

บทที่ 1

บทนำ

พาราเมตริก บีบปั๊ม (parametric pumping) เป็นกระบวนการแยกแบบหนึ่งซึ่งสารผสมที่จะถูกแยกนั้นจะไหลผ่านกลับไปกลับมา (reciprocating flow) ในคอลัมน์อย่างต่อเนื่อง และขณะเดียวกันนั้นก็จะมี การเปลี่ยนแปลงในลักษณะเป็นวัฏจักร (cycle variation) ของตัวแปรอินเทนซีฟ (intensive variable) เช่น ความดัน, อุณหภูมิ หรือค่าความเป็น กรด-ด่าง (pH) ของสารผสม

งานวิจัยที่จะเสนอนี้เป็นการศึกษาการแยกโปรตีนโดยใช้พีเอช พาราเมตริก บีบปั๊ม (pH parametric pumping) โปรตีนจะมีทั้งส่วนที่เป็นประจุลบและประจุบวก ดังนั้นจึงสามารถแลกเปลี่ยนประจุกับตัวแลกเปลี่ยนประจุได้ทั้งตัวแลกเปลี่ยนประจุลบ (anion exchanger) และตัวแลกเปลี่ยนประจุบวก (cation exchanger) ค่าประจุสุทธิของโปรตีนขึ้นอยู่กับพีเอช กรณีที่ค่าพีเอชต่ำๆ ค่าประจุสุทธิจะมีค่าเป็นบวก และที่พีเอชสูงๆ ค่าประจุสุทธิของโปรตีนจะมีค่าเป็นลบ ค่าพีเอชที่ทำให้ประจุสุทธิมีค่าเป็นศูนย์ เรียกว่า ค่าไอโซอิเล็กตริก (isoelectric value) ที่ค่าพีเอชนี้โปรตีนจะไม่เกิดการแลกเปลี่ยนประจุ จากเหตุผลดังกล่าวทำให้สามารถใช้ค่าความแตกต่างของพีเอชเป็นแรงขับ (driving force) เพื่อใช้ในการแยกสารผสมที่ต้องการ

1.1. งานวิจัยที่ผ่านมา

A.G.Shaffer and C.E.Hamrin(1975) ได้ทำการศึกษาแยก เอ็มไซม์ทริปซิน (trypsin) จากสารละลาย อัลฟา-ไคโมทริปซิน-ทริปซิน (α -chymotrypsin-trypsin) โดยกระบวนการ พีเอช พาราเมตริก บีบปั๊ม การทดลอง ทำโดยการผ่านสารละลายดังกล่าวเข้าไปในคอลัมน์ อัฟฟินิตี โครมาโตกราฟีค (Affinity chromatographic) ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 26 มิลลิเมตร และยาว 400 มิลลิเมตร เพื่อที่จะศึกษาถึงความแตกต่างของพีเอชสอง ช่วงคือที่ พีเอชเท่ากับ 3 กับ 6 และที่พีเอชเท่ากับ 4 กับ 6 ความแตกต่างของค่าพีเอชทั้งสองด้านของคอลัมน์ถูกควบคุมโดยการใช้ไดอะไลเซอร์แบบ ฮอลโล-ไฟเบอร์ ซึ่งบรรจุสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอชตามที่ต้องการ

สมการที่ใช้ในการศึกษาคือ

$$\log [(Y_b) / Y_o] = \alpha n \quad \text{เมื่อ } n \text{ เป็นจำนวนรอบของการทดลอง}$$

จากการทดลองดังกล่าวพบว่า ผลการทดลองที่ได้มีค่าน้อยกว่าที่ได้จากการทำนายทางทฤษฎี แต่ก็พอที่จะสรุปได้ว่ามีศักยภาพในการนำมาใช้สำหรับการแยกเอ็มไซม์

H.T.Chen และคณะ(1977) ได้ทำการศึกษการแยกสารผสมโปรตีน ฮีโมโกลบิน-อัลบูมิน โดยใช้ระบบพีเอชพาราเมตริก บีมบิง แบบกึ่งต่อเนื่อง (semicontinuous pH parametric pumping) ผลการทดลองที่ได้มีค่าตรงข้ามกับทฤษฎีสมดุลที่ทำนายไว้ เนื่องจากการถ่ายเทมวลในส่วนระหว่างเฟสภายในนั้นเกิดขึ้นอย่างช้าๆ โดยส่วนมากแล้วการแยกสารผสมโปรตีนมักจะทำในกระบวนการแบบทีละครั้ง (batchwise) แต่พบว่าในระบบ พีเอช พาราเมตริก แบบกึ่งต่อเนื่องจะมีค่าความสามารถในการแยก (separation factor) สูง และใช้เวลาในการแยกน้อย พร้อมทั้งจะไม่มีสารผลิตภัณฑ์ตัวอื่นที่ไม่ต้องการออกมาปนเปื้อนกับผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ

H.T. Chen, U. Pancharoen(1980) ได้ทำการศึกษการแยกโปรตีนโดยการใช้ พีเอช พาราเมตริก บีมบิง โดยทำการศึกษาทั้งในระบบ หนึ่ง, สอง และ มากกว่าสองคอลัมน์ ผลที่ได้จากการศึกษาได้นำเสนอในรูปกราฟเพื่อใช้ทำนายการแยก ซึ่งแสดงให้เห็นว่าระบบที่ประกอบด้วยคอลัมน์ที่บรรจุตัวแลกเปลี่ยนประจุบวกและตัวแลกเปลี่ยนประจุลบอย่างต่อเนื่องนั้นจะให้ค่าความสามารถในการแยกของผลผลิตมีค่าสูงมากและสอดคล้องกับผลทางทฤษฎีสมดุล ที่ใช้ทำนายการแยก

