บทคัดย่อ

T138135

น้ำมันปลาทูน่ามีองค์ประกอบของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงกลุ่ม ω-3 (ω-3 Polyunsaturated Fatty Acids, ω-3 PUFAs) โดยเฉพาะกรดอีพีเอ (Eicosapentaenoic acid, EPA) และกรดดีเอชเอ (Docosahexaenoic acid, DHA) ในปริมาณสูง ซึ่ง EPA และ DHA มีประโยชน์ทั้งในด้านที่มีคุณค่าทางโภชนาการและการแพทย์ จึงมีการศึกษาเพื่อเพิ่มความเข้มข้นของ ω-3 PUFAs ในน้ำมันปลาทูน่าโดยการใช้เอนไซม์ไลเปสเร่งปฏิกิริยา น้ำมันปลาทูน่าที่ใช้ในการทดลองนี้ได้จากการบีบอัดส่วนหัวของปลาทูน่าพันธุ์ Skipjack แล้วทำให้บริสุทธิ์ มีองค์ประกอบของไตรกลีเซอไรด์ร้อยละ 99.5 และมีปริมาณ EPA และ DHA เท่ากับร้อยละ 6.42 และ 27.18 ของกรดไขมันทั้งหมดตามลำดับ เอนไซม์ไลเปสที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ ไลเปส PS (*Pseudomonas sp.*) และไลเปส D (*Rhizopus delemar*) ถูกดูดซับทางกายภาพบนแอคคูเรล มีค่ากิจกรรมเอนไซม์ที่ถูกตรึง เท่ากับ 0.94 และ 1.45 ยูนิตต่อมิลลิกรัมเอนไซม์ตรึงรูป ตามลำดับ และ Lipozyme® IM มีค่ากิจกรรมเอนไซม์ เท่ากับ 0.13 ยูนิตต่อมิลลิกรัมเอนไซม์ตรึงรูป

การเพิ่มความเข้มข้นของ ω-3 PUFAs ในน้ำมันปลาทูน่าโดยใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปในการทดลองนี้ แบ่งเป็น 3 ขั้นตอน ขั้นตอนที่ 1 คือ ใช้เอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูปเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสของน้ำมันปลาทูน่าเพื่อเพิ่มความเข้มข้นของ ω-3 PUFAs ในส่วนของกรดไขมันอิสระ (FFA-PS) สภาวะที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยา คือ น้ำมันปลาทูน่าและน้ำ 1.5:1 น้ำหนักต่อน้ำหนัก (ปริมาณน้ำร้อยละ 40 ของน้ำหนักส่วนผสม) เอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูป 30 ยูนิตต่อกรัมส่วนผสม ที่ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเกิด FFA-PS เท่ากับร้อยละ 79.95 โดยมีปริมาณ ω-3 PUFAs เท่ากับร้อยละ 36.58 ซึ่งคิดเป็น % recovery ของ ω-3 PUFAs ในส่วนของ FFA-PS เทียบกับ ω-3 PUFAs ในน้ำมันปลาทูน่าเริ่มต้น เท่ากับร้อยละ 87.04 หลังจากนั้นใช้เอนไซม์ไลเปส D ตรึงรูปเร่งปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่นระหว่าง FFA-PS กับลอริลแอลกอฮอล์ 1:3 โมลต่อโมล ปริมาณน้ำร้อยละ 20 ของน้ำหนักส่วนผสม เอนไซม์ไลเปส D ตรึงรูป 100 ยูนิตต่อกรัมส่วนผสม ที่ 30 องศา

เซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง เพื่อเพิ่มความเข้มข้นของ ω-3 PUFAs ในส่วนของ FFA-PS ให้สูงขึ้น (เรียกว่า FFA-D) พบว่าในส่วนของ FFA-D มีปริมาณ ω-3 PUFAs เท่ากับร้อยละ 64.45 ของกรดไขมันทั้งหมด ขั้นตอนที่ 2 เป็นการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสของน้ำมันปลาทูน่าเพื่อเพิ่มความเข้มข้นของ ω-3 PUFAs ในส่วนของโมโนกลีเซอไรด์ (MG-D) ด้วยเอนไซม์ไลเปส D ตรึงรูป โดยสภาวะที่เหมาะสม คือ น้ำมันปลาทูน่าและน้ำ 1:1 น้ำหนักต่อน้ำหนัก ละลายใน Methyl-*tert*-Buthyl-Ether 1:1 น้ำหนักต่อปริมาตร เอนไซม์ไลเปส D ตรึงรูป 100 ยูนิตต่อกรัมส่วนผสม ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่าเกิด MG-D เท่ากับร้อยละ 19.89 โดยมีปริมาณ ω-3 PUFAs เท่ากับร้อยละ 56.57 ซึ่งคิดเป็น % recovery ของ ω-3 PUFAs ในส่วนของ MG-D เทียบกับ ω-3 PUFAs ในน้ำมันปลาทูน่าเริ่มต้น เท่ากับร้อยละ 33.49 และขั้นตอนสุดท้ายเป็นการเพิ่มความเข้มข้นของ ω-3 PUFAs ให้อยู่ในรูปของไตรกลีเซอไรด์ โดยใช้ MG-D และ FFA-D (1:2 โมลต่อโมล) 100 มิลลิกรัม ในเฮกเซน 2 มิลลิลิตร เอนไซม์ตรึงรูป Lipozyme® IM ร้อยละ 10 ของน้ำหนักส่วนผสม ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สามารถผลิตไตรกลีเซอไรด์ได้ร้อยละ 64.40 ซึ่งมีปริมาณ ω-3 PUFAs ร้อยละ 74.11 ของกรดไขมันทั้งหมด คิดเป็น % recovery ของ ω-3 PUFAs ในส่วนของไตรกลีเซอไรด์ เท่ากับร้อยละ 47.73

