รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การผลิตเยื่อกรองเซลลูโลสระดับไมโครโดยระบบเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์แบบกึ่งอัตโนมัติเพื่อใช้ในกระบวนการเตรียมน้ำดิบสำหรับการผลิตน้ำดื่มชุมชน

โดย รศ. ดร. พิกุล วณิชาภิชาติ

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน

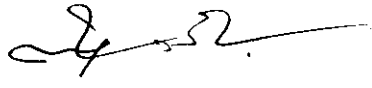
ประจำปี 2549-2551

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ เกิดจากการสะสมความรู้จากการผลิตบัณฑิต 2 คนคือ นางสาวสาฟีตรีนาแว และนางสาวปริศนา รักบำรุง โดยการเพิ่มน้ำมะพร้าวเป็นส่วนประกอบในสูตรอาหารเดิม และทำการศึกษาเปรียบเทียบเพื่อให้เห็นว่าวุ้นน้ำมะพร้าวที่ผู้ประกอบการผลิตอยู่นั้นสามารถขยายงานต่อเป็นการผลิตเยื่อกรองเซลลูโลสได้ การจัดอบรมให้แก่ชุมชนหลังงานวิจัยนี้เสร็จสิ้น มีวัตถุประสงค์เพื่อให้เกิดองค์ความรู้เพิ่มในระดับชุมชนว่าปัญหาสิ่งแวดล้อมรอบตัวที่ทวีความรุนแรงขึ้นนั้นสามารถแก้ไขได้ในชุมชน โดยไม่ต้องลงทุนราคาแพง หากแต่ทุกคนต้องตระหนักว่าเมื่อปัญหามาถึงตัว ทุกคนก็ต้องช่วยตัวเองก่อน และอาจจะระลึกถึงความรู้ที่ได้จากการอบรมในครั้งนี้ได้บ้าง

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณผู้ช่วยวิจัย นางสาวพัสตราภรณ์ ชุมแก่น นักจุลชีววิทยา ที่ได้ทุ่มเทเวลาและความรู้อย่างสุดความสามารถเพื่อให้งานนี้สำเร็จด้วยดี ขอบคุณ ผศ. ดร. ยุทธนา ฎิระวณิชย์กุล ที่ช่วยให้แนวคิดในการออกแบบระบบผลิตและอบเยื่อกรองด้วยวิธีเป่าลมร้อน ขอบคุณ รศ. ดร. ดวงพร คันธโชติ สำหรับคำแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่อการเพาะเลี้ยงและการแก้ปัญหา ขอบคุณสถานวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเมมเบรนและภาควิชาฟิสิกส์ที่ให้ใช้อุปกรณ์การทดสอบทุกชนิด อนุเคราะห์ค่าน้ำและค่าไฟฟ้า นอกจากนี้ต้องขอขอบคุณช่างเทคนิคของภาควิชาฟิสิกส์ อาทิเช่น คุณไชยวัฒน์ ฤทธิรงค์ คุณวีระ ไทยสยาม และคุณอำนวย แก้วไพบูลย์ ที่ช่วยแก้ปัญหาเมื่ออุปกรณ์เกิดขัดข้อง

งานวิจัยนี้ ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2549-2551 ซึ่งผู้วิจัยขอขอบคุณมา ณ. โอกาสนี้ด้วย



รศ. ดร. พิกุล วณิชาภิชาติ
ภาควิชาฟิสิกส์
กันยายน 2552

การผลิตเยื่อกรองเซลลูโลสระดับไมโครโดยระบบเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์แบบกึ่งอัตโนมัติเพื่อใช้ในกระบวนการเตรียมน้ำดิบสำหรับการผลิตน้ำชุมชน

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ผลิตเยื่อกรองจากจุลินทรีย์ โดยใช้ระบบเพาะเลี้ยงเซลล์แบบกึ่งอัตโนมัติ และใช้สูตรอาหาร 2 ชนิด เพื่อเปรียบเทียบผล คือสูตรอาหารมาตรฐานที่มีและไม่มีน้ำมะพร้าวเป็นส่วนผสม ได้เยื่อกรองซึ่งในที่นี้เรียกว่า CE(CCB) และ CE(SHB) ตามลำดับ พบว่าเทคนิคทางจุลชีววิทยาเพื่อทำให้ระบบปลอดเชื้อเป็นหัวใจสำคัญของกระบวนการผลิต ความสม่ำเสมอของผลผลิตขึ้นกับความหนาแน่นเซลล์ที่ใช้เพาะเลี้ยง จำนวนวันที่เพาะเลี้ยงเซลล์และชนิดของอาหาร หลังจากการเพาะเลี้ยงได้ 3 วันเยื่อเซลลูโลสที่ได้ถูกทำให้แห้ง พบว่าเยื่อกรอง CE(CCB) ที่ได้จากการใช้น้ำมะพร้าวเป็นส่วนประกอบมีเส้นใยเซลลูโลสมากกว่า ได้เยื่อกรองหนา 150 ไมครอน ส่วนเยื่อกรองที่ผลิตจากสูตรอาหารมาตรฐาน CE(SHB) มีความหนาเพียง 90 ไมครอน จากการทดสอบการกรองจุลินทรีย์ *A. xylinum* พบว่าสามารถกักกันได้ 100 % ทำให้ประเมินได้ว่า เยื่อกรองที่ผลิตได้ มีขนาดรูเล็กกว่า 0.3 ไมครอน

การทดสอบฟลักซ์น้ำของเยื่อกรองทั้ง 2 ชนิด พบว่าที่ความดัน 250 kPa เยื่อกรอง CE(CCB) ให้ค่าฟลักซ์น้ำที่ 10 $Lm^{-2}h^{-1}$ และเยื่อกรอง CE(SHB) ให้ค่า 15 $Lm^{-2}h^{-1}$ คิดเป็นค่าสัมประสิทธิ์การนำน้ำได้ $8.6x10^{-12}$ และ $20.4x10^{-12}$ $m^3N^{-1}s^{-1}$ ตามลำดับ ผลการทดสอบนี้บ่งชี้ว่าเยื่อ CE(CCB) มีพื้นที่รูยังผลน้อยกว่า อย่างไรก็ดีเมื่อต้มเยื่อกรองทั้งสองชนิดนาน 1 ชั่วโมงเพื่อกำจัดสารตกค้างที่อาจหลงเหลืออยู่ พบว่าสามารถเพิ่มฟลักซ์น้ำในเยื่อ CE(CCB) ได้ถึง 75% ขณะที่ฟลักซ์น้ำในเยื่อ CE(SHB) เพิ่มขึ้นเพียง 10% เยื่อกรองทั้ง 2 ชนิดนี้สามารถทนความร้อนได้ถึง 100 องศาเซลเซียส ทนกรด-ด่าง ที่ระดับ pH 4.0-10 ได้ดี อย่างน้อย 5 วันของการทดสอบโดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงมวล

สำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ ได้กรองน้ำทิ้งจากโรงพยาบาลสงขลานครินทร์และโรงงานยางพารา พบว่าสามารถปรับปรุงคุณภาพน้ำได้ดีในส่วนของสีน้ำและสารอินทรีย์ในรูปของ COD ได้ถึง 80-90 % และ 46-70% ตามลำดับ มีค่าเพอมิเอทฟลักซ์ 23-30 $Lm^{-2}h^{-1}$ และ 10-13 $Lm^{-2}h^{-1}$ ตามลำดับ สามารถกรองน้ำบาดาลที่มีสนิมเหล็กปนเปื้อนระดับ 4 ppm ได้ 100% จึงคาดว่าการถ่ายทอดเทคโนโลยีซึ่งเป็นผลจากงานวิจัยนี้ จะช่วยสร้างผู้ประกอบการในชุมชน หรือสร้างอาชีพให้แก่เกษตรกรได้ โดยใช้ประโยชน์จากน้ำมะพร้าวซึ่งเป็นของเหลือทิ้งในชุมชนให้เกิดประโยชน์ต่อการแก้ปัญหาด้านสิ่งแวดล้อมรอบตัวได้ในอนาคต

Preparation of MF – cellulose membrane using semi-automatic microbial culturing system for surface water filtering in a process of drinking water production

Abstract

This work describes membrane manufacturing in a semi-automatic cell culture system. Cell culturing media were the standard solution with and without coconut juice supplement. It is essential that micro-bilogical aseptic techniques must be followed critically to avoid contamination during cell culture, which would in turn, affect cellulose production. Care taking should be emphasized on cell density, period of culturing, and type of culture media used. After 3 days culturing, the cellulose membrane was harvested and dried. It was found that cellulose membranes produced from the media with coconut juice supplement possessed greater thickness, resulting in a smaller effective pore area. The membrane was 150 μm thick, while the other was only 90 μm thick. It rejected bacteria *A. xylinum* by 100%, suggesting that the membrane pore would be smaller than 0.3 μm.

On water flux measurements under 25 kPa pressure, the CE(CCB) and CE(SHB) membrane exhibited flux at 10 $Lm^{-2}h^{-1}$ and 15 $Lm^{-2}h^{-1}$ with hydraulic conductivity coefficient of $8.6x10^{-12}$ and $20x10^{-12}$ $m^3N^{-1}s^{-1}$, respectively. This result indicated that the CE(CCB) membrane possessed smaller effective pore area. After being boiled for 1 h, the CE(CCB) and CE(SHB) membranes improved the water flux by 75% and 10%, respectively. These membranes were tolerate to heat up to 100° C, to acid-base of 4.0-10 pH level for at least 5 days of the testing without changing in membrane mass.

The results obtained after filtering waste from Songkhlanakarintr Hospital and from a rubber factory informed that physical properties such as color and organic waste in term of COD could be reduced by 80-90% and 46-70%, respectively. The membranes were able to filter ferrous oxide contaminating in the underground water at 4 ppm level by 100%. It is envisaged that after technology transfer, local community and farmers can increase their income by utilizing the coconut juice, which is considerably a waste from the community, and turn it to be useful for environmental protection in the future.

สารบาญ

หัวข้อเรื่อง		หน้า
กิตติกรรมประกาศ		i-1
หัวข้อวิจัยและบทคัดย่อ		i-2
สารบาญ		i-4
บทที่ 1	**บทนำ**	
1.1	ที่มาของปัญหา	1-1
1.2	การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง	1-2
1.3	วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	1-4
1.4	ขอบเขตของโครงการวิจัย	1-4
1.5	ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับและหน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์	1-4
1.6	ผลสำเร็จและความคุ้มค่าของการวิจัยที่คาดว่าจะได้รับ และหน่วยงานที่จะนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์	1-5
1.7	วิธีการดำเนินการวิจัย และสถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล	1-5
1.8	แผนการถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย	1-5
1.9	ระยะเวลาทำการวิจัย และแผนการดำเนินงานตลอดโครงการวิจัย	1-6
บทที่ 2	**วิธีการวิจัย**	
2.1	ระบบกึ่งอัตโนมัติ	2-1
2.2	การเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงแบคทีเรีย	2-6
2.3	วิธีการเพาะ *Acetobacter Xylinum* TISTR NO. 975 จากหลอดเชื้อแห้งแข็ง	2-7
2.4	การต่อเชื้อ (subculture)	2-7
2.5	การแยกเชื้อด้วยวิธีการ Streak plate	2-8
2.6	การตรวจนับเชื้อแบคทีเรียด้วย Haemacytometer	2-9
2.7	วิธีการคำนวณหาจำนวนเซลล์ต่อ 1 ml	2-11
2.8	การตรวจเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างน้ำมะพร้าว	2-12
2.9	การตรวจวัด pH ความหวาน และปริมาณไขมันในตัวอย่างน้ำมะพร้าว	2-13
2.10	การย้อมแกรมแบคทีเรีย	2-14
2.11	การวัดขนาดของจุลินทรีย์ที่พบในน้ำมะพร้าวที่ผ่านการกรองแล้ว	2-16
2.12	การผลิตเยื่อกรองเซลลูโลสแบบกึ่งอัตโนมัติ	2-18
2.13	การศึกษาฟลักซ์น้ำ	2-20
2.14	การเหนี่ยวนำเซลล์โดยใช้ไฟฟ้ากระแสสลับ	2-21
2.15	การประยุกต์ใช้ในงานด้านอื่นๆ	2-21

บทที่ 3 ผลการศึกษาวิจัย

3.1	ระดับ pH ความหวานและไขมันในน้ำมะพร้าวที่ใช้ผสมในสารอาหาร	3-1
3.2	ทดสอบระบบที่ใช้เพาะเลี้ยงจุลินทรีย์	3-4
3.3	การตรวจเชื้อในน้ำมะพร้าวหลังการกรองด้วยระบบ MF โดยวิธีการย้อมแกรมแบคทีเรีย	3-5
3.4	มวลเปียกและมวลแห้งของเยื่อกรองเซลลูโลส	3-6
3.5	ปริมาตรที่เหมาะสมของอาหารเพาะเลี้ยงสูตรน้ำมะพร้าวต่อการผลิตเซลลูโลสเมมเบรน	3-6
3.6	การศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการการเหนี่ยวนำเซลล์ด้วยไฟฟ้ากระแสสลับ	3-7
3.7	ฟลักซ์น้ำผ่านเยื่อกรองเซลลูโลสที่เตรียมจาก *Acetobacter xylinum* TISTR No. 975	3-8
3.8	การศึกษาพื้นผิวหน้าของเยื่กรองเซลลูโลสจากภาพถ่าย SEM	3-10
3.9	ความทนต่อกรด-ด่างของเยื่อกรองเซลลูโลส	3-12
3.10	การกำจัดสารตกค้างบนเยื่อกรองโดยการต้ม	3-13
3.11	ทดสอบการกรองน้ำทิ้งจากโรงพยาบาล	3-14
3.12	ทดสอบการกรองน้ำทิ้งจากโรงงานยาง	3-15
3.13	การกรองน้ำที่มีสนิมเหล็ก	3-16
3.14	ทดสอบการกรองจุลินทรีย์	3-17

บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง

4.1	วิธีการผลิตเซลลูโลสให้ปลอดเชื้อแบบกึ่งอัตโนมัติ	4-1
4.2	เปรียบเทียบผลผลิตจากสูตรอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงจุลินทรีย์	4-1
4.3	เปรียบเทียบสัมประสิทธิ์การนำน้ำ	4-2
4.4	ความทนกรด – ด่าง ของเยื่อเซลลูโลส	4-2
4.5	การนำไปใช้ประโยชน์	4-2
4.6	การปรับปรุงผิวเซลลูโลสด้วยเทคนิคพลาสมา	4-3
4.7	การจัดอบรม	4-3
เอกสารอ้างอิง		5-1
ภาคผนวก ก		a-1
ภาคผนวก ข		b-1

สารบาญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.1	ผลของไฟฟ้าต่อการผลิตเซลลูโลสของ *A. xylinum* ภายใน 3 วัน	1-2
1.2	ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำผิวดินจากสระของโรงเรียนปากจ่าวิทยา อำเภอควนเนียง จังหวัดสงขลา	1-3
2.1	องค์ประกอบของสูตรอาหารสำหรับการผลิตเยื่อกรองเซลลูโลส	2-18
3.1	แสดง pHในตัวอย่างน้ำมะพร้าว	3-1
3.2	แสดงค่าความหวานในตัวอย่างน้ำมะพร้าว	3-1
3.3	ปริมาณไขมันในตัวอย่างน้ำมะพร้าวที่วิเคราะห์ด้วย Rose-Gottlieb process ร่วมกับ Werner-Schmid process	3-2
3.4	ปริมาณไขมันในน้ำมะพร้าวที่วิเคราะห์โดยเทคนิค Blight and dyer	3-2
3.5	ขนาดแบคทีเรียที่พบในน้ำมะพร้าวที่ผ่านการกรอง	3-3
3.6	เปรียบเทียบมวลและความหนาขณะเปียกและแห้งของเซลลูโลส	3-6
3.7	เปรียบเทียบค่ามวลและความหนาทั้งขณะเปียกและขณะแห้งของเยื่อเซลลูโลส	3-7
3.8	ผลการผลิตเซลลูโลสหลังจากเหนี่ยวนำเซลล์ด้วยไฟฟ้ากระแสสลับ	3-8
3.9	แสดงค่าสัมประสิทธิ์การนำน้ำ (L_p) ของเซลลูโลสเมมเบรนที่ผลิตภายใต้เงื่อนไขต่างๆ	3-9
3.10	เปรียบเทียบมวลของเมมเบรนก่อนและหลังการแช่ในกรดและด่าง	3-12
3.11	สัมประสิทธิ์การนำน้ำ (L_p) ของเยื่อกรองเซลลูโลสภายหลังผ่านการต้มในน้ำเดือดนาน 1 ชั่วโมง	3-13
3.12	ค่าของสารแขวนลอยที่อยู่ในน้ำทิ้งจากโรงพยาบาลที่ผ่านการกรองด้วย CE(SHB) และ CE(CCB) เปรียบเทียบกับที่ไม่ผ่านการกรอง	3-15
3.13	แสดงค่าของสารแขวนลอยที่อยู่ในน้ำทิ้งจากโรงงานยางที่ผ่านการกรองด้วย CE(SHB) และ CE(CCB) เปรียบเทียบกับน้ำที่ไม่ผ่านการกรอง	3-16
3.14	แสดงค่าสนิมเหล็กในน้ำก่อนและหลังการกรอง	3-17

สารบาญรูป

รูปที่		หน้า
1.1	การกรองน้ำทิ้งจากโรงงานปาล์ม โดยใช้เยื่อกรองชนิดเซลลูโลสที่ผลิตจากจุลินทรีย์ *A. xylinum*) ก่อน (before) และหลัง (after) การกรองผ่านเยื่อเซลลูโลส	1-2
1.2	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการเพิ่มของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ 200 ml ที่ความดัน 1.5 bar (150 kPa) โดยผ่านเยื่อกรองที่แตกต่างกัน 3 ชนิดเทียบกับเวลา CC คือเยื่อที่ผลิตเอง	1-3
2.1	ตู้เพาะเลี้ยงพร้อมระบบแสง	2-1
2.2	การเดินสายสารอาหารพร้อมเชื้อและถาดสำหรับเพาะเลี้ยง	2-2
2.3	การฆ่าเชื้อโดยใช้เทคโนโลยีเมมเบรนระดับไมโคร	2-3
2.4	การเตรียมเซลล์เพื่อการเพาะเลี้ยงโดยใช้น้ำมะพร้าวที่ผ่านระบบกรองแบบ MF	2-5
2.5	การจัดวางถาดและการต่อท่อซิลิโคนเข้ากับถาดแสตนเลสในระบบการผลิตเยื่อกรอง	2-5
2.6	การวางถังกวนและการต่อท่อซิลิโคนจากถังกวนเข้าไปในตู้เพาะเลี้ยง	2-6
2.7	โต๊ะวางถังกวน	2-6
2.8	การถ่ายเชื้อ *Aetobacter xylinum* TISTR No. 975 ผ่านท่อซิลิโคนจากภายนอกตู้ลงในถาดเพาะเลี้ยง	2-6
2.9	วิธีการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์จากหลอดเชื้อแห้งแข็ง (Revival of Freeze-Dried Cultures)	2-8
2.10	ขั้นตอนการ Streak plate	2-9
2.11	ลักษณะของ Haemacytometer	2-10
2.12	ส่วนประกอบของ Haemacytometer และภาพที่มองเห็นจากกล้องจุลทรรศน์	2-10
2.13	แสดงการใส่ ocular micrometer เข้าไปที่ ocular	2-17
2.14	แสดงสเกลของ micrometer แบบต่างๆ	2-17
2.15	อุปกรณ์ชุดทดสอบการกรองแบบปิดตาย	2-20
3.1	การจัดวางถาดในการผลิตแผ่นเยื่อกรองขนาด 21 X 35 เซนติเมตร และการปิดถาดด้วย กระดาษซาลาเปาที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว	3-4
3.2	การปนเปื้อนของเชื้ออื่น ในการผลิตแผ่นเยื่อกรองจากน้ำมะพร้าวที่ผ่านการกรองด้วยเครื่องกรอง MF	3-4
3.3	ลักษณะโคโลนีและการเย็มของโคโลนีของเชื้อที่พบในน้ำมะพร้าวที่ผ่านการกรองด้วยเครื่องกรอง MF	3-5
3.4	ลักษณะรูปร่างและการติดสีแดงของ Sarfanin แบคทีเรียที่พบในน้ำมะพร้าว	3-5
3.5	เปรียบเทียบเพอมิเอทฟลักซ์ของน้ำกลั่นผ่านเมมเบรน CE(SHB) และ CE(CCB)	3-9

สารบาญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
3.6	แสดงเพอมิเอทฟลักซ์ของน้ำผ่านเยื่อกรองเซลลูโลส CE(CCB) ภายหลังที่เซลล์ถูกเหนี่ยวนำด้วยไฟฟ้า	3-10
3.7	ภาพ SEM ของเซลลูโลสเมมเบรนที่ผลิตผลิตโดย Acetobacter xylinum TISTR No.975	3-11
3.8	เปรียบเทียบเพอมิเอทฟลักซ์ของน้ำกลั่นผ่าน CE(SHB) และ CE(CCB) ที่ผ่านการต้มในน้ำเดือดนาน 1 ชั่วโมง	3-13
3.9	ลักษณะของสีน้ำทิ้งโรงพยาบาล	3-14
3.10	ลักษณะของสีน้ำจากโรงงานยาง	3-15
3.11	ผลการตรวจจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ผ่านการกรองด้วยเยื่อกรองเซลลูโลส	3-18
3.12	ผลการตรวจจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อหลังจากผ่านการกรองด้วยเยื่อกรอง	3-18
3.13	ผลการตรวจจุลินทรีย์บนแผ่นเยื่อกรองเซลลูโลสทั้งสองชนิดหลังการนำไปใช้กรองอาหารเชื้อ	3-19

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ที่มาของปัญหา

ตั้งแต่ปี 2000 เป็นต้นมา ส่วนรอบนอกของภาคกลางและหลายส่วนในภูมิภาคของประเทศ มีการขยายตัวของภาคอุตสาหกรรมอย่างรวดเร็ว การเร่งผลผลิตทางการเกษตรเพื่อเพิ่มมูลค่าการส่งออก และการใช้สารเคมีเพิ่มขึ้น ล้วนก่อให้เกิดมลพิษทางน้ำอย่างหลีกเลี่ยงยาก กอรปกับบางปีที่มีปริมาณน้ำฝนไม่เพียงพอ ย่อมนำไปสู่ความขาดแคลนน้ำเพื่อป้อนสู่ภาคอุตสาหกรรม และตามด้วยการแย่งชิงทรัพยากรน้ำอย่างไม่เคยเกิดขึ้นมาก่อนในสังคมไทย อาจกล่าวได้ว่าการจัดหาน้ำสะอาดให้เพียงพอต่อความต้องการของภาคประชาชนเป็นหน้าที่และเป็นตัวชี้ประสิทธิภาพการบริหารจัดการทรัพยากรน้ำและสิ่งแวดล้อมของภาครัฐ ขณะเดียวกันภาคประชาชนก็ประสบปัญหาความขาดแคลนน้ำสะอาดเช่นกัน และหากไม่มีการจัดการที่ดีย่อมกระทบถึงคุณภาพชีวิตและสุขอนามัยของคนในสังคม ส่วนที่อยู่ในเขตเทศบาลย่อมมีกลไกให้เข้าถึงความช่วยเหลือด้านการจัดการน้ำดื่มสะอาดจากภาครัฐได้ง่าย และมีความพร้อมกว่าเมื่อเทียบกับชุมชนที่อยู่นอกเขตเทศบาล ถึงกระนั้นคุณภาพน้ำประปาในเขตเทศบาลบางแห่งยังไม่สามารถเป็นที่ไว้วางใจได้ เนื่องจากยังมีโลหะในน้ำสูงกว่ามาตรฐานที่ยอมรับได้ ส่วนชุมชนนอกเขตเทศบาลซึ่งอยู่ในความดูแลขององค์การบริหารส่วนตำบล หากไม่ได้อยู่ใกล้บริเวณภูเขาซึ่งมีต้นน้ำสะอาดแล้ว ปัญหาความขาดแคลนน้ำสะอาดนับวันจะยิ่งทวีความรุนแรงขึ้น อีกทั้งน้ำดื่มที่ยังไม่ได้มาตรฐานก็ยังไม่ได้รับความสนใจเท่าที่ควร เนื่องจากประชาชนส่วนใหญ่ยังมีปัญหาความยากจนที่ต้องแก้ไขเป็นลำดับต้นๆ ของการดำรงชีวิตประจำวัน

ปัจจุบันเทคโนโลยีเมมเบรนได้ช่วยให้เกิดกระบวนการบำบัดเพื่อนำน้ำกลับมาใช้ใหม่ โดยผลผลิตที่เป็นของเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตในภาคอุตสาหกรรม สามารถนำไปใช้เป็นผลิตผลอื่นๆอย่างครบวงจร ประเทศไทยมีการนำเข้าเทคโนโลยีดังกล่าวตั้งแต่ปี 2533 โดยภาคเอกชน แต่ยังมีข้อจำกัดในวงแคบ เนื่องจากขาดผู้ชำนาญการและภาครัฐยังไม่มีการศึกษาเพื่อแก้ปัญหาอย่างเป็นรูปธรรม ส่วนงานวิจัยพื้นฐานด้านการผลิตเยื่อกรองได้มีการศึกษาวิจัยอย่างต่อเนื่องที่สถานวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเมมเบรน มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ตั้งแต่ปี 2539 มีการผลิตเยื่อกรองระดับหยาบ (Microfiltration, MF) และระดับละเอียด (Ultrafiltration, UF และ Nanofiltration, NF) ด้วยวัสดุหลายชนิด อย่างไรก็ดีโครงการวิจัยนี้ต้องการเลือกพัฒนาการผลิตเยื่อกรองระดับ MF ชนิดเซลลูโลสจากจุลินทรีย์ เนื่องจากพบว่ามีโอกาสสูงที่จะใช้น้ำมะพร้าวเป็นส่วนผสมสำคัญในสูตรอาหาร และยังเป็นการเสริมรายได้ให้แก่เกษตรกรในท้องถิ่นด้วย การสร้างระบบกึ่งอัตโนมัติในงานวิจัยนี้ คาดว่าจะช่วยลดความยุ่งยากอันเนื่องจากการปนเปื้อนจากจุลชีพชนิดอื่น และจะช่วยให้สามารถผลิตเยื่อกรองในสเกลใหญ่ขึ้นและมีความสม่ำเสมอ กล่าวคือให้มีความพรุนสูงและได้ขนาดที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้งาน เยื่อที่ผลิตจากระบบอัตโนมัตินี้จะนำไปใช้บำบัดน้ำเบื้องต้นจากน้ำผิวดิน ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งในกระบวนการผลิตน้ำดื่มสะอาดให้แก่ทางเทศบาลตำบลควนเนียง อำเภอควนเนียง จังหวัดสงขลา

1.2 การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง

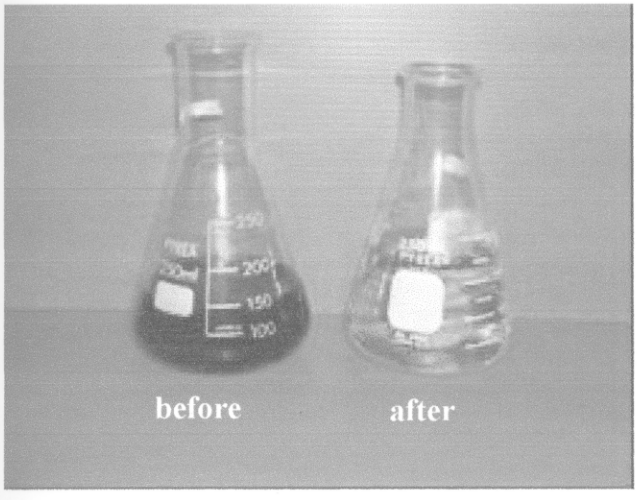
ตั้งแต่ปี 2533 เทคโนโลยีเมมเบรนเริ่มเข้ามามีบทบาทในประเทศไทย โดยบริษัทเอกชนได้นำเข้าเทคโนโลยีเพื่อใช้ในการปรับปรุงคุณภาพน้ำสำหรับใช้ในภาคอุตสาหกรรม ส่วนบริเวณที่อยู่ใกล้ชายฝั่งทะเลได้มีการผลิตน้ำจืดจากน้ำทะเลที่เกาะสีชัง และในปี 2547 ได้เริ่มโครงการที่เกาะสมุย อย่างไรก็ดีกระบวนการดังกล่าวนับว่ายังใช้พลังงานสูงกว่าการเตรียมน้ำสะอาดจากการใช้น้ำจืดผิวดิน เนื่องจากน้ำผิวดินนอกจากสารเคมีที่เป็นส่วนประกอบของยาฆ่าแมลงหรือยาฆ่าหญ้าแล้ว สารแขวนลอยอื่นๆในน้ำมีน้อยกว่ามาก และหากขนาดของสารแขวนลอยที่เล็กลงมากเช่น เกลือ NaCl หรือสารหนู ก็สามารถแยกออกจากน้ำได้โดยใช้เครื่องผลิตน้ำดื่มสะอาดที่ใช้เยื่อกรองระดับ NF เชิงพาณิชย์ได้ [1,2]

การผลิตเยื่อเซลลูโลสจากจุลินทรีย์ *Acetobacter xylinum* เป็นที่รู้จักมานาน คณะวิจัยฯ ได้ผลิตเยื่อกรองจากเซลลูโลสดังกล่าว[3] แต่ความพรุนของเยื่อกรองยังต่ำ และโอกาสต่อมาได้ปรับปรุงจุลินทรีย์โดยอาศัยเทคนิคไฟฟ้าเข้าช่วย ทำให้ผลิตได้ในอัตราที่เร็วขึ้นพร้อมทั้งได้เยื่อกรองที่มีความพรุนสูงขึ้น [4] ดังแสดงในตารางที่ 1.1 และเมื่อนำไปกรองน้ำทิ้งจากโรงงานปาล์มน้ำมัน พบข้อมูลที่น่าสนใจดังผลการทดลองในรูปที่ 1.1 และ 1.2 อย่างไรก็ดีการผลิตเยื่อกรองในระดับห้องปฏิบัติการจะง่ายกว่าการผลิตในสเกลใหญ่ซึ่งจะต้องระมัดระวังทุกขั้นตอนของการเลี้ยงจุลินทรีย์ จึงควรพัฒนาระบบกึ่งอัตโนมัติขึ้นเพื่อให้สามารถผลิตเยื่อกรองในเสกลที่สามารถนำไปทดสอบการทำงานในเชิงประยุกต์ได้ตามเป้าหมายของการวิจัย

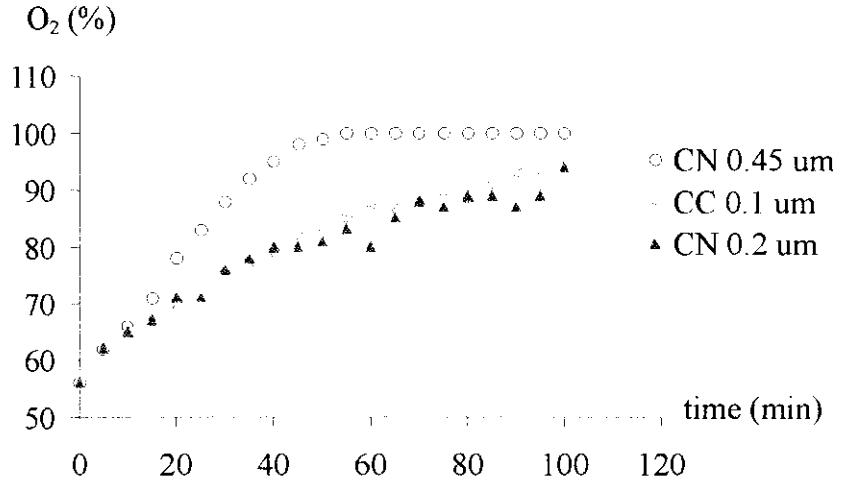
ตารางที่ 1.1 ผลของไฟฟ้าต่อการผลิตเซลลูโลสของ *A. xylinum* ภายใน 3 วัน

จุลินทรีย์	มวลเซลลูโลส (กรัม)	*ความพรุน (%)
ชุดควบคุม	8.97±0.48	1.4-2.4
ชุดปรับปรุงด้วยไฟฟ้า	11.87±0.35	4.3-6.7

* ขึ้นกับวิธีการทดสอบ



รูปที่ 1.1
การกรองน้ำทิ้งจากโรงงานปาล์ม โดยใช้เยื่อกรองชนิดเซลลูโลสที่ผลิตจากจุลินทรีย์ *A. xylinum*) ก่อน (before) และหลัง (after) การกรองผ่านเยื่อเซลลูโลส



รูปที่ 1.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการเพิ่มของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ 200 ml ที่ความดัน 1.5 bar (150 kPa) โดยผ่านเยื่อกรองที่แตกต่างกัน 3 ชนิดเทียบกับเวลา CC คือเยื่อที่ผลิตเอง

ในเบื้องต้นได้สำรวจคุณภาพน้ำใต้ดินที่ชุมชนอำเภอควนเนียง ในโรงเรียนปากจ่าวิทยา จังหวัดสงขลา พบผลคุณภาพน้ำดังตารางที่ 1.2 จะเห็นว่า มีเฉพาะค่าสนิมเหล็กในน้ำที่ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน

ตารางที่ 1.2 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำผิวดินจากสระของโรงเรียนปากจ่าวิทยา อำเภอควนเนียง จังหวัดสงขลา

รายการวิเคราะห์	ค่ามาตรฐาน	น้ำจากโรงเรียนปากจ่าวิทยา
• ความเป็นกรด-ด่าง (pH)	6.5-8.5	6.61
• ปริมาณเมวลสารที่ละลายในน้ำ (TDS)	ไม่เกิน 500 mg/l	239
• สี	ไม่เกิน 20 HZ	10
• ความขุ่น	ไม่เกิน 20 FAU	2
• ความกระด้าง (as $CaCO_3$)	ไม่เกิน 100 mg/l	78.32
• ซัลเฟต	ไม่เกิน 250 mg/l	43
• คลอไรด์	ไม่เกิน 250 mg/l	97.50
• ไนเตรตคำนวณเป็นไนโตรเจน	ไม่เกิน 4.0 mg/l	1.50
• เหล็ก	ไม่เกิน 0.3 mg/l	0.50
• สารพิษอื่นๆ เช่น สารหนู ตะกั่ว	ไม่เกิน 0.05 mg/l	ไม่พบ

หมายเหตุ คุณภาพน้ำดิบที่ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานน้ำดื่ม กรมอนามัย ปี พ.ศ. 2534

ส่วนน้ำผิวดินที่จะนำไปใช้เพื่อการบริโภคนั้นหากสามารถบำบัดได้ ทางโรงเรียนจะสามารถนำน้ำในสระไปใช้ผลิตน้ำดื่มให้แก่นักเรียนได้ นอกจากนี้เนื่องจากโครงการวิจัยของงบประมาณแผ่นดินในปี 2548 คณะผู้วิจัยได้ผลิตเยื่อกรองระดับอัลตราเพื่อบำบัดสารแขวนลอยที่มีขนาด 0.01-0.1 μm จึงคาดว่าเมื่อโครงการนี้สิ้นสุดลงในปี 2552 คณะวิจัยจะสามารถบำบัดน้ำธรรมชาติได้อย่างเป็นระบบยิ่งขึ้น

1.3 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

3.1 สร้างระบบเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์แบบกึ่งอัตโนมัติ ให้ปลอดเชื้อในระหว่างการผลิตเซลลูโลส

3.2 ลดค่าใช้จ่ายในการผลิตเยื่อกรองโดยจะเปรียบเทียบการใช้น้ำมะพร้าวเป็นส่วนประกอบกับวิธีที่ผลิตด้วยวัตถุดิบที่นำเข้า

3.3 ผลิตเยื่อกรองสามารถใช้บำบัดน้ำจากธรรมชาติในเบื้องต้นก่อนส่งน้ำไปยังเครื่องผลิตน้ำดื่ม

1.4 ขอบเขตของโครงการวิจัย

4.1 ดำเนินการจัดหาวัสดุและสร้างระบบเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ที่ปลอดเชื้อแบบกึ่งอัตโนมัติ ขนาด 80x150 เซนติเมตร และศึกษาปัจจัย อุณหภูมิ และการทำให้ปลอดเชื้อ

4.2 จัดทำระบบปรับปรุงคุณภาพการผลิตโดยจุลินทรีย์ด้วยเทคนิคไฟฟ้า

4.3 เตรียมเยื่อกรองจากผลผลิตที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์

4.4 ทดสอบการบำบัดน้ำธรรมชาติในเบื้องต้น โดยมีรายละเอียดดังนี้

ศึกษาการลดลงของสารแขวนลอยขนาด 0.1-0.3 ที่ปะปนมากับน้ำผิวดิน

ศึกษาประสิทธิภาพในการกรองจุลินทรีย์และอนุภาคที่ปนมากับน้ำธรรมชาติ

4.5 นำไปประยุกต์ใช้ในภาคสนามที่ตำบลควนเนียง ในรูปแบบแผ่นมีขนาดที่เหมาะสม

4.6 จัดทำเอกสาร จัดอบรมการตรวจคุณภาพน้ำอย่างง่าย และอบรมเทคโนโลยีเมมเบรน

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ และหน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

1.5.1 ได้วิธีการผลิตเยื่อกรองในเสกลที่ใหญ่ขึ้น ในระบบที่ปลอดเชื้อ

1.5.2 ได้เยื่อกรองเพื่อการบำบัดน้ำธรรมชาติในเบื้องต้น

1.5.3 ได้แนวทางการจัดการน้ำผิวดินให้แก่เทศบาลตำบล/อบต./ผู้ใหญ่บ้าน/NGO ในชุมชน

1.6 ผลสำเร็จและความคุ้มค่าของการวิจัยที่คาดว่าจะได้รับ และหน่วยงานที่จะนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

1.6.1 ได้ใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรให้เกิดมูลค่าเพิ่ม

1.6.2 ชุมชนที่ผลิตสินค้าประเภทอาหาร OTOP มีน้ำสะอาดใช้ในขั้นตอนการผลิตอาหาร

1.6.3 เสริมสร้างสุขอนามัยในชุมชน โดยลดการซื้อหรือใช้น้ำดื่มที่ขาดคุณภาพ

1.6.4 ขยายโอกาสให้ผู้ปกครองส่วนท้องถิ่น/ชุมชนได้เข้าถึงเทคโนโลยีที่ทันสมัย

1.6.5 ได้เยื่อกรองที่ผลิตในประเทศ สามารถขยายโอกาสการใช้งานในวงการศึกษาวิจัยให้มีราคาถูกลง

1.7 วิธีการดำเนินการวิจัย และสถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

1.7.1 ออกแบบและสร้างระบบผลิตเยื่อเซลลูโลส ที่ภาควิชาฟิสิกส์

1.7.2 เก็บเกี่ยวผลผลิตและอบแห้ง ที่ภาควิชาฟิสิกส์

1.7.3 ทดสอบผลการกรองอนุภาคแขวนลอยจากตะกอนดิน ที่ภาควิชาฟิสิกส์

1.7.4 ทดสอบการกรองจุลินทรีย์ ที่ห้องวิจัยเมมเบรนชีวฟิสิกส์ ภาควิชาฟิสิกส์

1.7.5 ทำเป็นเยื่อกรองสำหรับใช้งานภาคสนาม ที่ภาควิชาฟิสิกส์

1.7.6 ทดสอบเยื่อกรองที่ผลิตได้ ที่สถานวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเมมเบรน

