ชื่อวิทยานิพนธ์ การเก็บเกี่ยวโปรตีนจากน้ำทิ้งในกระบวนการผลิตซูริมิโดยวิธีการกรองด้วยเมมเบรนและการตกผลึก

ผู้เขียน นางสาวระวีวรรณ เตชะรัตนมณี

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

ปีการศึกษา 2548

บทคัดย่อ

น้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตซูริมิประกอบด้วยโปรตีนและองค์ประกอบอื่นๆ ที่มีประโยชน์ โปรตีนมักเป็นปัญหาสำคัญในการบำบัดน้ำทิ้งแต่สามารถเก็บเกี่ยวมาใช้ประโยชน์ได้โดยอัลตราฟิลเตรชันและไมโครฟิลเตรชัน ต่อจากนั้นสามารถนำมาทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึก ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าโปรตีนที่ละลายอยู่ในน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตซูริมิมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 10-110 kDa การกรองน้ำทิ้งโดยใช้อัลตราฟิลเตรชันด้วยเมมเบรนขนาด 100 kDa และ 300 kDa ไม่สามารถแยกโปรตีนได้ เนื่องจากโปรตีนทั้งหมด ถูกกักอยู่ในส่วนรีเทนเทท สาเหตุจากเกิดฟาวลิ่งในขณะกรอง ทำให้มีผลต่อการคัดเลือกสารของเมมเบรนแต่กระบวนการดังกล่าวสามารถเพิ่มความเข้มข้นของโปรตีนจากน้ำทิ้งในจุดแรกของการล้างเนื้อปลา ซึ่งมีความเข้มข้นแรกเริ่ม 1.53 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็น 12.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนน้ำทิ้งจากจุดสุดท้ายสามารถเพิ่มความเข้มข้นจาก 5.53 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็น 26.38 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และในส่วนเพอมิเอทสามารถลดค่าซีโอดีได้ 93-96% ส่วนการแยกโปรตีนจากน้ำทิ้งโดยไมโครฟิลเตรชันด้วยเมมเบรนขนาด 0.22 0.45 และ 1 ไมโครเมตร ถึงแม้ว่ามีโปรตีนบางส่วนสามารถผ่านเมมเบรนได้ แต่ผลจาก SDS-PAGE แสดงให้เห็นว่าโปรตีนในส่วนรีเทนเททและเพอมิเอทไม่แตกต่างกัน ดังนั้นการกรองด้วยไมโครฟิลเตรชันไม่สามารถแยกโปรตีนได้ เป็นเพราะรูพรุนของเมมเบรนมีขนาดใหญ่เกินไปและน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนจากน้ำทิ้งมีความแตกต่างไม่มากพอ สำหรับการตกผลึกของโปรตีนจากสารละลายเข้มข้นที่ผ่านการกรองโดยอัลตราฟิลเตรชัน ได้คัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมด้วยชุดทดสอบการตกผลึกทางการค้า (Crystallization basic kit for protein) ผลการทดลองพบว่าผลึกสามารถเกิดขึ้นได้เฉพาะในสภาวะของ Tris-HCl 0.1 M (pH8.5), $NH_4H_2PO_4$ 2.0 M จึงได้นำสภาวะนี้มาใช้เตรียมสำหรับการทดลองกับสารละลายโปรตีนในปริมาณที่มากขึ้น โดยผสม Tris ในรูปของแข็งในสารละลายโปรตีนเข้มข้น แล้วค่อยๆ เติม $NH_4H_2PO_4$ 2.0 M ด้วยอัตราเร็ว 2 มิลลิลิตรต่อนาที ขณะที่กวนสารละลายตลอดเวลาจนกระทั่งค่าพีเอชเท่ากับ 8.5 ทำให้เกิดผลึกขึ้นโดยมีลักษณะ

เช่นเดียวกันกับผลึกที่ได้จากชุดทดสอบทางการค้า ผลจาก SDS-PAGE แสดงให้เห็นว่าผลึกมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 25-35 kDa ซึ่งสามารถสรุปได้ว่าเป็นโปรตีนซาร์โคพลาสมิก

Thesis Title Recovery of Proteins from Wastewater Discharged from Surimi Production by Membrane Filtration and Crystallization

Author Miss Raweewan Techaratanamanee

Major Program Biotechnology

Academic Year 2005

Abstract

Wastewater from surimi production consists of proteins and other valuable components. Protein, mainly causes the difficulty in wastewater treatment can be recovered by ultrafiltration and microfiltration and then can be partially purified by bulk crystallization. The results from this study show that molecular weight of the soluble protein in wastewater harvested from surimi processing are in the range of 10-110 kDa. Ultrafiltration applied for surimi wastewater using membrane with MWCO 100 and 300 kDa could not fractionate these proteins since most of the proteins were retained in retentate. This result suggested that fouling formed during ultrafiltration played an important role in selectivity of the membrane. Protein concentration in the water discharged from the first washing stage determined at 1.57 mg/ml can increased to 12.63 mg/ml and discharged water from the last stage with protein concentration of 5.53 mg/ml can be increased to 26.38 mg/ml. Meanwhile COD was decreased about 93-96%. Fractionation of proteins from wastewater by using microfiltration with membrane at the pore size of 0.22, 0.45 and 1 μm was also studied. Although some protein could penetrate through the membrane, the results from SDS-PAGE showed that the protein profiles in the retentate and permeate were not different. It is concluded that these membranes also cannot be used for fractionation in this situation. This may be due to the large pore size of the membranes and the narrow range of the molecular weight for these proteins. The conditions for protein crystallization from retentate collected from ultrafiltration was determined using *the crystallization basic kit for protein*. It was found that protein crystals occur only in the condition of Tris-HCl 0.1 M (pH8.5), $NH_4H_2PO_4$ 2.0 M. Bulk crystallization was then studied by mixing of Tris in solid form with the concentrated protein, then $NH_4H_2PO_4$ 2.0 M was added at about 2 ml/min, while the solution was stirring, until pH reduced to 8.5. Protein crystals with the structure as they occurred in the basic

kit were also found in bulk crystallization. The SDS-PAGE shows that molecular weight of protein crystals is about 25-35 kDa. It is able to conclude that protein crystals found in this experiment could be sarcoplasmic protein.