การแยกและการทำให้บริสุทธิ์ของกรดไฮยาลูโรนิกจากการหมักด้วยเยื่อแผ่นกรอง

นางสาวอัจฉรา สุจิตวนิช

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2547
ISBN 974-17-6106-6
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ISOLATION AND PURIFICATION OF HYALURONIC ACID FROM FERMENTATION BY MEMBRANE FILTRATION

Miss Atchara Sujitawanich

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science in Biotechnology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2004

ISBN 974-17-6106-6

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การแยกและการทำให้บริสุทธิ์ของกรดไฮยาลูโรนิกจากการหมักด้วยเยื่อแผ่นกรอง
โดย	นางสาวอัจฉรา สุจิตวนิช
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรพงศ์ นวังคสัตถุศาสน์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร. นลิน นิลอุบล
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร. เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุพัฒน์ เจริญพรวัฒนา)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรพงศ์ นวังคสัตถุศาสน์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร. นลิน นิลอุบล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พลกฤษณ์ แสงวณิช)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อัจฉรา สุจิตวนิช : การแยกและการทำให้บริสุทธิ์ของกรดไฮยาลูโรนิกจากการหมักด้วยเยื่อแผ่นกรอง (ISOLATION AND PURIFICATION OF HYALURONIC ACID FROM FERMENTATION BY MEMBRANE FILTRATION) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ.ดร. สุรพงศ์ นวังคสัตถุศาสน์, อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : รศ.ดร. นลิน นิลอุบล, รศ.ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ, 94 หน้า. ISBN 974-17-6106-6.

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาการแยกกรดไฮยาลูโรนิกเพื่อให้มีความบริสุทธิ์เหมาะสมกับการนำไปใช้งานจากน้ำหมัก โดยเลี้ยงเชื้อ *Streptococcus zooepidermicus* UN-7 เพื่อผลิตกรดไฮยาลูโรนิกในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร ซึ่งได้ความเข้มข้นของกรดไฮยาลูโรนิกในน้ำหมัก 1,995 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อนำน้ำหมักก่อนแยกเซลล์มาสกัดกรดไฮยาลูโรนิกที่ติดอยู่กับเซลล์โดยใช้โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต พบว่าปริมาณกรดไฮยาลูโรนิกเพิ่มขึ้นเป็น 2,122 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่อย่างไรก็ตามขั้นตอนนี้ส่งผลต่อให้น้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกลดลง และอาจเพิ่มส่วนประกอบของเซลล์ปนเปื้อนในน้ำหมัก จึงไม่นำวิธีการสกัดกรดไฮยาลูโรนิกด้วยโดเดซิลซัลเฟตมาใช้ ดังนั้นจึงแยกกรดไฮยาลูโรนิกโดยนำน้ำหมักที่แยกเซลล์ออกแล้ว มาตกตะกอนกรดไฮยาลูโรนิกด้วย 95 เปอร์เซ็นต์เอทิลแอลกอฮอล์ โดยใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 2 ส่วนต่อน้ำหมัก 1 ส่วน นำตะกอนที่ได้มาละลายในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.2 โมลาร์ และดูดซับโปรตีนที่ปนเปื้อนด้วยถ่านกัมมันต์ จากนั้นนำไปผ่านกระบวนการอัลทราฟิลเทรชัน โดยใช้เยื่อแผ่นที่มี molecular weight cut off 300,000 ดาลตัน เพื่อกำจัดสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลเล็ก เมื่อผ่านกระบวนการข้างต้นพบว่าได้สารละลายกรดไฮยาลูโรนิกที่มีความเข้มข้น 2,100 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 2.1 ถึง 2.3 x 10^6 ดาลตัน มีความบริสุทธิ์ร้อยละ 83.79 และมีผลผลิตร้อยละ 65.24 ของปริมาณกรดไฮยาลูโรนิกในน้ำหมักเริ่มต้น นอกจากนี้ยังไม่พบการปนเปื้อนโปรตีนจากการวิเคราะห์โดยวิธีลาวรี เมื่อศึกษาปัจจัยทางกายภาพ คือ อุณหภูมิ และ ความเร็วรอบของการกวน และปัจจัยเคมี คือ ค่าความเป็นกรดด่าง และ เอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดส ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกที่เตรียมได้ พบว่า น้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกลดลงประมาณร้อยละ 20 เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 50 70 และ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 0.5 และ 0.08 ชั่วโมง ตามลำดับ เมื่อความเร็วรอบของการกวน 200 และ 400 รอบต่อนาที เป็นเวลา 4 และ 0.5 ชั่วโมง ตามลำดับ เมื่อค่าความเป็นกรดด่างเป็น 1 3 และ 13 เป็นเวลา 0.5 1 และ 0.25 ชั่วโมง ตามลำดับ และเมื่อมีการปนเปื้อนของเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสเพียง 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หรือคิดเป็น 0.5 ยูนิตของเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 0.10 ชั่วโมง

