

## Abstract

---

Project code: MRG5280009

Project Title: Biodiesel by biocatalyst; screening, cloning, expression and purification of lipases from microorganisms for biodiesel production

Investigator: Dr. Pakorn Winayanuwattikun

E-mail Address: wpakorn@gmail.com

Project Period: 2 years

Biodiesel has been regarded as a biodegradable and nonpolluting fuel. Enzymatic transesterification reaction for manufacturing biodiesel from vegetable oils with alcohol is an attractive approach. However, the cost of enzyme remains a barrier for its industrial implementation. The aim of this research is the screening of lipase-producing microorganisms and the studies of potential lipase-mediated biodiesel production using palm oil as substrate. A total of 360 strains of bacteria, yeasts and fungi were isolated and screened from the samples of oil-contaminated soil and waste water. Among all the screened microbes, the potential lipolytic bacterium; *Staphylococcus warneri*, unicellular yeast; *Candida rugosa* and filamentous fungus; *Fusarium solani* were selected because of their high specific activities. The lipase-producing conditions were subsequently optimized by using palm oil as an inducer and lipase activities were compared for both hydrolytic and synthetic catalysis. *Candida rugosa* lipase, which exhibited the highest potential for catalyzing the biodiesel production, was further purified and immobilized on various hydrophobic supports. The catalysis of transesterification between methanol and palm oil by the *Candida rugosa* immobilized lipases revealed that immobilized lipase from *Candida rugosa* on Sepabeads EC-OD was the most promising for further development as a biocatalyst for the application of enzyme-catalyzed biodiesel synthesis.

**Keyword:** screening, lipases, immobilization, biodiesel

## บทคัดย่อ

---

รหัสโครงการ: MRG5280009

ชื่อโครงการ: การผลิตไบโอดีเซลโดยใช้ตัวเร่งทางชีวภาพ; การคัดเลือก การโคลนนิ่ง  
การแสดงออกของยีนและการทำเอนไซม์ไลเปสจากจุลินทรีย์ให้บริสุทธิ์  
เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตไบโอดีเซล

ชื่อนักวิจัย: อ.ดร.ปกรณ วินะยานุวัติน

E-mail Address: wpakorn@gmail.com

ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี

ไบโอดีเซลเป็นพลังงานทางเลือกชนิดหนึ่งที่สามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ และ  
ไม่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม การเร่งปฏิกิริยาการผลิตไบโอดีเซลด้วยตัวเร่งชีวภาพ  
(เอนไซม์) กำลังได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก อย่างไรก็ตามราคาของเอนไซม์ยังคงเป็น  
อุปสรรคสำคัญต่อการที่จะนำไปใช้ในระดับอุตสาหกรรม ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการคัดเลือกจุลินทรีย์  
ที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไลเปสและทำการศึกษาความเป็นไปได้ที่จะนำมา  
ประยุกต์ใช้ในการผลิตไบโอดีเซลเพื่อที่จะลดค่าใช้จ่ายจากการผลิตเอนไซม์ โดยทำการคัดแยกจุลินทรีย์  
ทั้งแบคทีเรีย รา และยีสต์ทั้งหมด 360 สายพันธุ์จากแหล่งดินและน้ำที่ปนเปื้อนน้ำมัน  
พบว่า แบคทีเรีย *Staphylococcus warneri* ยีสต์ *Candida rugosa* และรา *Fusarium solani* มี  
การผลิตไลเปสสูงสุดในแต่ละชนิดของจุลินทรีย์ นอกจากนี้ได้ศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมในการ  
ผลิตไลเปสโดยใช้น้ำมันปาล์มเป็นตัวเหนียวนำ จากการศึกษาเปรียบเทียบไลเปสจากจุลินทรีย์  
ทั้ง 3 ชนิดด้วยปฏิกิริยาการสลายและการสังเคราะห์พบว่า ไลเปสจาก *Candida rugosa* มี  
ประสิทธิภาพในเร่งปฏิกิริยาสูงสุด จึงได้นำมาศึกษาต่อโดยทำให้บริสุทธิ์และตรึงรูปลงบนตัว  
จุนแบบไม่ชอบน้ำชนิดต่างๆ และได้ทำการทดสอบเอนไซม์ตรึงรูปในการเร่งปฏิกิริยาการ  
สังเคราะห์ไบโอดีเซลโดยใช้น้ำมันปาล์มและเมทานอลเป็นสารตั้งต้นพบว่า เอนไซม์ไลเปสจาก  
เชื้อ *Candida rugosa* ที่ตรึงรูปบนตัวจุน Sepabeads EC-OD มีความเป็นไปได้สูงสุดที่จะ  
นำมาพัฒนาต่อเพื่อใช้เป็นตัวเร่งชีวภาพในกระบวนการผลิตไบโอดีเซล

คำสำคัญ: การคัดแยก ไลเปส การตรึงรูปเอนไซม์ ไบโอดีเซล