1.77 จัดอบรมตรวจคุณภาพน้ำอย่างง่ายและทำความเข้าใจเกี่ยวกับเทคโนโลยีเมมเบรนเพื่อผลิตน้ำดื่ม ให้แก่ชุมชนในเขตจังหวัดสงขลาและใกล้เคียง

1.8 แผนการถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย

ขั้นตอนที่ 1 จัดอบรมการตรวจคุณภาพน้ำอย่างง่ายด้วยอุปกรณ์ test kits

วัตถุประสงค์ เพื่อให้ความรู้เบื้องต้นแก่กลุ่มเป้าหมายในชุมชน ได้แก่ผู้ที่รับผิดชอบการผลิตน้ำดื่มสะอาด/นักวิชาการ/ครู/นักเรียน ให้สามารถวิเคราะห์คุณภาพน้ำเบื้องต้นได้

ขั้นตอนที่ 2 จัดอบรมให้กลุ่มเป้าหมายดังกล่าวเข้าใจการทำงานของเทคโนโลยีเมมเบรน

วัตถุประสงค์ เพื่อระวังการป้อนน้ำดิบเข้าสู่ระบบผลิตน้ำดื่มด้วยเทคโนโลยีเมมเบรน

ขั้นตอนที่ 3 ถ่ายทอดวิธีการผลิตเซลลูโลสแบบปลอดเชื้อให้แก่ผู้ประกอบการผลิตวุ้นจากน้ำมะพร้าวในท้องถิ่น

วัตถุประสงค์ เพื่อให้ได้อาหารในท้องตลาดที่สะอาดและมีคุณภาพดีขึ้น

1.9 ระยะเวลาทำการวิจัย และแผนการดำเนินงานตลอดโครงการวิจัย (ให้ระบุขั้นตอนอย่างละเอียด)

กิจกรรม	ระยะเวลา 2 ปี							
	1-3	4-6	7-9	10-12	1-3	4-6	7-9	10-12
สร้างระบบผลิตเยื่อเซลลูโลส ทดลองเพาะเลี้ยงเซลล์และปรับปรุงให้ระบบสามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพและเหมาะสมกับงาน								
เก็บเกี่ยวผลผลิตและทำเป็นเยื่อบางโดยการอบ พร้อมทั้งตัดเป็นวงกลมมาตรฐานเพื่อใช้ทดสอบการกรอง และศึกษาภาพถ่าย SEM								
ทดสอบการกรองตะกอนดิน และกรองจุลินทรีย์								
เตรียมเอกสาร และจัดอบรมที่เทศบาลตำบลควนเนียง 1 การตรวจคุณภาพน้ำ 2 การผลิตน้ำดื่มด้วยเทคโนโลยีเมมเบรน								
ขึ้นรูปเยื่อกรองเป็นโมดูลที่เหมะสมต่อการใช้งาน								
ทดสอบการใช้งานด้วยตัวอย่างที่เก็บจากชุมชน								
จัดอบรมวิธีการผลิตเซลลูโลสแบบปลอดเชื้อให้แก่ผู้ประกอบการผลิตวุ้นน้ำมะพร้าวในท้องถิ่น								
รายงานผลวิจัย								

บทที่ 2 วิธีการวิจัย

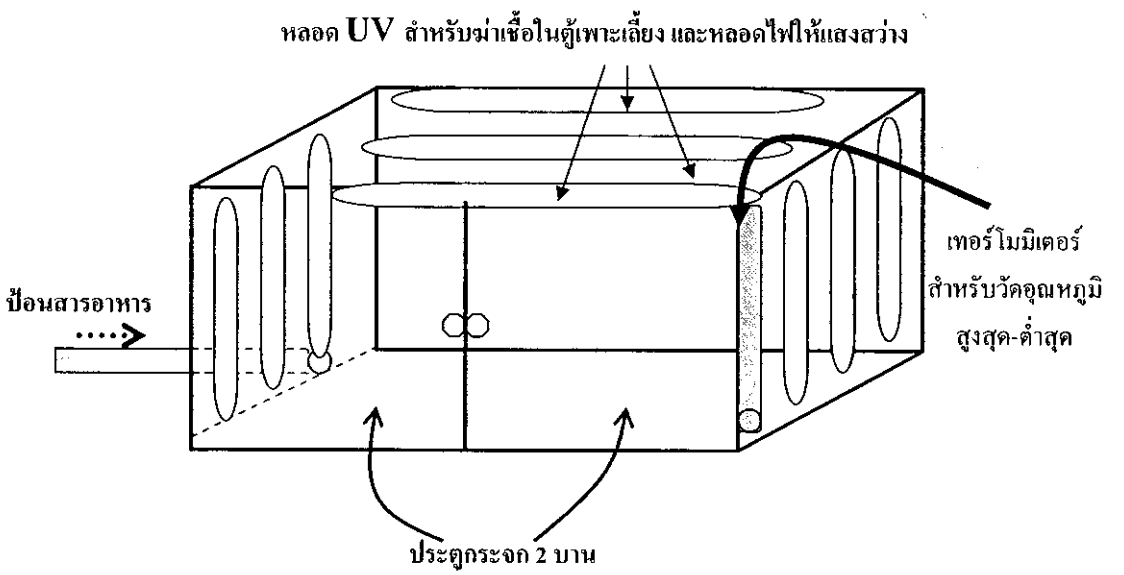
นิยาม ระบบเพาะเลี้ยงกึ่งอัตโนมัติ

ระบบกึ่งอัตโนมัติ หมายถึงระบบที่สามารถฆ่าเชื้อในตู้ก่อนการเพาะเลี้ยง (ด้วยแสง UV) ซึ่งมีถาดเพาะเลี้ยงอยู่ภายใน มีระบบส่งอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ไปที่ถาดเพาะเลี้ยงเซลล์ในตู้ปิดที่ปลอดเชื้อ มีระบบเปิด-ปิดแสงอัตโนมัติตั้งเวลาที่ต้องการ แสงที่ให้แก่ตู้เพาะเลี้ยงมาจากหลอด Fluorescent ผสมกับ Incandescent เพื่อให้แสงครบทั้งสเปคตรัมสำหรับเซลล์มีชีวิต หลังการเก็บเกี่ยวผลผลิต ล้างเยื่อกรองด้วยน้ำประปา

2.1 ระบบกึ่งอัตโนมัติ

2.1.1 ตู้สำหรับเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์เพื่อการผลิตเซลลูโลส

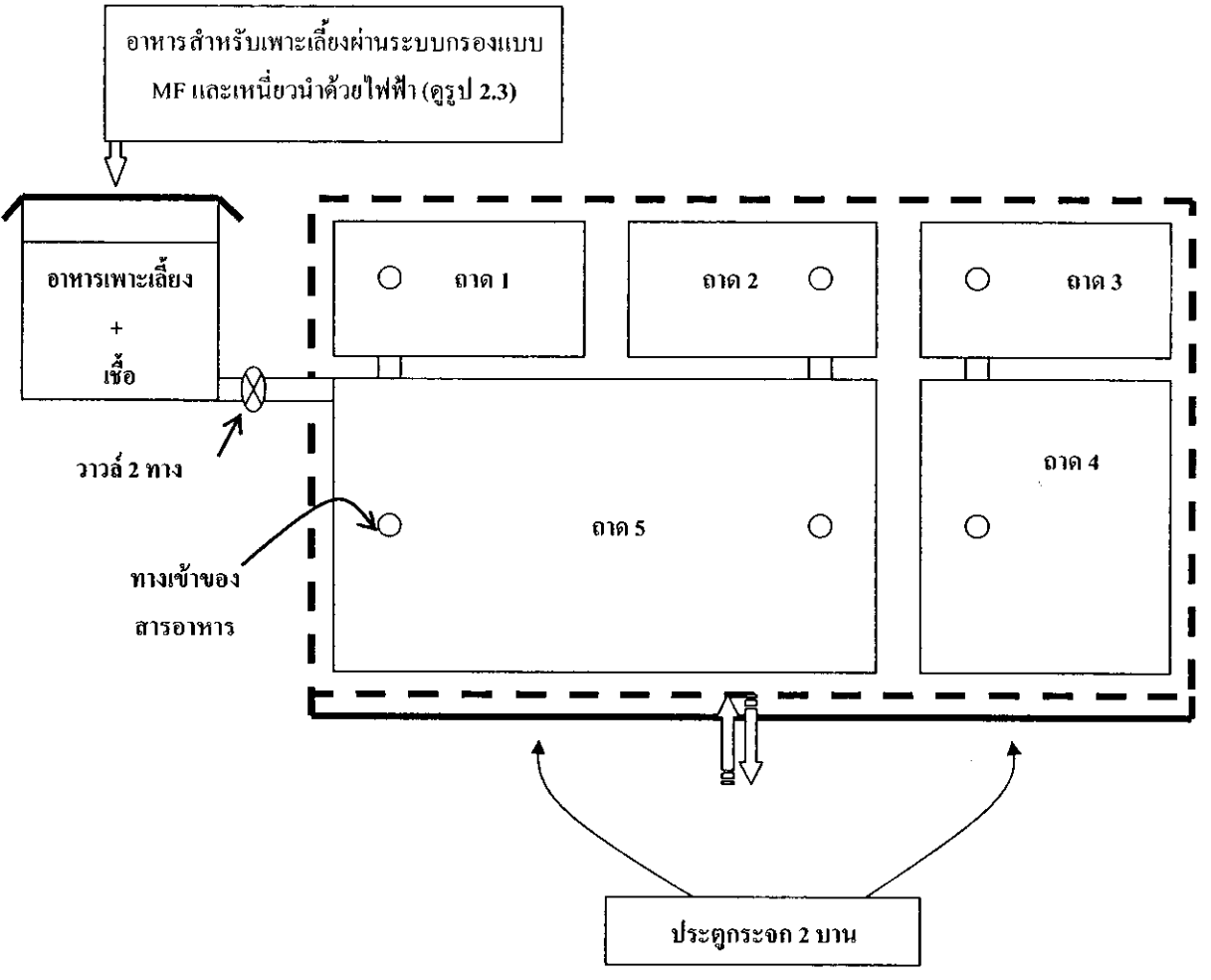
ตู้มีขนาด กว้าง x ยาว x สูง = 0.80 x 1.40 x 0.80 m ทำด้วยไม้อัดบุโฟไมก้า (รูปที่ 2.1) ผิวด้านในมันวาว เพื่อง่ายต่อการทำความสะอาด เดินสายไฟพร้อมติดตั้ง Timer เพื่อกำหนดเวลาการเปิด-ปิดแสงสว่างหลอด UV (Ultra Violet) สำหรับฆ่าเชื้อ ติดตั้งภายในตู้ ทั้งด้านบนและด้านข้าง (หากจำเป็น) ส่วนจำนวนหลอดไฟที่ใช้จะปรับปรุงโดยใช้ข้อมูลจากผลการทดลอง



รูปที่ 2.1 ตู้เพาะเลี้ยงพร้อมระบบแสง

2.1.2 การป้อนสารอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงและถาดเพาะเลี้ยง

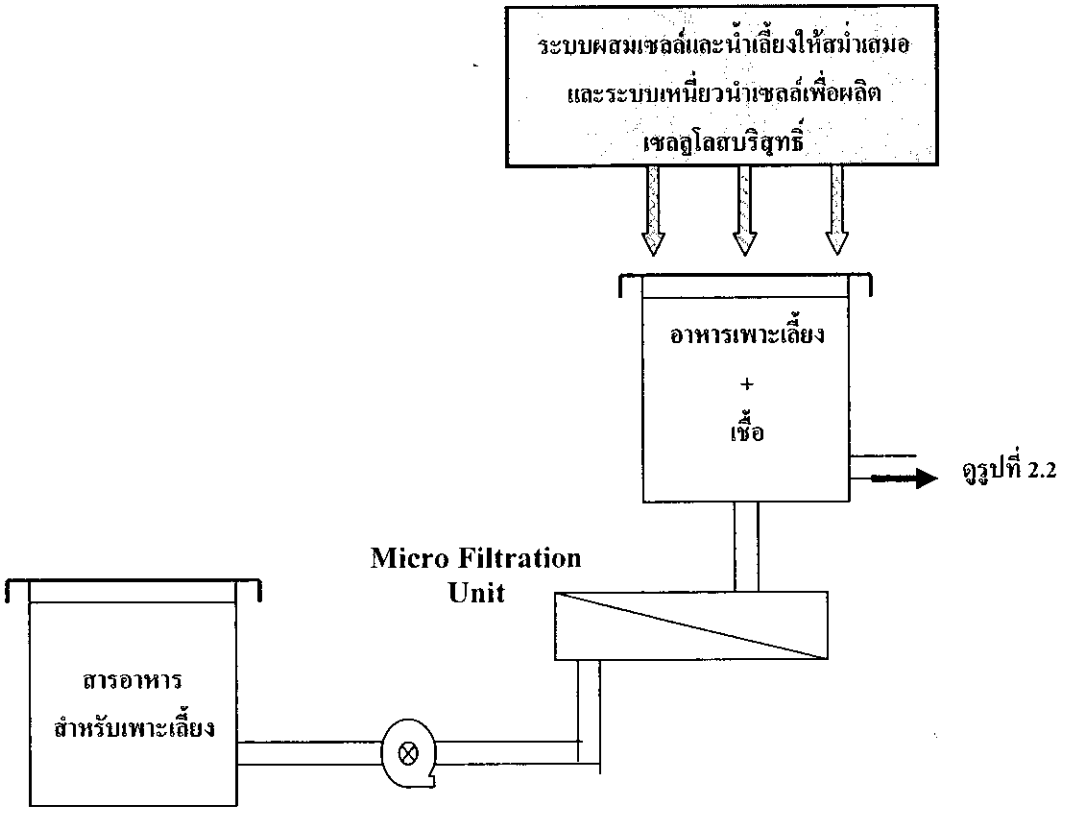
การศึกษาขั้นต้นจะใช้ถาดขนาดไม่เท่ากัน (รูปที่ 2.2) เพื่อศึกษาเชิงเปรียบเทียบระหว่างแสงที่ให้ระหว่างการเพาะเลี้ยง กับความหนาแน่นจุลินทรีย์ และปริมาณสารอาหาร เจ้าของกิจการนิยมฆ่าเชื้อที่ปนมากับสารอาหารโดยการต้มให้เดือด แล้ววางให้เย็นก่อนนำไปใช้งาน ส่วนงานวิจัยนี้ใช้การกรองระดับไมโครฟิลเตรชั่น (MF) ที่มีเยื่อกรองระดับ 0.1-0.3 ไมครอน ที่ต่อกับปั๊มขนาด 0.5 กำลังม้า (ดูรูปที่ 2.3) เป็นการทดลองเบื้องต้นเพื่อกำจัดเชื้อโรคโดยไม่ต้องผ่านความร้อน เชื่อว่าจะสามารถรักษาคุณค่าของเอ็นไซม์ในน้ำมะพร้าวซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง



รูปที่ 2.2 การเดินสายสารอาหารพร้อมเชื้อและถาดสำหรับเพาะเลี้ยง

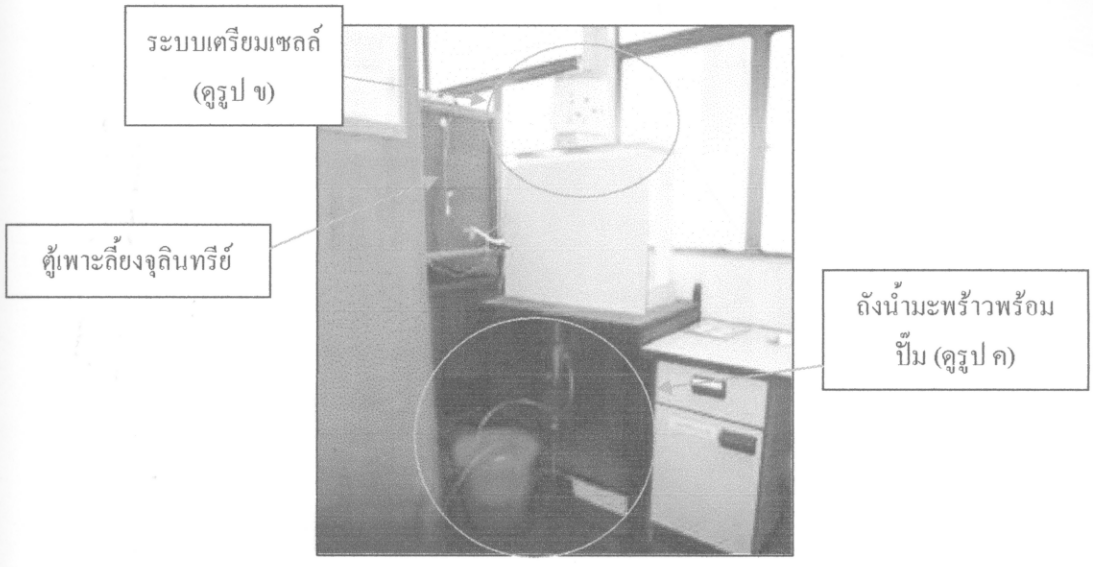
2.1.3 ระบบกรองระดับไมโคร (Micro-Flitration, MF)

ได้ผ่านสารละลายอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อ เข้าสู่ระบบกรองแบบไมโคร ก่อนเก็บเข้าถังพักดังรูปที่ 2.3