สาขาวิชา.....เทคโนโลยีชีวภาพ..... ลายมือชื่อนิสิต.....

ปีการศึกษา.....2547..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4472497623 : MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEY WORD : *Streptococcus zooepidemicus* / HYALURONIC ACID / MOLECULAR WEIGHT

ATCHARA SUJITAWANICH : ISOLATION AND PURIFICATION OF HYALURONIC ACID FROM FERMENTATION BY MEMBRANE FILTRATION. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. SURAPONG NAVANKASATTUSAS, Ph.D. THESIS CO-ADVISOR : ASSOC. PROF. NALINE NILUBOL, Ph.D., ASSOC. PROF. PAIROH PINPHANICHAKARN, Ph.D. 94 pp. ISBN 974-17-6106-6.

The purpose of this research was to study the purification of hyaluronic acid for further application. Hyaluronic acid was produced by *Streptococcus zooepidermicus* UN-7 in a 5-liter fermentor and the product concentration was 1,995 mg/l. Culture cells in fermentation broth was treated with sodium dodecyl sulfate to remove membrane bound hyaluronic acid. The hyaluronic acid concentration was raised to 2,122 mg/l. However its molecular weight was decreased and this step may increase contamination of fermentation broth with intracellular components, therefore, this step was not used in the purifying process. Hyaluronic acid was precipitated from cell free broth using 95% ethyl alcohol at the ratio of ethyl alcohol to culture broth of 2 : 1. The precipitate was redissolved in 0.2 M sodium chloride solution. The protein was adsorbed by activated carbon and the low molecular weight contaminants were removed by ultrafiltration using 300,000 dalton molecular weight cut off membrane. The final concentration of hyaluronic acid solution was 2,100 mg/l with molecular weight in the range of 2.1-2.3 x 10^6 dalton. The purity was 83.79 percent The yield was 65.24 percent of the initial hyaluronic acid content. The contaminated protein was undetectable by Lowry method. The effects of variables on the molecular weight of the prepared hyaluronic acid were studied. The physical factors were temperature and stirring speed. The chemical factors were pH and enzyme hyaluronidase. It was found that, the molecular weight decreased approximately 20 percent at temperature 50, 70 and 100 $^{\circ}$C for 48, 0.5 and 0.08 hours respectively or stirring speed of 200 and 400 rpm for 4 and 0.5 hours respectively or maintain at pH 1, 3 and 13 for 0.5, 1 and 0.25 hour respectively or in the presence of enzyme hyaluronidase only 0.5 μg/ml or 0.5 unit enzyme activity/ml for 0.10 hour.

Field of study.....Biotechnology.....

Academic year.....2004.....

Student's signature.....

Adviser's signature.....

Co-advisor's signature.....

Co-advisor's signature.....

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาระดับปริญญามหาบัณฑิต และวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จด้วยความสมบูรณ์ โดยได้รับความกรุณาจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรพงศ์ นวังคสัตถุศาสน์ รองศาสตราจารย์ ดร. นลิน นิลอุบล และ รองศาสตราจารย์ ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ ที่กรุณารับเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา และอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ตลอดจนให้คำแนะนำแนวทางการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ซึ่งดิฉันขอกราบขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้อย่างสูงยิ่ง

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพัฒน์ เจริญพรวัฒนา และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พลกฤษณ์ แสงวณิช ที่กรุณารับเป็นประธานกรรมการและกรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิตในครั้งนี้

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์วาสนา โตเลี้ยง ที่ให้คำแนะนำในการทำวิทยานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และครอบครัว ที่ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจที่สำคัญ สำหรับการทำวิจัยตลอดเวลา

ขอขอบคุณ คณะบุคลากรทุกท่านในสถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาให้ความสะดวกในด้านอุปกรณ์ และสารเคมีในการทำวิจัย

ขอขอบคุณ เพื่อนๆ และพี่ๆน้องๆ Biotech ทุกคน และสุดท้ายขอขอบคุณ หยิน ฟู แนน เอิร์ท พี่ขลุ่ย พี่แจ๋ว พี่อ้วน พี่บูลย์ พี่จิ๋ม พี่ทิพย์ พี่กบ พี่เล็ก น้องจิ๋ว น้องนิว น้องออฟ น้องตาล และพี่ๆ เพื่อนๆ น้องๆ ที่สถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ที่ให้ความช่วยเหลือ และให้กำลังใจด้วยดีมาตลอด

ความดีของการศึกษา และคุณค่าของวิทยานิพนธ์นี้ ข้าพเจ้าขออุทิศแด่ บูรพาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่าน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญ..... ช

สารบัญตาราง..... ฎ

สารบัญรูป..... ฐ

คำย่อ..... ฒ

บทที่

1 บทนำ

1.1 ประวัติความเป็นมา..... 1

1.2 คุณสมบัติของกรดไฮยาลูโรนิก..... 1

1.3 การผลิตกรดไฮยาลูโรนิก..... 3

1.4 การแยกและการทำกรดไฮยาลูโรนิกให้บริสุทธิ์..... 4

1.4.1 กลไกการดูดติดผิว และอัตราการเคลื่อนย้ายโมเลกุล (adsorption process and rate of molecular transfer)..... 7

1.4.1.1 กลไกการดูดติดผิว (adsorption mechanism)..... 7

1.4.1.2 อัตราการเคลื่อนย้ายโมเลกุล (rate of molecular transfer)..... 8

1.4.2 การดูดติดผิวจากสารละลาย..... 9

1.4.3 สมดุลการดูดติดผิว (adsorption equilibrium)..... 11

1.4.3.1 ไอโซเทอร์มการดูดติดผิวแบบแลงมัวร์ (Langmuir adsorption isotherm)..... 11

1.4.3.2 ไอโซเทอร์มการดูดติดผิวแบบเบท (BET, Brunauer Emmerett-Teller adsorption isotherm)..... 13

