม์ไลเปสที่ถูกยึดตรึงบน Ion exchange resin ที่มีการเติม Arabic gum ไปทำปฏิกิริยากับน้ำมันปลาโดยทิ้งไว้ 1 คืนพบว่า มีกรดไขมันเกิดขึ้นหลังจากทำปฏิกิริยา 9.65% และปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัว ω -3 เพิ่มขึ้นจากเดิม 33.43% เป็น 36.38% ซึ่งคล้ายกับการยึดตรึงไลเปสบน Ion exchange resin จะทำให้สูญเสีย Selectivity

3.2 การดำเนินปฏิกิริยา Catalytic Hydrolysis เพื่อปรับปรุงน้ำมันปลาในเครื่องปฏิกรณ์แบบนิ่ง

3.2. เครื่องปฏิกรณ์แบบนิ่งที่บรรจุด้วย Immobilized lipase บน Alginate ที่มีการเติม

Gelatin และ Glutaraldehyde

โดยการใช้เครื่องปฏิกรณ์แบบเบดนิ่ง (Packed bed) ที่มีการบรรจุด้วย Immobilized lipase บน Alginate ที่มีการเติม Gelatin และ Glutaraldehyde และมีการปรับเวลาที่ทำปฏิกิริยา (Retention time) พบว่าร้อยละของ FFA จะเพิ่มขึ้นตาม Retention time ในขณะที่ % DHA จะคงที่อยู่ที่ประมาณร้อยละ 44 ดังแสดงในรูปที่ 3.3

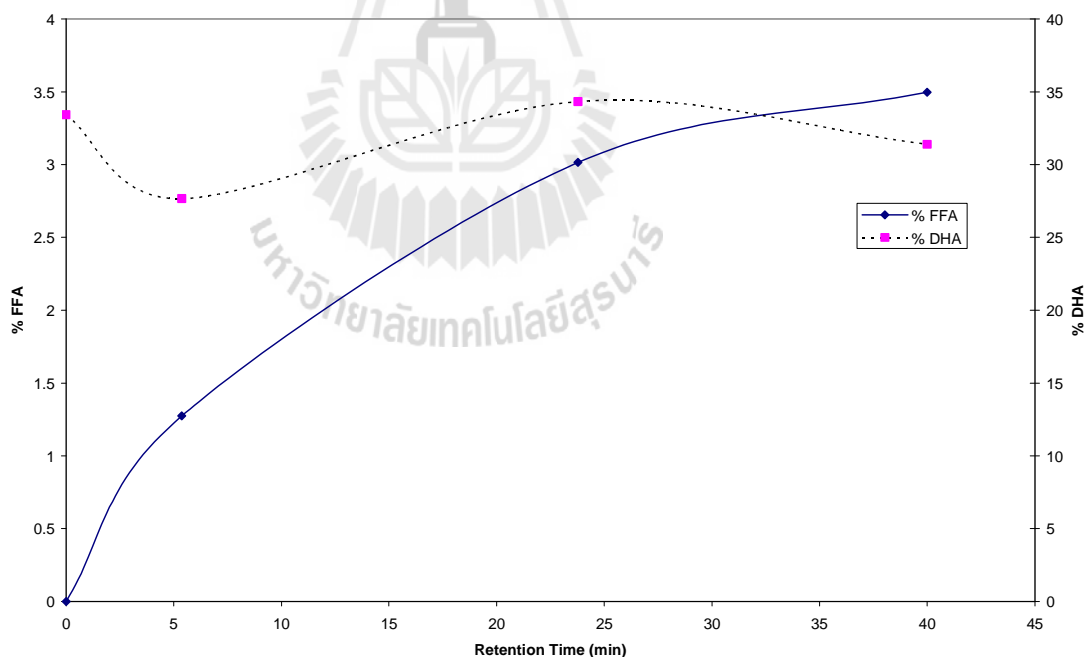


รูปที่ 3.3 ร้อยละของกรดไขมันอิสระและร้อยละของ DHA ที่ได้จากเครื่องปฏิกรณ์แบบเบดนิ่งที่มีการบรรจุด้วย Immobilized lipase บน Alginate ที่มีการเติม Gelatin และ Glutaraldehyde เมื่อใช้ Retention time ต่างๆ