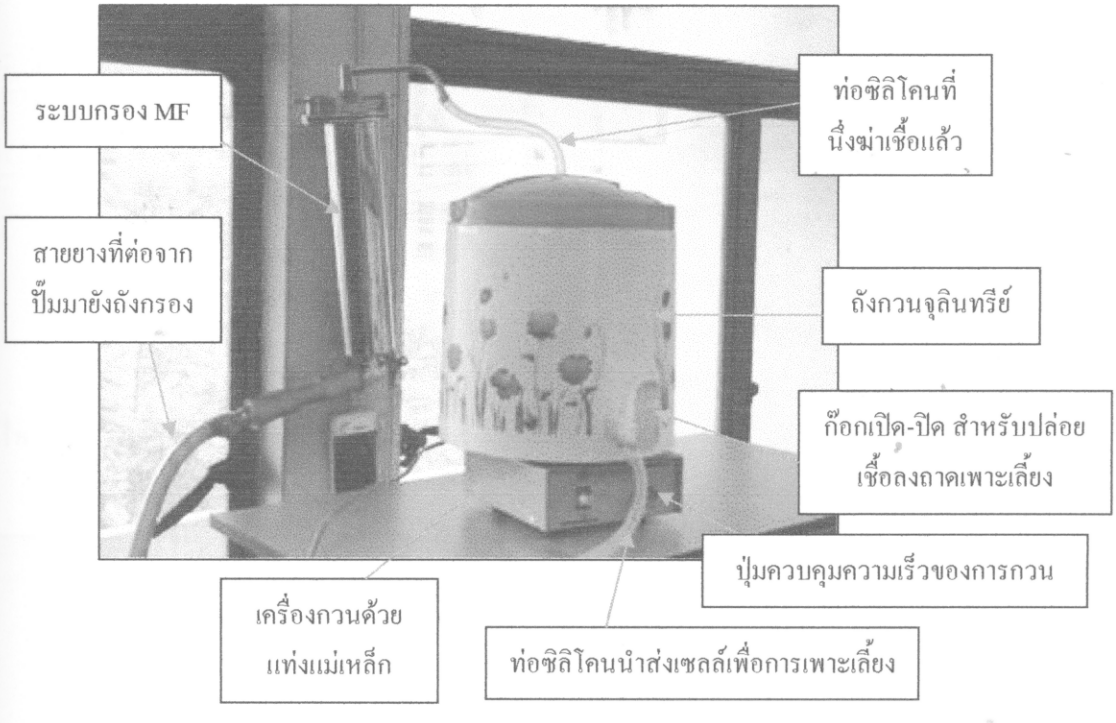


รูปที่ 2.3 การฆ่าเชื้อโดยใช้เทคโนโลยีเมมเบรนระดับไมโคร

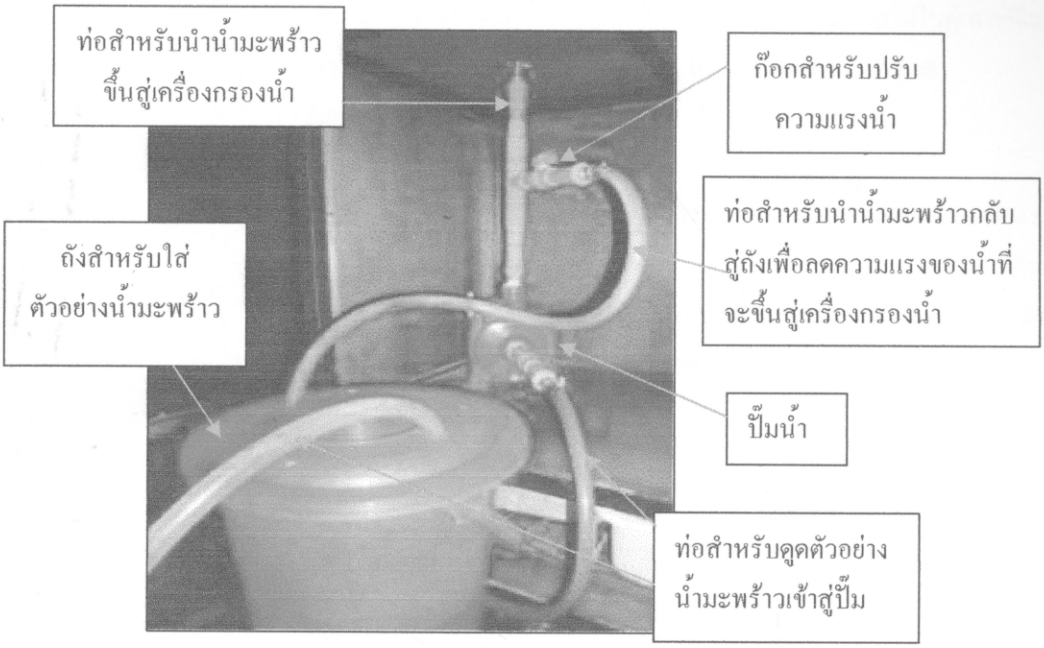
จากไดอะแกรมในรูปที่ 2.1 – 2.3 ได้ติดตั้งอุปกรณ์การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ เพื่อผลิตเยื่อเซลลูโลสดังกล่าว ดังแสดงในรูปที่ 2.4 ก-ค



(ก) ระบบเตรียมเซลล์ที่ใช้น้ำมะพร้าวที่ผ่านการกรองระดับ MF แล้ว



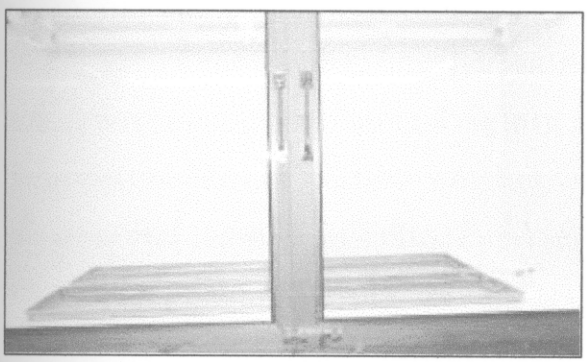
(ข) รายละเอียดของระบบเตรียมเซลล์



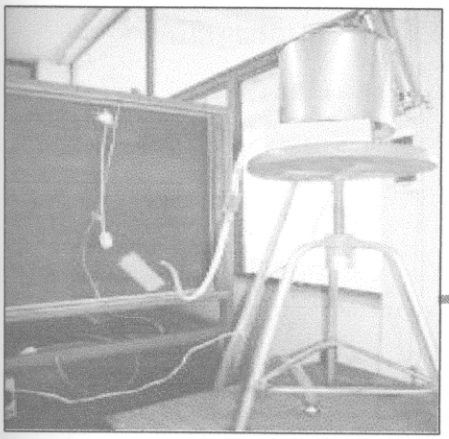
(ค) แสดงการต่ออุปกรณ์จากถังใส่น้ำมะพร้าว ปั๊มน้ำ ซึ่งอยู่ใต้โต๊ะถังกวน

รูปที่ 2.4 การเตรียมเซลล์เพื่อการเพาะเลี้ยงโดยใช้น้ำมะพร้าวที่ผ่านระบบกรองแบบ MF ซึ่งประกอบด้วย
(ก) อุปกรณ์เพื่อป้อนเซลล์สู่ถาดเพาะเลี้ยง
(ข) ระบบกรองน้ำมะพร้าวแบบ MF และถังจุลินทรีย์พร้อมระบบกวน
(ค) ถังน้ำมะพร้าวสดที่ยังไม่ผ่านการกรอง พร้อมปั๊มขนาด 0.5 กำลังม้า

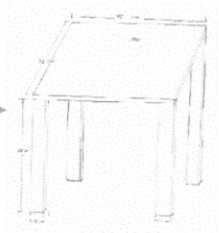
หลังจากทดลองในจานทดลองจนได้ผลแล้ว จึงขยายขนาดทดลองให้สามารถผลิตเยื่อกรองในขนาดใหญ่ขึ้น 25x100 cm^2 ดังแสดงในรูปที่ 2.5 – 2.8



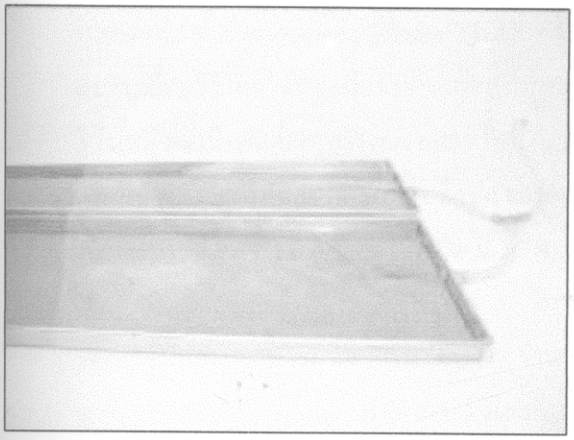
รูปที่ 2.5
การจัดวางถาดและการต่อท่อซิลิโคนเข้ากับถาดแสตนเลสในระบบการผลิตเยื่อกรอง

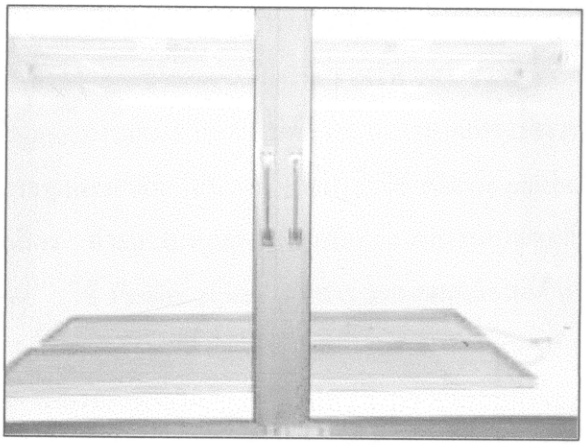


รูปที่ 2.6 การวางถังกวนละการต่อท่อซิลิโคนจากถังกวนเข้าไปในตู้เพาะเลี้ยง ขนาดของถาดแสตนเลสเป็นขนาด 25 x 100 cm และถังกวนขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 20 cm สูง 20 cm



รูปที่ 2.7 โต๊ะวางถังกวน ประกอบด้วยไม้อัดขนาด กว้าง x ยาว x หนา = 36 x 75 x 1.2 cm จำนวน 1 แผ่น และไม้อัดขนาด กว้าง x ยาว x หนา = 10.5 x 80 x 1.6 cm จำนวน 4 แผ่น





รูปที่ 2.8 การถ่ายเชื้อ *Aetobacter xylinum* TISTR No. 975 ผ่านท่อซิลิโคนจากภายนอกตู้ลงในถาดเพาะเลี้ยง

2.2 การเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงแบคทีเรีย

2.2.1 การเตรียมอาหารเหลว

อาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเซลล์และเงื่อนไขการเพาะเลี้ยง ได้เคยรายงานไว้แล้วโดยปริศนา [7] โดยอาหารหลักของการเพาะเลี้ยงประกอบด้วยซูโครส 4%(w/v), เปปโตน 0.5% (w/v), ยีสต์ 0.5%(w/v), กรดซิตริก 0.0115%(w/v) และ Na_2HPO_4 0.033%(w/v) ปรับค่าพีเอชของอาหารให้มีค่า pH 4 ด้วย HCl 1.94 N เนื่องจากสาฟีตรี [9] พบว่า pH 4 เป็นระดับที่เซลล์เจริญเติบโตได้ดีที่สุด หลังจากนั้นนำอาหารไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 115 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121^{0}C เป็นเวลา 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นก่อนนำไปใช้

2.2.2 การเตรียมอาหารแข็ง

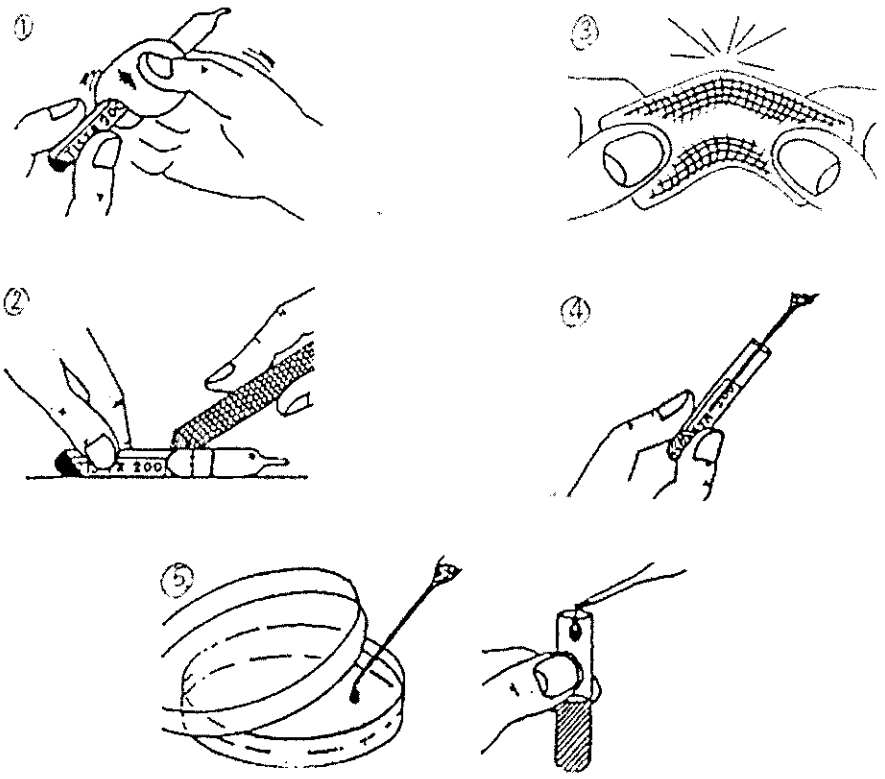
นำอาหารเหลวในข้อ 2.2.1 ไปต้มให้เดือดแล้วเติมผงวุ้น 2% จากนั้นเทอาหารเลี้ยงเชื้อใส่ขวด Duran แล้วจึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้อตามวิธีการเดิมอีกครั้ง ตั้งทิ้งไว้ให้อาหารเย็นลงถึงอุณหภูมิประมาณ 40-45^{0}C แล้วจึงเทอาหารใส่จานเพาะเชื้อ (ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยการ Autoclave แล้ว) รอให้อาหารแข็งตัวแล้วจึงนำไปใช้ต่อไป

2.3 วิธีการเพาะ *Acetobacter Xylinum* TISTR NO. 975 จากหลอดเชื้อแห้งแข็ง (Revival of Freeze-Dried Cultures)

ใช้ผ้ากลอสชุบแอลกอฮอล์ 70% พอหมาดเช็ดบริเวณรอบๆหลอดบรรจุ *Acetobacter Xylinum* TISTR NO. 975 (ampoule) จากนั้นใช้ตะไบสำหรับเลื่อยแก้วเลื่อยลงบนหลอดบริเวณกึ่งกลางสำลีให้เป็นรอยลึกลงไปในเนื้อแก้ว แล้วใช้ผ้ากลอสที่มีความหนาพอประมาณชุบแอลกอฮอล์ 70% พอหมาดหุ้มหลอดบรรจุ *Acetobacter Xylinum* TISTR NO. 975 เปิดหลอดบรรจุโดยทำการหักหลอดบรรจุบริเวณที่ใช้ตะไบเลื่อยไว้โดยใช้สองมือจับผ้ากลอสที่หุ้มหลอดบรรจุ *Acetobacter Xylinum* TISTR NO. 975 ไว้ แล้วใช้นิ้วหัวแม่มือกดเบาๆบริเวณรอยตะไบ ทำด้วยความระมัดระวังโดยไม่ต้องออกแรงมากเพราะจะทำให้เนื้อแก้วบริเวณที่หักแตกละเอียด ดึงปลายหลอดบรรจุและสำลีทิ้งในขวดน้ำยาฆ่าเชื้อใช้ Pasture pipette ดูดอาหารเหลว (HS broth) ประมาณ 0.3-0.4 มิลลิลิตร ถ่ายลงในหลอดบรรจุเพื่อละลายสารผสมเซลล์ของ *Acetobacter Xylinum* TISTR NO. 975 ในหลอด ใช้ Pasture pipette ดูดสารละลายผสมเซลล์ดังกล่าวหยดลงบนจานอาหารแข็ง (HS agar) จำนวน 1 หยด ส่วนสารละลายเซลล์ที่เหลือทั้งหมดถ่ายใส่ลงในอาหารเหลว (HS broth) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ขั้นตอนดังกล่าวได้แสดงไว้ในรูปที่ 2.9 สำหรับสารละลายเซลล์หยดลงบนจานอาหารแข็ง (HS agar) ใช้ห่วงเหล็ก (loop) ฆ่าเชื้อเขี่ยกระจายเชื้อ (streak plate) เพื่อให้ได้เป็นโคโลนีเดี่ยวๆ จากนั้นนำไปบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ (ที่ทำการเช็ดด้วย 70% Ethanol และเปิด UV ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมงก่อนการเพาะเลี้ยง) ที่อุณหภูมิ 30^{0}C เป็นเวลา 3 วัน เพื่อดูการเจริญของ *Acetobacter Xylinum* TISTR NO. 975 (ศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2550)
หมายเหตุ การถ่ายเชื้อทุกขั้นตอนทำในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ (ที่ทำการเช็ดด้วย 70% Ethanol และเปิด UV ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมงก่อนการเพาะเลี้ยง)

2.4 การต่อเชื้อ (subculture)

ปิเปตเซลล์แบคทีเรียที่ทำการเพาะเลี้ยงไว้ในข้อ 2.1 ปริมาตร 1 ml ลงใน อาหารเลี้ยงเชื้อ (HS broth) ปริมาตร 5 ml เขย่าให้เซลล์แบคทีเรียและอาหารเลี้ยงเชื้อผสมกันดี วางทิ้งไว้ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ (ซึ่งทำการเช็ดด้วย 70% Ethanol และเปิด UV ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมงก่อนการเพาะเลี้ยง) ที่อุณหภูมิ 30^0 C เป็นเวลา 3 วัน หากเชื้อไม่แข็งแรงพอ ควรทำการ subculture ต่อ

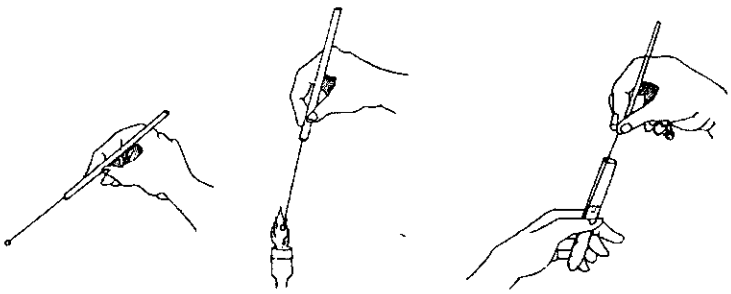


รูปที่ 2.9 วิธีการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์จากหลอดเชื้อแห้งแข็ง (Revival of Freeze-Dried Cultures)
(ที่มา http://www.tistr.or.th/mircen/pdf/FM%20-%20MIR%20-%2009%20-%20005%20%20Rev.5.pdf)

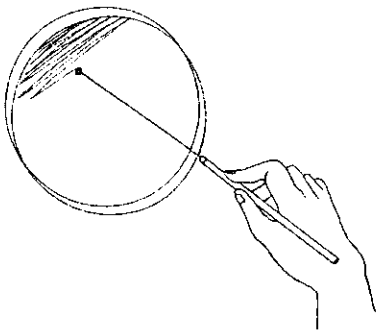
2.5 การแยกเชื้อด้วยวิธีการ Streak plate

เพื่อเป็นการทดสอบว่าแบคที่เรียที่ทำการเพาะเลี้ยง (*Acetobacter Xylinum* TISTR NO. 975) มีการปนเปื้อนจากเชื้ออื่นหรือไม่ และเพื่อการแยกเชื้อในกรณีที่อาจจะมีการปนเปื้อนเกิดขึ้น มีวิธีการเป็นขั้นตอน ตาม ธนุสรา [8] (ดูรูปที่ 2.10) ดังต่อไปนี้

1) เผา inoculating loop ให้ร้อนแดงเพื่อฆ่าเชื้อที่อาจติดอยู่ที่ loop
2) เปิดหลอดที่คาดว่ามีเชื้อหลายชนิดผสมกันอยู่โดยวิธี aseptictechnic
3) ใช้ sterile loop จุ่มลงใน broth ที่มีเชื้ออยู่นั้นให้ broth ฉาบติด loop เป็น film บาง ๆ ขึ้นมา
4) ปิดจุกหลอดที่มีเชื้อนั้นโดยวิธี aseptic technique
5) Smear เชื้อที่ติด loopขึ้นมา ลงบนมุมหนึ่งมุมใดของ plate แล้วเริ่มต้น streak กลับไปกลับมาประมาณ 10 ครั้ง
6) หมุน plate แล้ว streak ออกมาจากแนวสุดท้ายของช่วงแรกทำเช่นนี้จนทั่ว plate ดังรูปที่ 5
7) นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 $^{\circ}$C เป็นเวลา 3 วัน



ภาพที่ 1 ภาพที่ 2 ภาพที่ 3



ภาพที่ 4

ภาพที่ 1

การจับ inoculating loop ด้วยมือขวาคล้ายจับปากกา

ภาพที่ 2

การเผา inoculating loop โดยให้อยู่ในแนวตั้ง เพื่อให้เส้นลวดร้อนแดงจนทั่ว แล้วปล่อยให้เย็นลง