1.4.3.3 ไอโซเทอร์มการดูดติดผิวฟลุนดลิช (Freundlich adsorption isotherm)..... 14

1.4.4 กลไกการไหลผ่านเยื่อแผ่น..... 15

1.4.4.1 concentration polarization model 16

1.4.1.2 gel polarization model..... 18

1.5 การสูญเสียสมบัติของกรดไฮยาลูโรนิก..... 20

สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
	1.6 ประโยชน์ของกรดไฮยาลูโรนิก	21
	1.7 มูลเหตุจูงใจในการทำวิจัย	21
2	วิธีการทดลอง	
	2.1 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	24
	2.1.1 อุปกรณ์	24
	2.1.2 สารเคมี	25
	2.2 เชื้อจุลินทรีย์	26
	2.3 การเก็บรักษาเชื้อแบคทีเรีย	26
	2.4 การเลี้ยงเชื้อและการผลิตกรดไฮยาลูโรนิก	26
	2.4.1 การเตรียมหัวเชื้อตั้งต้น	26
	2.4.2 การเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตกรดไฮยาลูโรนิกในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร	26
	2.5 การทำกรดไฮยาลูโรนิกให้บริสุทธิ์	27
	2.5.1 การสกัดกรดไฮยาลูโรนิก	27
	2.5.2 การตกตะกอนกรดไฮยาลูโรนิก	27
	2.5.3 การกำจัดโปรตีน	27
	2.5.3.1 การตกตะกอนโปรตีนด้วยกรดไทรคลอโรอะซิติก	27
	2.5.3.2 การกำจัดโปรตีนด้วยการใช้ถ่านกัมมันต์	27
	2.5.3.2.1 การหา equilibrium time ของการดูดซับด้วยถ่านกัมมันต์	28
	2.5.3.2.2 การหา adsorption isotherm ของการดูดซับด้วยถ่านกัมมันต์	28
	2.5.3.2.3 การดูดซับโปรตีนด้วยถ่านกัมมันต์แบบ single stage และ multi stage	28
	2.5.3.2.4 การหา breakthrough curve ของถ่านกัมมันต์	29
	2.5.4 การเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายกรดไฮยาลูโรนิกและการกำจัดสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำด้วยเครื่องอัลทราฟิลเทรชัน	29
	2.6 ปัจจัยที่มีผลต่อน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิก	29
	2.6.1 ปัจจัยทางกายภาพ	29

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ หน้า

2.6.1.1 อุณหภูมิ..... 29

2.6.1.2 ความเร็วรอบ..... 29

2.6.2 ปัจจัยทางเคมี..... 29

2.6.2.1 ค่าความเป็นกรดด่าง..... 29

2.6.2.2 เอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดส..... 29

2.7 วิธีวิเคราะห์..... 30

2.7.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง..... 30

2.7.2 การวัดการเจริญของเซลล์โดยการหาน้ำหนักเซลล์แห้ง..... 30

2.7.3 การวิเคราะห์ปริมาณกรดไฮยาลูโรนิกโดยวิธีคาร์บาโซล..... 30

2.7.3.1 การตกตะกอนกรดไฮยาลูโรนิก..... 30

2.7.3.2 การละลายกรดไฮยาลูโรนิก..... 30

2.7.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณกรดไฮยาลูโรนิกโดยวิธีคาร์บาโซล..... 31

2.7.4 การวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกโดยอาศัยความหนืด (viscometry)..... 31

2.7.5 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนลาวรี..... 32

3 ผลการทดลอง

3.1 การผลิตกรดไฮยาลูโรนิกโดย *Streptococcus zooepidemicus* สายพันธุ์ UN-7 ในถังหมักระดับ 5 ลิตร..... 33

3.2 การทำกรดไฮยาลูโรนิกให้บริสุทธิ์..... 34

3.2.1 การสกัดกรดไฮยาลูโรนิก..... 34

3.2.2 การตกตะกอนกรดไฮยาลูโรนิก..... 36

3.2.3 การกำจัดโปรตีน..... 37

3.2.3.1 การหา equilibrium time ของการดูดซับด้วยถ่านกัมมันต์..... 40

3.2.3.2 การหา adsorption isotherm ของการดูดซับด้วยถ่านกัมมันต์..... 41

3.2.3.3 การดูดซับโปรตีนด้วยถ่านกัมมันต์แบบ single stage และ multi stage..... 43

3.2.3.4 การหา breakthrough curve ของถ่านกัมมันต์..... 44

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ หน้า

3.2.4 การเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายกรดไฮยาลูโรนิกและการกำจัดสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำด้วยเครื่องอัลทราฟิลเทรชัน..... 47

