การคัดเลือกเอนไซม์ฟอสโฟไลเปส เพื่อใช้ขจัดยางเหนียวในน้ำมันถั่วเหลือง

สมพร คุ้มชาติ นฤมล จียโชค และ คณิต กฤษณังกูร
สายวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ราษฎร์บูรณะ กรุงเทพฯ 10140

บทคัดย่อ

น้ำมันถั่วเหลืองที่สกัดโดยใช้เฮกเซนประกอบด้วยฟอสโฟลิปิดทั้งหมดประมาณ 2.0 % ซึ่งประกอบด้วยฟอสโฟลิปิดชนิดต่างๆ ได้แก่ ฟอสฟาติดิลโคลีน 39% ฟอสฟาติดิล-เอทธานอลามีน 30% และฟอสฟาติดิลอินอซิทอล 15% ผลการทดลองขจัดฟอสโฟลิปิดด้วยเอนไซม์ฟอสโฟไลเปสซี ฟอสโฟไลเปสดี แอซิด และอัลคาไลน์ฟอสฟาเตส พบว่าเอนไซม์ดังกล่าวไม่สามารถขจัดฟอสโฟลิปิดได้ มีเพียงเอนไซม์ฟอสโฟไลเปสเอสองจาก porcine pancreas เท่านั้นที่สามารถขจัดฟอสโฟลิปิดในน้ำมันถั่วเหลืองได้อย่างมีประสิทธิภาพ เอนไซม์ฟอสโฟไลเปสเอสองสามารถไฮโดรไลซ์ฟอสโฟลิปิดในน้ำมันได้ดีในสภาวะที่ไม่มีตัวทำละลายอินทรีย์หรือตัวอนินทรีย์ จากผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสโฟลิปิดที่เหลือ หลังจากผ่านการทำปฏิกิริยากับเอนไซม์แล้ว พบว่า การไฮโดรไลซ์ฟอสโฟลิปิดของเอนไซม์มีลักษณะไม่จำเพาะเจาะจง ดังนั้นจึงคาดว่าจะสามารถใช้เอนไซม์ฟอสโฟไลเปสเอสองในการขจัดยางเหนียวแทนการใช้กรดฟอสฟอริคได้

Screening of Phospholipases for Degumming of Soybean Oil

Somporn Kumphati, Narumon Jeyashoke and Kanit Krisnangura
Biotechnology Division, School of Bioresources and Technology
King Mongkut's Institute of Technology Thonburi, Bangkok 10140

Abstract

Soybean oil extracted by hexane contained about 2.0% phospholipids of which 39% were phosphatidylcholine, 30% were phosphatidylethanolamine and 15% were phosphatidylinositol. Attempts to remove these phospholipids with phospholipase C, phospholipase D, acid and alkaline phosphatase were unsuccessful. On the other hand, phospholipase A, from porcine pancreas was very effective in removing phospholipids from soybean oil. The phospholipase A, was active in oil and could hydrolyse phospholipids without any organic or inorganic solvent. Analysis of residual phospholipids from enzymatic hydrolysis showed that the enzymes had no preference over any type of phospholipids. Thus, phospholipase A, might be a prospective enzyme for use in place of phosphoric acid as a degumming agent.

บทนำ

น้ำมันถั่วเหลืองเป็นน้ำมันที่ได้รับความนิยมในการบริโภคสูงชนิดหนึ่ง และความต้องการในการบริโภคน้ำมันถั่วเหลืองเพิ่มสูงกว่าน้ำมันพืชชนิดอื่น โดยมีรายงานว่าความต้องการในการบริโภคน้ำมันถั่วเหลืองทั่วโลกเพิ่มขึ้นจาก 13.1 ล้านเมตริกตัน เป็น 16.8 ล้านเมตริกตัน ในปี ค.ศ. 1992 [1] อาจเป็นเพราะน้ำมันถั่วเหลืองประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่จำเป็นต่อร่างกายในปริมาณค่อนข้างสูง และหากพิจารณาในแง่ของผู้ผลิต กากถั่วเหลืองและเลซิทินที่เป็นผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตน้ำมัน จัดเป็นผลพลอยได้ที่ทำรายได้ให้กับผู้ผลิตอย่างมาก ประกอบกับความต้องการของตลาดที่ค่อนข้างสูงส่งผลให้ความนิยมในการบริโภคและปริมาณการผลิตน้ำมันถั่วเหลืองเพิ่มสูงขึ้นเรื่อย ๆ

กระบวนการผลิตน้ำมันถั่วเหลืองประกอบด้วย 3 ขั้นตอนที่สำคัญ คือ 1) กระบวนการปรับสภาพ 2) กระบวนการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 3) กระบวนการทำให้บริสุทธิ์ ซึ่งเป็นหัวใจสำคัญของการผลิตน้ำมันที่มีคุณภาพสูง น้ำมันถั่วเหลืองดิบที่ถูกสกัดออกมา จะมีสารปนเปื้อนซึ่งเป็นสารชีวเคมีชนิดต่าง ๆ ในถั่วเหลืองปนเปื้อนออกมาในปริมาณมาก จึงจำเป็นต้องทำให้บริสุทธิ์ก่อนนำออกจำหน่าย ในบรรดาสารปนเปื้อนต่าง ๆ ที่อยู่ในน้ำมันถั่วเหลืองดิบ สารที่เป็นปัญหาและมีปริมาณมาก คือ ฟอสโฟลิปิด (Phospholipids) ซึ่งมีประมาณ 1-3% [2] ในกระบวนการทำให้บริสุทธิ์จะต้องขจัดฟอสโฟลิปิดออกให้ได้มากที่สุดก่อนที่น้ำมันจะผ่านไปยังขั้นตอนของการขจัดกลิ่น มิฉะนั้นอาจทำให้น้ำมันมีสีคล้ำ มีความหนืดเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับความร้อน และทำให้เกิดการสูญเสียน้ำมันบางส่วนไปในกระบวนการทำให้บริสุทธิ์

การทำน้ำมันให้บริสุทธิ์มี 2 วิธี คือ วิธีทางเคมี (Chemical Refining) และวิธีทางกายภาพ (Physical Refining) สำหรับน้ำมันถั่วเหลืองส่วนใหญ่จะใช้กระบวนการทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีทางเคมี โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ไปทำปฏิกิริยากับกรดไขมันอิสระ ซึ่งเป็นสารปนเปื้อนที่มีผลต่อกลิ่นและรสชาติของน้ำมันถั่วเหลือง แต่การใช้ด่างมีปัญหาเรื่องการสูญเสียน้ำมันโดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อน้ำมันนั้นสกัดจากถั่วเหลืองที่มีคุณภาพต่ำ นักวิจัยจึงหันมาสนใจที่จะเปลี่ยนมาใช้กระบวนการทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีทางกายภาพโดยใช้ไอน้ำ การใช้ไอน้ำขจัดกรดไขมันจะต้องทำที่อุณหภูมิสูง ดังนั้นน้ำมันที่จะขจัดกรดไขมันด้วยไอน้ำนี้จะต้องไม่มีสารฟอสโฟลิปิดเหลืออยู่ เพราะฟอสโฟลิปิดที่เหลืออยู่อาจจะทำให้น้ำมันเปลี่ยนเป็นสีคล้ำและฟอกให้ใสได้ยาก การใช้น้ำร่วมกับกรดฟอสฟอริคเข้มข้นในการขจัดฟอสฟอลิปิดในน้ำมันถั่วเหลืองจะขจัดได้ไม่หมด โดยเฉพาะอย่างยิ่งฟอสโฟลิปิดที่ไม่อมน้ำ (Non-Hydratable Phospholipids; NHP)แต่ฟอสโฟลิปิดส่วนนี้จะขจัดออกได้ด้วยด่าง ด้วยเหตุนี้การขจัดกัมในกระบวนการทางกายภาพจะต้องมีขั้นตอนการขจัดฟอสโฟลิปิดที่ไม่อมน้ำออกไป เช่น การใช้ super acid degumming เป็นต้น

การใช้เอนไซม์ฟอสโฟไลเปส และฟอสฟาเตส เป็นแนวความคิดหนึ่งที่นำมาประยุกต์ใช้ในการลดปริมาณฟอสโฟลิปิดในน้ำมันถั่วเหลือง เพราะเอนไซม์เป็นสารชีวเคมีที่มีคุณ