ภาพที่ 3

การจุ่ม inoculating loop ลงไปในเชื้อที่เลี้ยงไว้ใน broth

ภาพที่ 4

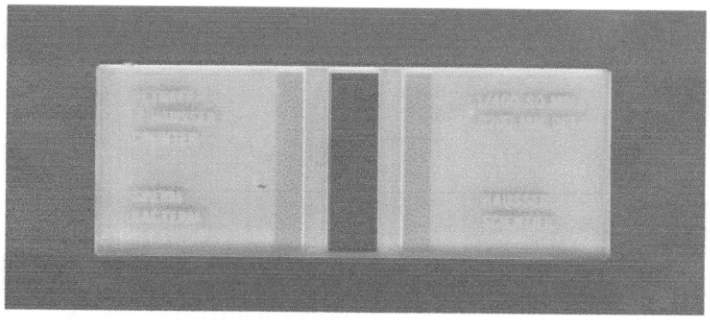
การ Streak เชื้อลงบนอาหารแข็ง

(ที่มา ธวัชชัยและคณะ, 2542)

รูปที่ 2.10 ขั้นตอนการ Streak plate

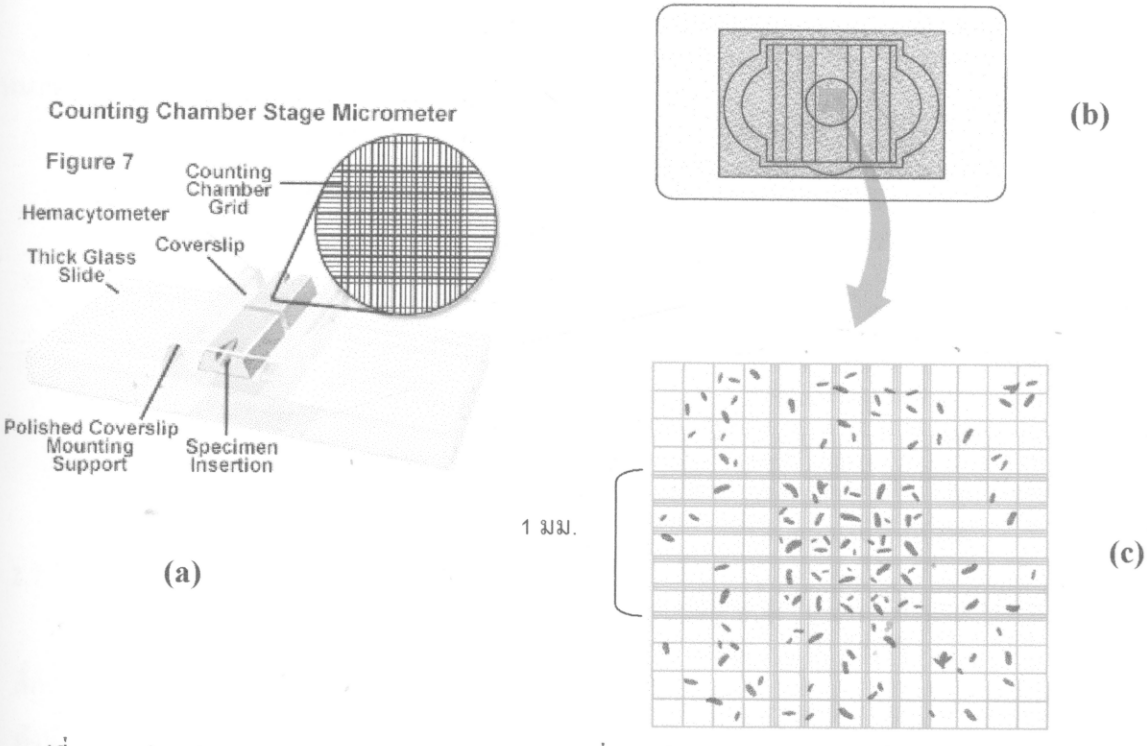
2.6 การตรวจนับเชื้อแบคทีเรียด้วย Haemacytometer

Haemacytometer เป็นเครื่องมือที่ใช้สำหรับการนับเม็ดเลือด แต่ปัจจุบันได้นำมาประยุกต์ใช้กับการนับแบคทีเรีย ยีสต์และสปอร์ของเชื้อรา เครื่องมือนี้เป็นสไลด์ที่มีช่องแบ่งไว้แน่นอนและมีขอบสูงยกจากบริเวณขีดเมื่อปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ขอบนี้จะรองรับกระจกปิดสไลด์ไว้ ทำให้เกิดระยะระหว่างกระจกและสไลด์ในบริเวณที่มีขีดคิดเป็นความลึกได้ 0.1 หรือ 0.2 มิลลิเมตรแล้วแต่บริษัทผู้ผลิต ขีดที่แบ่งกำหนดไว้ประกอบด้วยสี่เหลี่ยมจตุรัสใหญ่ 25 ช่อง แต่ละช่องมีขนาด 0.2 x 0.2 ตารางมิลลิเมตร ในแต่ละช่องใหญ่นี้จะมีการแบ่งเป็นช่องเล็กอีก 16 ช่อง แต่ละช่องมีเนื้อที่ 0.05 x 0.05 ตารางมิลลิเมตร ดั้งนั้นของเหลวที่บรรจุอยู่ในแต่ละช่องเล็กจะมีปริมาตร 0.00025 ลูกบาศก์มิลลิเมตร (0.05 x 0.05 x 0.1มิลลิเมตร) เครื่องมือนี้จะมีกระจกปิดสไลด์ซึ่งมีความหนาและความหนาเฉพาะ ไม่ควรใช้กระจกปิดสไลด์อื่นแทน เนื่องจากน้ำหนักของกระจกมีผลทำให้ปริมาตรภายในช่องระหว่างสไลด์กับกระจกผิดไปได้ และเมื่อใช้กระจกที่หนาไปจะเป็นอุปสรรคต่อการโฟกัสกล้อง (ธนุสรา, 2545)



รูปที่ 2.11 ลักษณะของ Haemacytometer

(ที่มา http://science.kmutt.ac.th/class/mic291/mic291lab7.doc)



รูปที่ 2.12 ส่วนประกอบของ Haemacytometer และภาพที่มองเห็นจากกล้องจุลทรรศน์

(a) ส่วนประกอบของ Haemacytometer (b) ภาพที่มองจากด้านบนของ chamber มีตารางอยู่กลางสไลด์ และ (c) ภาพขยายของตารางที่กำลังขยาย 10X ประกอบด้วยสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาดใหญ่แต่ละด้านยาว 1 มม. ภายในมีสี่เหลี่ยมจัตุรัสเล็กบรรจุอยู่ 25 ช่อง แต่ละช่องมีเส้น 3 เส้นล้อมรอบโดยแต่ละด้านยาว 0.2 มม. ภายในมีสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาดเล็กบรรจุอยู่อีก 16 ช่อง

(ที่มา http://science.kmutt.ac.th/class/mic291/mic291lab7.doc)

การตรวจนับเชื้อแบคทีเรียด้วย Haemacytometer มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1) ทำการเจือจางตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วในอัตราส่วน 1 ต่อ 9 ในหลอดทดลองเขย่าให้เข้ากันด้วย vortex mixer
2) ปิดกระจกที่เป็นชุดเฉพาะลงบน Haemacytometer
3) ดูดตัวอย่างด้วย pasture pipette มาแตะบริเวณช่องว่างระหว่าง Haemacytometer กับกระจกปิด (cover slide) เพื่อให้สารละลายเข้าไปในช่องว่างดังกล่าว จากนั้นซับสารละลายส่วนเกินออกไป
4) ส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40หรือ 100 เท่า (oil immersion objective lens) ของเลนส์ใกล้วัตถุ
5) นับแบคทีเรียที่อยู่ในช่องเล็กไม่ต่ำกว่า 10 ช่อง
6) คำนวณจำนวนแบคทีเรียที่พบเป็นจำนวนเซลล์ ต่อ 1 ml ของตัวอย่าง

หมายเหตุ

1) ถ้าจุลินทรีย์มีความหนาแน่นมากหรือน้อยเกินไป ให้เลือกความเจือจางในระดับที่เหมาะสมที่จะสามารถนับจำนวนแบคทีเรียได้
2) จำนวนแบคทีเรียควรเป็น 1-10 เซลล์ต่อ 1 ช่องเล็ก
3) หากมีเซลล์แบคทีเรียแตะหรือทับเส้นกรอบสี่เหลี่ยมอยู่ ให้นับเซลล์ในช่องนั้นเฉพาะเซลล์แบคทีเรียแตะหรือทับเส้นด้านบนและด้านขวาเท่านั้น
4) การใช้ oil immersion objective lens พึงระวังการกระทบระหว่างเลนส์ (100x) กับ cover slide ของ haemacytometer ซึ่งมีราคาแพง

2.7 วิธีการคำนวณหาจำนวนเซลล์ต่อ 1 ml

ตัวอย่างการคำนวณหาจำนวนเซลล์ของแบคทีเรียต่อ 1 ml ตัวอย่าง สามารถคำนวณได้ดังนี้

สี่เหลี่ยมลูกบาสก์เล็กมีความกว้าง 0.05 mm ยาว 0.05 mm chamber ลึก 0.1 mm

ดังนั้น สี่เหลี่ยมลูกบาสก์เล็กมีปริมาตร = $0.05 \times 0.05 \times 0.1\ mm^3$

ถ้านับจำนวนเซลล์เฉลี่ยต่อสี่เหลี่ยมลูกบาสก์เล็ก = X เซลล์

ปริมาตรตัวอย่าง $0.05 \times 0.05 \times 0.1\ mm^3$ มีแบคทีเรีย = X เซลล์

ปริมาตรตัวอย่าง $1000\ mm^3$ มีแบคทีเรีย = $\dfrac{X \times 1000\ cells}{0.05 \times 0.05 \times 0.1}$

เนื่องจาก 1 ml = 1cc = 1000 mm^3 ดังนั้นจะได้

$$\text{จำนวนเซลล์/ 1 ml} = \frac{X \times 1000 \text{ cells}}{0.05 \times 0.05 \times 0.1}$$

2.8 การตรวจเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างน้ำมะพร้าว

แบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน ดังนี้

2.8.1 การเก็บตัวอย่างน้ำมะพร้าว

เพื่อเปรียบเทียบคุณภาพของน้ำมะพร้าวที่ผ่านและไม่ผ่านการกรองด้วยระบบ MF จึงเก็บตัวอย่างน้ำมะพร้าว 2 วิธี คือส่วนหนึ่งนำไปกรองด้วยผ้าขาวบาง 2 ชั้น และอีกส่วนหนึ่งนำไปกรองผ่านระบบกรอง MF ใช้ตัวอย่างน้ำมะพร้าวประมาณ 50-80 มิลลิลิตร ใส่ในขวด Duran ขนาด 100 มิลลิลิตร ที่นึ่งฆ่าเชื้อด้วย Autoclave ที่อุณหภูมิ 121^{0}C ภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ด้วยวิธีการ aseptic technique (เพื่อตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด) และเก็บตัวอย่างน้ำมะพร้าวประมาณ 100 มิลลิลิตร ใส่ในขวด Duran ขนาด 250 มิลลิลิตร จำนวน 3 ใบ เพื่อนำไปตรวจวัด pH, ความหวานและปริมาณไขมัน

2.8.2 การตรวจเชื้อจุลินทรีย์

มีวิธีการดังนี้

1) ทำการเจือจางตัวอย่างในข้อ 2.6 ในระดับที่เหมาะสม
2) ดูดเชื้อที่ระดับการเจือจางที่เหมาะสมปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเพาะเชื้อ (plate) ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อด้วย Hot Air Oven ที่อุณหภูมิ 180^{0}C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง หรือ การนึ่งฆ่าเชื้อด้วย Autoclave ที่อุณหภูมิ 121^{0}C ภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที จำนวน 3 จาน
3) เทอาหารสูตร PDA (Potato Dextrose agar) ซึ่งผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อด้วย Autoclaved ที่อุณหภูมิ 121^{0}C ภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ที่รอให้เย็นจนกระทั่งมีอุณหภูมิประมาณ 40-45^{0}C ลงในจานเพาะเชื้อในข้อสอง
4) รีบทำการหมุนจานอาหารตามเข็มนาฬิกาประมาณ 5 รอบ ทวนเข็มนาฬิกาประมาณ 5 รอบ เคลื่อนจานขึ้นลงตามแนวระราบ 5 ครั้ง เคลื่อนไปทางซ้าย – ขวาตามแนวระนาบ 5 ครั้ง เพื่อเป็นการให้เชื้อกระจายตัวได้ทั่วในอาหาร

5) ตั้งทิ้งไว้จนอาหารแข็งตัว คว่ำจานลง (เพื่อป้องกันไอน้ำเกาะบนผิวหน้าอาหาร)

6) บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30-37^{0}C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

7) เลือกจานอาหารที่มีโคโลนีเจริญอยู่ประมาณ 30-300โคโลนี แล้วนับจำนวนจากจานอาหารที่ระดับการเจือจางนั้น หาค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีบนจานอาหารทั้ง 3 จาน แล้วคำนวณหาค่าจุลินทรีย์ต่อมิลลิลิตรของตัวอย่าง

สูตรการคำนวณ

จำนวนจุลินทรีย์ต่อมิลลิลิตรของตัวอย่าง (CFU/มิลลิลิตร)	=	ค่าเฉลี่ยของจำนวนจุลิทรีย์บนจานอาหาร 3 จานที่ระดับการเจือจางเดียวกัน X ส่วนกลับของระดับการเจือจาง

2.9 การตรวจวัด pH ความหวาน และปริมาณไขมันในตัวอย่างน้ำมะพร้าว

2.9.1 การวัด pH และความหวาน

ทำการ calibrate เครื่องวัด pH ด้วย pH buffer 4 และ pH buffer 7 วัด pH ของตัวอย่างน้ำมะพร้าวทั้งที่ไม่ผ่านการกรอง (CW) และที่ผ่านการกรอง(FCW) ด้วยเครื่องกรอง โดยทำการวัดตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ใช้แท่งแก้วที่สะอาดและแห้งแตะตัวอย่างน้ำมะพร้าวทั้งที่ไม่ผ่านการกรอง(CW) และที่ผ่านการกรอง (FCW) ด้วยเครื่องกรองมาแตะลงบน hand refractometer แล้วอ่านค่าความ (% Brix) จากเครื่องตรงตำแหน่งที่แถบสีขาวและสีน้ำเงินตัดกัน โดยทำการวัดตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

2.9.3 การหาปริมาณไขมันในน้ำมะพร้าว

(ก) วิธี Rose-Gottlieb process ร่วมกับ Werner-Schmid process

ไฮโดรไลส์ตัวอย่างด้วยกรดเกลือเข้มข้น 6 โมลาร์ใน water bath เพื่อสลายโปรตีนออกจากไขมันและเติมแอลกอฮอล์ลงไปช่วยในการพาไขมันจากชั้นน้ำมายังชั้นของตัวทำละลายผสมของไดเอธิลอีเทอร์และปิโตรเลี่ยมอีเทอร์ การใช้ตัวทำละลายผสมระหว่างไดเอธิลอีเทอร์และปิโตรเลี่ยมอีเทอร์ จะช่วยไม่ให้เกิดการรวมตัวกับน้ำมากขึ้น ทำให้แยกไขมันออกได้หมด (ลักขณา และ นิธิยา , 2540) มีขั้นตอนดังนี้

1) ชั่งตัวอย่างน้ำมะพร้าว 10 กรัม ใส่ใน ฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร

2) เติมสารละลาย HCl เข้มข้น 6 โมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน3) ปิดด้วยกระจกนาฬิกาแช่ไว้ใน water bath อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

3) เทสารละลายในข้อ 2 ใส่ใน separatory funnel

4) เติมเอธิลแอลกอฮอล์ 95% ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปิดจุกแล้วเขย่าให้เข้ากัน

5) เติมไดธิลอีเทอร์ (peroxide free) 25 มิลลิลิตร ปิดจุกแล้วเขย่าแรงๆ 1 นาที

6) เติมปิโตรเลี่ยมอีเทอร์ 25 มิลลิลิตร ปิดจุกแล้วเขย่าแรงๆ 30 วินาที
7) เปิดจุกตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น ชั้นบนเป็นชั้นที่ไขมันละลายอยู่ในตัวทำละลายผสมส่วน ชั้นล่างเป็นชั้นน้ำที่ส่วนประกอบอื่นๆ ที่ไม่ใช่ไขมันละลายอยู่
8) แยกของเหลวใส่ฟลาสก์ที่แห้ง ซึ่งผ่านการอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส และชั่งหาน้ำหนักมาก่อนแล้ว
9) สกัดไขมันซ้ำอีกสองครั้งด้วยไดธิลอีเทอร์(peroxide free) 15 มิลลิลิตร และเติมปิโตรเลี่ยมอีเทอร์ 15 มิลลิลิตร
10) นำชั้นของเหลวที่มีไขมันมารวมกัน
11) กลั่นเอาตัวทำละลายที่มากเกินพอออก อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น แล้วชั่งหาน้ำหนักของไขมันที่ได้

(ข) วิธี Blight and dyer

ได้ส่งตัวอย่างน้ำมะพร้าวที่ผ่านการกรองและไม่ผ่านการกรองด้วยเครื่องกรอง MF ไปวิเคราะห์หาปริมาณไขมันไปยังศูนย์พัฒนาเกษตรเพื่อการส่งออก ที่คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลา -นครินทร์ มีรายละเอียดการดำเนินการ ดังนี้

1) ชั่งตัวอย่างน้ำมะพร้าว 50 กรัม
2) เติม Chloroform ปริมาตร 50 มิลลิลิตร และ Methanol ปริมาตร 50 มิลลิลิตร
3) ปั่นผสมด้วยเครื่อง Homogenizer เป็นเวลา 2 นาที
4) เติม Chloroform ปริมาตร 50 มิลลิลิตร
5) ปั่นผสมด้วยเครื่อง Homogenizer เป็นเวลา 1 นาที
6) เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 20 มิลลิลิตร
7) ปั่นผสมด้วยเครื่อง Homogenizer เป็นเวลา 30 วินาที
8) เทสารผสมใส่กรวยแยก แล้วตั้งทิ้งไว้ข้ามคืน
9) ไขสารละลายชั้นล่าง (ชั้น Chloroform) ใส่ในขวดก้นกลมที่อบเพื่อกำจัดไขมันและทราบน้ำหนักที่แน่นอน
10) ระเหย Chloroform ออกด้วยเครื่อง Rotary vacuum evaporator ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส
11) นำไปอบใน Hot air oven ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง
12) ทำซ้ำข้อ 11. จนกระทั่งได้น้ำหนักที่แน่นอน
13) คำนวณหาปริมาณไขมัน

2.10 การย้อมแกรมแบคทีเรีย

ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology) ของราและแบคทีเรียนั้นหากศึกษาโดยผ่าน slide จะทำให้สามารถเห็นลักษณะรูปร่างและขนาดได้ชัดเจนและละเอียดยิ่งขึ้นยิ่งไปกว่านั้นถ้าต้องการเห็น

แบคทีเรียได้สะดวกขึ้น และในบางครั้งต้องการเห็นโครงสร้างบางอย่างในเซลล์ จึงจำเป็นต้องย้อมสีแบคทีเรีย ซึ่งการย้อมสีนั้นยังทำให้สามารถจำแนกชนิดของแบคทีเรียได้จากการติดสีที่แตกต่างกัน (tp://cyberlab.lh1.ku.ac.th/elearn/faculty/forest/fo27/web/lab4.htm) มีขั้นตอนดังนี้

1) slide ที่ใช้ในการเตรียมย้อมสีแบคทีเรียจะต้องอาศัยความสะอาดมากๆ ให้ทำความสะอาด slide แก้วดังนี้ ใช้นิ้วแตะน้ำให้เปียกแล้วแตะสบู่ ถูสบู่นี้บนผิว slide เพื่อขัดให้สะอาด ทิ้งให้สบู่แห้งบนแผ่น slide แล้วใช้ผ้าหรือกระดาษสะอาดเช็ดออกให้หมด slide สะอาดหรือไม่ทดสอบได้ง่ายๆ โดยหยดน้ำบนแผ่น slide ถ้าสะอาดดีน้ำจะเปียกแก้วและแผ่กระจายไป ถ้าผิวมีน้ำมันติดอยู่ น้ำจะไม่เปียกแก้วและปรากฏเป็นเม็ดน้ำบนผิวแก้ว ถ้าย้อมสีแบคทีเรียโดยใช้ slide สกปรกหรือมีน้ำมันติดจะไม่ได้ผลดี