3.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกที่เตรียมได้ 51

3.3.1 ปัจจัยทางกายภาพ..... 51

3.3.1.1 อุณหภูมิ..... 51

3.3.1.2 ความเร็วรอบของการกวน..... 53

3.3.2 ปัจจัยทางเคมี..... 54

3.3.2.1 ค่าความเป็นกรดด่าง..... 54

3.3.2.2 เอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดส..... 56

4 วิจารณ์ผลการทดลอง..... 58

5 สรุปผลการทดลอง..... 65

รายการอ้างอิง..... 67

ภาคผนวก..... 73

ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ..... 74

ภาคผนวก ข การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย..... 75

ภาคผนวก ค กราฟมาตรฐาน..... 77

ภาคผนวก ง การย่อยแลกติกเคซีนด้วยเอนไซม์..... 79

ภาคผนวก จ แผนภาพโมดูลที่ใช้ในกระบวนการอัลทราฟิลเทรชัน..... 81

ภาคผนวก ฉ การคำนวณไอโซเทอร์มแบบแลงมัวร์..... 82

ภาคผนวก ช การคำนวณฟลักซ์ทั้งหมด (total flux)..... 84

ภาคผนวก ซ การคำนวณค่าความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการลดลงของน้ำหนักโมเลกุลกับอุณหภูมิคงที่จากสมการของอาร์รีเนียส..... 85

ภาคผนวก ฌ Product Specification ของถ่านกัมมันต์..... 92

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์..... 94

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.1	การเปรียบเทียบสมบัติของกรดไฮยาลูโรนิกที่ใช้ทางการแพทย์กับที่ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง.....	22
1.2	การนำกรดไฮยาลูโรนิกไปใช้ในตลาดยุโรปและอเมริกา.....	23
3.1	การเจริญและการผลิตกรดไฮยาลูโรนิกของเชื้อ *Streptococcus zooepidemicus* สายพันธุ์ UN-7 อัตราการให้อากาศ 1.5 vvm และความเร็วรอบในการกวน 400 รอบต่อนาที.....	34
3.2	ปริมาณและน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกเมื่อผ่านการสกัดด้วยโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต.....	35
3.3	ปริมาณและผลผลิตกรดไฮยาลูโรนิกเมื่อผ่านการตกตะกอนด้วยเอทิลแอลกอฮอล์.....	36
3.4	เปรียบเทียบปริมาณโปรตีน ปริมาณและน้ำหนักกรดไฮยาลูโรนิกหลังจากผ่านการกำจัดโปรตีนโดยการใช้กรดไทรคลอโรอะซิติก และถ่านกัมมันต์.....	38
3.5	equilibrium time ของการดูดซับโปรตีนด้วยถ่านกัมมันต์ชนิด CGC-16 และ CGC-wood และปริมาณกรดไฮยาลูโรนิกหลังผ่านการดูดซับโปรตีน.....	40
3.6	ปริมาณโปรตีนในสารละลายกรดไฮยาลูโรนิกหลังผ่านการดูดซับเมื่อแปรปริมาณถ่านกัมมันต์ที่ใช้ในการดูดซับ.....	42
3.7	เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนที่ถูกดูดซับในระบบการดูดซับแบบ single stage และ multi stage.....	43
3.8	ปริมาณโปรตีนในสารละลายกรดไฮยาลูโรนิกที่ผ่านการดูดซับด้วยถ่านกัมมันต์ในคอลัมน์.....	45
3.9	แสดงปริมาณกรดไฮยาลูโรนิกในส่วนของรีเทนเทตหลังจากผ่านกระบวนการอัลทราฟิลเทรชัน.....	47
3.10	แสดงปริมาณกรดไฮยาลูโรนิกในส่วนของเพอร์มิเอตหลังจากผ่านกระบวนการอัลทราฟิลเทรชัน.....	48
3.11	ฟลักซ์ทั้งหมด (total flux) ของสารละลายกรดไฮยาลูโรนิกที่ผ่านกระบวนการอัลทราฟิลเทรชัน.....	49
3.12	ความบริสุทธิ์ของกรดไฮยาลูโรนิกและปริมาณผลผลิตที่ได้หลังจากผ่านการทำบริสุทธิ์ในแต่ละขั้นตอน.....	50
3.13	ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิก.....	52

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
3.14	ความสัมพันธ์ระหว่างความเร็วรอบของการกวนและน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิก.....	53
3.15	ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรดด่างและน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิก.....	55
3.16	ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไฮยาลูโรนิเดสและน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิก.....	57
ซ.1	ความสัมพันธ์ระหว่างเวลากับ ln MW ณ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส.....	86
ซ.2	ความสัมพันธ์ระหว่างเวลากับ ln MW ณ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส.....	87
ซ.3	ความสัมพันธ์ระหว่างเวลากับ ln MW ณ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส.....	88
ซ.4	ความสัมพันธ์ระหว่างเวลากับ ln MW ณ อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส.....	89
ซ.5	ความสัมพันธ์ระหว่างส่วนกลับขององศาสัมบูรณ์กับ ln k_T.....	90