สมบัติในการไฮโดรไลซ์พันธะต่างๆ ในโมเลกุลของฟอสโฟลิปิด โดยไม่จำเพาะเจาะจงว่าเป็นฟอสโฟลิปิดชนิดใด ปัจจุบันงานวิจัยที่เกี่ยวกับการนำเอนไซม์มาช่วยในการขจัดยางเหนียวในน้ำมันพืชมีไม่มากนัก เหตุผลอาจเนื่องมาจากข้อจำกัดในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ในน้ำมันและข้อจำกัดเรื่องราคาของเอนไซม์ งานวิจัยที่ศึกษาถึงการนำเอนไซม์มาใช้ในการขจัดฟอสโฟลิปิดในน้ำมันถั่วเหลืองโดยตรงเป็นผลงานของ Lurgi [3] ซึ่งใช้เอนไซม์ฟอสโฟไลเปสเอสองจาก porcine pancreas ไฮโดรไลซ์ฟอสโฟลิปิดในน้ำมันถั่วเหลือง โดยได้พัฒนาถึงระดับต้นแบบซึ่งมีกำลังการผลิต 15-75 กิโลกรัมต่อวัน โดยใช้เอนไซม์เข้มข้น 700 เลซิเตสยูนิตต่อน้ำมัน 1 กิโลกรัม สามารถลดปริมาณฟอสโฟลิปิดในน้ำมันถั่วเหลืองเหลือเพียง 10 ppm เท่านั้น [4] ส่วนงานวิจัยที่เกี่ยวข้องอื่นๆ ส่วนใหญ่เป็นการศึกษาความสามารถในการไฮโดรไลซ์ฟอสโฟลิปิดชนิดต่างๆ เช่น เอนไซม์ฟอสโฟไลเปสดี ซึ่งสกัดจาก *Streptomyces prunicola* ที่สามารถเร่งปฏิกิริยาทั้งไฮโดรไลซิสและทรานซ์ฟอสฟาติดิเลชัน (Transphosphatidylation) ได้ [5] เอนไซม์ไลเปสจาก *Humicola lanuginosa*, *Rhizopus* delemar และ *Candida rugosa* สามารถไฮโดรไลซ์ฟอสฟาติดิลโคลีนในสภาวะที่มีตัวทำละลายอินทรีย์ต่างชนิดกัน และมีน้ำในปริมาณที่ต่างกันเป็นต้น ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งที่จะคัดเลือกเอนไซม์ฟอสโฟไลเปสและฟอสฟาเตสที่สามารถขจัดยางเหนียวในน้ำมันพืชได้ดี

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง

การใช้เอนไซม์ไฮโดรไลซ์ฟอสโฟลิปิดในน้ำมันถั่วเหลือง

เอนไซม์ที่ใช้ในการทดลองจากบริษัท SIGMA Chemical Co. (St. Louis, USA) ได้แก่ ฟอสโฟไลเปสเอสอง (Phospholipase A_2; PLA_2 จาก Porcine pancreas ฟอสโฟไลเปสซี (Phospholipase C; PLC) จาก *Bacillus cereus* ฟอสโฟไลเปสดี (Phospholipase D; PLD) จาก *Streptomyces chromofuscus* แอซิดฟอสฟาเตส (Acid Phosphatase) จาก *E. coli* อัลคาไลน์ ฟอสฟาเตส (Alkalinephosphatase) จาก Sweet potatoes

ในการทดลองใช้เอนไซม์แต่ละชนิดที่ความเข้มข้น 1 และ 10 ยูนิต ต่อน้ำมัน 1 มล. (ยกเว้น ฟอสโฟไลเปสดี ใช้ 1.4 และ 14 ยูนิคต่อน้ำมัน 1 มล.) ทำปฏิกริยากับน้ำมันถั่วเหลืองดิบปริมาตร 2 มล. ใช้เวลาในการทำปฏิกิริยา 10 และ 20 นาที ที่อุณหภูมิ 37°ซ ส่วนฟอสโฟไลเปสดีทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 30°ซ น้ำมันดิบที่ผ่านการทำปฏิกิริยาแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกส่วนของน้ำมันออกจากตะกอน ส่วนของน้ำมันนำไปเตรียมตัวอย่างโดยวิธีsolid phase extraction (SPE) เพื่อนำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC ส่วนของตะกอนนำไปละลายด้วยคลอโรฟอร์ม 1 มล. ก่อนนำไปทำ SPE

การเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ด้วย HPLC

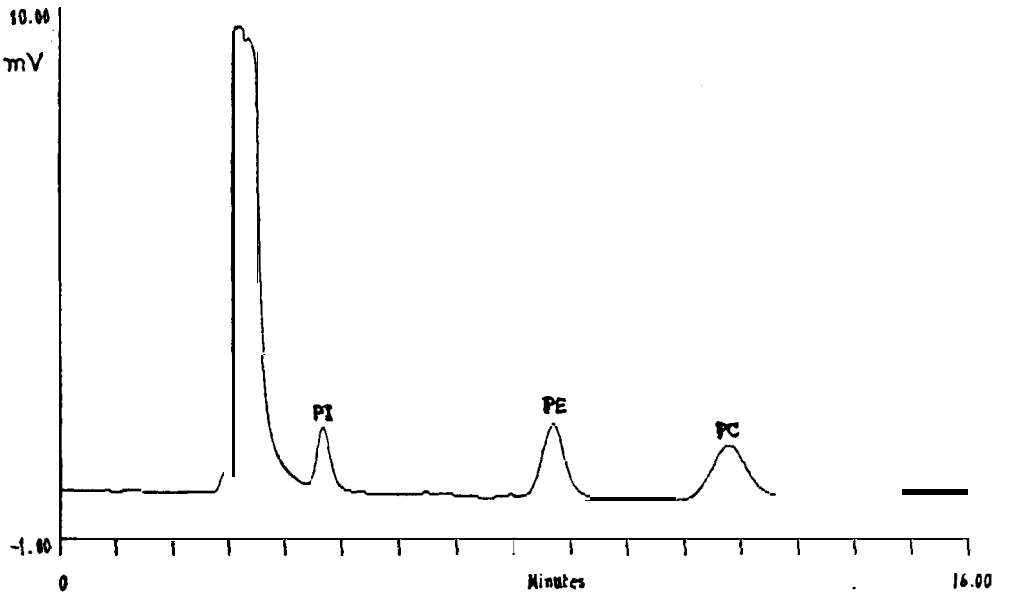
การขจัด neutral lipid ออกจากน้ำมันกระทำโดยใช้เทคนิค SPE เพราะ neutral lipid เป็นลิปิดที่เป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ในน้ำมันพืช หากมีปะปนไปในขณะที่วิเคราะห์ฟอสโฟลิปิดด้วย HPLC พีคของ neutral lipid ซึ่งมักจะถูกชะออกมาพร้อมกับพีคของตัวทำละลายอินทรีย์จะไปบดบังพีคของฟอสโฟลิปิด ทำให้ไม่สามารถวิเคราะห์ฟอสโฟลิปิดได้ ขั้นตอนการทำ SPE ทำโดยบรรจุกรดซิลิซิคเม็ด 0.5 กรัมลงใน pasteur pipette เติมน้ำมันถั่วเหลืองที่ต้องการสกัดปริมาตร 0.4 มล. ชะด้วยคลอโรฟอร์มเพื่อขจัด neutral lipid ครั้งละ 1 มล. เก็บแต่ละส่วนไปวิเคราะห์ด้วยเอชพีแอลซี เมื่อได้ปริมาตรของคลอโรฟอร์มที่เหมาะสมแล้ว เริ่มทำการทดลองใหม่ โดยใช้ตัวอย่างขนาดเท่าเดิม ชะด้วยคลอโรฟอร์มด้วยปริมาตรเท่ากับที่หาได้ในช่วงแรก จากนั้นใช้เมทานอลชะฟอสโฟลิปิดครั้งละ 1 มล. เก็บแต่ละส่วนไประเหยเมทานอลออกด้วย แก๊สไนโตรเจน แล้วจึงละลายด้วยคลอโรฟอร์ม 1 มล. นำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC เช่นกัน