2) ใช้ steriled loop (ชนิดเป็นห่วง) เขี่ยให้ติดเชื้อเพียงนิดเดียว นำเชื้อที่ติดมากับปลายลวดลงผสมกับหยดน้ำกลั่นบนแผ่น slide ใช้ปลายลวดคนไปมา ปริมาณเชื้อควรพอทำให้น้ำขุ่นประมาณน้ำข้าว คนหยดน้ำให้ตีวงกว้างออกไปจนมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณเท่ากับ 1 ซม วิธีการนี้เรียกว่า smear วางทิ้งไว้ให้รอย smear แห้ง แล้วจึงนำไปลนไฟเบาๆ (ลนด้านที่ไม่ได้ป้ายเชื้อ) เพื่อเป็นการ fix ให้เชื้อติดดีกับแผ่นแก้ว เตรียม slide แบบนี้เชื้อละแผ่น

3) หยดสี crystal violet สารละลายแบบของแกรมลงบนรอย smear ทิ้งไว้นาน 1-2 นาที ระวังอย่าให้สีแห้ง
4) จับสไลด์เอียง เทสีทิ้ง ล้างเบาๆ ด้วยน้ำ
5) หยดสารละลายไอโอดีนแบบของแกรม ให้ท่วมรอย smear ทิ้งไว้นาน 1 นาทีแล้วเททิ้ง แล้วหยดสารละลายไอโอดีนลงไปอีก คราวนี้ทิ้งไว้นาน 2 นาที
6) เทไอโอดีนทิ้ง ล้างด้วยน้ำ ใช้กระดาษหรือผ้าซับให้แห้ง
7) ล้างสีออกด้วยส่วนผสมแอลกอฮอล์กับอะเซโตน พอให้น้ำยาที่ล้างไม่มีสีติดออกมา (ใช้เวลาประมาณ 15-20 วินาที) แล้วล้างด้วยน้ำทันที จากนั้นซับด้วยผ้าหรือกระดาษซับ
8) ย้อมทับหรือซ้ำ (counter stain) ด้วยสี safranin อีกครั้งหนึ่ง นาน 1 นาที
9) ล้างด้วยน้ำเบาๆ (น้ำไหล) วางทิ้งไว้ให้แห้งในอากาศ
10) ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ใช้ oil immersion objective ให้ดูการติดสี ลักษณะรูปร่างและวัดขนาดของแบคทีเรีย

<u>หมายเหตุ</u> การติดสีแตกต่างกันมีประโยชน์ในการแยกชนิดของแบคทีเรีย เพราะว่าการที่มีปฏิกิริยาต่อสีไม่เหมือนกัน ย่อมแสดงว่าส่วนประกอบทางเคมีของแบคทีเรียชนิดนั้นแตกต่างกันด้วยแกรมบวก (gram-positive) คือแบคทีเรียที่ติดสีม่วงของ crystal violet แบคทีเรียแกรมลบ (gram-negative) คือแบคทีเรียที่ติดสีแดงของ safranin มีแบคทีเรียบางจำพวกที่ย้อมสีออกมาแล้วติดสีไม่แน่นอน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอายุของเชื้อด้วย เชื้อแบคทีเรียที่จะนำมาย้อมตามวิธีของ Gram ควรมีอายุน้อยกว่า 36 ชั่วโมง

2.11 การวัดขนาดของจุลินทรีย์ที่พบในน้ำมะพร้าวที่ผ่านการกรองแล้ว

เซลล์จุลินทรีย์มีขนาดเล็ก ดังนั้นการวัดขนาดจึงจำเป็นต้องใช้กล้องจุลทรรศน์และเครื่องมือที่เรียกว่า Micrometer ซึ่งประกอบด้วย

1) Ocular micrometer เป็นเครื่องมือที่ใช้วัดขนาดจุลินทรีย์โดยตรง เป็นแผ่นแก้วกลมมีขนาดพอดีที่จะบรรจุลงใน Ocular ของกล้องจุลทรรศน์ ตรงกลางแผ่นจะมีขีดเล็กๆ แบ่งเป็นช่องๆ ปกติจะมีอยู่ 50 ช่อง หรือ 100 ช่อง (ดังรูปที่ 2.13) แต่ละช่องมีระยะห่างเท่าๆกัน ซึ่งจะมีระยะห่างเท่าไรในการวัดนั้นขึ้นอยู่กับกำลังขยายของกล้องจุลทรรศน์ที่ใช้ โดยทราบได้จากการเทียบค่ากับ Stage micrometer ก่อนที่จะนำไปใช้กับการวัดขนาดต่อไป (ดวงพร, 2548)
2) Stage micrometer เป็นแผ่นแก้ว แต่ตรงกลางมีเส้นขีดเป็นช่องๆ แต่ละช่องมีระยะห่างเท่ากัน คือ 0.01 มิลลิเมตร (10μm) จะมีขีดอยู่ทั้งหมด 100 หรือ 200 ช่อง (ดังรูปที่ 2.14) Stage micrometer ไม่ได้ใช้วัดขนาดของจุลินทรีย์ แต่เป็นเครื่องมือสำหรับเทียบหาระยะห่างแต่ละช่องของ Ocular micrometer (ดวงพร, 2548)

วิธีการเทียบค่า (calibration) เพื่อหาระยะห่างของช่องบน Ocular micrometer

1) วาง stage micrometer ลงบน stage ยึดสไลด์ให้แน่นด้วย mechanical stage clip
2) ปรับโฟกัสจนเห็นสเกลชัดโดยใช้ low power objective (objective 10 X)
3) ถอด Ocular micrometer ออกจากกล้อง หมุนเกลียวด้านบนของ ocular ออกใส่ ocular micrometer ลงไปใน ocular tube แล้วสวม ocular กลับเข้าที่
4) เมื่อมองเข้าไปในกล้องจะเห็นสเกล 2 แถว โดยสเกลของ stage micrometer มีสีเข้มกว่าสเกลของ ocular micrometer หรือเมื่อหมุน ocular สเกลของ ocular จะหมุนตามไปด้วย ให้หมุน ocular จนสเกลทั้งสองซ้อนกันในแนวขนาน เลื่อนให้ขีดใดขีดหนึ่งของ ocular micrometer ทับกันพอดีบนขีดหนึ่งของ stage micrometer มองขีดต่อๆไปว่าขีดใดของทั้งสองแถวซ้อนทับกันพอดี นับจำนวนช่องของ ocular และ stage micrometer จากขีดแรกจนถึงขีดหลังที่ทั้งสองเส้นทับกัน ทำซ้ำหลายๆครั้งแล้วจึงคำนวณหาค่าเฉลี่ย ว่า 1 ช่องของ ocular micrometer เท่ากับกี่ช่องของ stage micrometer หรือเท่ากับกี่ไมครอน (μm) บันทึกผล
5) ปฏิบัติเช่นเดียวกับข้อ 3. แต่ใช้กำลังขยายของ objective 40x และ 100x (กำลังขยาย 100x ใช้ oil immersion) คำนวณแล้วบันทึกผลเช่นเดียวกัน

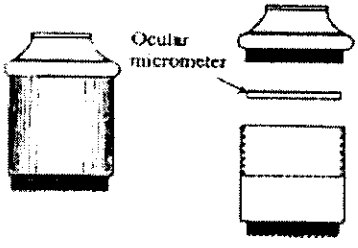
<u>ตัวอย่างการคำนวณ</u>

สมมติว่า 7 ช่องของ ocular micrometer = 10 ช่องของ stage micrometer

1 ช่องของ stage micrometer = 0.01 mm. (กำหนดให้)

ฉะนั้น 1 ช่องของ ocular micrometer = (10 /7)X 0.01 mm. = 0.014 mm.

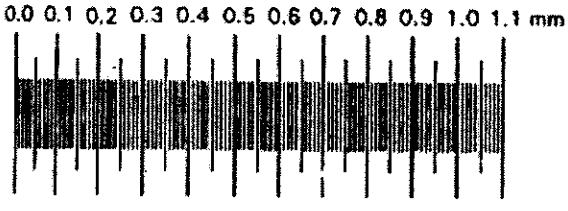
<u>หมายเหตุ</u> การวัดขนาดจุลินทรีย์จะบอกขนาดเป็นไมครอน เช่น ถ้าดูในกล้องจุลทรรศน์จุลินทรีย์มีขนาดเท่ากับสเกลบน ocular micrometer 3 ช่อง ดังนั้นจุลินทรีย์มีขนาด 3X 0.014 = 0.042 mm.หรือ 42 ไมครอน เมื่อใช้ objective ที่มีกำลังขยายสูงขึ้น สเกลบน stage micrometer จะถูกขยายมากขึ้น ทำให้จำนวนช่องของ ocular micrometer ต่อจำนวนช่องของ stage micrometer เปลี่ยนไป จึงต้องเทียบค่าขนาด 1 ช่องของ ocular มีขนาดเท่ากับกี่ไมครอนไว้



รูปที่ 2.13 แสดงการใส่ ocular micrometer เข้าไปที่ ocular
(ที่มา http://science.kmutt.ac.th/class/mic291/mic291lab4.doc)

รูปที่ 2.14 แสดงสเกลของ micrometer แบบต่างๆ

(a) Ocular micrometer
(http://science.kmutt.ac.th/class/mic291/mic291lab4.doc)



(b) Stage micrometer
(http://science.kmutt.ac.th/class/mic291/mic291lab4.doc)

(c) การซ้อนสเกลของ ocular micrometer และ stage micrometer
(http://science.kmutt.ac.th/class/mic291/mic291lab4.doc)

2.12 การผลิตเยื่อกรองเซลลูโลสแบบกึ่งอัตโนมัติ

2.12.1 การเตรียมตู้เพาะเลี้ยง

1) เช็ดตู้เพาะเลี้ยงด้วยผ้าสะอาดชุบน้ำบิดพอหมาดๆ เช็ดซ้ำด้วยผ้าสะอาดชุบ 70 % แอลกอฮอล์ สเปรย์ 70 % แอลกอฮอล์ ซ้ำอีกรอบ ทิ้งไว้ 30 นาที จากนั้นเปิด UV ทิ้งไว้ หนึ่งคืน
2) วางถาดและต่อท่อซิลิโคน(ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว) ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ ที่ทำการเช็ดด้วย 70% Ethanol และเปิด UV ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมง) ฉีด 70% Ethanol และเปิด UV ทิ้งไว้อีกครั้งเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

2.12.2 การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยง

เพื่อศึกษาเปรียบเทียบระหว่างเยื่อกรองเซลลูโลสที่ผลิตได้จาก *Acetobacter xylinum* TISTR No.975 โดยใช้และไม่ใช้น้ำมะพร้าวเป็นส่วนผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรมาตรฐานซึ่งมีน้ำตาล Sucrose เป็นแหล่งคาร์บอน และเรียกว่า สูตร CCB และ สูตร SHB ตามลำดับ ดังรายละเอียดในตารางที่ 2.1 ปรับระดับ pH ของอาหารให้มีค่า 4 (ปริศนา, 2550) แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C ภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบของสูตรอาหารสำหรับการผลิตเยื่อกรองเซลลูโลส

องค์ประกอบในสูตรอาหาร	ปริมาณสารเคมี	
	สูตร SHB	สูตร CCB
Sucrose	4% (w/v)	4% (w/v)
Peptone	0.5% (w/v)	0.5% (w/v)
Yeast extract	0.5% (w/v)	0.5% (w/v)
Citric acid	0.0115%(w/v)	0.0115%(w/v)
Na_2HPO_4	0.033% (w/v)	0.033% (w/v)
Distilled water	100 ml	-
Coconut juice	-	100 ml

2.12.3 การถ่ายเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR No. 975

การถ่ายเชื้อ ได้มีขั้นตอนการทำดังนี้

1) นำถังกวนที่ลวกน้ำร้อนเพื่อฆ่าเชื้อแล้ววางลงบน Magnetic stirrer
2) ต่อถังกวนเข้ากับท่อซิลิโคนที่ฆ่าเชื้อแล้วซึ่งต่อออกมาจากตู้เพาะเลี้ยงโดยปิดวาวไว้ก่อน (แช่ปลายท่อซิลิโคนอีกครั้งประมาณ 10-15 นาที และลนปลายท่อของถังกวนก่อนที่จะต่อท่อซิลิโคนเข้ากับปลายท่อของถังกวน)

3) เทอาหารเพาะเลี้ยงที่ฆ่าเชื้อแล้วลงในถังกวนทางช่องเสียบกรวยที่ฝาถัง (กรวยที่ใช้ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วด้วยการลวกในน้ำเดือด 10-15 นาที และนำมาใช้ทันทีที่ลวกเสร็จ)
4) เติมเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR No. 975 ที่เพาะเลี้ยงไว้ในอาหารสูตรเดียวกันเป็นเวลา 3 วันและได้นับจำนวนเซลล์เริ่มต้นแล้ว โดยเติมลงไปในอัตราส่วน $1x10^6$ เซลล์ต่อหนึ่งมิลลิลิตรของอาหาร
5) หมุน Speed Control ไปที่ระดับ 4 กวนเป็นเวลา 5 นาที
6) เปิดก๊อกให้อาหารเพาะเลี้ยงไหลลงสู่ถาดเพาะเลี้ยงจนหมด ซึ่งเทียบปริมาตรต่อถาดเท่ากับ 750 มิลลิลิตร
7) หุ้มถาดเพาะเลี้ยงด้วยกระดาษซาลาเปาที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 2 ชั้น ผูกด้วยเชือกฟางที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว (เพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อในอากาศ)
8) สเปรย์ 70% แอลกอฮอล์ ให้ทั่วทั้งตู้ ปิดประตูตู้ให้สนิท
9) ถอดท่อซิลิโคนออก เช็ดปลายท่อด้วยผ้าสะอาดชุบ 70 % แอลกอฮอล์ จากนั้นหุ้มปลายท่อด้วยกระดาษฟอย์ดที่ฆ่าเชื้อแล้วให้สนิท แขวนไว้ภายนอกตู้เพาะเลี้ยง ส่วน Magnetic stirrer และถังกวนเก็บไปทำความสะอาด
10) ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 27±2 องศาเซลเซียส
11) เก็บเกี่ยวผลผลิตเมื่อเพาะเลี้ยงครบเวลา 72 ชั่วโมง (3 วัน)

2.12.4 การผลิตเยื่อกรองด้วยอาหารสูตรน้ำมะพร้าว

ใช้วิธีการเดียวกันกับการเตรียมตู้เพาะเลี้ยงในการผลิตเยื่อกรองด้วยอาหารสูตร SHB

การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยง

1) กรองน้ำมะพร้าวด้วยผ้าขาวบาง 3 ชั้น
2) กรองผ่านเครื่องกรองน้ำเพื่อกำจัดไขมันและเชื้อที่อาจปนเปื้อนมากับน้ำมะพร้าว
3) ควบคุมอัตราการไหลของน้ำมะพร้าวที่ผ่านเครื่องกรองลงสู่ถังกวนที่ฆ่าเชื้อแล้ว ให้อยู่ที่ 100 มิลลิลิตรต่อนาที จนได้ปริมาตร 4000 มิลลิลิตร
4) เติมสารอาหารสูตร CCB (ตารางที่ 2.1) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ลงในน้ำมะพร้าวที่เตรียมไว้ตามที่บรรยายในข้อ 3 ปรับค่า pH ของอาหารให้มีค่า 4

2.12.5 การล้างและการทำให้แห้ง

นำแผ่นเซลลูโลสที่เซลล์ผลิตได้เป็นเวลา 3 วันมาต้มในน้ำที่มีอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เพื่อให้แบคทีเรียตาย แล้วแช่ในสารละลาย 1.5 N NaOH เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อขจัดเซลล์ในแผ่นเซลลูโลส (ปริศนา, 2550) ล้างแผ่นเซลลูโลสจนกระทั่งน้ำล้างมีค่า pH เป็นกลาง

ต่อจากนั้นปรับสภาพแผ่นเซลลูโลส โดยการแช่ในสารละลาย 1.94 N HCl นาน 1 ชั่วโมง แล้วนำไปล้างด้วยน้ำสะอาด จนกระทั่งน้ำล้างมีค่า pH เป็นกลางอีกครั้ง แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก (โดยการซับน้ำที่ผิวออกด้วยกระดาษกรองที่สะอาด) และวัดความหนาขณะเปียก ทำให้แห้งโดยการผึ่งไว้ในตู้เพาะเลี้ยงโดยวางบนถาดสแตนเลสขนาด 60 x 120 cm^2 ที่ปูทับด้วยพลาสติก แล้วฉีดด้วย 70% แอลกอฮอล์ ทิ้งไว้ 15 นาทีก่อนการใช้งาน ให้ความร้อนจากหลอดไฟทังสเตนขนาดกำลัง 100 W จำนวน 4 หลอด โดยภายในตู้มีอุณหภูมิ 32 $\pm 3^0$C ตลอด 24 ชั่วโมง นาน 4 วัน

ในลำดับต่อไปจะเรียกเยื่อกรองที่ผลิตได้เป็น ชนิด CE(CCB) และ CE(SHB) เมื่อใช้สารอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ที่มีและไม่มีน้ำมะพร้าวเป็นส่วนประกอบ ตามลำดับ

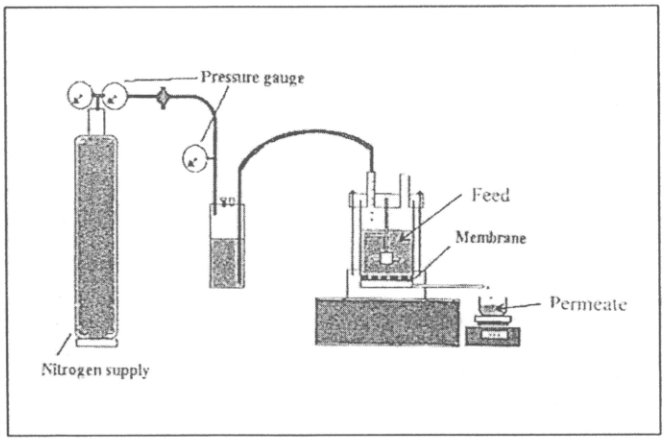
2.13 การศึกษาฟลักซ์น้ำ

ใช้วิธีเดียวกันกับ Wanichapichart, *et al.* (2003) กล่าวคือ ตัดเยื่อกรองเซลลูโลสเป็นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.7 เซนติเมตร โดยก่อนการทดลองทำการแช่เยื่อกรองในน้ำกลั่นจนกระทั่งเยื่อบวมน้ำสูงสุดแล้วจึงจัดลงในชุดการกรองแบบปิดตาย (Micro Filtration) ดังรูปที่ 2.15 โดยค่อยๆเพิ่มความดันจาก 50, 100, 150, 200 และ 250 kPa ที่แต่ละความดันบันทึกมวลน้ำ แล้วคำนวณหาค่าฟลักซ์ของเพอมิเอทในหน่วย $Lm^{-2}h^{-1}$ พื้นที่เยื่อแผ่นในระบบคือ 1.2 x 10^{-3} m^2 เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเพอมิเอทฟลักซ์ (J) กับความดันที่ป้อนให้แก่ระบบทดสอบ (ΔP) ความชันกราฟที่ได้คือ ค่าสัมประสิทธิ์การนำน้ำ (L_p) ตามสมการ Hagen Poiseuille [5] ดังนี้

$$J = L_P \Delta P \tag{1}$$

โดยค่า L_p สัมพันธ์กับขนาดรู (r_p) ความพรุน (ε) ความหนืด (η) ของสารป้อน และความหนา (ΔX) ของเยื่อกรอง ดังนี้

$$L_p = \frac{\varepsilon}{\tau} \frac{r_p^2}{8\eta\Delta X} \tag{2}$$



รูปที่ 2.15
อุปกรณ์ชุดทดสอบการกรองแบบปิดตาย

2.14 การเหนี่ยวนำเซลล์โดยใช้ไฟฟ้ากระแสสลับ

วิธีการเหนี่ยวนำ บรรยายโดยสาฟีตรี [9] ภายหลังเก็บเกี่ยวและได้เยื่อกรองแล้ว ศึกษาเปรียบเทียบเงื่อนไขต่างๆ ที่ใช้ โดยอาศัยการทดสอบฟลักซ์น้ำ ตามวิธีการในข้อ 2.13