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1.1	แสดงโครงสร้างของกรดไฮยาลูโรนิก.....	2
1.2	การกระจายโมเลกุลระหว่างของเหลวและพื้นผิวของแข็ง.....	7
1.3	ขั้นตอนการเคลื่อนย้ายโมเลกุลของการดูดติดผิวด้วยถ่านกัมมันต์.....	9
1.4	แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ของตัวถูกละลาย ตัวทำละลาย และสารดูดติดผิว.....	10
1.5	ไอโซเทอร์มการดูดติดผิวแบบแลงมัวร์.....	12
1.6	ไอโซเทอร์มการดูดติดผิวแบบเบท.....	14
1.7	ไอโซเทอร์มการดูดติดผิวแบบฟลุนดลิช.....	15
1.8	concentration polarization model.....	17
1.9	gel polarization model.....	19
3.1	การเจริญและการผลิตกรดไฮยาลูโรนิกของเชื้อ *Streptococcus zooepidemicus* สายพันธุ์ UN-7 อัตราการให้อากาศ 1.5 vvm และความเร็วรอบในการกวน 400 รอบต่อนาที.....	33
3.2	ปริมาณของกรดไฮยาลูโรนิกเมื่อผ่านการสกัดด้วยโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต.....	35
3.3	น้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกเมื่อผ่านการสกัดด้วยโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต	36
3.4	ปริมาณกรดไฮยาลูโรนิกเมื่อผ่านการตกตะกอนด้วยเอทิลแอลกอฮอล์.....	37
3.5	เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนหลังจากผ่านการกำจัดโปรตีนโดยการใช้กรดไทรคลอโรอะซิติก และถ่านกัมมันต์.....	38
3.6	เปรียบเทียบปริมาณกรดไฮยาลูโรนิกหลังจากผ่านการกำจัดโปรตีนโดยการใช้กรดไทรคลอโรอะซิติก และถ่านกัมมันต์.....	39
3.7	เปรียบเทียบน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกหลังจากผ่านการกำจัดโปรตีนโดยการใช้กรดไทรคลอโรอะซิติก และถ่านกัมมันต์.....	39
3.8	equilibrium time ของการดูดซับโปรตีนด้วยถ่านกัมมันต์ชนิด CGC-16 และ CGC-wood.....	41
3.9	ไอโซเทอร์มของการดูดซับของถ่านกัมมันต์ชนิด CGC-wood.....	42
3.10	เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนที่ถูกดูดซับในระบบการดูดซับแบบ single stage และ multi stage.....	44
3.11	ปริมาณโปรตีนในสารละลายกรดไฮยาลูโรนิกที่ผ่านการดูดซับด้วยถ่านกัมมันต์ในคอลัมน์.....	46

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
3.12	ปริมาณกรดไฮยาลูโรนิกในส่วนของรีเทนเทตและเพอร์มิเอตหลังจากผ่านกระบวนการอัลทราฟิลเทรชัน.....	48
3.13	ฟลักซ์ทั้งหมด (total flux) ของสารละลายกรดไฮยาลูโรนิกที่ผ่านกระบวนการอัลทราฟิลเทรชัน.....	49
3.14	ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิก.....	52
3.15	ความสัมพันธ์ระหว่างความเร็วรอบของการกวนและน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิก.....	54
3.16	ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรดด่างและน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิก.....	55
3.17	ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสและน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิก.....	57
ซ.1	ความสัมพันธ์ระหว่างเวลากับ ln MW ณ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส.....	86
ซ.2	ความสัมพันธ์ระหว่างเวลากับ ln MW ณ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส.....	87
ซ.3	ความสัมพันธ์ระหว่างเวลากับ ln MW ณ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส.....	88
ซ.4	ความสัมพันธ์ระหว่างเวลากับ ln MW ณ อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส.....	89
ซ.5	ความสัมพันธ์ระหว่างส่วนกลับขององศาสัมบูรณ์กับ ln k_T.....	90