สภาวะการวิเคราะห์ด้วย HPLC

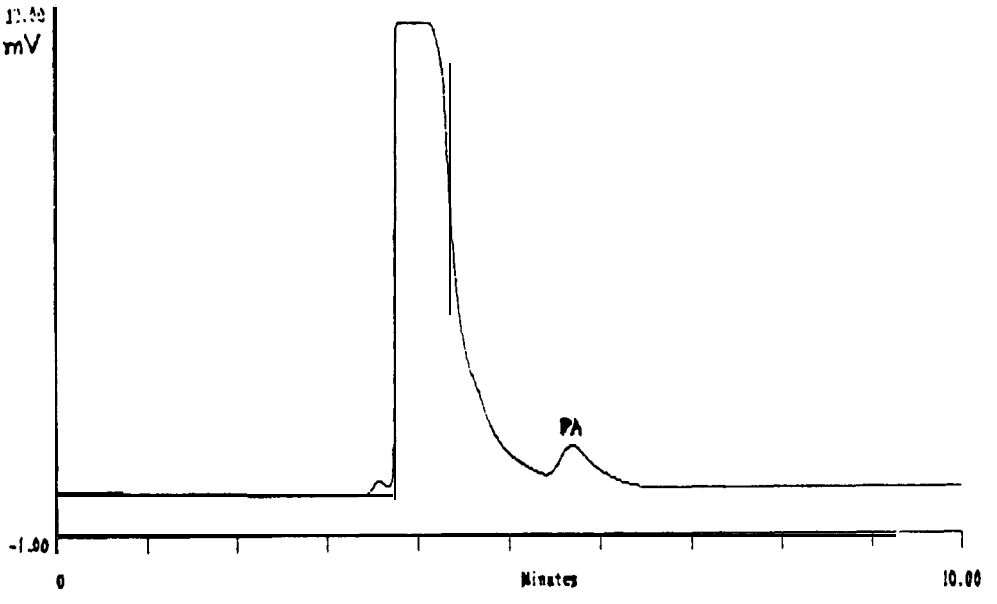
การวิเคราะห์ปริมาณของฟอสโฟลิปิดด้วย HPLC ฟอสโฟลิปิดจะถูกแยกโดยใช้คอลัมน์ขนาด 3.9 มม. x 30 ซม. บรรจุไมโครพอราซิล ชะด้วยวัฏภาคไหล 2 กลุ่ม คือ อะซีโตไนไตรล์:เมทานอล:น้ำ:กรดฟอสฟอริค 85 % อัตราส่วน 100 : 1.0 : 0.6 : 1.5 โดย ปริมาตร ใช้ในการวิเคราะห์ฟอสฟาติดิลอินอซิทอล ฟอสฟาติดิลเอทานอลามีน และฟอสฟาติดิลโคลีน ส่วนอะซีโตไนไตรล์:ไอโซโพรพานอล : กรดฟอสฟอริค 85% อัตราส่วน 100 : 0.5 : 0.05 โดยปริมาตร ใช้ในการวิเคราะห์กรดฟอสฟาติดิค โดยใช้อัตราการไหล 1 มล.ต่อนาทีปริมาตรของตัวอย่าง 10 ไมโครลิตร ตรวจวัดการดูดกลืนแสงอุลตร้าไวโอเลตของฟอสโฟลิปิดที่ความยาวคลื่น 205 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer เก็บข้อมูลและประมวลผล การวิเคราะห์ด้วยเครื่องคอมพิวเตอร์

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการใช้วัฏภาคไหล อะซิโตไนไตรล์:เมทานอล : น้ำ : กรดฟอสฟอริค 85% อัตราส่วน 100 : 1.0 : 0.6 : 1.5 โดยปริมาตร สามารถแยกฟอสฟาติดิลอินอสซิทอล ฟอสฟาติดิลเอทาน อลามีน และฟอสฟาติดิลโคลีนได้ดังรูปที่ 1 และสามารถแยกกรดฟอสฟาติดิคได้ดังรูปที่ 2 เมื่อใช้วัฏภาคไหล อะซิโตไนไตรล์ : ไอโซโพรพานอล : กรดฟอสฟาริค 85% อัตราส่วน 100 : 0.5 : 0.05 โดยปริมาตร



รูปที่ 1 โครมาโตรแกรมการแยกฟอสฟาติดิลอินอซิทอล ฟอสฟาติดิลเอทานอลามีน ฟอสฟาติดิลโคลีน ด้วยคอลัมน์ไมโครพอราซิล ขนาด 3.9 มม. × 30 ซม. ชะด้วย อะซีโตไนไตรล์:เมทานอล:น้ำ:กรดฟอสฟอริค 85 % อัตราส่วน 100:1.0:0.6: 1.5 โดยปริมาตร อัตราการไหล 1.0 มล/นาที