2.15 การประยุกต์ใช้ในงานด้านอื่นๆ

2.15.1 ทดสอบการกรองน้ำจากชุมชน

ได้เก็บตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ โรงงานยางพารา และน้ำบาดาลจากชุมชน เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ที่จะใช้เยื่อกรองเซลลูโลสในการบำบัดน้ำเบื้องต้น ได้ทดสอบสมบัติเชิงกายภาพของน้ำทั้งก่อนและหลังการกรอง แล้ววิเคราะห์ผลโดยใช้บริการจากศูนย์เครื่องมือ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ยกเว้นน้ำบาดาลที่มีสนิมเหล็ก ได้ทดสอบโดยใช้อุปกรณ์แบบพกพา

2.15.2 การปรับปรุงผิวเซลลูโลส

ปัจจุบันนอกจากจะนิยมใช้เยื่อเซลลูโลสในด้านการแพทย์และเภสัชกรรมแล้ว ในอุตสาหกรรมอาหารหรือสิ่งทอ มีการทดลองปรับปรุงผิววัสดุเพื่อปรับปรุงคุณสมบัติด้านโครงสร้างเชิงโมเลกุลและความเข้ากันได้ทางชีวภาพ โดยอาศัยเทคนิคฟิสิกส์ เช่นการระดมยิงด้วยลำอนุภาคหรือพลาสมา งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาความเป็นไปได้ที่จะปรับปรุงโครงสร้างของผิวเซลลูโลส ด้วยพลาสมาของก๊าซออกซิเจนโดยร่วมมือกับห้องวิจัยที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และได้ทดสอบคุณลักษณะของเยื่อกรองโดยเปรียบเทียบค่าฟลักซ์น้ำ และศึกษาโครงสร้างของผิวโดยวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชั่นด้วยเทคนิค ATR-FTIR ที่ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

บทที่ 3 ผลการศึกษาวิจัย

3.1 ระดับ pH ความหวานและไขมันในน้ำมะพร้าวที่ใช้ผสมในสารอาหาร

จากการตรวจวัด pH ในตัวอย่างน้ำมะพร้าวพบว่าน้ำมะพร้าวมีค่า pH โดยเฉลี่ยเท่ากับ 4.27 แต่เมื่อนำน้ำมะพร้าวไปกรองผ่านเครื่องกรองน้ำพบว่ามีค่า pH โดยเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเป็น 5.41 (ดังตารางที่ 3.1) แสดงว่าการกรองมีผลต่อสารที่เป็นกรดบางส่วน และจากการตรวจวัดความหวานในตัวอย่างน้ำมะพร้าว พบว่าน้ำมะพร้าวที่ไม่ผ่านการกรองมีค่าความหวานเท่ากับ 4 % Brix ส่วนน้ำมะพร้าวที่กรองผ่านเครื่องกรองน้ำมีค่าความหวานลดลงเป็น 0.5% Brix (ดังตารางที่ 3.2) แสดงว่าการกรองดังกล่าวยังมีผลต่อสารที่ให้ความหวานบางส่วนด้วย

ตารางที่ 3.1 แสดง pH ในตัวอย่างน้ำมะพร้าว

ชนิดของตัวอย่างน้ำมะพร้าว	ตัวอย่างที่	pH	ค่าเฉลี่ยของ pH ในน้ำมะพร้าว
1. น้ำมะพร้าวที่ไม่ผ่านการกรอง (CW)	1	4.48	4.27
	2	4.17	
	3	4.17	
2. น้ำมะพร้าวที่ผ่านการกรอง (FCW)	1	5.39	5.41
	2	5.44	
	3	5.40	

ตารางที่ 3.2 แสดงค่าความหวานในตัวอย่างน้ำมะพร้าว

ชนิดของตัวอย่างน้ำมะพร้าว	ตัวอย่างที่	ความหวาน (% Brix)	ค่าเฉลี่ยความหวานในน้ำมะพร้าว (% Brix)
1. น้ำมะพร้าวที่ไม่ผ่านการกรอง (CW)	1	4.00	4.00
	2	4.00	
	3	4.00	
2. น้ำมะพร้าวที่ผ่านการกรอง (FCW)	1	0.50	0.50
	2	0.50	
	3	0.50	

จากการวิเคราะห์หาปริมาณไขมันด้วยวิธี Rose-Gottlieb process ร่วมกับ Werner-Schmid process พบว่าในตัวอย่างน้ำมะพร้าวที่ไม่ผ่านการกรอง (CW) มีปริมาณไขมัน 0.093% ของตัวอย่าง และพบว่าเมื่อนำ

น้ำมะพร้าวไปกรองผ่านเครื่องกรอง (FCW) ปริมาณไขมันลดลงประมาณ 50% ของน้ำมะพร้าวที่ไม่ได้ผ่านการกรอง คือมีปริมาณไขมันเพียง 0.039% ของตัวอย่าง (ดังตารางที่ 3.3)

ตารางที่ 3.3 ปริมาณไขมันในตัวอย่างน้ำมะพร้าวที่วิเคราะห์ด้วย Rose-Gottlieb process ร่วมกับ Werner-Schmid process

ตัวอย่างน้ำมะพร้าว	น้ำหนักฟลาสก์หลังอบ (กรัม)	น้ำหนักตัวอย่างน้ำมะพร้าว (กรัม)	น้ำหนักฟลาสก์ + ไขมัน(กรัม)	น้ำหนักไขมัน (กรัม)	ไขมัน(%)
1. น้ำมะพร้าวที่ไม่ผ่านการกรอง (CW)	105.96	10.05	105.97	0.009	0.093
2. น้ำมะพร้าวที่ผ่านการกรอง (FCW)	108.50	10.00	108.50	0.004	0.039

การวิเคราะห์หาปริมาณไขมันโดยวิธี Rose-Gottlieb process ร่วมกับ Werner-Schmid process ทำได้เพียงครั้งเดียว และเนื่องจากภาควิชาฟิสิกส์ไม่มีเครื่อง Rotary Vacuum Evaporator จึงมีความจำเป็นต้องส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Bligth and Dry ที่ศูนย์พัฒนาเกษตรเพื่อการส่งออก (ADCET) ที่คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ผลการวิเคราะห์ได้แสดงในตารางที่ 3.4 จากผลการศึกษาทั้ง 2 วิธี จะเห็นว่า วิธีแรกคือวิธี Rose-Gottlieb process ร่วมกับ Werner-Schmid process ให้ผลที่ละเอียดกว่า

ตารางที่ 3.4 ปริมาณไขมันในน้ำมะพร้าวที่วิเคราะห์โดยเทคนิค Blight and dyer

ตัวอย่างน้ำมพร้าว	ปริมาณไขมัน(%)
1. น้ำมะพร้าวที่ไม่ผ่านการกรอง	0.00
2. น้ำมะพร้าวที่ไม่ผ่านการกรอง	0.00
3. น้ำมะพร้าวที่ผ่านการกรอง	0.01
4. น้ำมะพร้าวที่ผ่านการกรอง	0.00

จากการศึกษาปริมาณไขมันในน้ำมะพร้าวสดและในน้ำมะพร้าวที่ผ่านการกรองด้วยระบบกรองแบบ MF พบว่าการกรองช่วยให้ไขมันในน้ำมะพร้าวลดลง แต่ยังมีเชื้อปะปนออกมาดังรายละเอียดในตารางที่ 3.5 ในระยะต่อมาจึงได้แก้ไขการติดเชื้อในน้ำมะพร้าวโดยการต้มน้ำมะพร้าวให้เดือดก่อนนำไปใช้เป็นน้ำเลี้ยงเชื้อ ในการนี้คาดว่าจุลินทรีย์จะตายหมด จึงไม่ได้ใช้ระบบกรอง MF อีกต่อไป

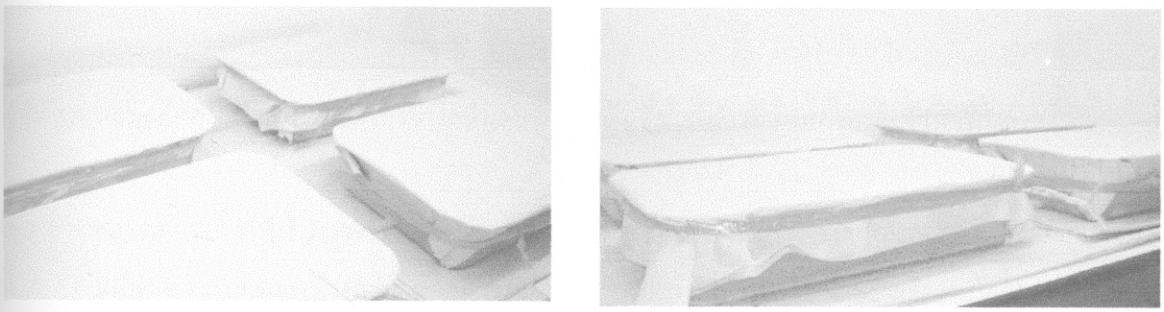
ตารางที่ 3.5 ขนาดแบคทีเรียที่พบในน้ำมะพร้าวที่ผ่านการกรอง โดยทียบขนาดกับ Ocular micrometer จากกล้องจุลทรรศน์ชนิด Compound microscope (Olympus รุ่น CH-2) ที่กำลังขยาย 100X

เซลล์แบคทีเรีย	ความกว้าง (mm)	ความยาว (mm)
1	1	1.5
2	1	2.0
3	0.5	2.0
4	0.5	2.0
5	0.8	1.5
6	0.5	1.0
7	0.5	2.0
8	0.5	1.5
9	1	1.5
10	0.8	1.0
11	0.5	1.0
12	0.1	2.0
13	1	2.0
14	0.5	1.5
15	0.5	1.0
16	0.5	2.0
17	0.8	1.5
18	0.5	1.0
19	1	2.0
20	0.5	1.5
เฉลี่ย	0.65±0.25	1.57±0.40

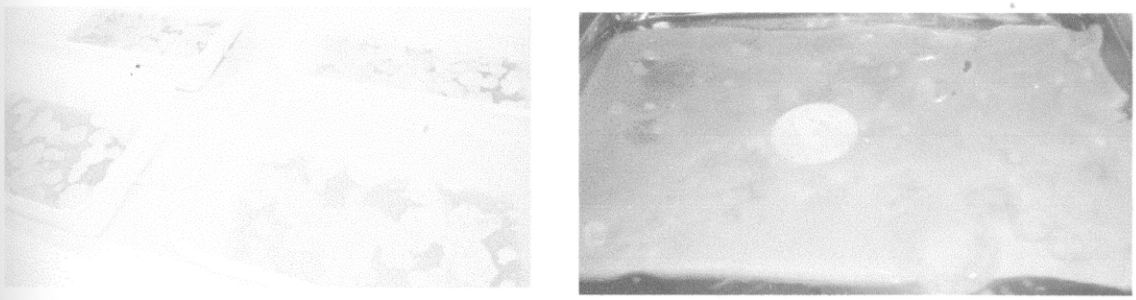
ข้อมูลในตารางที่ 3.5 แสดงให้เห็นว่า หากเยื่อกรองเซลลูโลสที่ผลิตได้มีขนาดรูที่เล็กกว่า 0.5 ไมครอน น่าจะใช้เป็นเยื่อกรองจุลินทรีย์ได้ ส่วนการใช้ระบบ MF กรองสารอาหารแล้วยังพบการปนเปื้อนของแบคทีเรียนี้ คาดว่าน่าจะเกิดจากเชื้อที่ตกค้างอยู่ในระบบ อย่างไรก็ดี การที่สัมผัสกับถาดเพาะเลี้ยงอีกครั้งหลังจากปล่อยสารอาหารลงในถาดแล้ว การปิดปากภาชนะด้วยกระดาษซาลาเปา เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการปนเปื้อนข้ามถาดได้ ดังรูปที่ 3.1 นั้น จึงยังคงเปิดโอกาสให้มีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ได้ การศึกษาในลำดับต่อจากนี้ไป จึงใช้วิธีการนึ่งฆ่าเชื้อในสารอาหาร แทนการกรองด้วยระบบ MF

3.2 ทดสอบระบบที่ใช้เพาะเลี้ยงจุลินทรีย์

เนื่องจากต้องการให้ชุมชนสามารถผลิตเยื่อกรองขึ้นใช้เองโดยวิธีง่ายๆ จึงอาศัยวิธีการแบบเดียวกับเอกชนที่ผลิตวุ้นน้ำมะพร้าว ในขั้นตอนนี้จึงทดสอบการผลิตจากตู้ที่ออกแบบครั้งแรกตามรูปที่ 2.3 ว่าสามารถปลอดจากการปนเปื้อนจุลชีพอื่นๆในระหว่างการผลิตหรือไม่ และได้ศึกษาความสม่ำเสมอของการผลิต หลังจากนั้นจึงจะแก้ไขระบบให้ซับซ้อนขึ้นหากจำเป็น ซึ่งระหว่างการเพาะเลี้ยงได้พยายามลดโอกาสการปนเปื้อนของเชื้อ กล่าวคือหลังจากกรองสารอาหารด้วยระบบ MF แล้ว หลังจากปล่อยสารอาหารลงสู่ถาดในตู้ที่ฆ่าเชื้อโรคด้วยแสง UV และแอลกอฮอล์แล้ว ได้ปิดทุกถาดด้วยกระดาษซาลาเปาที่อบฆ่าเชื้อแล้วดังรูปที่ 3.1 อย่างไรก็ดี หลังจากได้เก็บเกี่ยวผลผลิต พบว่ายังมีการปนเปื้อนของจุลชีพ ดังรูปที่ 3.2



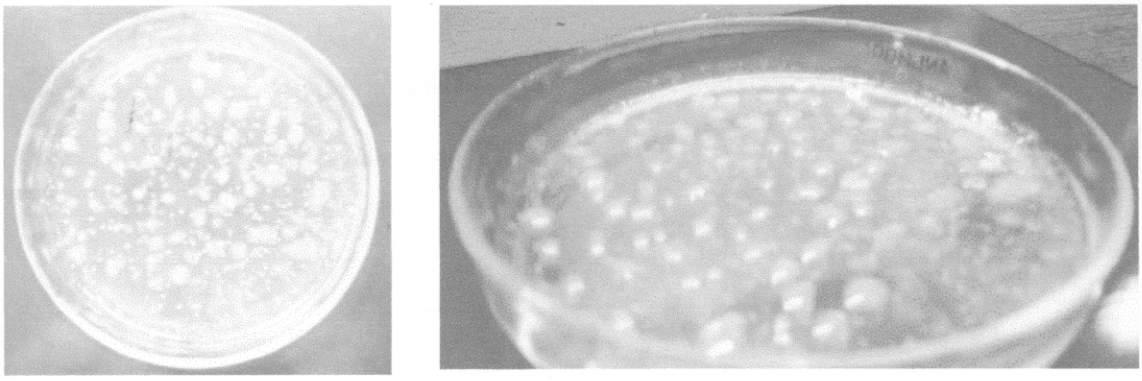
รูปที่ 3.1 การจัดวางถาดในการผลิตแผ่นเยื่อกรองขนาด 21 X 35 เซนติเมตร และการปิดถาดด้วย กระดาษซาลาเปาที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว



รูปที่ 3.2 การปนเปื้อนของเชื้ออื่น ในการผลิตแผ่นเยื่อกรองจากน้ำมะพร้าวที่ผ่านการกรองด้วยเครื่องกรอง MF

ในขั้นต้น จึงได้ทำการแยกเชื้อที่พบในน้ำมะพร้าวที่ผ่านการกรองด้วยระบบ MF พบว่าที่ความเข้มข้นเซลล์ระดับต่ำๆ (เช่น 1X 10^{-5} และ 1X 10^{-6} เซลล์ต่อลูกบาศก์เซนติเมตร) เชื้อมีโคโลนีใหญ่ขึ้น และพบว่าโคโลนีที่อยู่บนผิวหน้าของอาหารจะมีขนาดใหญ่ (ระหว่าง 0.5-1.2 เซนติเมตร) และมีลักษณะเป็นโคโลนีแบบเยิ้ม ดังรูปที่ 3.3 แสดงว่าการกรองสารอาหารด้วยระบบ MF ก่อนนำไปเพาะเลี้ยงเซลล์ ยังไม่

สามารถกำจัดเชื้อโรคได้หมด จึงน่าจะต้องฆ่าเชื้อโดยตรงด้วยวิธีใช้ความร้อน เนื่องจากหากจะใช้การกรองด้วยระบบอัลตรา เพิ่มเข้ามาโดยต่ออนุกรมกัน จะทำให้ระบบเพาะเลี้ยงมีราคาสูง อาจไม่เหมาะต่อการผลิตในระดับชุมชน

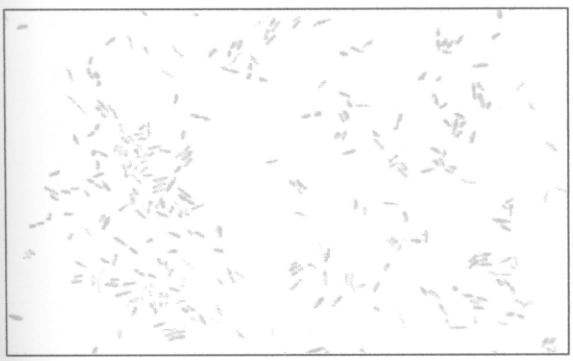


รูปที่ 3.3 ลักษณะโคโลนีและการเยิ้มของโคโลนีของเชื้อที่พบในน้ำมะพร้าวที่ผ่านการกรองด้วยเครื่องกรอง MF

3.3 การตรวจเชื้อในน้ำมะพร้าวหลังการกรองด้วยระบบ MF โดยวิธีการย้อมแกรมแบคทีเรีย

ได้ศึกษาชนิดของจุลินทรีย์ ด้วยการย้อมแกรมแบคทีเรียที่พบในน้ำมะพร้าวหลังการกรองด้วยระบบ MF ที่มีรูขนาด 0.3 ไมครอน พบว่าเป็นแบคทีเรียแกรมลบ (ติดสีแดงของ Sarfanin) มีรูปร่างแบบแท่ง (ดังรูปที่ 3.4)

จากการวัดขนาดของจุลินทรีย์ที่พบในน้ำมะพร้าวทีผ่านการกรองด้วยเครื่องกรองน้ำ โดยวิธีการเทียบขนาดของ Ocular and Stage micrometer ที่กำลังขยาย 100X ของกล้องจุลทรรศน์ชนิด Compound microscope (Olympus รุ่น CH-2) พบว่า 1 ช่องของ Ocular micrometer มีค่าเท่ากับ 0.001 มิลลิเมตร (48 ช่องของ Ocular micrometer เท่ากับ 5 ช่องของ Stage micrometer) ตารางที่ 1 แสดงขนาดของแบคทีเรียช่วง กว้างxยาว 0.5-1.0 X 1.0-2.0 ไมโครเมตร