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำย่อ

คำย่อ	คำอธิบาย
vvm	ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที
%	เปอร์เซ็นต์
kg	กิโลกรัม
g	กรัม
มิลลิกรัม	มิลลิกรัม
µg	ไมโครกรัม
ml	มิลลิลิตร
µm	ไมโครเมตร
Å	อังสตรอม
°	องศา
mol	โมล
cm^2	ตารางเซนติเมตร
X	ปริมาณของตัวถูกละลายที่ถูกดูดติดต่อหน่วยน้ำหนักของสารดูดซับ มีหน่วยเป็น มิลลิกรัม/กรัม หรือ โมลาร์/กรัม
X_m	ปริมาณของตัวถูกละลายต่อหน่วยน้ำหนักของสารดูดซับที่ใช้ในการสร้างแผ่นชั้นเดี่ยว (Monolayer) มีหน่วยเป็น มิลลิกรัม/กรัม หรือ โมลาร์/กรัม
C_e	ความเข้มข้นของตัวถูกละลายที่จุดสมดุล มีหน่วยเป็น มิลลิกรัม/ลิตร หรือ โมลาร์/ลิตร
b	ค่าคงที่ของพลังงานในการดูดติดผิว
C_s	ความเข้มข้นอิ่มตัวของตัวถูกละลาย มีหน่วยเป็น มิลลิกรัม/ลิตร หรือ โมลาร์/ลิตร
K	ค่าคงที่สัมพันธ์กับความสามารถในการดูดติดผิวของคาร์บอน
1/n	ค่าคงที่สัมพันธ์กับพลังงานของการดูดติดผิว
σ_{obs}	สัมประสิทธิ์รีเจคชันปรากฏ
C_p	ค่าความเข้มข้นของเพอมิเอท (มิลลิกรัม/ลิตร)
C_b	ค่าความเข้มข้นของสารละลายเริ่มต้นก่อนการกรอง (มิลลิกรัม/ลิตร)
C_m	ความเข้มข้นที่ผิวหน้าเยื่อแผ่น (มิลลิกรัม/ลิตร)
q	อัตราเร็วการไหลผ่านเยื่อแผ่น (ลิตร/ชั่วโมง)
q_s	อัตราเร็วการไหลของตัวถูกละลาย (มิลลิกรัม/ชั่วโมง)
D	ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ (diffusivity) ของตัวถูกละลาย (ลิตร/ชั่วโมง)

คำย่อ (ต่อ)

คำย่อ	คำอธิบาย
C	ค่าความเข้มข้นของตัวถูกละลาย ณ ตำแหน่งใดๆ (มิลลิกรัม/ลิตร)
δ	ความหนาของชั้นขอบเขต (boundary layer) (มิลลิเมตร)
k	ค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายโอนมวล (mass transfer coefficient) (ลิตร/ชั่วโมง)
q_{lim}	อัตราเร็วการไหลของเพอมิเอตจำกัด (limiting flux) (ลิตร/ชั่วโมง)
ΔP	ความแตกต่างของความดันระหว่างผิวหน้าทั้งสองของเยื่อแผ่น (ปาสคาล)
q_w	คืออัตราการไหลผ่านของน้ำบริสุทธิ์ (เมตร/วินาที)
R_m	เป็นค่าความต้านทานของแผ่นเยื่อที่มีต่อการไหลผ่าน (1/เมตร)
$\Delta\P$	ความแตกต่างของความดันออสโมติคระหว่างผิวหน้าทั้งสองของเยื่อแผ่น (ปาสคาล)
ηr	relative viscosity
t	เวลาที่ตัวถูกละลายที่ละลายอยู่ในตัวทำละลายใช้ไหลผ่าน viscometer (วินาที)
t_0	เวลาที่ตัวทำละลายใช้ไหลผ่าน viscometer (วินาที)
ηsp	specific viscosity

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย