

ผลของ pH และ Ionic Strength ต่อกระบวนการอุลตราฟิเตรชันของสารละลาย Bovine Serum Albumin โดยใช้เยื่อแผ่นเซอร์โคเนีย

ทศพร ทองงามทรัพย์¹ รัตนา จิระรัตนานนท์² และ ดุษฎี อดุลภาพ³

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี บางมด กรุงเทพฯ 10140

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาผลของ pH และ ionic strength ที่มีต่อการแยกสารละลายโบวีนซีรัมอัลบูมิน (Bovine Serum Albumin, BSA) โดยเยื่อแผ่นเซอร์โคเนีย (Carbosep รุ่น M2 บริษัท Tech-Sep) ในกระบวนการอุลตราฟิเตรชัน พบว่าค่ารีเจกชันของ BSA ในแต่ละ pH (3.0-8.5) มีค่าไม่แตกต่างกันมากนักคืออยู่ในช่วง 81-89% และฟลักซ์ (F_{BSA} / F_{DI}) จะมีค่าต่ำสุดที่ pH 5 ซึ่งเป็นจุดที่ใกล้ isoelectric point (iep) ของ BSA เนื่องจาก BSA จะมีค่าการละลายต่ำสุด ดังนั้น pH ที่เหมาะสมควรอยู่ห่างจากจุด iep แต่ไม่ทำให้ BSA เสียสภาพ คือที่ pH ประมาณ 6.5-7.5 เยื่อแผ่น M2 ในระบบ UF มีความสามารถในการกักโซเดียมคลอไรด์ได้โดยค่ารีเจกชันของโซเดียมคลอไรด์ในงานวิจัยนี้อยู่ในช่วง 2.16-16.01% การศึกษาผลของ ionic strength โดยการเติมโซเดียมคลอไรด์ลงในสารละลาย BSA ที่ pH ต่างๆ พบว่าไม่มีผลต่อค่ารีเจกชันของ BSA มากนัก ซึ่งการเติมเกลือดังกล่าวมีข้อดีคือ ช่วยเพิ่มความสามารถในการละลายของ BSA ทำให้การดูดซับของ BSA บนเยื่อแผ่นลดลง แต่ข้อเสียที่มากกว่าคือ F_{BSA} / F_{DI} มีค่าลดลงในทุกๆ pH เนื่องจากรีเจกชันของโซเดียมคลอไรด์ทำให้ค่าความดันคร่อมออสโมติก ($\Delta\pi$) สูงขึ้น ส่งผลให้ประสิทธิภาพของระบบ UF ลดลง

คำสำคัญ : สารละลาย BSA/ pH/ ionic strength/

เยื่อแผ่นเซอร์โคเนีย/ กระบวนการอุลตราฟิเตรชัน

¹ นักศึกษาปริญญาโท ภาควิชาวิศวกรรมเคมี

² รองศาสตราจารย์ ภาควิชาวิศวกรรมเคมี

³ รองศาสตราจารย์ คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี

Effects of pH and Ionic Strength on Ultrafiltration of Bovine Serum Albumin by Zirconia Membrane

Tosaporn Songngamsap ¹, Rattana Jiraratananon ² and Dudsadee Uttapap ³

King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangmod, Toongkru, Bangkok 10140

Abstract

This research elucidated the effects of pH and ionic strength on an ultrafiltration of the bovine serum albumin (BSA) solution through a zirconia membrane (Carbosep M2, Tech-Sep). The result showed that the rejections of BSA at pH 3.0-8.5 were not significantly different (in the range of 81-89%). The lowest permeate flux (F_{BSA} / F_{DI}) was obtained at pH 5.0, the value near the isoelectric point (iep) of BSA. At this pH, the net charge of BSA approached zero and BSA was least soluble. Therefore, the suitable pH of BSA solution should be far from the iep of BSA but not close to the denaturing pH of BSA. That is, pH 6.5-7.5 should be used. The membrane was found to be able to retain sodium chloride with rejection of 2.16-16.01%. The investigation on the effect of ionic strength revealed that the sodium chloride in BSA solution had no significant effect on rejection. Adding sodium chloride into the BSA solution had a benefit of increasing the solubility of BSA, consequently, reduced the adsorption of protein on membrane. However, the flux was lowered when the sodium chloride was added since the increasing of osmotic pressure difference across the membrane caused by rejected sodium chloride. Therefore, the ionic strength should be as low as possible in order to minimize the rejection of sodium chloride as well as the osmotic pressure difference across the membrane. These lead to the highest permeate flux.

Keywords : BSA Solution/pH/Ionic Strength/Zirconia Membrane/Ultrafiltration

¹ Graduate Student, Department of Chemical Engineering.

² Associate Professor, Department of Chemical Engineering.

³ Associate Professor, School of Bioresources and Technology.

บทนำ

ปัจจุบันมีการนำกระบวนการอัลตราฟิวเตรชัน (Ultrafiltration, UF) มาใช้ในการแยก และเพิ่มความบริสุทธิ์ของสารต่าง ๆ อย่างแพร่หลาย ปัญหาสำคัญในการนำกระบวนการ UF มาใช้ในการแยกโปรตีนคือ การลดลงของฟลักซ์และการเปลี่ยนคุณสมบัติในการกักสารหรือรีเจคชัน (rejection) ในขณะที่ดำเนินการ

วิธีการหนึ่งในการควบคุมและลดการเกิด fouling คือการปรับสภาพสารละลาย ซึ่งมีตัวแปรสำคัญที่ควรพิจารณาได้แก่ pH และ ionic strength ซึ่งจะมีผลต่อค่าฟลักซ์ ค่ารีเจคชัน และปริมาณโปรตีนที่ดูดซับบนผิวเยื่อแผ่น จากรายงานการวิจัยของ Fell และคณะ [1] ซึ่งศึกษาผลของ NaCl ในสารละลาย BSA (pH 5.2) ที่มีต่อระบบ UF (เยื่อแผ่น Amicon PM 30) พบว่าสารละลายที่ไม่เติม NaCl และเติม NaCl ความเข้มข้น 0.2 M จะมีค่าฟลักซ์ 50 และ 70 $\text{Lm}^{-2}\text{h}^{-1}$ ตามลำดับ ซึ่ง Fell อธิบายว่า NaCl จะเปลี่ยนคุณสมบัติของโปรตีนทั้งในด้านรูปร่างและความสามารถในการละลาย จึงทำให้ตัวทำละลายหรือน้ำผ่านเยื่อแผ่นได้ดียิ่งขึ้น Bowen และ Hughes [2] ศึกษาการดูดซับโปรตีน BSA บนผิวเยื่อแผ่นอะลูมินาชนิด microfiltration มีเส้นผ่าศูนย์กลางรูพรุน 2000 \AA และ iep ของเยื่อแผ่นเท่ากับ 4.05 โดยวิธี Static Adsorption พบว่า เกิดการดูดซับมากที่สุดที่จุด iep ของ BSA (pH 4.9) ซึ่ง Bowen และ Hughes อธิบายว่ามี 2 กลไกที่มีอิทธิพลคือ แรงกระทำระหว่างประจุและค่า solubility ของโปรตีน Clark และคณะ [3] ศึกษาค่า Static Adsorption ของ BSA บนเยื่อแผ่นแกมมา-อะลูมินาซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลางของรูพรุน 40 \AA และมีค่า iep ของเยื่อแผ่นเท่ากับ 9.0 พบว่าค่า Static Adsorption มีค่าสูงที่สุดที่จุด iep ของ BSA ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Bowen และ Hughes [2] แต่ขัดแย้งกับทฤษฎีแรงกระทำระหว่างประจุคือ การดูดซับน่าจะเกิดสูงที่สุดที่ pH เท่ากับ 7 เนื่องจากเยื่อแผ่นและ BSA มีความแตกต่างของค่าประจุสูง

จากการสำรวจงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า นักวิจัยส่วนใหญ่ใช้เยื่อแผ่นอะลูมินาในการทดลอง โดยจะศึกษาค่าฟลักซ์ ค่ารีเจคชัน และปริมาณ BSA ที่ดูดซับบนผิวเยื่อแผ่นแบบ Static Adsorption โดยใช้สารละลาย BSA ที่มีการเติมเกลือ 0.1 และ 0.2 M ซึ่งเป็นช่วง Salting-In ของโปรตีน โดยไม่ทดลองในระบบ UF ทำให้ไม่มีข้อมูลของค่าฟลักซ์และค่ารีเจคชันเพื่อเปรียบเทียบ จากคำนิยามของ Dynamic¹ และ Static² Adsorption พบว่า ปริมาณการดูดซับแบบ static อาจแตกต่างจากระบบ UF

¹ Dynamic Adsorption คือการดูดซับของตัวถูกละลายในสารละลายในสภาวะที่มีการไหล เช่น แยกสารละลายโปรตีนโดยใช้เยื่อแผ่นในระบบ UF เพื่อศึกษาลักษณะและปริมาณการดูดซับของโปรตีนบนผิวเยื่อแผ่น

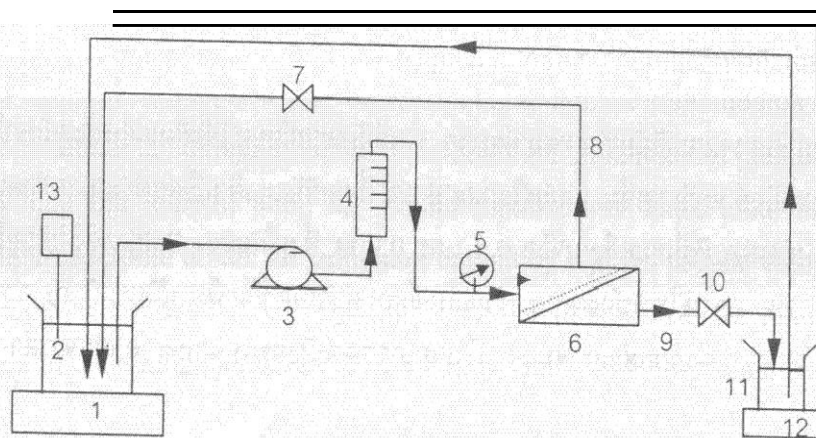
² Static Adsorption คือการดูดซับของตัวถูกละลายในสารละลายในสภาวะหยุดนิ่ง เช่น แช่เยื่อแผ่นในสารละลายโปรตีนที่ไม่มีการไหลหรือการกวนเพื่อศึกษาลักษณะและปริมาณการดูดซับของโปรตีนบนผิวเยื่อแผ่น

โดยเฉพาะกรณี UF ที่มีการไหลแบบ cross flow เนื่องจากมีแรงจากการไหล แรงเฉือนและแรงอื่นๆ มาเกี่ยวข้องด้วย ดังนั้นการศึกษาแบบ dynamic จะมีประโยชน์ในการนำไปใช้ในการอธิบายผลการทดลองในระบบ UF ได้ดีกว่าแบบ static ในงานวิจัยนี้จึงจะหาปริมาณโปรตีนที่ดูดซับแบบ Dynamic Adsorption เปรียบเทียบค่าที่ได้กับวิธีคำนวณจากสมมูลมวลของระบบ UF และศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่า pH และค่า ionic strength ทั้งในช่วง Salting-In และ Salting-Out ของสารละลาย BSA กับค่าฟลักซ์ ค่ารีเจคชันและปริมาณ BSA ที่ดูดซับบนผิวเยื่อแผ่น โดยใช้เยื่อแผ่นเซอโรโคเนียที่มีความหนาแน่นของรูพรุนต่างมากกว่าเยื่อแผ่นอะลูมินาและเยื่อแผ่นอื่นๆ

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง

1. ระบบอุลตราฟิวดเรชั่น

เป็นระบบที่มีลักษณะการไหลของสารละลายป้อนแบบ cross-flow โดยสารละลายป้อนจะไหลในทิศทางที่ขนานกับผิวหน้าของเยื่อแผ่น แผนผังการจัดอุปกรณ์ แสดงดังรูปที่ 1 มีลักษณะการทำงานดังนี้คือ บั๊ม (3) ป้อนสารจากถังป้อน (2) ที่มีการควบคุมตลอดเวลา ผ่านเครื่องวัดอัตราการไหล (4) และเกจวัดความดัน (5) เข้าสู่หน่วยของเยื่อแผ่นสังเคราะห์ (6) รีเทนเตต (retentate) จะไหลผ่านวาล์วควบคุมความดัน (7) กลับสู่ถังป้อนทางท่อรีเทนเตต (8) เพอเมอเทต (permeate) ที่ผ่านเยื่อแผ่นจะไหลออกทางท่อเพอเมอเทต (9) และเข้าสู่ที่บรรจุเพอเมอเทต (11) แล้วนำไปซึ่งน้ำหนัก (12) จากนั้นนำกลับสู่ถังป้อนเพื่อควบคุมความเข้มข้นของสารละลายให้คงที่ ในการปรับความดันและอัตราการไหลของสารละลายทำได้โดยการปรับวาล์วควบคุมความดัน (7 และ 10) และปรับปั๊มความเร็วของบั๊มพร้อมๆ กัน



1. เครื่องคนสาร 2. ถังป้อน 3. ปั๊ม 4. เครื่องวัดอัตราการไหล 5. เกจวัดความดัน
6. อุปกรณ์เยื่อแผ่น 7. วาล์วควบคุมความดัน 8. ท่อรีเทนเตต 9. ท่อเพอเมอเทต
10. วาล์วควบคุมความดัน 11. บีกเกอร์ 12. เครื่องชั่ง 13. อุปกรณ์วัด pH