รูปที่ 2 โครมาโตแกรมการแยกกรดฟอสฟาติดิค ด้วยคอลัมน์ไมโครพอราซิลขนาด 3.9 มม. × 30 ซม. ชะด้วยอะซิโตไนไตรล์:ไอโซโพรพานอล:กรดฟอสฟอริค 85% อัตราส่วน 100:0.5:0.05 โดยปริมาตร อัตราการไหล 1.0 มล./นาที

เมื่อทดลองโดยใช้เอนไซม์ฟอสโฟไลเปสเอสอง ฟอสโฟไลเปสซี ฟอสโฟไลเปสดี แอซิดฟอสฟาเตส และอัลคาไลด์ฟอสฟาเตส ที่ความเข้มข้น 1 และ 10 ยูนิต ต่อน้ำมัน 1 มล. ไฮโดรไลซ์ฟอสโฟลิปิดในน้ำมันถั่วเหลืองดิบ ที่เวลา 10 และ 20 นาที (ยกเว้น ฟอสโฟไลเปสดี ใช้เวลาในการทำปฏิกิริยา 1 และ 2 ชั่วโมง ทั้งนี้ขึ้นกับแอคติวิตีของเอนไซม์ที่ระบุจากข้างขวด)

ปรากฏว่าฟอสโฟไลเปสเอสอง 10 ยูนิตต่อน้ำมัน 1 มล. สามารถไฮโดรไลซ์ฟอสโฟลิปิดชนิดต่าง ๆ ในน้ำมันถั่วเหลืองได้อย่างเห็นได้ชัดเจน คือลดลงจาก 1.32 กรัม/100 มล. เหลือ 0.32 กรัม/100 มล. และ 0.28 กรัม/100 มล. ในเวลา 10 นาที และ 20 นาที ตามลำดับ (ตารางที่ 1) และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณกรดฟอสฟาติดิค (PA) ฟอสฟาติดิลอินอซิทอล (PI) ฟอสฟาติดิลเอทานอลามีน (PE) และฟอสฟาติดิลโคลีน (PC) ในส่วนของน้ำมันและตะกอนที่ได้พบว่า ในชั้นน้ำมันที่ผ่านการทำปฏิกิริยากับเอนไซม์จะไม่พบว่ามีฟอสโฟลิปิดปนเปื้อนอยู่ ส่วนในตะกอนจะวิเคราะห์ไม่พบกรดฟอสฟาติดิค และฟอสฟาติดิลเอทานอลามีน ในขณะที่ฟอสฟาติดิลอินอซิทอล และฟอสฟาติดิลคอลีนมีปริมาณลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณที่มีในน้ำมันที่ยังไม่ผ่านการทำปฏิกิริยาใด ๆ โดยฟอสฟาติดิลโคลีนมีปริมาณลดลงมากกว่าฟอสฟาติดิลอินอซิทอล อาจเป็นเพราะฟอสโฟไลเปสเอสอง จาก porcine pancreas สามารถไฮโดรไลซ์ฟอสฟาติดิลโคลีนได้ดีกว่าฟอสฟาติดิลอินอซิทอล ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 2 ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลของ Thompson [2]ที่รายงานว่า ฟอสโฟไลเปสเอสองที่สกัดจาก porcine pancreas ไฮโดรไลซ์ไขมันที่มีคุณสมบัติเป็นกรดได้มากกว่าเช่นกรดฟอสฟาติดิค ฟอสฟาติดิลกลีเซอรอล และไดฟอสฟาติดิลกลีเซอรอล แต่ไฮโดรไลซ์ฟอสฟาติดิลโคลีนได้ช้า ดังนั้นจึงยังพบฟอสฟาติดิลโคลีน และฟอสฟาติดิลอินอซิทอลในส่วนของตะกอน ส่วนเอนไซม์ชนิดอื่นเมื่อนำมาทำปฏิกิริยาพบว่า ไม่สามารถลดปริมาณฟอสโฟลิปิดในน้ำมันถั่วเหลืองได้ ซึ่งจะเห็นได้จากการทียังคงมีฟอสโฟลิปิดปนเปื้อนอยู่ในน้ำมันที่ผ่านการทำปฏิกิริยาแล้ว

ตารางที่ 1 ปริมาณฟอสโฟลิปิดในน้ำมันถั่วเหลืองดิบ ที่ทำปฏิกิริยากับ PLA_2, PLC, PLD, Acid และ Alkaline Phosphatase ขนาด 10 ยูนิตต่อน้ำมัน 1 มล. ที่เวลาต่าง ๆ