จากรูปที่ 3.3 แสดงให้เห็นว่า สามารถปรับปรุงคุณภาพน้ำมันปลาได้โดยการใช้น้ำมันปลาที่สกัดด้วยโซเดียมไดออกไซด์ที่ติดกับ Alginate ที่มีการเติม Gelatin และ Glutaraldehyde โดยหากใช้ Retention time มากกว่า 30 นาทีจะทำให้สามารถปรับปรุงร้อยละของ DHA จากร้อยละ 33 เป็นร้อยละ 44 ทั้งนี้ หากเปรียบเทียบกับผลการทดลองโดย Gamez-Meza และคณะ (Gamez-Meza et al., 2003) กับ Ko และคณะ (Ko et al., 2006) พบว่า ร้อยละของ DHA ที่เพิ่มขึ้นจากการวิจัยนี้ใกล้เคียงกับที่รายงานไว้ในทั้ง 2 บทความที่ร้อยละ 40.3 และ 38.9 ตามลำดับ

3.2.2 เครื่องปฏิกรณ์แบบหนึ่งที่บรรจุด้วย Immobilized lipase บน Ion exchange resin ที่มีการเติม Arabic gum

โดยการใช้เครื่องปฏิกรณ์แบบเบดนิ่ง (Packed bed) ที่มีการบรรจุด้วย Immobilized lipase บน Ion exchange resin ที่มีการเติม Arabic gum และมีการปรับเวลาที่ทำปฏิกิริยา (Retention time) พบว่าร้อยละของ FFA จะเพิ่มขึ้นตาม Retention time ในขณะที่ % DHA จะคงที่อยู่ที่ประมาณร้อยละ 33 ดังแสดงในรูปที่ 3.4



รูปที่ 3.4 ร้อยละของกรดไขมันอิสระและร้อยละของ DHA ที่ได้จากเครื่องปฏิกรณ์แบบเบดนิ่งที่บรรจุด้วย Immobilized lipase บน Ion exchange resin ที่มีการเติม Arabic gum เมื่อใช้ Retention time ต่างๆ

จากรูปที่ 3.4 แสดงให้เห็นว่า การใช้เอนไซม์ไลเปสที่ถูกยึดตรึงบน Alginate ที่มีการเติม Gelatin และ Glutaraldehyde จะเป็นทางเลือกที่ดีกว่าการใช้เอนไซม์ไลเปสที่ถูกยึดตรึงบน Ion exchange resin ที่มีการเติม Arabic gum เนื่องจากเอนไซม์ไลเปสที่ถูกยึดตรึงบน Ion exchange resin ดูเหมือนว่าจะสูญเสีย Activity ต่อกรดไขมันอิ่มตัวไป



บทที่ 4

บทสรุป

4.1 สรุปผลการวิจัย

4.1.1 การยึดตรึงเอนไซม์ไลเปส

1. การยึดตรึงเอนไซม์ไลเปสบน Alginate ทำให้ Activity ของเอนไซม์ลดลงแต่ไม่ทำให้ Selectivity ของไลเปสจาก *Candida rugosa* ลดลง โดย Selectivity ของเอนไซม์ไลเปสอิสระเท่ากับ 0.3874 mole DHA/mole free fatty acid และ Selectivity ของเอนไซม์ไลเปสที่ถูกยึดตรึงเท่ากับ 0.3536 mole DHA/mole free fatty acid

2. การยึดตรึงเอนไซม์ไลเปสบน Alginate อาจทำให้เอนไซม์โดนชะล้างเมื่อเร่งปฏิกิริยา การเติม Gelatin และ Glutaraldehyde ทำให้การยึดตรึงไลเปสแข็งแรงขึ้นและทำให้ Activity เพิ่มขึ้น จาก 2.451 mmol FFA/g bead/hr เป็น 7.843 mmol FFA/g bead/hr