รูปที่ 1 แผนผังแสดงระบบ UF

2. เยื่อแผ่นเซรามิค

ที่ใช้ในการทดลองนี้เป็นแบบท่อ ชื่อทางการค้า Carbosep รุ่น M2 จากบริษัท Tech-Sep ประเทศฝรั่งเศส มี MWCO 15,000 Da โดยชั้น Active Layer และ Support ผลิตจากเซอร์โคเนีย (Zirconia) และคาร์บอน (Carbon) ตามลำดับ มีความยาว, เส้นผ่าศูนย์กลางภายในและภายนอกเท่ากับ 116.5, 6 และ 10 mm ตามลำดับ วัดค่าฟลักซ์ของน้ำโดยปรับอัตราการไหลของสารป้อนที่ 1 L/min และความดัน 14.7 psi ที่อุณหภูมิ 25 °C วัดอัตราการไหลของเพอมีเอท (โดยการวัดปริมาตร/เวลา) ทุกๆ 10 นาที บันทึกผลจนฟลักซ์เข้าสู่สภาวะคงตัว ซึ่งฟลักซ์ที่ได้นำมาคำนวณค่าความต้านทานของเยื่อแผ่น (R_m)

3. การศึกษาผลของ pH และความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์และฟอสเฟต-บัฟเฟอร์ในสารละลาย BSA ที่มีต่อค่าฟลักซ์, รีเจคชัน, ความต้านทานและปริมาณโปรตีนที่ดูดซับบนผิวเยื่อแผ่น

ทำการทดลองที่อุณหภูมิ 25 °C อัตราการไหล 1 L/min, ความดัน 14.7 psi และความเข้มข้นของสารละลาย BSA (คุณสมบัติแสดงดังตารางที่ 2) 0.1 g/L โดยควบคุมความเข้มข้นของสารละลายในถังป้อนให้คงที่ขณะทำการทดลอง โดยการนำทั้งรีเทนเทตและเพอมีเอทกลับสู่ถังป้อน ทำการทดลองในสภาวะต่างๆ โดยปรับ pH และองค์ประกอบของสารละลาย BSA ให้มีค่าต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 รายละเอียดของการทดลอง

การทดลอง	pH ของสารละลาย BSA	ความเข้มข้นของ NaCl (M)
1	3.0	
2	5.0	
3	6.0	
4	6.5	
5	8.5	
6	3.0	0.1
7	5.0	0.1
8	8.5	0.1
9	3.0	0.2
10	5.0	0.2
11	0.5	0.2
12	3.0	1.0
13	5.0	1.0
14	8.5	1.0

ตารางที่ 2 แสดงคุณสมบัติของโปรตีน (BSA) [4]

คุณสมบัติ	ค่าของตัวแปร
ขนาดโมเลกุล	116 x 27 x 27 Å ³
Hydrated Density (ρ)	1.34 g/cm ³
ปริมาตรของโมเลกุล (V _m)	128,000 Å ³
Equivalent Spherical Radius (a)	31.3 Å
Isoelectric Point (iep)	4.7-4.9
Debye Length (k ⁻¹)	7.8 Å
Albumin Surface Potential (Ψ ₀)	-23.5 mv ที่ pH 7.4 -10.5 mv ที่ pH 5.4 -5.2 mv ที่ pH 4.5

4. การหาค่าความต้านทานในการไหลผ่านเยื่อแผ่นและปริมาณโปรตีนที่ดูดซับบนผิวเยื่อแผ่น

การหาค่าความต้านทานในการไหลผ่านเยื่อแผ่น ทำการทดลองและคำนวณดังแสดงในเอกสาร

อ้างอิง [4]

$$R_t = R_m + R_f + R_p$$

โดย R_t = ความต้านทานรวมในการไหลผ่านเยื่อแผ่น

R_m = ความต้านทานของเยื่อแผ่น

R_f = ความต้านทานภายในเนื่องจากการเกิด fouling

R_p = ความต้านทานภายนอกเนื่องจากการเกิดโพลาไรเซชัน

การหาปริมาณโปรตีนที่ดูดซับบนผิวเยื่อแผ่นมีสองวิธีคือ

1. ใช้วิธีการล้างโปรตีนที่จับอยู่กับเยื่อแผ่นด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.1 M (Desorption) เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์หาค่าปริมาณโปรตีน
2. วิธีการคำนวณปริมาณโปรตีนที่ดูดซับบนผิวเยื่อแผ่นโดยใช้สมมูลมวลของโปรตีน โดยวิเคราะห์มวลของโปรตีนในสารป้อนที่เวลาเริ่มต้น แล้วนำมาหักลบกับค่าผลรวมของโปรตีนในรีเทนเตตที่เวลาสุดท้ายและโปรตีนที่อยู่ในเพอมีเอท [4]

5. การทำความสะอาดเยื่อแผ่น

ใช้น้ำและโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.2 M ล้างจนได้ค่าฟลักซ์ของน้ำ deionized เท่าหรือใกล้เคียงกับค่าฟลักซ์น้ำของเยื่อแผ่นเริ่มต้น

6. วิธีการวิเคราะห์

- การวิเคราะห์ปริมาณโซเดียม ใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Polarized Zeeman Atomic Absorption Spectrophotometer) [5]
- การวิเคราะห์ความเข้มข้นของ BSA โดยใช้วิธี Folin Phenol [6]

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่าฟลักซ์ ค่ารีเจคชัน ความต้านทานและปริมาณ BSA ที่ดูดซับบนผิวเยื่อแผ่น (fouling) กับค่า pH และค่า ionic strength ในสารละลาย BSA มีรายละเอียดของผลการทดลองและการวิจารณ์ผลการทดลองดังนี้

1. ฟลักซ์ของน้ำและค่าความต้านทานของเยื่อแผ่น

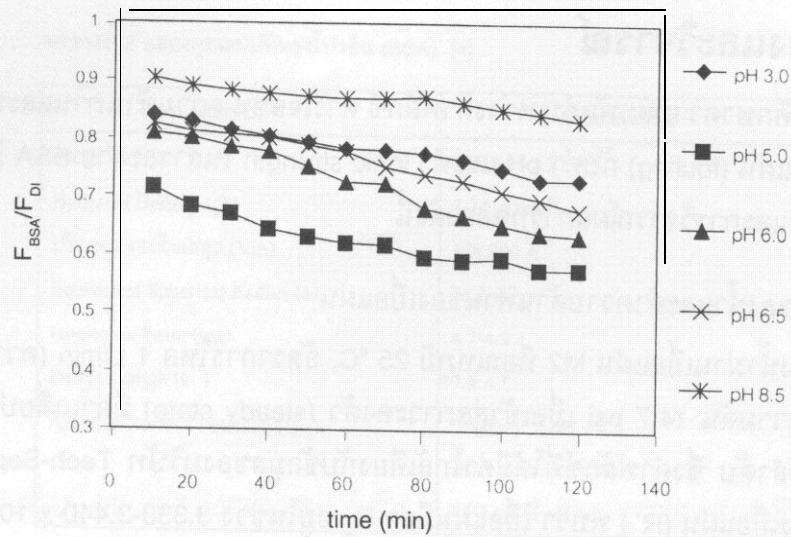
ฟลักซ์ของน้ำผ่านเยื่อแผ่น M2 ที่อุณหภูมิ 25 °C, อัตราการไหล 1 L/min (ความเร็วเชิงเส้น 0.589 m/s) และความดัน 14.7 psi เมื่อเข้าสู่สภาวะคงตัว (steady state) มีค่าเฉลี่ยประมาณ 117-122 Lm⁻²h⁻¹ ตามลำดับ ซึ่งค่าฟลักซ์ที่ได้มีค่าใกล้เคียงกับข้อมูลของบริษัท Tech-Sep เมื่อคำนวณความต้านทานของเยื่อแผ่น (R_m) พบว่า เยื่อแผ่นมีค่า R_m อยู่ในช่วง $3.330-3.440 \times 10^{12} \text{ m}^{-1}$

