T 160498

การคัดเลือกเชื้อ *Bacillus* spp. ที่ผลิตเอนไซม์ไลเปสที่มีความสามารถในการย่อยน้ำมันปาล์ม โดยพิจารณาจากกิจกรรมเอนไซม์สูงสุดในการย่อยน้ำมันปาล์ม ในสภาวะเป็นด่าง รวมถึงการทดสอบประสิทธิภาพของเอนไซม์ไลเปสในการทำงานและเสถียรภาพในสภาวะที่มีสารซักล้างชนิดต่างๆ พบว่าจาก *Bacillus* ทั้งหมด 27 สายพันธุ์ *Bacillus* sp. A12 มีศักยภาพสูงสุด ที่ความเข้มข้นของสารซักล้างร้อยละ 1.0 ไลเปสที่ผลิตจากเชื้อ A12 สามารถทนต่อสารซักล้างได้ทุกชนิด แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารซักล้างเป็นร้อยละ 5.0 ปรากฏว่ากิจกรรมของไลเปสเหลือน้อยกว่าร้อยละ 6.0 ในสารซักล้างชนิดผง P1 (บรีส เพาเวอร์), P2 (แฟ็บ เฟอร์เฟค), P3 (เปาแฮนด์ฟอร์) และชนิดน้ำ L1 (แฟ็บเพอร์เฟคชนิดน้ำ) และ L4 (โฮม) ขณะที่ไลเปสมีเสถียรภาพสูงในสารซักล้างชนิดน้ำ L2 (ไฟน์ไลน์) และ L3 (แวนิช) โดยเหลือกิจกรรมมากถึงร้อยละ 11.0 และ 33.0 ตามลำดับ เมื่อแช่ไว้ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง เมื่อศึกษาคุณสมบัติต่างๆ ของเอนไซม์ พบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของ crude lipase คือที่พีเอช 10 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ขณะที่เอนไซม์มีเสถียรภาพต่อพีเอช และอุณหภูมิในช่วงกว้างระหว่าง พีเอช 6-10 และอุณหภูมิ 30-60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ตามลำดับ crude lipase ถูกยับยั้งกิจกรรมด้วย 1 mM PMSF และ 10 mM EDTA และต้องการอิออนโลหะ Ca^{2+} Mn^{2+} Mg^{2+} และ Co^{2+} สำหรับคืนกิจกรรมของเอนไซม์ ขณะที่ Cu^{2+} Fe^{2+} และ Zn^{2+} ไม่ส่งเสริมกิจกรรมเอนไซม์ Ca^{2+} และ Mg^{2+} ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ช่วยให้เสถียรภาพของไลเปสเพิ่มขึ้น โดยเสถียรภาพของไลเปสที่มี Ca^{2+} และ Mg^{2+} เท่ากับร้อยละ 105 และ 95 ตามลำดับ ขณะที่ชุดควบคุมมีเสถียรภาพเท่ากับร้อยละ 90 เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ไลเปสสามารถทำงานในสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ Triton X-100 Tween-20

และ crude protease จาก *Bacillus* sp. B12 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 ได้ ขณะที่ Tween-80 และ sodium dodecyl sulfate ร้อยละ 1.0 ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ เมื่อทดสอบประสิทธิภาพในการย่อยน้ำมันชนิดต่างๆ พบว่า crude lipase จาก *Bacillus* sp. A12 มีความสามารถในการย่อยน้ำมันที่นำมาทดสอบได้ทุกชนิดโดยย่อยน้ำมันรำข้าวได้ดีที่สุด รองลงมาได้แก่ น้ำมันปาล์ม น้ำมันข้าวโพด น้ำมันทานตะวัน น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันมะกอก น้ำมันหมู และน้ำมันมะพร้าว ตามลำดับ

จากการซักผ้าฝ้ายดิบสีขาวที่เปื้อนน้ำมันปาล์ม พบว่าผ้าสกปรกที่ซักด้วยสารซักล้าง L2 ร่วมกับ crude lipase จาก *Bacillus* sp. A12 สามารถขจัดคราบน้ำมันปาล์มได้สูงสุดที่ร้อยละ 29.0 เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้เฉพาะสารซักล้างอย่างเดียว (ร้อยละ 12.0) และไม่ได้ใช้ทั้งสารซักล้างและเอนไซม์ (ร้อยละ 4.0) แสดงให้เห็นว่าไลเปสที่เติมลงในสารซักล้างชนิด L2 ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการขจัดคราบน้ำมันปาล์มได้ เมื่อเปรียบเทียบการซักผ้าฝ้ายดิบสีขาวที่เปื้อนเลือดผสมน้ำมันปาล์ม พบว่า crude lipase จาก *Bacillus* sp. A12 และ crude protease จาก *Bacillus* sp. B12 ที่เติมลงในผ้าที่มีสารซักล้างชนิด L2 มีประสิทธิภาพในการขจัดคราบสกปรกได้สูงสุด โดยทำให้น้ำหนักของคราบเลือดวัวผสมน้ำมันปาล์มลดลงถึง 0.19 กรัม (ร้อยละ 48.71) และมีความขาวสะอาดมากที่สุด โดยให้ค่าความขาวสว่าง 77.93 ขณะที่การใช้สารซักล้างร่วมกับเอนไซม์โปรตีเอสเพียงอย่างเดียวให้ค่าความขาวสว่าง 65.03 ส่วนการใช้สารซักล้างร่วมกับเอนไซม์ไลเปสเพียงอย่างเดียวให้ค่าความสว่าง 61.77 การใช้เฉพาะสารซักล้างอย่างเดียวให้ค่าความสว่าง 56.81 และไม่ได้ใช้ทั้งสารซักล้างและเอนไซม์ให้ค่าความสว่าง 52.46 นอกจากนี้ยังพบว่าผ้าสกปรกที่ซักด้วยสารซักล้างร่วมกับ crude lipase จาก *Bacillus* sp. A12 และ crude protease จาก *Bacillus* sp. B12 ให้ค่าความเป็นสีแดงลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับผ้าสกปรกที่ซักด้วยสารซักล้างอย่างเดียว แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ไลเปสช่วยส่งเสริมการทำงานของสารซักล้างและเอนไซม์โปรตีเอส ดังนั้นจึงมีแนวโน้มที่จะนำ crude lipase จาก *Bacillus* sp. A12 ไปประยุกต์ใช้ในสารซักล้างได้

Abstract

TE160498

Selection of *Bacillus* sp. from 27 isolates which produce lipase based on the maximum activity of lipase was conducted to hydrolyse palm oil at an alkaline condition and the effect of detergents on enzyme efficiency was investigated. *Bacillus* sp. A12 was the best strain among all the isolates. The strain A12 crude lipase was highly stable in 1.0% commercial detergents. However, when the concentration of detergents increased to 5.0%, lipase activity decreased to less than 6.0% in powdered detergents such as P1 (Breeze power), P2 (Fab perfect), P3 (Pao handforce) and liquid detergent such as L1 (Fab perfect) and L4 (Home). Crude lipase showed high stability in liquid detergents such as L2 (Fine line) and L3 (Vanish) at 11.0% and 33.0%, respectively at 50 ^{0}C for 1 hr. The pH and temperature optima for palm oil hydrolysis were pH 10 and 60^{O}C and the crude lipase was stable in the broad pH range of 6 to 10 and temperature of 30 to 60^{O}C for 1 hour. The enzyme was strongly inhibited by 1 mM PMSF and 10 mM EDTA. The enzyme required metal ions such as Ca^{2+}, Mn^{2+}, Mg^{2+} and Co^{2+} for its activity. The enzyme was not affected by Cu^{2+}, Fe^{2+} and Zn^{2+}. At 10 mM Ca^{2+} and Mg^{2+} the stability of lipase was improved from 90% to 105% and 90% to 95%, respectively at 60 ^{0}C for 1 hr. It was also inhibited by sodium dodecyl sulfate (1.0%) and Tween-80 (1.0%). Hydrogen peroxide (1.0%), TritonX-100 (1.0%), Tween-20 (1.0%) and crude protease from *Bacillus* sp. B12 did not totally inactivate the lipase activity. The crude lipase from *Bacillus* sp. A12 showed the highest rate of hydrolysis of rice bran oil, followed by palm oil, corn oil, sunflower oil, soy bean oil, olive oil, lard oil and coconut oil.

To evaluate the lipase action in improving the washing efficiency of the detergents, the pieces of white cotton cloth soiled with palm oil stain were washed with detergents (L2) in the presence of the crude lipase from *Bacillus* sp. A12. It showed increases in the efficiency of removing palm oil stain (29.0%) when compared to the washing with detergents L2 (12.0%) and only water (4.0%). The pieces of white cotton cloth soiled with cow blood mixed with palm oil stain were washed with detergent (L2) in the presence of both the crude lipase from *Bacillus* sp. A12 and crude protease from *Bacillus* sp. B12. It showed the increase in bright values (77.93) when compared to the washing with crude protease and detergent (65.03), crude lipase and detergent (61.77), water and detergent (56.81) and only water (52.46). In addition, the red values of the soiled cloths were also reduced when compared to the washing only with detergents L2. Therefore, crude lipase from *Bacillus* sp. A12 is a good candidate to be applied in laundry detergent.