

# บทที่ 1

## บทนำ (Introduction)

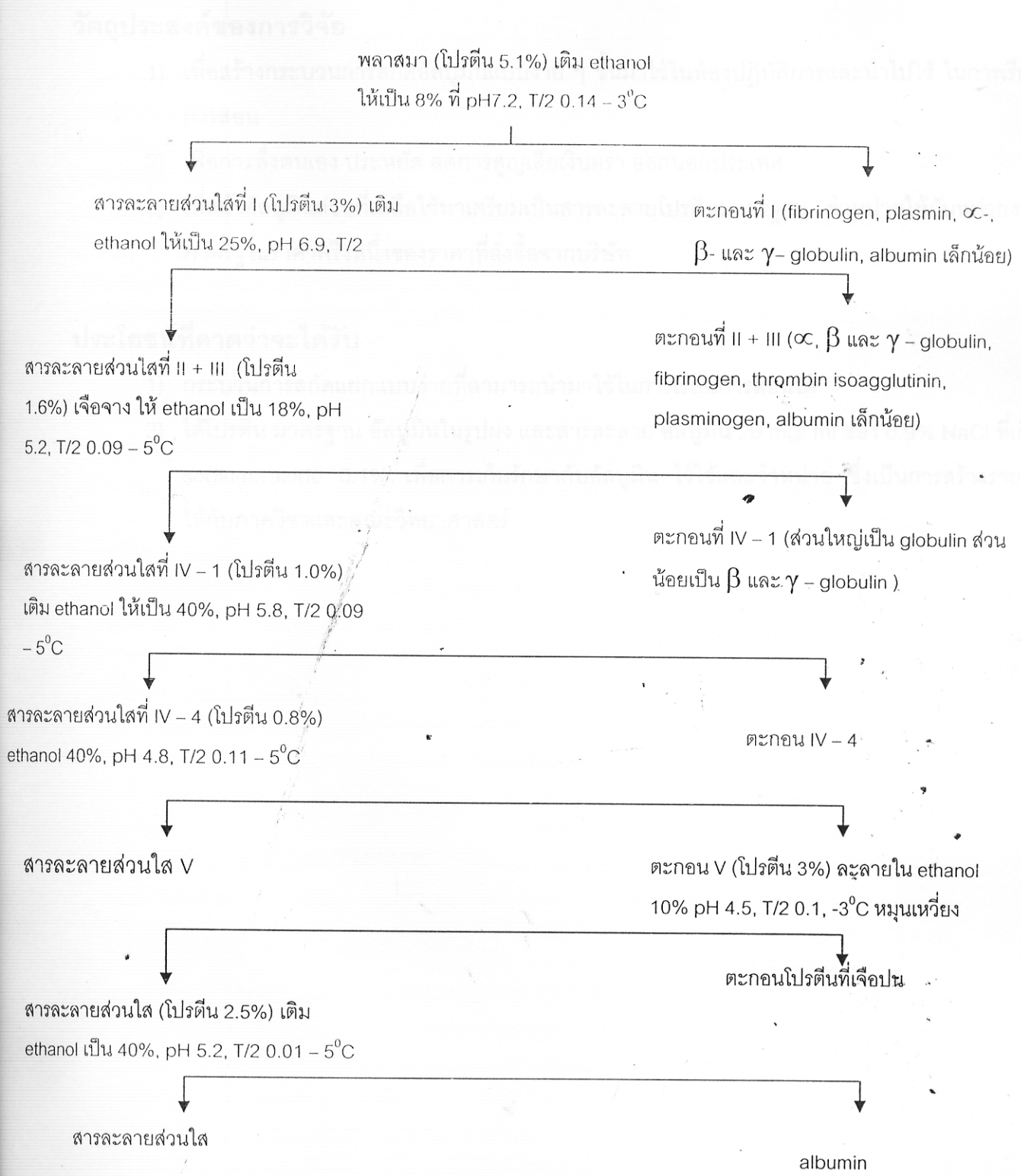
### บทนำเบื้องต้น

อัลบูมินที่ใช้เป็นมาตรฐานเปรียบเทียบหาปริมาณโปรตีนใน unknown รหัส P0914 มีราคาแพงแต่ละหลอดบรรจุอัลบูมิน 1 มก./ มล. ของ 0.9% sodium chloride, 0.05% sodium azide 10 หลอด ราคา 35.8 เหรียญสหรัฐ สำหรับห้องปฏิบัติการภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ใช้โบไวน์ซีรัมอัลบูมิน ส่วนที่ 5 (Bovine Serum Albumin หรือ BSA fraction V) ของการสกัดแยกตามวิธีของ Cohn ซึ่งมีราคาถูกกว่าและระดับความบริสุทธิ์ต่ำกว่า เป็นโปรตีนมาตรฐานแทน รหัส P0914 (Sigma Biochemicals and reagents 2003-2004) ในสหรัฐอเมริกา เลือดวัวถูกใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับการสกัดแยกโปรตีนที่มีมูลค่าสูงหลายชนิด ได้แก่ hemoglobin รหัส H2625 จากเม็ดเลือดแดงที่ใช้เป็นสับสเตรทของเอนไซม์ protease จำนวน 25 มิลลิกรัม (มก.) ราคา 25.30 เหรียญสหรัฐ (USA\$) และ carbonic anhydrase และอัลบูมิน รหัส A7517 น้ำหนักโมเลกุล 66 กิโลดาลตัน (kilodalton หรือ kDa) 25 มก. ราคา 19 เหรียญสหรัฐ สำหรับจังหวัดสงขลา ภาคใต้ของประเทศไทย เลือดวัวเป็นของไม่มีราคา ดังนั้นเพื่อการเพิ่มมูลค่าการพึ่งพาตนเองตามแนวเศรษฐกิจพอเพียง ลดการสูญเสียเงินตราให้กับต่างประเทศ คณะผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาเปรียบเทียบต้นทุนของการสกัดแยกอัลบูมิน จากน้ำเลือดหรือพลาสมา (plasma) ของเลือดวัว โดยวิธีการทำให้ตกตะกอนด้วย  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  และควบคุม pH ให้อยู่ในช่วง 4.8 – 5.3 ซึ่งเป็นช่วง isoelectric pH ของอัลบูมิน กับราคาที่สูงขึ้นจากต่างประเทศ หรือตัวแทนจำหน่ายภายในประเทศ