2. ค่าเพอมีเอทฟลักซ์ รีเจคชัน ปริมาณโปรตีนที่ดูดซับบนผิวเยื่อแผ่นและความต้านทานการไหลของสารละลาย BSA ผ่านเยื่อแผ่น M2

2.1 ผลของ pH

ก. ค่าเพอมีเอทฟลักซ์

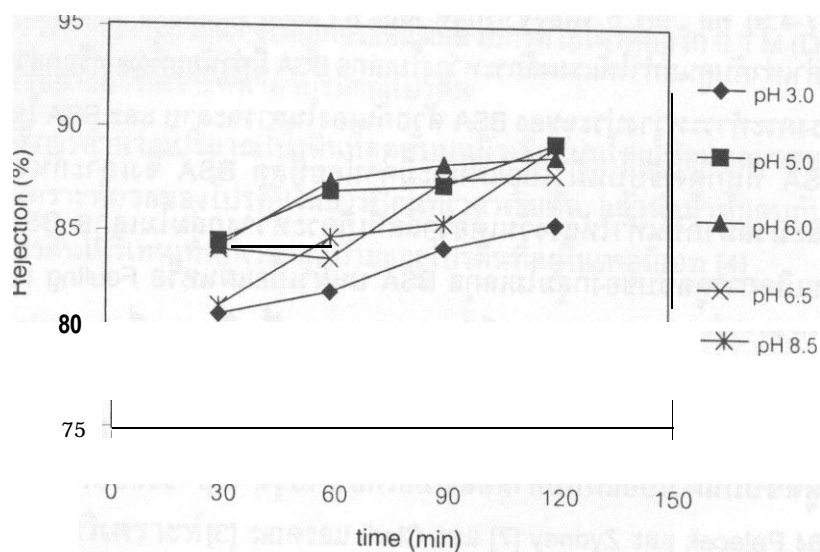
สำหรับงานวิจัยนี้จะไม่รายงานค่าเพอมีเอทฟลักซ์โดยตรง เนื่องจากค่าเพอมีเอทฟลักซ์ของน้ำหลังจากล้างเยื่อแผ่นในแต่ละการทดลองมีค่าไม่เท่ากัน ($117.94 \pm 3.62 \text{ Lm}^{-2}\text{h}^{-1}$) เพื่อเป็นการลดข้อผิดพลาดดังกล่าว จึงจะรายงานผลในรูปของอัตราส่วนระหว่างค่าเพอมีเอทฟลักซ์ของสารละลาย BSA ต่อค่าเพอมีเอทฟลักซ์ของน้ำ (F_{BSA}/F_{DI}) รูปที่ 2 (การทดลองที่ 1-5) แสดงผลของ pH ที่มีต่อค่า F_{BSA}/F_{DI} ซึ่งลดลงกับเวลาของเยื่อแผ่น M2 พบว่า ค่า F_{BSA}/F_{DI} มีค่าต่ำที่สุดที่ pH ใกล้ isoelectric point (iep) ของ BSA (iep = 4.7-4.9) คือ pH 5 เนื่องจากที่จุด iep, ค่า Zeta Potential บริเวณผิวโมเลกุล BSA มีค่าเท่ากับศูนย์ทำให้แรงผลักระหว่างโมเลกุล BSA มีค่าน้อยที่สุด หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งคือแรงกระทำระหว่างประจุของ BSA ด้วยกันเองในสารละลาย และ BSA ในสารละลายกับ BSA ที่ถูกดูดซับบนผิวเยื่อแผ่นจะมีค่าน้อยที่สุด BSA จึงเกาะกันจนมีขนาดใหญ่และมวลมากขึ้นทำให้แรงแวนเดอร์วาลส์ที่เกิดระหว่างกลุ่มโมเลกุล BSA มีค่ามากขึ้นจนเกิดการดูดซับของกลุ่มโมเลกุล BSA บนผิวเยื่อแผ่นหรือ Fouling เป็นปริมาณมาก ส่วน pH ที่ห่างจากจุด iep จะมีค่า F_{BSA}/F_{DI} เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เนื่องจากค่า pH ที่มากกว่าและน้อยกว่าจุด iep จะทำให้ Zeta Potential มีค่าเป็นลบและบวก ตามลำดับ ทำให้แรงผลักระหว่างประจุที่เหมือนกันของโมเลกุล BSA มีค่ามากขึ้น และปริมาณโมเลกุล BSA ที่ดูดซับบนผิวเยื่อแผ่นมีค่าลดลงเมื่อเทียบกับจุด iep ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Palecek และ Zydney [7] และ Clark และคณะ [3]



รูปที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าแฟล็กซ์ของสารละลาย BSA ต่อค่าแฟล็กซ์ของน้ำและเวลาที่ pH ต่างๆ การทดลองที่ 1-5

ข. รีเจกชัน

การวิเคราะห์ค่ารีเจกชันของการทดลองที่ 1-5 แสดงดังรูปที่ 3 พบว่าค่ารีเจกชันมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นกับเวลาในทุกๆ pH ซึ่งเป็นลักษณะที่พบได้ทั่วไปเมื่อใช้เยื่อแผ่นในการกรองสารละลาย ปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นในลักษณะนี้มีผู้อธิบายไว้ว่าอาจเกิดจากการสะสมหรือดูดซับของโมเลกุล BSA ที่ผิวหน้าเยื่อแผ่นหรือเกิด fouling ภายในรูพรุน ซึ่งการดูดซับดังกล่าวมักมีปริมาณสูงขึ้นกับเวลาจนเข้าสู่สภาวะคงตัวจึงทำให้รีเจกชันเพิ่มขึ้นกับเวลา [3] ส่วนค่ารีเจกชันในแต่ละ pH มีค่าไม่แตกต่างกันมากนักคือ อยู่ในช่วง 81-89% จึงกล่าวได้ว่า pH มีผลน้อยมากต่อค่ารีเจกชันของระบบ UF นี้

