

Thesis Title Methanolysis of Triglycerides by Lipase from *Carica papaya* Latex for Biodiesel Fuel Synthesis

Author Ms. Porntipa Angkanurukpun

Degree Doctor of Philosophy (Biotechnology)

Thesis Advisory Committee

Assoc. Prof. Dr. Pawinee Kanasawud Chairperson

Asst. Prof. Dr. Sirirat Saraweg Member

Lect. Dr. Pensiri Sriburi Member

ABSTRACT

Carica papaya lipase (CPL) was prepared by separating insoluble part of latex and yielded enzyme powder 5% w/w of latex. The enzyme possessed 4.32% of water content, 0.448 of water activity and catalyzed the best hydrolysis of olive oil in buffer solution pH 7 at 55°C with activity of 1,083±55 u/g. CPL catalyzed the ethanolysis of triglyceride better than that of methanolysis and demonstrated the specificity on fatty acids of triolein > tripalmitin > tristearin. Methanolysis of CPL-catalyzed triolein produced only 3.6% methyl oleate. The activity on methanolysis of CPL was improved through washing enzyme with *i*-propanol and *t*-butanol. The *i*-propanol washed CPL (iPCPL) catalyzed methanolysis better than those from native CPL and *t*-butanol washed CPL of six folds and one fold, respectively. The maximum methanolysis of triolein by 0.5 g of iPCPL was obtained at 37°C for 24 h using a triolein:methanol molar ratio of 1:4 and 23% of methyl esters was achieved. Incorporation of solid-state buffers could not increase the formation of methyl esters. Water addition of 5-20% either by volume of the reaction mixture or by weight of the enzyme lowered the production of methyl esters. Adding organic solvents yielded the content of methyl esters approximately the same as that produced from the solvent-free reaction. Palm oil composed of 40.8% palmitic acid, 48.1% oleic acid, 0.57% stearic acid, 1% myristic acid and 9.52% linoleic acid was used in the methanolysis instead of triolein for biodiesel fuel synthesis. The total methyl esters of about 21%, consisting of 11.4% methyl palmitate, 7.9% methyl oleate and 1.7% methyl linoleate were produced.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ เมธานอลิซิสของไตรกลีเซอไรด์โดยไลเปสจากยางมะละกอเพื่อสังเคราะห์
เชื้อเพลิงไบโอดีเซล

ผู้เขียน นางสาวพรทิพา อังคนุรักษ์พันธุ์

ปริญญา วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ. ดร. ภาวณี คณาสวัสดิ์

ประธานกรรมการ

ผศ. ดร. ศิริรัตน์ สาระเวก

กรรมการ

อ. ดร. เพ็ญศิริ ศรีบุรี

กรรมการ

บทคัดย่อ

ไลเปสยางมะละกอ (CPL) ถูกเตรียมโดยการแยกเอาส่วนที่ไม่ละลายออกจากยางมะละกอ และทำให้ได้ผงเอนไซม์ 5% โดยน้ำหนักของยาง เอนไซม์มีปริมาณน้ำ 4.32% แอคติวิตีน้ำ 0.448 และเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันมะกอกได้ดีที่สุดในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 7 ที่ 55°C ด้วยแอคติวิตี $1,083 \pm 55$ ยูนิตต่อกรัมเอนไซม์ CPL เร่งเอธานอลิซิสของไตรกลีเซอไรด์ได้ดีกว่า เมธานอลิซิสและแสดงความจำเพาะต่อกรดไขมันของไตรโอเลอิน > ไตรปาล์มมิทิน > ไตรสเตียรีน สำหรับเมธานอลิซิสของไตรโอเลอินที่เร่งด้วย CPL ทำให้เกิดเมธิลเอสเตอร์เพียง 3.6% แอคติวิตี เมธานอลิซิสของ CPL ปรับปรุงได้โดยการล้างเอนไซม์ด้วยไอโซโพรพานอลและที-บิวทานอล CPL ที่ล้างด้วยไอโซโพรพานอล (iPCPL) เร่งเมธานอลิซิสได้ดีกว่า CPL ปกติและ CPL ที่ล้างด้วย ที-บิวทานอลเท่ากับ 6 และ 1 เท่า ตามลำดับ เมธานอลิซิสสูงสุดของไตรโอเลอินโดย iPCPL 0.50 กรัม เกิดที่ 37°C ในเวลา 24 ชั่วโมง โดยใช้อัตราส่วนโมลาร์ของไตรโอเลอิน:เมธานอลปราศจากน้ำ 1:4 และได้เมธิลเอสเตอร์ 23% การเติมบัฟเฟอร์ที่มีสถานะของแข็งไม่ช่วยเพิ่มการเกิดของเมธิลเอสเตอร์ การเติมน้ำ 5-20% โดยปริมาตร ของสารละลายปฏิกิริยาหรือโดยน้ำหนักของเอนไซม์ ทำให้การผลิตเมธิลเอสเตอร์ลดลง การเติมตัวทำละลายอินทรีย์ทำให้ได้เมธิลเอสเตอร์ใกล้เคียงกับปฏิกิริยาที่ไม่ได้เติมตัวทำละลายอินทรีย์ น้ำมันปาล์มที่ประกอบด้วยกรดปาล์มมิติก 40.8% กรดโอเลอิก 48.1% กรดสเตียริก 0.57% กรดไมริสติก 1% และกรดไลโนลินิก 9.52% ถูกนำมาใช้แทนไตรโอเลอิน สำหรับการสังเคราะห์เชื้อเพลิงไบโอดีเซล และเกิดการผลิตเมธิลเอสเตอร์โดยรวมประมาณ 21% ซึ่งประกอบด้วยเมธิลปาล์มมิเทต 11.4% เมธิลโอเลอิก 7.9% และเมธิลไลโนลิก 1.7%