H.T. Chen, W.T. Yang and U. Pancharoen(1980) ได้ศึกษการแยกสารผสมโปรตีนฮีโมโกลบินและอัลบูมิน โดยวิธี พีเอช พาราเมตริก บีมบิง แบบหลายคอลัมน์ที่ประกอบด้วยคอลัมน์ซึ่งบรรจุตัวแลกเปลี่ยนประจุบวกและตัวแลกเปลี่ยนประจุลบอย่างต่อเนื่อง จากผลการทดลองพบว่าความสามารถในการแยกของระบบพีเอช พาราเมตริก บีมบิง แบบสองคอลัมน์ ในรูปแบบการทดลองต่างๆ นั้น ให้ข้อมูลที่สอดคล้องกับผลที่ได้จากทางทฤษฎี

R.H. Wilhelm(1966) ได้ทำการศึกษการแยกสารผสมโปรตีนโดยใช้วิธี พาราเมตริก บีมบิง แบบวัฏจักรความร้อนและความดัน (thermal and pressure cyclic parametric pumping) ผลการศึกษา พบว่าระบบดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการแยกสารผสมที่ต้องการ

1.2. ความสำคัญของปัญหา

จากการทำนายผลการทดลองในงานวิจัยที่ผ่านมา พบว่ายังมีค่าความผิดพลาดในการคำนวณหาค่าความเข้มข้นในแต่ละรอบของการทดลองเมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองจริง เนื่องมาจากการที่งานวิจัยที่ผ่านมาได้ตั้งสมมติฐานให้

- 1.2.1. ปริมาตรของสารละลายในระบบมีค่าคงที่ตลอดการทดลอง
- 1.2.2. สมดุลระหว่างวัฏภาคของการแยกสารผสมขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรด-ด่างเท่านั้น
- 1.2.3. สมดุลระหว่างวัฏภาคของการแยกสารผสม เป็นฟังก์ชันเชิงเส้น

ซึ่งจะมีผลทำให้ไม่สามารถประมาณค่าความเข้มข้นในแต่ละรอบของการทดลองได้แม่นยำเท่าที่ควร ดังนั้นงานวิจัยที่จะเสนอต่อไปนี้จะเป็นการคำนวณหาความเข้มข้นในแต่ละรอบของการทดลอง โดยการเปลี่ยนสมมติฐานข้อที่ 1.2.3. เป็น สมดุลระหว่างวิภาคของการแยกสารผสมเป็นฟังก์ชันแบบไม่เชิงเส้น โดยคาดว่าจะสามารถปรับปรุงวิธีการทำนายผลการทดลองของกระบวนการแยกสารผสมโดยใช้ พีเอช พาราเมตริก บีมป์ิง ให้สามารถทำนายผลได้แม่นยำ และเกิดค่าความผิดพลาดน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลอง

1.3. วัตถุประสงค์งานวิจัย

1.3.1. เพื่อศึกษาวิธีการแยกสารผสมที่ใช้กระบวนการ พีเอช พาราเมตริก บีมป์ิง

1.3.2. เพื่อปรับปรุงวิธีการทำนายผลให้มีความแม่นยำมากขึ้น

1.4. ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้จะศึกษาถึงวิธีการทำนายผลของกระบวนการ พีเอช พาราเมตริก บีมป์ิง โดยตั้งสมมติฐานให้สมดุลของการแยกของสารผสมเป็นฟังก์ชันไม่เชิงเส้น ในระบบของการแยกโปรตีน ฮีโมโกลบิน กับอัลบูมิน โดยใช้กระบวนการ พีเอช พาราเมตริก บีมป์ิง แบบสองคอลัมน์ ให้มีความแม่นยำมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับ

1.4.1. ผลที่ได้จากการทดลองในงานวิจัยที่ผ่านมา

1.4.2. ผลที่ได้จากการคำนวณในกรณีที่มีสมดุลของการแยกของสารผสมเป็นฟังก์ชันแบบเชิงเส้น

1.5. ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

1.5.1. ศึกษาวิธีการคำนวณหาค่าความเข้มข้นของการแยกโปรตีน โดยใช้กระบวนการพีเอช พาราเมตริก บีมป์ิง ในกรณีที่กำหนดให้สมดุลของการแยกของสารผสมเป็นฟังก์ชันเชิงเส้น

1.5.2. ศึกษาวิธีการเขียนโปรแกรมภาษาปาสคาล เพื่อใช้ในการคำนวณ

1.5.3. เขียนโปรแกรมคำนวณ เพื่อหาสมดุลของการแยกของสารผสมโปรตีนในระบบ พีเอช พาราเมตริก บีมป์ิง ในกรณีที่กำหนดสมดุลของการแยกดังกล่าวเป็นฟังก์ชันแบบไม่เชิงเส้น

1.5.4. นำฟังก์ชันแบบไม่เชิงเส้นของสมดุลที่หาได้ในข้อ 1.5.3. มาคำนวณหาค่าความเข้มข้นในแต่ละรอบของการทดลอง เพื่อเปรียบเทียบกับ

1.5.4.1. ผลที่ได้จากการทดลอง

1.5.4.2. ผลที่ได้จากการคำนวณในกรณีที่มีสมดุลของการแยกของสารผสมเป็นฟังก์ชันแบบเชิงเส้น