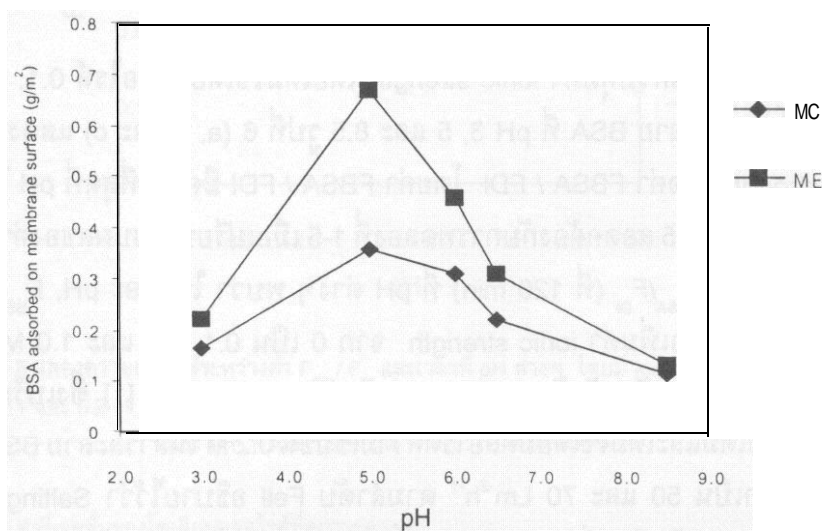


รูปที่ 3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าเปอร์เซ็นต์รีเจกชันของสารละลาย BSA และเวลาที่ pH ต่างๆ การทดลองที่ 1-5

ผลการทดลองนี้มีข้อน่าสังเกต คือตัวถูกละลาย BSA มีน้ำหนักโมเลกุล 69000 Da และเยื่อแผ่น M2 มีค่า MWCO 15000 ซึ่งคาดหมายได้ว่าเยื่อแผ่นนี้น่าจะสามารถกัก BSA ได้เกือบ 100 % แต่ผลการทดลองพบว่า ค่ารีเจกชันที่ได้อยู่ในช่วง 81-89 % เท่านั้น ทั้งนี้เนื่องจากบริษัท Tech-sep ใช้ตัวถูกละลายในการหาค่า MWCO ที่มีคุณสมบัติแตกต่างจาก BSA มาก โดยส่วนใหญ่บริษัทผู้ผลิตเยื่อแผ่นจะใช้เดกซ์แทรนหรือโพลีเอทรีนไกลคอลในการทดสอบ

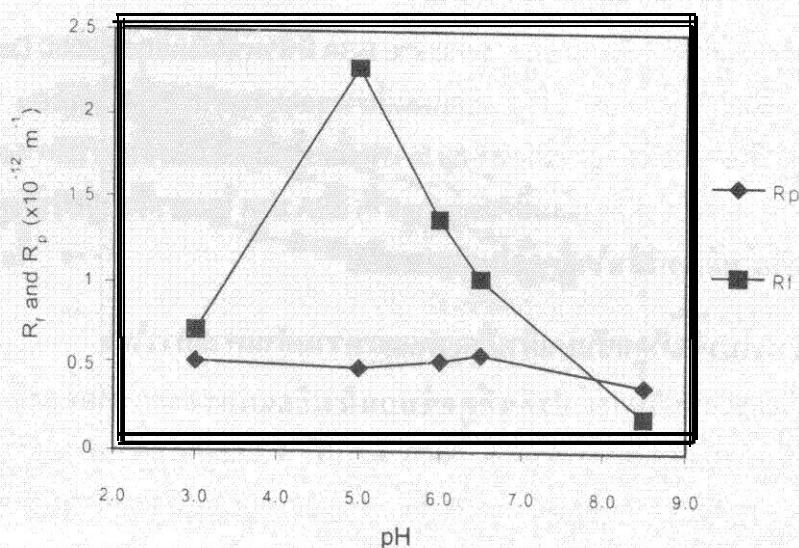
ค. ปริมาณโปรตีนที่ดูดซับบนผิวเยื่อแผ่นและความต้านทานการไหล

ในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่ดูดซับบนผิวเยื่อแผ่นของการทดลองที่ 1-5 ทั้งจากการทดลอง (ME) และการคำนวณ (MC) ดังรูปที่ 4 และความต้านทานจาก fouling (R_f) ดังรูปที่ 5 พบว่า ทั้ง ME, MC และ R_f มีค่าสูงสุดช่วงจุด iep ของ BSA และจะมีค่าต่ำที่สุดเมื่อ pH อยู่ห่างจากจุด iep มากที่สุด เช่น ที่ pH 8.5 ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ McDonogh และคณะ [8] จากผลการทดลองมีข้อน่าสังเกตที่ว่าปริมาณโปรตีนที่ดูดซับบนเยื่อแผ่นที่ได้จากการทดลอง (Desorption ด้วยกรด) มีค่าสูงกว่าที่ได้จากการคำนวณโดยทำสมดุลมวลโปรตีน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในขณะดำเนินการกรองมีโปรตีนบางส่วนถูกดูดซับอยู่ตามผนังของภาชนะสารป้อนและผนังท่อที่เชื่อมต่ออุปกรณ์ต่างๆ ซึ่งโปรตีนเหล่านี้ไม่สามารถล้างออกด้วยน้ำ แต่จะหลุดออกมาเมื่อใช้กรดในการชะ ทำให้ปริมาณโปรตีนที่ดูดซับบนผิวเยื่อแผ่นที่วิเคราะห์ได้สูงกว่าความเป็นจริง



รูปที่ 4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณ BSA ที่ถูกดูดซับบนผิวเยื่อแผ่น ซึ่งได้จากการคำนวณ (MC) และจากการทดลอง (ME) กับ pH ; การทดลองที่ 1-5

ความต้านทานจาก Concentration Polarization (R_p) ดังรูปที่ 5 จะมีค่าต่ำและค่อนข้างคงที่ แสดงว่า R_p มีผลต่อการลดลงของ F_{BSA}/F_{DI} น้อยมากเมื่อเทียบกับ R_f การเปลี่ยนแปลงค่า pH ไม่มีผลต่อ R_p ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับรูปที่ 2 และการทดลองของ Clark และคณะ [3] และของ Bowen และ Hughes [2]



รูปที่ 5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า Rf และ Rp กับ pH ; การทดลองที่ 1-5