## บทตรวจเอกสาร

การศึกษาเกี่ยวกับการสกัดแยกอัลบูมินจากซีรัมและน้ำเลือดของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดยการทำให้ตกตะกอนด้วย  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  มีมานานกว่า 60 ปี โดย Mc Meekin (1939) สามารถแยกอัลบูมินที่เป็นโปรตีนปราศจากคาร์โบไฮเดรตจากซีรัมของเลือดม้า ต่อมา Mc Meekin (1940) ได้ใช้  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  แยกโปรตีน กลัยโคโปรตีน (glycoproteins) ในซีรัมของเลือดม้าออกเป็นส่วน ๆ ทำให้ได้ทั้งอัลบูมินที่เป็นโปรตีนปราศจากคาร์โบไฮเดรตและ อัลบูมินที่เป็นกลัยโคโปรตีนซึ่งมีคาร์โบไฮเดรต 0.5, 2 และ 5% จากนั้นอีก 6 ปีต่อมา Cohn และคณะ (1946) ได้สกัดแยกอัลบูมินที่อุณหภูมิต่ำกว่า  $0^\circ\text{C}$  โดยการแยกโปรตีนในน้ำเลือดจากคนออกเป็น 5 ส่วน ตามความแตกต่างของความเข้มข้นของ ethanol และ pH ที่ใช้ในการทำให้โปรตีนตกตะกอน (รูปที่ 1) จากนั้นอีก 14 ปีต่อมา chen (1960) สามารถทำให้กรดไขมันที่จับกับ อัลบูมินจากตะกอนส่วนที่ 5 (bovine BSA fraction V) ของการผลิตตามวิธีที่ 6 ของ Cohn ลดลงโดยการคนกับถ่านกัมมันต์ (activated carbon) ที่ pH3

อัลบูมินเป็นโปรตีนที่ละลายได้ทั้งในน้ำและใน 0.9% sodium chloride โดยการละลายน้ำของอัลบูมินขึ้นอยู่กับ pH ที่ pH7 ละลายได้ในอัตรา 1:1 ละลายได้น้อยที่สุดที่ pH4.8 (Putnum, 1960) มีประจุลธิเป็นลบที่ pH7 เคลื่อนที่เข้าหาขั้วบวก ค่า pH ที่ทำให้อัลบูมินมีประจุลธิเป็นศูนย์ หรือ isoelectric pH อยู่ในช่วง 4.8 - 5.3 ขึ้นอยู่กับความแรงของไอออน (Kaplan และ Foster, 1971)



**รูปที่ 1** แผนภูมิการแยกโปรตีนในพลาสมา ออกเป็นส่วนตามวิธีที่ 6 ของ Cohn  
T/2 หมายถึง ความแรงของไอออน (ionic strength)

**ที่มา** ดัดแปลงจาก Putnam (1960) The Plasma Proteins Vol.1, pp.43 Academic Press: London

## วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1) เพื่อสร้างกระบวนการสกัดอัลบูมินแบบง่าย ๆ ขึ้นมาใช้ในห้องปฏิบัติการและนำไปใช้ ในการเรียน การสอน
- 2) เพื่อการพึ่งตนเอง ประหยัด ลดการสูญเสียเงินตรา ออกนอกประเทศ
- 3) เพื่อนำอัลบูมินส่วนที่เหลือใช้มาเตรียมเป็นสารละลายโปรตีนมาตรฐาน จำหน่ายให้กับหน่วยงาน ภาครัฐในราคาครึ่งหนึ่งของราคาที่ตั้งซื้อจากบริษัท

## ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) กระบวนการสกัดแยกแบบง่ายที่สามารถนำมาใช้ในการเรียนการสอนได้
- 2) ได้โปรตีน มาตรฐาน อัลบูมินในรูปผง และสารละลาย อัลบูมิน 20 mg/ ml ของ 0.9% NaCl ที่เติม sodium azide 0.1% เพื่อการเก็บรักษา กับอัลบูมิน ไว้ใช้และจำหน่าย ซึ่งเป็นการสร้างรายได้ ให้กับภาควิชาและคณะวิทยาศาสตร์