เอนไซม์	ปริมาณฟอสโฟลิปิดหลังทำปฏิกิริยาที่เวลาต่าง ๆ (กรัม/น้ำมัน 100 มล.)		
	0 นาที	10 นาที	20 นาที
PLA,	1.32	0.32	0.28
PLC	1.32	1.02	0.99
PLD*	1.32	1.31	1.23
Acid phosphatase	1.32	1.03	1.00
Alkaline phosphatase	1.32	1.11	1.13

* ใช้เวลาในการทำปฏิกิริยา 1-2 ชั่วโมง

ตารางที่ 2 ปริมาณฟอสโฟลิปิดในน้ำมันถั่วเหลืองดิบที่ทำปฏิกิริยากับฟอสโฟไลเปสเอสอง 10 ยูนิตต่อน้ำมัน 1 มล. ที่เวลาต่าง ๆ

ฟอสโพลิปิด	ปริมาณฟอสโฟลิปิดหลังทำปฏิกิริยาที่เวลาต่าง ๆ (กรัม/น้ำมัน 100 มล.)		
	0 นาที	10 นาที	20 นาที
PA	0.1184	_a _b	_a _b
PI	0.3179	_a 0.2238[b]	_a 0.1763[b]
PE	0.3726	_a _b	_a _b
PC	0.5122	_a 0.1002[b]	_a 0.1002[b]

a = ปริมาณฟอสโฟลิปิดในน้ำมัน
b = ปริมาณฟอสโฟลิปิดในตะกอน

สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองจะเห็นว่า ฟอสโฟไลเปสเอสอง จาก porcine pancreas สามารถช่วยลดปริมาณฟอสโฟลิปิดในน้ำมันถั่วเหลืองได้ดี โดยใช้เอนไซม์ที่ความเข้มข้น 10 ยูนิตต่อน้ำมัน 1 มล. ภายในเวลา 20 นาที อุณหภูมิ 37°ซ และพีเอช 8.0 ส่วนเอนไซม์ชนิดอื่น ๆ ไม่สามารถไฮโดรไลซ์ฟอสโฟลิปิดในน้ำมันถั่วเหลืองได้ อาจเป็นเพราะสภาวะที่ไม่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ หรือเอนไซม์เหล่านั้นไม่สามารถทำงานได้ในน้ำมัน อย่างไรก็ตาม แม้ว่าเอนไซม์ฟอสโฟไลเปสเอสองจะสามารถช่วยลดปริมาณฟอสโฟลิปิดในน้ำมันได้ดี แต่การที่จะนำเอนไซม์ฟอสโฟไลเปสซึ่งมีราคาค่อนข้างสูงไปใช้ในระดับอุตสาหกรรม จะต้องคำนึงถึงความเป็นไปได้ในแง่ของต้นทุนการผลิต ดังนั้นการนำเอนไซม์ไปใช้งานจริงอาจต้องพัฒนากระบวนการผลิตเอนไซม์เพื่อลดค่าใช้จ่ายลงเสียก่อน หรือทำการตรึงเอนไซม์เพื่อจะนำกลับมาใช้ใหม่ได้สะดวก ซึ่งจะเป็นการลดต้นทุนในการผลิตน้ำมันลงทางอ้อม

เอกสารอ้างอิง

1. Wilson, R.F., 1993, "Practical Biotechnological Strategies for Improving the Quality and Value of Soybeans", INFORM, Vol. 4, No.2 pp. 193-200
2. Thomas, H.A., 198 1, "Fat and Fatty Oils" in Encyclopedia of Chemical Technology, 3rd. ed., John Wiley & Sons New York, pp.810-831
3. Buchold, H. 1992, "Enzymatic Deguming" Oil and Fats International, Issue Six, pp. 22-24
4. Juneja, L.R., Yamana, T. and Shimizu, S., 1989 "Enzymatic Method of Increasing Phosphatidylcholine Content Of Lecithin" JAOCS, Vol.66(5), pp.7 14 - 7 17
5. Haas, M.J., Scott, K.,Jun, W. and Janssen, G., 1994 "Enzymatic phosphatidylc holine Hydrolysis in Organic Solvent, An Examination of Selected Commercially Available Lipase" JAOCS Vol. 7(5), pp. 483-490