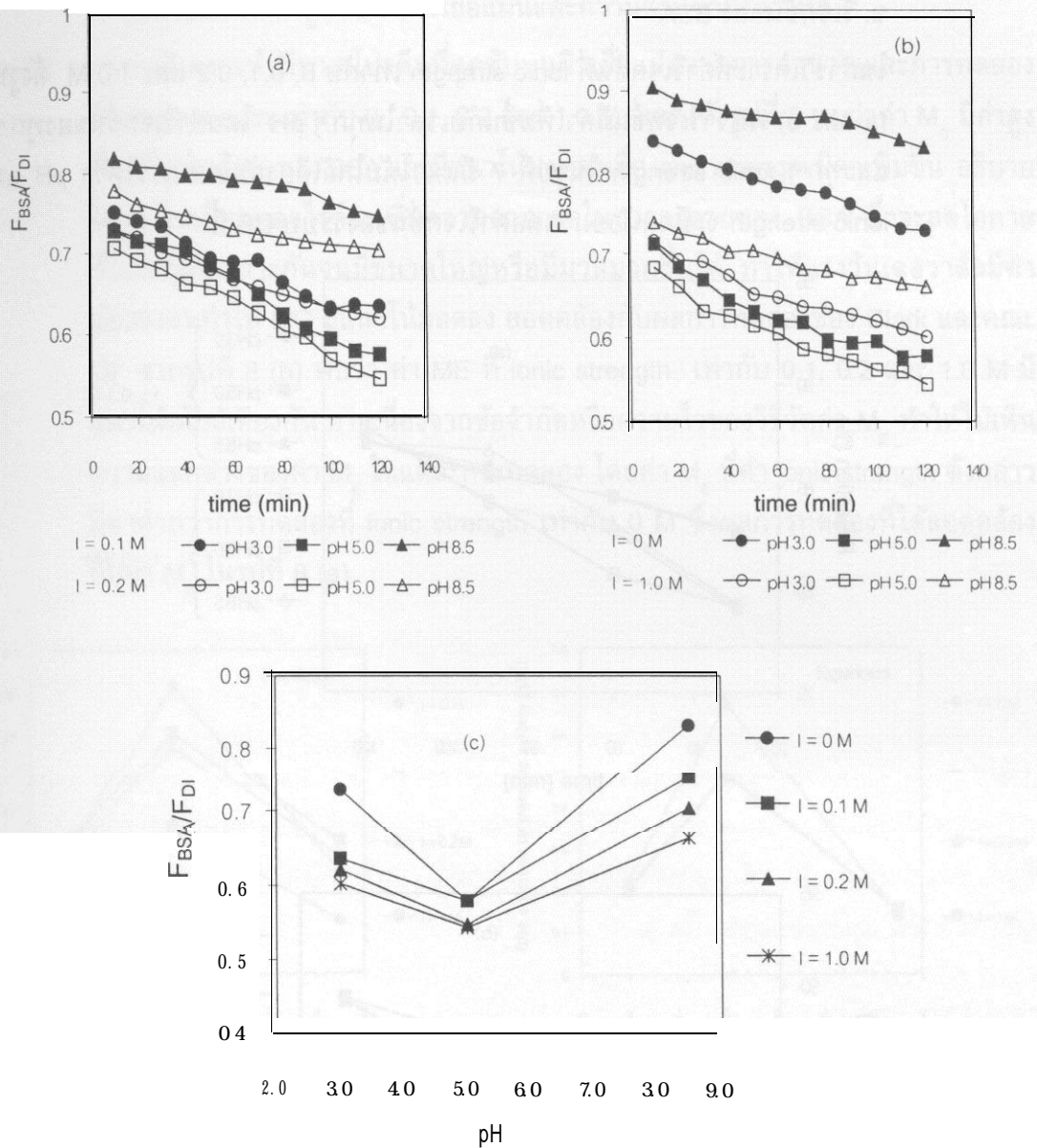
จากผลการทดลองสามารถกล่าวได้ว่า pH ที่เหมาะสมสำหรับการแยกหรือศึกษาสารละลายโปรตีนในระบบ UF ควรอยู่ห่างจากจุด iep ของโปรตีนให้มากที่สุดเพื่อลดปัญหา fouling และมีค่าเพอมีเอทฟลักซ์สูง แต่เนื่องจากข้อจำกัดด้านการเสถียรภาพของโปรตีนในสภาวะที่เป็นกรดหรือด่างสูง ในทางปฏิบัติจึงควรเลือก pH ที่อยู่ห่างจากจุด iep และไม่ทำให้โปรตีนเสถียรภาพ

2.2 ผลของ Ionic Strength

ก. ค่าเพอมีเอทฟลักซ์

การทดลองนี้ควบคุมค่า ionic strength โดยเติมโซเดียมคลอไรด์ 0.1, 0.2 และ 1.0 M ลงในสารละลาย BSA ที่ pH 3, 5 และ 8.5 รูปที่ 6 (a, b และ c) แสดงผลของค่า ionic strength ต่อค่า FBSA / FDI โดยค่า FBSA / FDI มีค่าต่ำที่สุดที่ pH ใกล้จุด iep ของ BSA คือ pH 5 สอดคล้องกับการทดลองที่ 1-5 เมื่อเปรียบเทียบผลของค่า ionic strength ที่มีต่อค่า F_{BSA} / F_{DI} (ที่ 120 min) ที่ pH ต่างๆ พบว่า ในแต่ละ pH, F_{BSA} / F_{DI} มีค่าลดลงเล็กน้อย เมื่อเพิ่มค่า ionic strength จาก 0 เป็น 0.1, 0.2 และ 1.0 M ตามลำดับ ซึ่งข้อมูลดังกล่าวขัดแย้งกับผลการทดลองของ Fell และคณะ [1] ซึ่งเปรียบเทียบผลของการไม่เติมและเติมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.2 M ในสารละลาย BSA พบว่า ฟลักซ์จะมีค่าเป็น 50 และ 70 $\text{Lm}^{-2}\text{h}^{-1}$ ตามลำดับ Fell อธิบายไว้ว่า Salting-In Effect ของโซเดียมคลอไรด์จะเพิ่มความสามารถในการละลายของ BSA ทำให้การเกิด Fouling ลดลง

สำหรับผลการทดลองดังรูปที่ 6 ซึ่งฟลักซ์ลดลง เมื่อเพิ่มค่า ionic strength สามารถอธิบายได้จากค่ารีเจกชันของโซเดียมคลอไรด์ โดยพบว่าค่ารีเจกชันของโซเดียมคลอไรด์ของเยื่อแผ่นมีค่ามากกว่าศูนย์ และมีค่าเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเพิ่มค่า ionic strength ดังตารางที่ 3 การที่เยื่อแผ่นสามารถกักโซเดียมคลอไรด์บางส่วนอาจเนื่องจาก BSA ที่ดูดซับบนผิวเยื่อแผ่นจะเปรียบเสมือนเยื่อแผ่นอีกชั้นหนึ่ง ทำให้เยื่อแผ่นมีความสามารถในการกักสารโมเลกุลเล็กได้ดีขึ้น การเพิ่มค่ารีเจกชันของโซเดียมคลอไรด์ทำให้ความดันออสโมติกและ $\Delta\pi$ ของโซเดียมคลอไรด์ในสารละลาย BSA มีค่าสูงขึ้นจนมีผลให้แรงขับเคลื่อนที่ทำให้สารผ่านเยื่อแผ่นและเพอมีเอทฟลักซ์มีค่าลดลง