3. การยึดตรึงเอนไซม์ไลเปสบน Ion exchange resin ที่มีการเติม Arabic gum มีความแข็งแรงและทำให้ Activity ของไลเปสที่ถูกยึดตรึงสูงสุด คือเท่ากับ 15.69 FFA/g bead/hr แต่ไลเปสจะสูญเสีย Selectivity ต่อกรดไขมันอิ่มตัว

4. การใช้คอนไซม์ไลเปสที่ถูกยึดตรึงบน Alginate ที่มีการเติม Gelatin และ Glutaraldehyde เร่งปฏิกิริยา Hydrolysis เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่า มีกรดไขมันเกิดขึ้นหลังจากทำปฏิกิริยา 2.49% และ ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัว ω -3 เพิ่มขึ้นจากเดิม 33.43% เป็น 41.32%

4.1.2 การดำเนินปฏิกิริยา Catalytic Hydrolysis เพื่อปรับปรุงน้ำมันปลาในเครื่องปฏิกรณ์แบบนิ่ง

1. การใช้เครื่องปฏิกรณ์แบบนิ่งที่บรรจุเอนไซม์ไลเปสที่ถูกยึดตรึงบน Alginate ที่มีการเติม Gelatin และ Glutaraldehyde สามารถปรับปรุงคุณภาพน้ำมันปลาได้ โดยหากใช้ Retention time มากกว่า 30 นาทีจะทำให้สามารถปรับปรุงร้อยละของ DHA จากร้อยละ 33 เป็นร้อยละ 44 และร้อยละของกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 3 ถึงร้อยละ 6

2. การใช้เครื่องปฏิกรณ์แบบนิ่งที่บรรจุเอนไซม์ไลเปสที่ถูกยึดตรึงบน Ion exchange resin ที่มีการเติม Arabic สามารถเร่งปฏิกิริยา Catalytic hydrolysis ของน้ำมันปลาได้ โดยหากใช้ Retention time ประมาณ 30 นาทีจะทำให้ร้อยละของกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 3 ถึงร้อยละ 3.5 แต่ไม่สามารถเพิ่มความบริสุทธิ์ของ DHA ได้อาจเนื่องจากการสูญเสีย Activity

4.2 ข้อเสนอแนะ

1. ทำการทดลองเครื่องปฏิกรณ์แบบเบดนิ่งที่บรรจุเอนไซม์ไลเปสที่ถูกยึดตรึงบน Alginate ที่มีการเติม Gelatin และ Glutaraldehyde ในระยะเวลาที่นานขึ้นเพื่อประมาณการเวลาที่ต้องมีการปรับสภาพตัวเร่งปฏิกิริยา (Regeneration)
2. ขยายขนาดการปรับปรุงคุณภาพของน้ำมันปลาโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์แบบเบดนิ่งที่บรรจุเอนไซม์ไลเปสที่ถูกยึดตรึงบน Alginate ที่มีการเติม Gelatin และ Glutaraldehyde
3. ศึกษาการแยกเอกรดไขมันไม่อิ่มตัว ω -3 ออกจากน้ำมันปลาที่ผ่านการปรับปรุงคุณภาพ
4. ศึกษาการเพิ่มร้อยละของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ω -3 ในน้ำมันปลาเพิ่มเติมผ่านปฏิกิริยา Transesterification



บรรณานุกรม

- J. A. Arcos, H. S. Garcia and C. G. Hill Jr. (2000), Regioselective analysis of the fatty acid composition of triacylglycerols with conventional high-performance liquid chromatography, *JAOCS*, 77 , 507–512.
- J. E. Bailey and D. F. Ollis, *Biochemical Engineering Fundamentals*, McGraw-Hill, New York, 2nd edition, 1996.
- E. H. Belarbi, E. Molina and Y. Chisti (2000), A process for high yield and scaleable recovery of high purity eicosapentaenoic acid esters from microalgae and fish oil, *Enzyme and Microbial Technology* 26, 516–529.
- J. C. Bonnet, V. D. Sidwell and E. G. Zook (1974). Chemical and nutritive values of several fresh and canned finfish, crustaceans, and mollusks. Part II. Fatty acid composition. *Mar. Fish. Rev.* 36(2), 8-14.
- J. E. Breirik and C. G. Haroldsson, US Patent 5,945,318 (1999).
- G. F. Bicker, *Immobilization of Enzymes and Cells*, Humana Press, Totowa, NJ, 1997.
- S. Chantachum, S. Benjakul and N. Sriwirat (2000), Separation and quality of fish oil from pre-cooked and non pre-cooked tuna heads, *Food Chemistry*, 69, 289–294.
- G. Crough (1991), Recent Developments in the Tuna Industry of Thailand, *Infofish International*, 5/91, 25-28.
- A. Dyal, K. Loos, M. Noto, S. W. Chang, C. Spagnoli, K. V. P. M. Shafi, A. Ulman, M. Cowman, and R. A. Gross (2003), Activity of *Candida Rugosa* Lipase Immobilized on g-Fe₂O₃ Magnetic Nanoparticles, *J. Am. Chem. Soc.*, 125, 1684-5.
- N. W. Fadnavis; G. Sheelu; B. M. Kumar; M. U. Bhalerao; A. A. Deshpande (2003), Gelatin blends with alginate: gels for lipase immobilization and purification, *Biotechnology progress*, 19(2), 557-64.
- K. Hidajat, C. B. Ching and M. S. Rao (1995), Preparative-scale liquid chromatographic separation of ω -3 fatty acids from fish oil sources, *Journal of Chromatography A*, 702, 215-221.
- M. D. Jonzo, A. Hiol, I. Zagol, D. Druet and L. C. Comeau (2000), Concentrates of DHA from fish oil by selective esterification of cholesterol by immobilized isoforms of lipase from *Candida rugosa*. *Enzyme and Microbial Technology*, 27, 443–450.
- J. E. Kinsella, *Seafood and Fish Oils in Human Health and Disease*, Marcel Dekker, New York, 1987.

- W.-C. Ko, H.-J. Wang, J.-S. HWANG and C.-W. Hsieh (2006), Efficient Hydrolysis of Tuna Oil by a Surfactant-Coated Lipase in a Two-Phase System, *J. Agric. Food Chem.*, 54, 1849 - 1853.
- R. S. Lee and M. Karel, *Omega-3 Fatty Acid in Health and Disease*, Marcel Dekker, New York, 1990.
- N. Gamez-Meza, J. A. Noriega-Rodrigueza, L. A. Medina-Juarez, J. Ortega-Garcia, J. Monroy-Rivera, F. J. Toro-Vazquez, H. S. Garcia and O. Angulo-Guerrero (2003), Concentration of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid from fish oil by hydrolysis and urea complexation, *Food Research Inter.*, 36, 721–727
- S. C. Mohapatra and J. T. Hsu (1999), Optimizing lipase activity, enantioselectivity, and stability with medium engineering and immobilization for β -blocker synthesis, *Biotechnol. Bioeng.*, 64, 213–220.
- A. P. Simopoulos (1991), Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development, *Am. J. of Clin. Nutr.* 54(3), 438-463.
- S. Srikumraitong, R. Narkdee, J. Aiemwat, S. Arsa, P. Jenwanichbunjakul and P. Laichutia, n-3 PUFA from stick water of tuna canning industry, in *Report on Development of Value-added Products from Fish Waters*, Thailand Institute of Science and Technological Research, Bangkok, 1995.
- W. Yongmanitchai and O. P. Ward (1989), Omega-3 fatty acids: alternative sources of production, *Proc. Biochem.*, 24, 117–125.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ผลการหาค่า Activity ของอนุโซลไพลอสอิสระและที่ถูกยึดตรึงบน Alginate

| เวลา (นาที) | ปริมาณ 0.01 M NaOH ที่ใช้ในการไตเตรท (ml) | | | | | |
|-------------|---|--------------------------|-------------------------|-------------------------|---|---|
| | ไพลอสอิสระ | 0.05 M CaCl ₂ | 0.1 M CaCl ₂ | 0.5 M CaCl ₂ | 0.15 M CaCl ₂ ที่มีการเติม Gelatin / Glutaraldehyde สำหรับปฏิกิริยารั้งที่ 1 | 0.15 M CaCl ₂ ที่มีการเติม Gelatin / Glutaraldehyde สำหรับปฏิกิริยารั้งที่ 2 |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1 | 1.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.4 | 0.35 |
| 2 | 0.9 | 0.1 | 0.1 | 0.15 | 0.45 | 0.4 |
| 5 | 1.4 | 0.1 | 0.15 | 0.2 | 0.5 | 0.5 |
| 30 | 1.8 | 0.15 | 0.2 | 0.25 | 0.8 | 0.7 |

ตารางที่ 2 ผลการหาค่า Activity ของอนไซม์ไลเปสอิสระและที่ถูกยึดตรึงบน Ion Exchange Resin (Amberlite IRA-96)

| เวลา (นาที) | ปริมาณ 0.01 M NaOH ที่ใช้ในการไตเตรท (ml) | | | | | | |
|-------------|---|--|--|----------------------|----------------------|--|--|
| | ไลเปสอิสระ | ใน Phosphate buffer, pH 7.2 ครั้งที่ 1 | ใน Phosphate buffer, pH 7.2 ครั้งที่ 2 | ในน้ำกลั่นครั้งที่ 1 | ในน้ำกลั่นครั้งที่ 2 | เติม Arabic gum ใน Phosphate buffer, pH 7.2 ครั้งที่ 1 | เติม Arabic gum ใน Phosphate buffer, pH 7.2 ครั้งที่ 2 |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1 | 1.1 | 0.7 | 0.6 | 0.3 | 0.4 | 0.625 | 0.55 |
| 2 | 0.9 | 0.9 | 0.65 | 0.4 | 0.45 | 0.7 | 0.65 |
| 5 | 1.4 | 1.2 | 0.7 | 0.5 | 0.5 | 0.75 | 0.5 |
| 30 | 1.8 | 1.7 | 0.725 | 0.55 | 0.55 | 1.6 | 1.5 |



ตารางที่ 3 ผลการหาค่าปริมาณของกรดไขมันอิสระและร้อยละของ DHA โดยน้ำหนักของน้ำมันปลาหลังผ่านเครื่องปฏิกรณ์แบบเบดนิ่งที่บรรจุเอนไซม์ที่ถูกยึดตรึงบน Alginate และ Ion Exchange Resin (Amberlite IRA-96)

| Ion Exchange Resin | | | | Alginate Bead | | | |
|----------------------|--|-----------------------------------|--|----------------------|--|-----------------------------------|--|
| Retention time (min) | ปริมาตร 0.01 M NaOH ที่ใช้ในการไทเทรต (ml) | ร้อยละของกรดไขมันอิสระในน้ำมันปลา | ร้อยละของกรดไขมัน DHA ในน้ำมันปลา (GC) | Retention time (min) | ปริมาตร 0.01 M NaOH ที่ใช้ในการไทเทรต (ml) | ร้อยละของกรดไขมันอิสระในน้ำมันปลา | ร้อยละของกรดไขมัน DHA ในน้ำมันปลา (GC) |
| 0 | 0 | 0 | 33.4268 | 0 | 0 | 0 | 32.3248 |
| 5.38 | 0.65 | 1.274488 | 27.6642 | 22 | 1.4875 | 2.916616 | 36.7761 |
| 23.78 | 1.5375 | 3.014653 | 34.3248 | 30 | 1.8125 | 3.553859 | 44.1839 |
| 40 | 1.783333 | 3.496671 | 31.3909 | 65 | 2.975 | 5.833231 | 43.3362 |



ผลการฉีด Chromatogram ของน้ำมันปลา



ผลการฉีด Chromatogram ของน้ำมันปลา (ต่อ)



ผลการฉีด Chromatogram ของน้ำมันปลาที่ผ่านการทำปฏิกิริยาด้วยไลเปสอิสระ



ผลการฉีด Chromatogram ของน้ำมันปลาที่ผ่านการทำปฏิกิริยาด้วยไลเปสอิสระ (ต่อ)



ผลการฉีด Chromatogram ของน้ำมันปลาที่ผ่านการทำปฏิกิริยาด้วยไลเปสที่ถุกยึดตรึงบน Alginate



ผลการฉีด Chromatogram ของน้ำมันปลาที่ผ่านการทำปฏิกิริยาด้วยไลเปสที่ถูกยึดตรึงบน Alginate (ต่อ)



ผลการฉีด Chromatogram ของน้ำมันปลาที่ผ่านการทำปฏิกิริยาด้วยไลเปสที่ถูกยึดตรึงบน Ion exchange resin



ผลการหีด Chromatogram ของน้ำมันปลาที่ผ่านการทำปฏิกิริยาด้วยไลเปสที่ถูกยึดตรึงบน Ion exchange resin (ต่อ)



ประวัตินักวิจัย

นายธีระสุด สุขกำเนิด เกิดเมื่อวันที่ 28 พฤศจิกายน พ.ศ. 2516 ณ กรุงเทพมหานคร นายธีระสุด สุขกำเนิด สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต (วิศวกรรมเคมี) (เกียรตินิยมอันดับ 2) จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เมื่อปี พ.ศ. 2536 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาโท Master of Science จาก Lehigh University ปี พ.ศ. 2539 และสำเร็จการศึกษาระดับปริญญาเอก Doctor of Philosophy จาก Lehigh University ปี พ.ศ. 2544 นายธีระสุด สุขกำเนิด เริ่มเป็นอาจารย์ประจำสาขาวิชาวิศวกรรมเคมี ม.เทคโนโลยีสุรนารี ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2543 ปัจจุบันดำรงตำแหน่งหัวหน้าสาขาวิชาวิศวกรรมเคมี ม.เทคโนโลยีสุรนารี 111 ถ.มหาวิทยาลัย ต.สุรนารี อ.เมือง จ.นครราชสีมา 30000

นายธีระสุด สุขกำเนิดมีผลงานวิจัยที่ได้เผยแพร่ในวารสารวิชาการและการประชุมวิชาการต่างๆ ดังนี้

T. Sookkumnerd, J. T. Hsu, and Y. Ito, Gradient Formation in Membrane Unit for Differential Precipitation of Proteins. *AIChE Journal*, **46**, 1191-1200, 2000.

T. Sookkumnerd, and J. T. Hsu, Purification of PEG-Protein Conjugates by Countercurrent Distribution in Aqueous Two-Phase Systems. *Journal of Liquid Chromatography*, **23**, 497-503, 2000.

T. Sookkumnerd, J. T. Hsu and Y. Ito, Purification of PEG-Protein Conjugates by Centrifugal Precipitation Chromatography. *Journal of Liquid Chromatography*, **23**, 1973-1979, 2000.

T. Sookkumnerd, P. P. Hsu, J. T. Hsu and Y. Ito, Shear Stress and Precipitation Effect on Enzymatic Activity of α -chymotrypsin in Centrifugal Precipitation Chromatography. *Journal of Liquid Chromatography*, **24**, 945-955, 2001.

P. Tomanee, T. Sookkumnerd and Hsu, J. T., Mathematical Study on Gradient Formation of Cetyltrimethylammonium Bromide in Centrifugal Precipitation Chromatography, *J. Chin. Inst. Eng.*, **28** (7), 1053-1060, 2005.

T. Sookkumnerd, and P. Chuaohuymak, Kinetics of Homogeneous Transesterification Reaction of Palm oil and Methanol, *TICHe Annual Meeting 2005*, Pattaya, October 27th -28th, 2005.

T. Sookkumnerd, G. Sirijeerachai, R. Kiattikomol, and B. Wichitsathian, Modeling and Simulation of a Salt Crystallization in a Solar Evaporator, *International Conference on Green and Sustainable Innovation*, Chiang Mai, November 29th – December 1st, 2006