เมื่อนำเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปกลับมาใช้ในการเร่งปฏิกิริยาซ้ำโดยใช้ยูนิตต่อกรัมส่วนผสมเท่ากันในการทำปฏิกิริยาแต่ละครั้ง พบว่าเอนไซม์ไลเปส PS ตรึงรูปสามารถนำกลับมาใช้ในการเพิ่มความเข้มข้นของ ω-3 PUFAs ในส่วนของ FFA-PS เป็นครั้งที่ 4 คงเหลือกิจกรรมเท่ากับ 0.10 ยูนิตต่อมิลลิกรัมเอนไซม์ตรึงรูป ส่วนเอนไซม์ไลเปส D ตรึงรูปสามารถนำกลับมาใช้ในการเพิ่มความเข้มข้นของ ω-3 PUFAs ในส่วนของ FFA-D ได้ถึง 6 ครั้ง จึงจะทำให้กิจกรรมเอนไซม์ลดลงต่ำกว่าร้อยละ 50 ของกิจกรรมเริ่มต้น เท่ากับ 0.61 ยูนิตต่อมิลลิกรัมเอนไซม์ตรึงรูป และเมื่อนำเอนไซม์ไลเปส D ตรึงรูปกลับมาใช้ในการเพิ่มความเข้มข้นของ ω-3 PUFAs ในส่วนของ MG-D สามารถใช้ได้ 6 ครั้งเช่นกัน โดยมีกิจกรรมเอนไซม์ลดลงเหลือ 0.63 ยูนิตต่อมิลลิกรัมเอนไซม์ตรึงรูป

Abstract

TE138135

Tuna oil is rich in ω-3 polyunsaturated fatty acids (ω-3 PUFAs), especially eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) which have high nutritional quality and medical applications. These benefits suggested enriching the ω-3 PUFAs in tuna oil catalysing by lipase. Crude tuna oil was pressed from Skipjack tuna head and refined. The refined tuna oil contained 99.5% triglyceride composing of 6.42% EPA and 27.18% DHA. This work tried to use immobilized lipases to enrich the ω-3 PUFAs in tuna oil by three-step process. Two lipases, Lipase PS (*Pseudomonas sp.*) and Lipase D (*Rhizopus delemar*) were immobilized by physical adsorption on Accurel EP-100 and had hydrolytic activity of 0.94 and 1.45 U/mg of immobilized enzyme, respectively. Lipozyme® IM was also used with the activity of 0.13 U/mg of immobilized enzyme.

First step, immobilized Lipase PS was used to enrich the ω-3 PUFAs in the free fatty acid fraction (FFA-PS) by selective hydrolysis of tuna oil. The optimal conditions for hydrolysis were determined. The mixture of tuna oil and water (1.5:1 w/w) and immobilized Lipase PS 30 U/g of the reaction mixture were mixed at 45 C for 24 h. After hydrolysis, the ω-3 PUFAs recovered in the FFA fraction was 87.04%. Selective esterification of FFA-PS was then conducted at 30 C for 18 h by stirring a mixture of FFA-PS and lauryl alcohol (1:3 mol/mol), 20% water and 100 U of the immobilized Lipase D/g of the reaction mixture. The result showed that the ω-3 PUFAs content in the unesterified FFA fraction (FFA-D) could be raised from 33.58 to 64.45%. Second step, enrichment of ω-3 PUFAs in monoglyceride fraction (MG-D) was carried out by selective hydrolysis of tuna oil with immobilized Lipase D. The reaction proceeded most effectively when a mixture of tuna oil and water (1:1 w/w) in Methyl-*tert*-Buthyl Ether (1:1 weight of the reaction mixture/volume of MTBE) was reacted with 100 U of immobilized Lipase D/g of the reaction mixture at 30 C for 18 h. Under these conditions, 33.49% ω-3 PUFAs was recovered in this fraction. In the last step, selective esterification of FFA-PS with MG-D for production of triglyceride rich in ω-3 PUFAs was conducted by Lipozyme® IM. A mixture of 100 g FFA-D and MG-D (1:2 mol/mol) was dissolved in 2 ml hexane and reacted with 10% Lipozyme® IM at 55 C for 24 h. Triglyceride was produced to 64.40% and contained 74.11% ω-3 PUFAs. Furthermore, the reuse of each immobilized lipase for catalytic reactions was determined. Immobilized Lipase PS was used repeatedly 4 times with the activity of 0.10 U/mg after the forth use. Immobilized Lipase D was used for selective esterification to produce FFA-D 6 times and was also used 6 times to hydrolyse tuna oil to enrich ω-3 PUFAs in MG-D. The remained activities of immobilized Lipase D for both reactions were 0.61 and 0.63 U/mg, respectively.