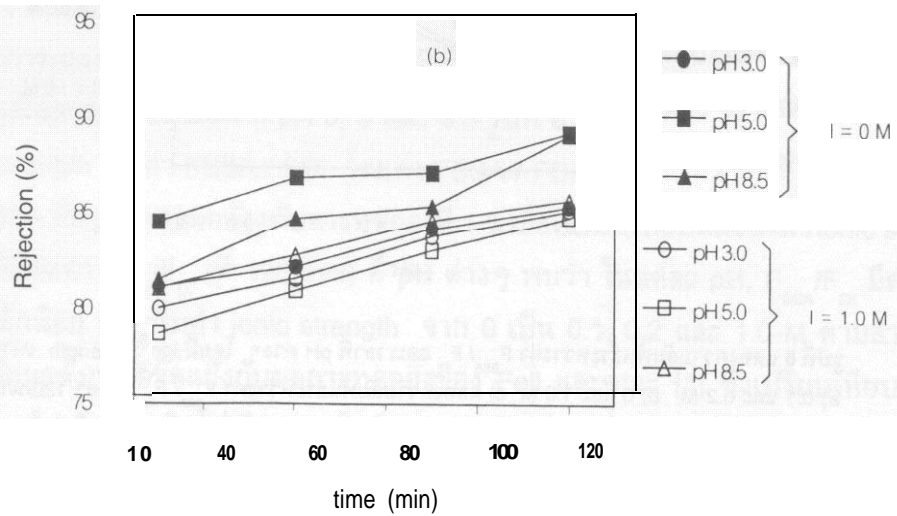
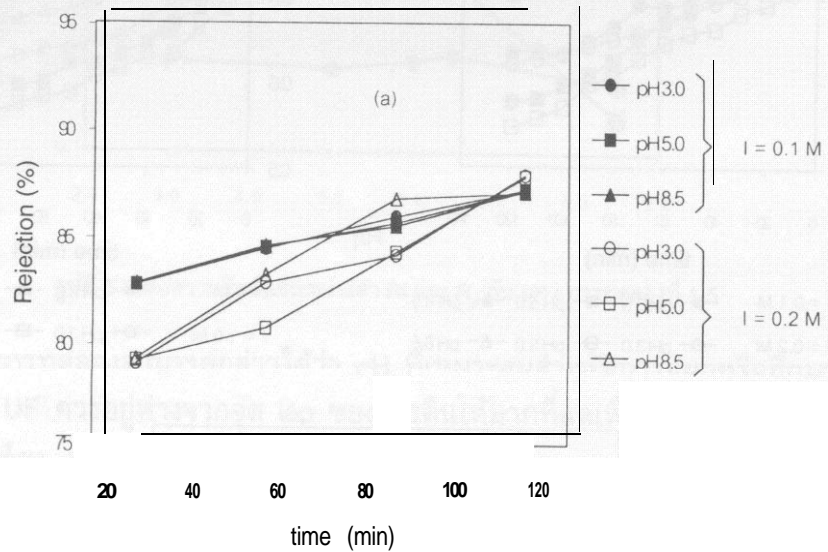
รูปที่ 6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า F_{BSA}/F_{Di} และเวลาที่ pH ต่างๆ โดยมี Ionic Strength เท่ากับ
 a) 0.1 และ 0.2 M b) 0 และ 1.0 M c) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า F_{BSA}/F_{Di} (ที่เวลา 120 นาที)
 และ pH ที่ Ionic Strength ต่างๆ ; การทดลองที่ 6-14

ตารางที่ 3 ค่ารีเจชันของโซเดียมคลอไรด์ที่สภาวะต่างๆ

สภาวะ	ค่ารีเจชันของโซเดียมคลอไรด์ (%)		
	pH 3.0	pH 5.0	pH 8.5
ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 0.1 M	2.50	4.58	2.16
ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 0.2 M	14.06	16.01	11.91
ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 1.0 M	14.32	15.98	13.89

ข. รีเจกชันของ BSA

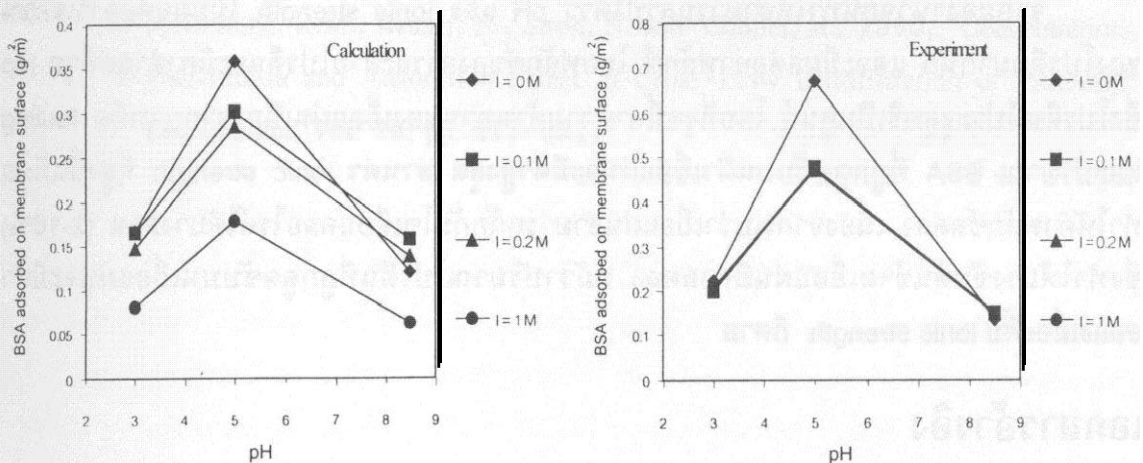
ในการวิเคราะห์ค่ารีเจกชันที่ ionic strength เท่ากับ 0, 0.1, 0.2 และ 1.0 M ดังรูปที่ 7 (a และ b) พบว่ารีเจกชันมีค่าเพิ่มขึ้นกับเวลาในทุกๆ pH โดยค่ารีเจกชันของทุกๆ pH และทุกๆ ionic strength ในรูปที่ 7 มีแนวโน้มใกล้เคียงกันจนกล่าวได้ว่า pH และค่า ionic strength จะมีผลน้อยมากต่อค่ารีเจกชันของระบบ UF นี้



รูปที่ 7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าเปอร์เซ็นต์รีเจกชันของสารละลาย BSA และเวลาที่ pH ต่างๆ โดยมี Ionic Strength เท่ากับ a) 0.1 และ 0.2 M b) 0 และ 1.0 M ; การทดลองที่ 6-14

ค. ปริมาณโปรตีนที่ดูดซับบนผิวเยื่อแผ่นและความต้านทานการไหล

ผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่ดูดซับบนผิวเยื่อแผ่นจากการคำนวณและการทดลองที่ ionic strength เท่ากับ 0, 0.1, 0.2 และ 1.0 M แสดงดังรูปที่ 8 พบว่าค่า M_C มีค่าสูงที่สุดที่จุดไอส์เทป ของ BSA และมีแนวโน้มลดลงเมื่อ ionic strength มีค่าเพิ่มขึ้น อธิบายได้ว่า โซเดียมคลอไรด์จะเพิ่มความสามารถในการละลายของ BSA ซึ่งจะลดโอกาสที่โมเลกุลจะเกาะกันจนมีขนาดใหญ่หรือมีมวลมากขึ้นได้ ทำให้แรงวันเดอวาลส์มีค่าน้อยลงจนทำให้ MC มีแนวโน้มลดลง สอดคล้องกับผลการทดลองของ Clark และคณะ [3] จากรูปที่ 8 (b) พบว่า ค่า ME ที่ ionic strength เท่ากับ 0.1, 0.2 และ 1.0 M มีแนวโน้มใกล้เคียงกัน อาจเนื่องจากข้อจำกัดหรือความไวของวิธีวัดค่า M_E ทำให้ไม่เห็นความแตกต่างของค่า M_E ในแต่ละการทดลอง โดยค่า M_E ที่ค่า ionic strength ดังกล่าวมีค่าต่ำกว่าการทดลองที่ ionic strength เท่ากับ 0 M ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับค่า M_C ในรูปที่ 8 (a)

