

การทำให้บริสุทธิ์
(Purification)

เทคโนโลยีการหมัก



อาจารย์ ดร. หัสลินดา บินมะแอ
หลักสูตรจุลชีววิทยา
คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีการและการเกษตร
มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา

การเก็บเกี่ยวผลผลิตและการทำให้บริสุทธิ์
(Product recovery and Purification)

ในกระบวนการหมักเพื่อผลิตผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ ปัจจัยที่สำคัญ นอกจากการควบคุมกระบวนการหมักให้มีประสิทธิภาพแล้ว ยังขึ้นกับประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวผลิตภัณฑ์ให้ได้สูงสุดเท่าที่จะเป็นไปได้ เพื่อให้สามารถผลิตผลิตภัณฑ์ที่ต้องการได้สูงสุด คู่กับการลงทุน ต้องจำเป็นมีวิธีการที่เหมาะสม ในการเก็บเกี่ยวผลิตภัณฑ์ (recovery) และการทำให้ผลิตภัณฑ์นั้นบริสุทธิ์ (purification) ตลอดจนขั้นตอนของผลิตภัณฑ์ ความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ที่ได้ในน้ำหมัก ความคงทนของผลิตภัณฑ์ และระดับความบริสุทธิ์ของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ



Purification

สามารถทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้ให้บริสุทธิ์ได้หลายวิธี ดังนี้

1. การตกผลึก (crystallization)
 - นิยมใช้เป็นขั้นตอนสุดท้ายในการทำให้บริสุทธิ์ของสาร
 - เช่น สารปฏิชีวนะเพนนิซิลิน-จี

Purification

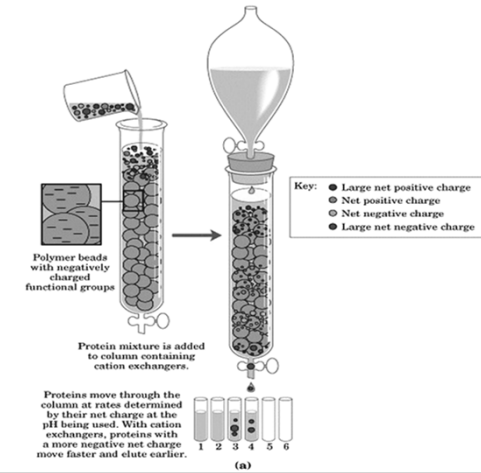
2. โครมาโตกราฟี โดยผ่านของเหลวที่ได้จากการหมักเข้าไปในคอลัมน์ซึ่งบรรจุด้วยสารที่เหมาะสมเพื่อทำหน้าที่เป็น solid phase ซึ่งสามารถแยกผลผลิตที่ต้องการออกจากส่วนประกอบอื่นๆได้ โดยอาศัยกลไกแตกต่างกันไปตามชนิดของ solid phase ที่ใช้ และสมบัติของผลผลิตที่ต้องการแยก

ชนิดของโครมาโตกราฟีที่ในอุตสาหกรรม มี 4 ประเภท คือ

1. Ion exchange Chromatography

- แยกสาร โดยอาศัยการแลกเปลี่ยนไอออนระหว่างผลผลิตกับ solid phase
- Feed ผ่านคอลัมน์ซึ่งบรรจุด้วยเรซิน (solid phase)
- โปรตีนที่มีไอออนตรงข้ามกับไอออนของเรซินจะจับกับเรซิน ซึ่งขนาดของแรงในการจับขึ้นกับจำนวนไอออน
- การแยกโปรตีนออกจากเรซิน ทำได้โดยผ่านสารละลายของตัวชะ (elutant) ในคอลัมน์
- การเปลี่ยนค่า ionic strenght หรือ pH จะทำให้การจับของโปรตีนกับเรซินเปลี่ยนไป

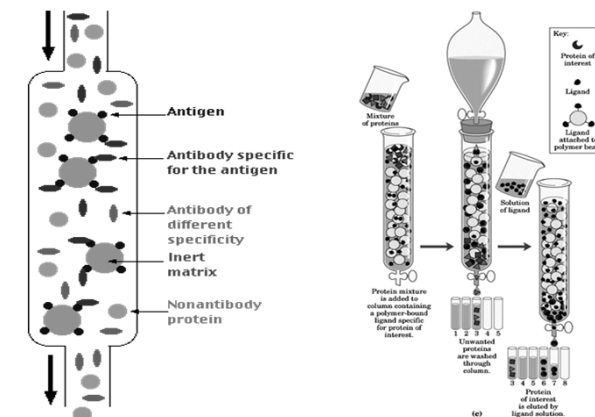
Ion exchange Chromatography



2. Affinity Chromatography

- เป็นการตรึงลิแกนด์ (ligand) ที่มีความจำเพาะกับผลผลิตที่ต้องการทำให้บริสุทธิ์ บนอนุภาคของแข็ง (support media) ที่เหมาะสม ซึ่งถูกบรรจุอยู่ในคอลัมน์
- สารละลายผสมถูกป้อนในคอลัมน์และเกิดอันตรกิริยา (interaction) ที่จำเพาะยึดผลผลิตที่ต้องการไว้
- เอนไซม์-สับสเตรท เอนไซม์-ตัวยับยั้ง แอนติเจน-แอนติบอดี

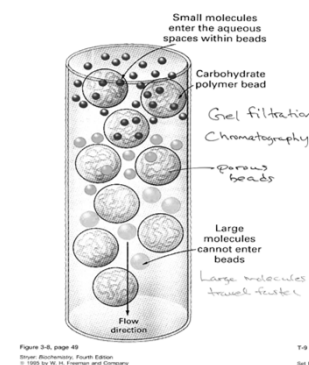
Affinity Chromatography



3. Gel Filtration Chromatography

- แยกสาร โดยอาศัยความแตกต่างของขนาดโมเลกุล
- ผ่านสารที่ต้องการแยกลงไปในคอลัมน์ที่บรรจุสารที่มีรูพรุน เช่น เจล โมเลกุลเล็กๆ จะแพร่ผ่านเข้าไปในรูเล็กๆ ที่อยู่ในเจล แต่ โมเลกุลขนาดใหญ่ไม่สามารถแพร่เข้าไปในเจลได้ จึงแทรกอยู่ตามช่องว่างระหว่างเจล และถูกชะล้างออกจากคอลัมน์ได้ก่อน

Gel Filtration Chromatography



4. High performance liquid chromatography :(HPLC)

- เป็นเทคนิคที่ใช้ความดัน เพื่อบังคับให้ของเหลวไหลผ่านคอลัมน์ยาว
- ภายในบรรจุด้วยวัสดุละเอียด มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 5-40 μm
- วัสดุที่ใช้ คือ silica ซึ่งมีความแข็ง ทนต่อความดันสูง



chromatography

โดยทั่วไปเพื่อต้องการสารที่มีความบริสุทธิ์สูง ต้องใช้โครมาโตกราฟี 2-4 ขั้นตอน

- โครมาโตกราฟีชนิด Ion exchange Chromatography จะถูกใช้เป็นขั้นตอนแรก สามารถใช้กับโปรตีนปริมาณมาก
- ชนิด Affinity Chromatography สามารถใช้ในขั้นใดๆ ในกระบวนการ แต่ดีที่สุด ควรใช้สำหรับสารที่มีความเข้มข้นต่ำ อยู่ในสารละลายปริมาตรสูง
- ส่วน Gel Filtration Chromatography และ HPLC เหมาะที่จะเป็นขั้นตอนสุดท้ายที่มีสารปนเปื้อนน้อย และปริมาตรของกระบวนการต่ำ

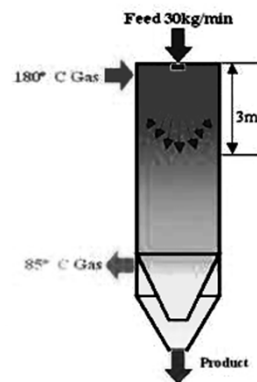
6. การทำให้แห้ง (Drying)

- เป็นการกำจัดความชื้นในผลผลิต เพื่อให้ผลิตภัณฑ์อยู่ในรูปที่สามารถจัดการง่าย เช่น ในการขนถ่าย และการเก็บรักษา
- การเลือกวิธีการทำแห้ง ควรคำนึงถึงคุณสมบัติของผลผลิต โดยเลือกใช้กระบวนการการทำแห้งที่อุณหภูมิต่ำ หรือ โดยการปรับปรุงสมบัติของผลิตภัณฑ์ให้ทนความร้อนได้สูงขึ้น
- การทำแห้งมีหลายวิธี ดังนี้

1. Spray drying

- เป็นการทำให้แห้งแบบการพาความร้อน การถ่ายเทความร้อน การเคลื่อนที่ของผลผลิต และการกำจัดไอน้ำที่เกิดจากกระแสอากาศ
- สามารถทำงานแบบต่อเนื่องในปริมาณมาก
- โดยสารแขวนลอยของผลผลิต จะถูกฉีดพ่นเข้าทางหัวฉีดด้านบน ให้กระจายเป็นละอองขนาดเล็ก และอากาศร้อนที่อุณหภูมิ 150-250 องศาเซลเซียส จะถ่ายเทให้แก่ผลผลิตที่เคลื่อนที่สวนทางกัน ทำให้เกิดการระเหยอย่างรวดเร็ว

Spray drying



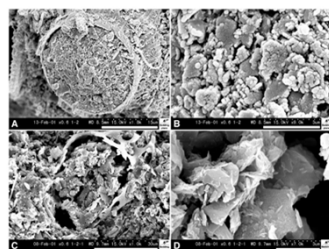
2. Freeze Drying

- เป็นการทำให้แห้งเยือกแข็ง โดยอาศัยหลักการระเหิดน้ำ
- โดยผลผลิตที่ต้องการทำแห้งจะถูกแช่แข็งก่อน แล้วจึงให้ความร้อนแก่ผลผลิต และไอน้ำที่เกิดขึ้นจะถูกกำจัดออกทันทีที่เครื่องควบแน่น

[

Freeze Drying

]



การทำให้บริสุทธิ์
(Purification)

[เทคโนโลยีการหมัก]



อาจารย์ ดร. หัสลินดา บินมะแอ
หลักสูตรจุลชีววิทยา
คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร
มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา