

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ BGJ4480016

ชื่อโครงการ การสังเคราะห์ฟอสโฟลิปิดดัดแปลงจากน้ำมันปาล์มและน้ำมันปลาโดยเอนไซม์
ไลเปสตรึงรูปและฟอสโฟไลเปส

ชื่อนักวิจัย นางสาวสิริรุ่ง วงศ์สกุล มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
 ผศ.ดร. อรัญ หันพงศ์กิตติกุล มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

E-mail Address aran.h@psu.ac.th
 jam032@hotmail.com

ระยะเวลาโครงการ 2 ปี

การสังเคราะห์ 1,2-ไดเอซิลฟอสโฟลิปิดจากกรดไขมันและกลีเซอโรฟอสโฟลิปิดหลายชนิด ด้วยวิธีทางเคมี พบว่ามีเพียง 1,2-ไดลอริล-3-ฟอสโฟโคลีน (DLPC) เท่านั้นที่สามารถสังเคราะห์ได้ (ร้อยละ 82.3) จากนั้นจึงทำการศึกษาการดัดแปลงฟอสโฟลิปิดโดยวิธีทางเอนไซม์ 2 วิธี คือ (1) การทำปฏิกิริยาทรานเอสฟาติดิลเลชัน ระหว่าง DLPC กับเอทานอลามีนในระบบสองเฟสและในตัวทำละลายอินทรีย์ที่ปราศจากน้ำ โดยเอนไซม์ฟอสโฟไลเปสดี และ (2) การเติมกรดโอเลอิกที่ตำแหน่งที่ 1 ของ DLPC ในตัวทำละลายอินทรีย์ ด้วยเอนไซม์ไลเปสตรังรูปชนิดต่าง ๆ ที่มีการควบคุมค่ากิจกรรมของน้ำ การศึกษาการเปลี่ยนหมู่แอลกอฮอล์ระหว่าง DLPC กับเอทานอลามีนโดยใช้เอนไซม์ฟอสโฟไลเปสดีจาก *E. coli* ที่มีการแสดงออกของยีนจาก *Streptomyces antibioticus* โดยเปรียบเทียบระหว่างฟอสโฟไลเปสดีอิสระกับฟอสโฟไลเปสดีที่กระตุ้นด้วยเทคนิค salt-activation โดยเกลือโพแทสเซียมคลอไรด์ พบว่าเอนไซม์ที่ถูกกระตุ้นด้วยเทคนิค salt-activation มีค่ากิจกรรมเพิ่มขึ้น 10 ถึง 12 เท่า เมื่อเทียบเป็นปริมาณโปรตีนที่ใช้ จากการทำปฏิกิริยาในตัวทำละลายอินทรีย์ที่ปราศจากน้ำ พบว่า DLPC เปลี่ยนไปเป็น 1,2-ไดลอริล-3-ฟอสโฟเอทานอลามีนได้ภายในเวลา 12 ชั่วโมง เมื่อทำปฏิกิริยาที่ 60 องศาเซลเซียส อุณหภูมิมีผลกระทบต่อการทำปฏิกิริยาอย่างมาก มากกว่าผลของปริมาณเอนไซม์ ตัวแลกเปลี่ยนประจุบวกเรซิน และความเข้มข้นของเอทานอลามีนที่ใช้ ส่วนการทำปฏิกิริยาอะซิโดไลซิสระหว่าง DLPC กับกรดโอเลอิก พบว่าเอนไซม์ตรังรูปจาก *Thermomyces lanuginosa* (Lipozyme TL IM) ทำปฏิกิริยาและเติมกรดโอเลอิกได้สูงที่สุด เมื่อทำปฏิกิริยาในเฮกเซน ที่ 40 องศาเซลเซียส ค่ากิจกรรมของน้ำ (a_w) 0.11 และใช้กรดโอเลอิกมากเกินพอ 8 เท่า

คำหลัก ฟอสโฟลิปิด, เอนไซม์ไลเปสตรึงรูป, ฟอสโฟไลเปสดี, salt-activation, ทราน-ฟอสฟาติดิลเลชั่น

Abstract

Project Code : BGJ4480016

Project Title : Synthesis of Modified Phospholipids from Palm Oil and Tuna Oil by Immobilized Lipases and Phospholipases

Investigator : Miss Sirirung Wongsakul Prince of Songkla University
Assist.Prof.Dr Aran Hanpongkittikun Prince of Songkla University

E-mail Address : aran.h@psu.ac.th
jam032@hotmail.com

Project Period : 2 years

1,2-Diacylphospholipids were chemically synthesized from various fatty acids and glycerophospholipids. The reaction was accomplished only with the synthesis of 1,2-dilauroyl-*sn*3-phosphocholine (DLPC) (82.3%). Next, two approaches on enzymatic phospholipid modification were studied: (1) transphosphatidylation of the 1,2-dilauroyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine (DLPC) and ethanolamine in biphasic and anhydrous organic solvent systems by phospholipase D (PLD) and (2) incorporation of oleic acid into the *sn*1-position of DLPC in organic solvents with different immobilized lipases at controlled water activity. PLD-catalyzed head group exchange of DLPC with ethanolamine was studied using an enzyme from *Streptomyces antibioticus* expressed recombinantly in *E. coli*. A comparison of the free PLD with the biocatalyst activated by a salt-activation technique using KCl showed that the salt-activated enzyme (PLD-KCl) was 10-12 folds more active based on the amount of protein used. Thus, DLPC was quantitatively converted to 1,2-dilauroyl-*sn*-glycero-3-phosphoethanolamine in an anhydrous solvent system within 12 h at 60°C. The reaction was strongly effected by temperature rather than the amount of enzyme, cation exchange resin and concentration of ethanolamine. For the acidolysis of DLPC with oleic acid, Lipozyme TL IM showed the highest activity and incorporation of oleic acid. A quantitative incorporation was achieved at 40°C using a 8-fold molar excess of oleic acid in *n*-hexane at a water activity of 0.11.

Keywords : phosphocholine, immobilized lipases, phospholipase D, salt-activation, transphosphatidylation