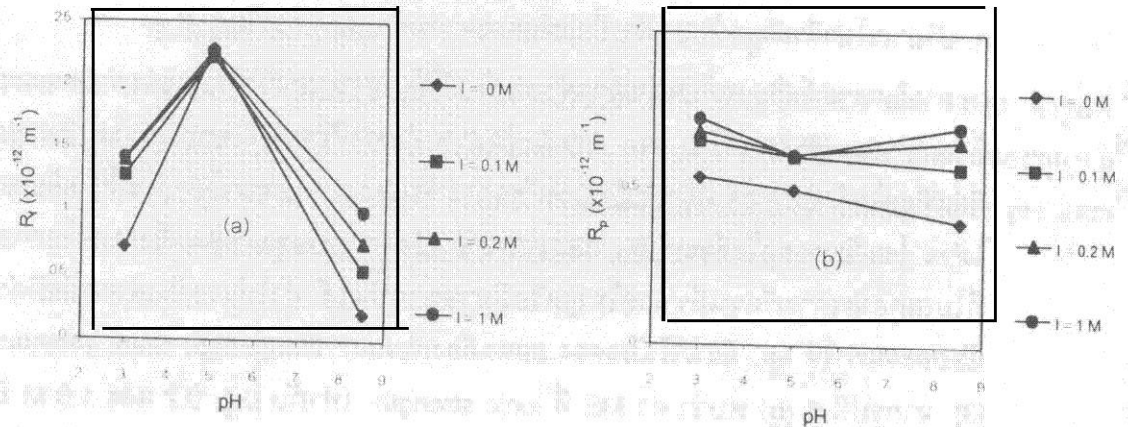


รูปที่ 8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณ BSA ที่ถูกดูดซับบนผิวเยื่อแผ่น

(a) จากการคำนวณ (b) จากการทดลอง กับ pH โดยมี Ionic Strength

เท่ากับ 0, 0.1, 0.2 และ 1.0 M : การทดลองที่ 6-14

ส่วนค่า R_f ที่ pH และค่า ionic strength ต่างๆ สามารถแสดงดังรูปที่ 9 (a) พบว่า ในแต่ละค่า ionic strength, ค่า R_f มีค่าสูงที่สุดที่ pH 5 สอดคล้องกับรูปที่ 6 (c) และค่า F_{BSA}/F_{DI} มีค่าต่ำที่สุดเมื่อพิจารณาในแต่ละ pH พบว่า ค่า R_f มีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อค่า ionic strength เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับค่า F_{BSA}/F_{DI} ที่มีค่าลดลงในแต่ละการทดลองดังรูปที่ 6 สำหรับค่า R_p ที่ pH และค่า ionic strength ต่างๆ สามารถแสดงดังรูปที่ 9 (b) พบว่า ค่า R_p มีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อค่า ionic strength เพิ่มขึ้น เนื่องจากการเพิ่มค่า ionic strength จะทำให้ CP ของระบบ UF มีค่าสูงขึ้น นั่นคือ R_n มีค่าสูงขึ้นด้วย



รูปที่ 9 แสดง (a) ความสัมพันธ์ระหว่างค่า R_f กับ pH และ (b) ความสัมพันธ์ระหว่างค่า R_p กับ pH โดยมี Ionic Strength เท่ากับ 0, 0.1, 0.2 และ 1.0 M ; การทดลองที่ 6-14

สรุป

จากผลงานวิจัยนี้ทำให้สามารถสรุปได้ว่า pH และ ionic strength ไม่มีผลต่อค่ารีเจกชันของโปรตีนมากนัก แต่จะมีผลต่อค่าฟลักซ์ โดยฟลักซ์ของสารละลายโปรตีนจะมีค่าต่ำสุดที่จุด isoelectric point ซึ่งโปรตีนมีประจุสุทธิเป็นศูนย์ โดยที่จุดนี้ค่าความต้านทานของเยื่อแผ่นเนื่องจากการเกิด fouling และปริมาณ BSA ที่ถูกดูดซับบนผิวเยื่อแผ่นจะมีค่าสูงสุด ส่วนค่า ionic strength ที่สูงขึ้นมีผลทำให้แรงขับเคลื่อนข้ามเยื่อแผ่นมีค่าลดลง แม้ว่าปริมาณโปรตีนที่ถูกดูดซับบนเยื่อแผ่นจะมีค่าลดลงเมื่อเพิ่ม ionic strength ก็ตาม

เอกสารอ้างอิง

1. Fell, C.J.D., Fane, A.G., Waters, A.G., Suki, A. and McDonogh, R., 1982, "How Adsorption of Proteins Modifies the Flux and Rejection Characteristics of Ultrafiltration Membranes," *Proceedings of the 2nd Asean Workshop on Membrane Technology*, Bangkok, Thailand, October 1-10, pp. 53-73,
2. Bowen, W.R. and Hughes, D.T., 1990, "Properties of Microfiltration Membranes, Part 2. Adsorption of Bovine Serum Albumin at Aluminium Oxide Membranes," *Journal of Membrane Science*, Vol. 51, pp. 189-200.
3. Clark, W.M., Bansal, A., Sontakke, M. and Ma, Y.H., 1991, "Protein Adsorption and Fouling in Ceramic Ultrafiltration Membranes," *Journal of Membrane Science*, Vol. 55, No. 1-2, pp. 21-38.

4. ทศพร ทรงงามทรัพย์, 2541, การศึกษาผลของ pH, ionic strength ในสารละลาย Bovine Serum Albumin และการปรับสภาพผิวเยื่อแผ่นเซอโรโคเนียวด้วยกรดฟอสฟอริก ที่มีต่อกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน, วิทยานิพนธ์ปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเคมี, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
5. แมน อมรสิทธิ์ และ อมร เพชรสม, 2534, อะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรสโกปี, หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ, หน้า 322-379.
6. Miller, G.L., 1959, Folin Phenol Method, *Analytical Chemistry*, New York, Marcel Dekker, pp. 964-966.
7. Palecek, S.P. and Zydney, A.L., 1994, "Intermolecular Electrostatic Interactions and their Effect on Flux and Protein Deposition during Protein Filtration," *Biotechnology Progress*, Vol. 10, pp. 207-213.
8. McDonogh, R.M., Bauser, N., Stroh, N. and Chmiel, H., 1990, "Concentration Polarization and Adsorption Effect in Cross-Flow Ultrafiltration of Proteins," *Desalination*, Vol. 79, pp. 217-231.