รูปที่ 3.4 ลักษณะรูปร่างและการติดสีแดงของ Sarfanin แบคทีเรียที่พบในน้ำมะพร้าวที่กำลังขยาย 100X ของกล้องจุลทรรศน์แบบประกอบ (Olympus รุ่น CH-2)

3.4 มวลเปียกและมวลแห้งของเยื่อกรองเซลลูโลส

จากการใช้สูตรอาหารแบบ SHB และ CCB ได้เปรียบเทียบผลผลิตที่ได้เมื่อเทียบกับเวลาการผลิตที่เท่ากันคือ 3 วัน พบว่าเซลลูโลสที่ผลิตจากสูตรน้ำมะพร้าว CE(CCB) มีมวลและความหนาทั้งขณะเปียกและขณะแห้งประมาณ 2 เท่าของเซลลูโลสที่ผลิตจากอาหารเพาะเลี้ยงสูตรมาตรฐาน CE(SHB) ดังข้อมูลที่แสดงในตารางที่ 3.6

ตารางที่ 3.6 เปรียบเทียบมวลและความหนาขณะเปียกและแห้งของเซลลูโลส ที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารเพาะเลี้ยงสูตร SHB และ CCB ในถาดขนาด 60x120 cm^2

รายการที่ศึกษา	เยื่อกรอง CE(SHB)	เยื่อกรอง CE(CCB)
น้ำหนักเปียก (g)	9.34 $\pm$ 0.08	15.17 $\pm$ 0.32
น้ำหนักแห้ง (g)	0.06 $\pm$ 0.01	0.11 $\pm$ 0.01
ความหนาขณะเปียก (mm)	1.28 $\pm$ 0.02	2.41 $\pm$ 0.05
ความหนาขณะแห้ง (mm)	0.09 $\pm$ 0.01	0.15 $\pm$ 0.03

3.5 ปริมาตรที่เหมาะสมของอาหารเพาะเลี้ยงสูตรน้ำมะพร้าวต่อการผลิตเยื่อกรองเซลลูโลส

ในการผลิตเยื่อกรองเซลลูโลส ได้ทดลองเหนี่ยวนำเซลล์ *Acetobacter xylinum* TISTR No.975 ด้วยไฟฟ้าก่อนการเพาะเลี้ยง ตามวิธีการของสาฟิตรี (สาฟิตรี,2548) แต่ใช้สูตร CCB แทน ในการทดลองนี้ใช้เซลล์ปริมาตร 25 มิลลิลิตร หนาแน่น 1x 10^6 Cell/ml เพาะเลี้ยงในจานเพาะเลี้ยงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร ลึก 1.5 เซนติเมตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 วัน พบว่าอาหารในจานเพาะเลี้ยงแห้งพอดี จึงได้ศึกษาว่าหากเพิ่มปริมาณต่อจานเพาะเลี้ยงเป็น 30 และ 40 มิลลิลิตร โดยที่ความหนาแน่นของเซลล์คงเดิมคือ 1x 10^6 Cell/ml โดยบันทึกมวลและความหนาของเยื่อเซลลูโลสทั้งขณะเปียกและขณะแห้ง โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ ๆละ 5 ชุดการทดลอง ผลการทดลองในตารางที่ 3.7 ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ปริมาตรสูตรอาหารที่เพิ่มขึ้นไม่มีผลต่อมวลเปียกและมวลแห้งมากนัก มวลที่ลดลงเล็กน้อยหลังการเพิ่มปริมาตรอาหาร อาจเกิดจากเซลล์ที่มีจำนวนมากขึ้นต้องแย่งชิงการใช้แสงและออกซิเจนบนพื้นที่ผิวที่จำกัดเท่ากัน ส่งผลให้เซลล์เกิดภาวะการแข่งขันแย่งชิงแสงและออกซิเจน ทำให้การผลิตเซลลูโลสไม่เต็มที่เมื่อเทียบกับการใช้อาหารที่มีปริมาตรน้อยกว่า การทดลองนี้สรุปว่า การใช้เซลล์ปริมาตร 25 ml/plate ความหนาแน่น 1x 10^6 Cell/ml เหมาะสมสำหรับการผลิตเซลลูโลส นอกจากนี้ยังเป็นการผลิตที่ประหยัดค่าใช้จ่ายและพลังงานในการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงอีกด้วย

ตารางที่ 3.7 เปรียบเทียบค่ามวลและความหนาทั้งขณะเปียกและขณะแห้งของเยื่อเซลลูโลสที่ผลิตได้จาก *Axytobacter xylinum* TISTR No.975 ในสูตรอาหาร CCB ที่ปริมาตรต่างๆ

รายการที่ศึกษา	ปริมาตรอาหาร (ml/plate)		
	25	30	40
มวลเปียก (g)	15.17 ± 0.32	16.51 ± 0.84	17.96 ± 0.11
มวลแห้ง (g)	0.11 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.12 ± 0.01
ความหนาขณะเปียก (mm)	2.43 ± 0.02	2.34 ± 0.04	2.12 ± 0.08
ความหนาขณะแห้ง (mm)	0.16 ± 0.02	0.15 ± 0.04	0.15 ± 0.02

3.6 การศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการการเหนี่ยวนำเซลล์ด้วยไฟฟ้ากระแสสลับ

เนื่องจากห้องวิจัยนี้พบว่า *Acetobacter xylinum* TISTR No.975 เมื่อถูกเหนี่ยวนำด้วยไฟฟ้ากระแสสลับที่ความถี่ 80 kHz แอมปลิจูด 6Vpp เป็นเวลา 7 นาที แล้วนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงที่มีค่า pH 4 เป็นเวลา 3วัน จะทำให้แบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* TISTR No.975 เพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว [9] และแผ่นเซลลูโลสที่ได้มีรูพรุนเพิ่มขึ้นโดยใช้อาหารเหลวสูตร SHB ซึ่งประกอบด้วย Sucrose 4%(w/v), Peptone 0.5% (w/v), Yeast extract 0.5%(w/v), Citric acid 0.0115%(w/v) และ Na_2HPO_4 0.033%(w/v) ละลายในน้ำกลั่น แต่งานวิจัยนี้ต้องการเพิ่มมูลค่าน้ำมะพร้าวซึ่งเป็นผลผลิตเหลือทิ้งทางเกษตร จึงได้ทำการศึกษาผลจากการเหนี่ยวนำเซลล์ที่เวลาต่างๆ กันอีกครั้งหนึ่ง ดังนี้

นำ *Acetobacter xylinum* TISTR No. 975 ที่เพาะเลี้ยงไว้ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวเป็นเวลา 3 วัน และได้นับจำนวนเซลล์เริ่มต้นแล้วใส่ลงไปในชุดเหนี่ยวนำเซลล์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร (โดยวิธี Aseptic technique) เหนี่ยวนำเซลล์โดยให้ความถี่ 80 kHz แอมปลิจูด 6 Vpp เป็นเวลา 3, 5, 7 และ 10 นาที ตรวจสอบความถูกต้องของความถี่และแอมปลิจูดด้วยจอภาพของเครื่อง Osilloscope

ตารางที่ 3.8 แสดงมวล (ก) และความหนา (ข) ของเซลลูโลสขณะเปียกและขณะแห้ง พบว่าการเหนี่ยวนำเซลล์ที่ความถี่ 80 kHz แอมปลิจูด 6 Vpp นาน 7 นาที น่าจะเป็นเวลาที่เหมาะที่สุด เนื่องจากเซลลูโลสที่ได้มีน้ำหนักและความหนามากที่สุด และค่อนข้างคงที่เนื่องจากมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับการเหนี่ยวนำเซลล์ที่เวลาอื่นๆ

ตารางที่ 3.8 ผลการผลิตเซลลูโลสหลังจากเหนี่ยวนำเซลล์ด้วยไฟฟ้ากระแสสลับที่ความถี่ 80 kHz , 6Vpp ในช่วงเวลาต่างๆ ใช้อาหารเพาะเลี้ยงปริมาตร 25 มิลลิลิตรต่อจานเพาะเลี้ยง ความหนาแน่นของเซลล์ $1x10^6$ cell/ml

(ก) เปรียบเทียบมวล

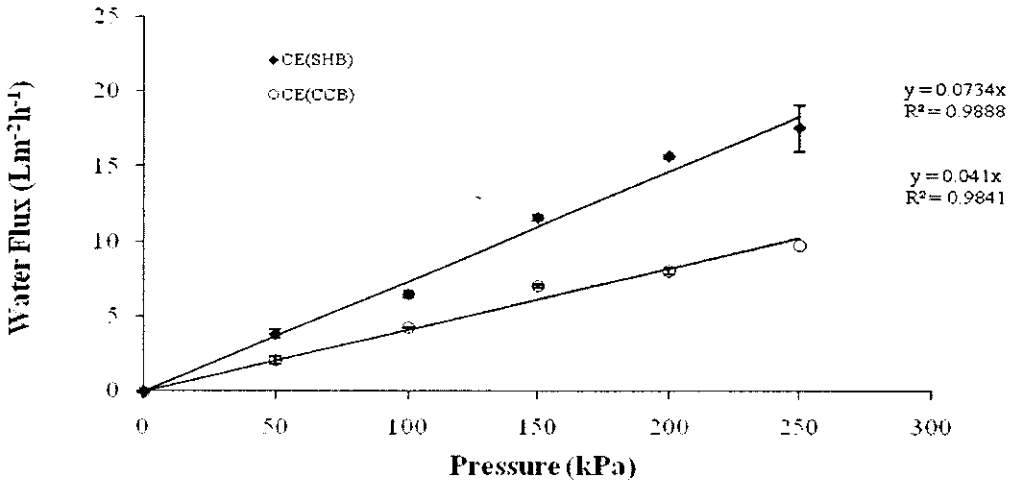
เวลาในการเหนี่ยวนำเซลล์ (min)	มวลของเซลลูโลส (g)	
	มวลเปียก	มวลแห้ง
0	15.17 ± 0.32	0.11 ± 0.01
3	16.21 ± 0.96	0.12 ± 0.01
5	16.81 ± 0.59	0.11 ± 0.01
7	17.84 ± 0.40	0.13 ± 0.02
10	15.95 ± 0.95	0.13 ± 0.02

(ข) เปรียบเทียบความหนา

เวลาในการเหนี่ยวนำเซลล์ (min)	ความหนาของเยื่อเซลลูโลส (mm)	
	เยื่อเปียก	เยื่อแห้ง
0	2.43 ± 0.02	0.16 ± 0.02
3	2.22 ± 0.01	0.15 ± 0.00
5	2.09 ± 0.08	0.13 ± 0.01
7	2.42 ± 0.03	0.18 ± 0.01
10	2.04 ± 0.03	0.14 ± 0.02

3.7 ฟลักซ์น้ำผ่านเยื่อกรองเซลลูโลสที่เตรียมจาก *Acetobacter xylinum* TISTR No. 975

รูปที่ 3.5 แสดงเพอมิเอทฟลักซ์ของน้ำผ่านเยื่อกรองเซลลูโลส โดยเปรียบเทียบระหว่างเยื่อกรอง CE(SHB) และ CE(CCB) จะเห็นว่าเยื่อกรองที่ผลิตจากอาหารสูตร SHB ให้ค่าเพอมิเอทฟลักซ์ของน้ำกลั่นสูงกว่าในทุกๆค่าความดันที่ใช้ แสดงว่าเยื่อกรอง CE(SHB) น่าจะมีพื้นที่รูพรุนมากกว่า ส่วนขนาดรูน่าจะประมาณ 0.1 ไมครอน ตามที่สาฟีตรี [7] และปริศนา [9] ได้รายงานไว้แล้ว อย่างไรก็ดีความหนาของเยื่อ CE(CCB) ที่มากกว่านั้นมีส่วนทำให้เกรเดียนท์ความดัน ($\Delta P/\Delta X$) มีค่าลดลงกว่าด้วย จึงเป็นเหตุผลอธิบายค่าฟลักซ์น้ำที่น้อยกว่าด้วย (ดูสมการ 2 ในข้อ 2.13)

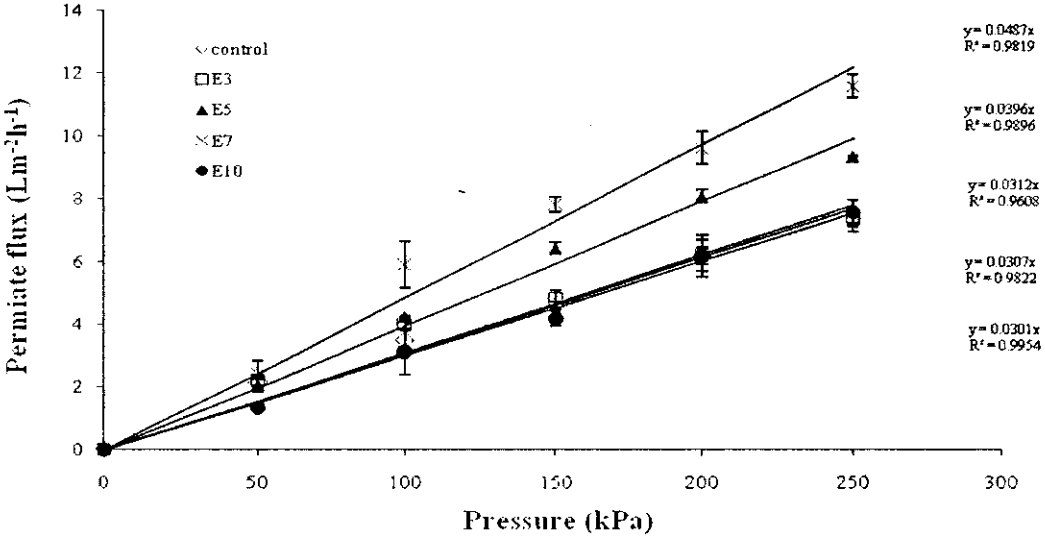


รูปที่ 3.5 เปรียบเทียบเพอมิเอทฟลักซ์ของน้ำกลั่นผ่านเมมเบรน CE(SHB) และ CE(CCB)

เมื่อเปรียบเทียบเพอมิเอทฟลักซ์ของน้ำผ่านเยื่อกรองเซลลูโลสที่ผลิตจากเซลล์หลังการเหนี่ยวนำด้วยไฟฟ้ากับชุดควบคุม (เซลล์ไม่ถูกเหนี่ยวนำเซลล์ด้วยไฟฟ้า) กราฟในรูปที่ 3.6 แสดงให้เห็นว่าเพอมิเอทฟลักซ์ของน้ำที่ผ่านเยื่อกรองเซลลูโลสชุดเหนี่ยวนำเป็นเวลา 3 นาที และ 10 นาที มีค่าใกล้เคียงกับชุดควบคุมมาก ส่วนเพอมิเอทฟลักซ์ของเยื่อกรองชุดเหนี่ยวนำนาน 7 นาที มีแนวโน้มให้ค่าสูงสุด การทดลองนี้จึงสรุปว่าการเหนี่ยวนำเซลล์ด้วยสัญญาณไฟฟ้าที่ความถี่ 80 kHz แอมปลิจูด 6 Vpp นาน 7 นาที เป็นช่วงที่เหมาะสม ซึ่งน่าจะให้ความพรุนดีขึ้นกว่าชุดควบคุมและยังให้มวลเซลลูโลสมากที่สุดด้วย (ดูตารางที่ 3.8) ซึ่งมวลที่สูงขึ้นนี้แม้จะไม่มากนัก แสดงให้เห็นว่าสัญญาณไฟฟ้ามีผลต่อการผลิตเซลลูโลสของจุลินทรีย์ในระดับหนึ่ง

ตารางที่ 3.9 แสดงค่าสัมประสิทธิ์การนำน้ำ (L_p) ของเยื่อกรองเซลลูโลสที่ผลิตภายใต้เงื่อนไขต่างๆ

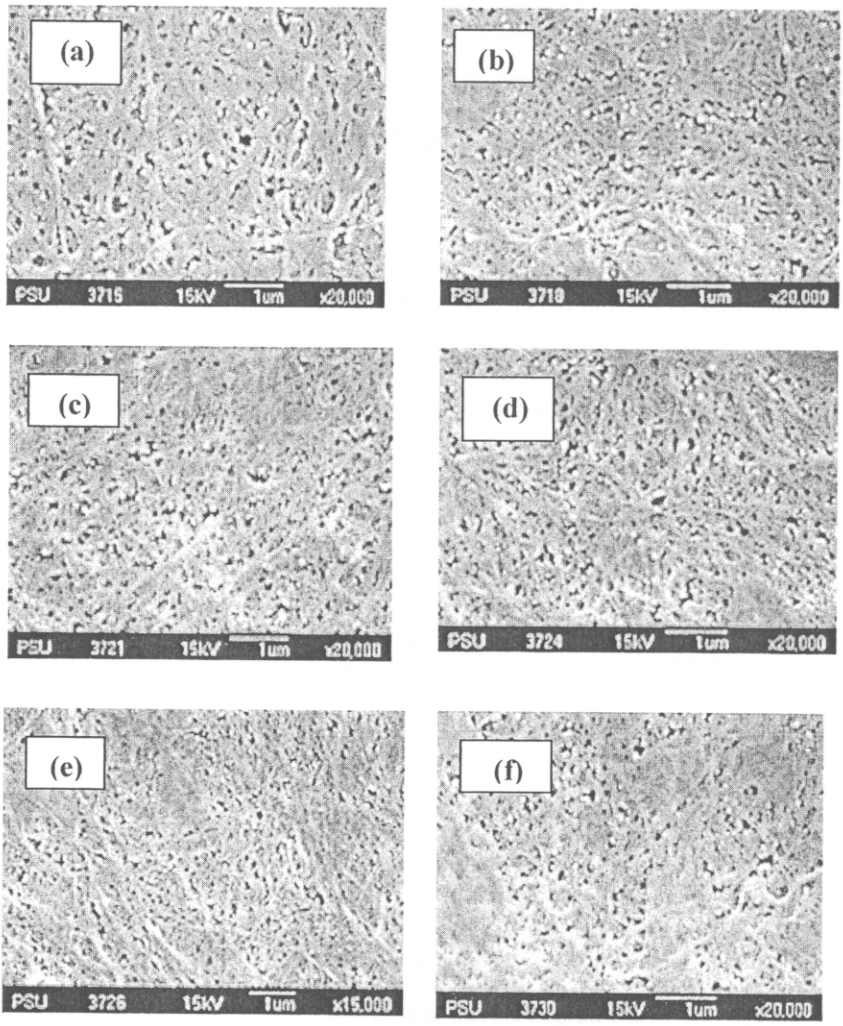
ชนิดของเยื่อกรองเซลลูโลส	L_p ($m^3N^{-1}s^{-1}$)
C-SHB	20.41×10^{-12}
C-CCB	8.59×10^{-12}
CE(CCB) : เหนี่ยวนำ 3 นาที เรียก CE(CCB):E3	8.67×10^{-12}
CE(CCB) : เหนี่ยวนำ 5 นาที เรียก CE(CCB):E5	11.01×10^{-12}
CE(CCB) : เหนี่ยวนำ 7 นาที เรียก CE(CCB):E7	13.54×10^{-12}
CE(CCB) : เหนี่ยวนำ 10 นาที เรียก CE(CCB):E10	$8.37\ 10^{-12}$



รูปที่ 3.6 แสดงเพอมิเอทฟลักซ์ของน้ำผ่านเยื่อกรองเซลลูโลส CE(CCB) ภายหลังที่เซลล์ถูกเหนี่ยวนำด้วยไฟฟ้าที่ความถี่ 80 kHz, 6 Vpp ที่เวลาต่างๆ กัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

3.8 การศึกษาพื้นผิวหน้าของเยื่กรองเซลลูโลสจากภาพถ่าย SEM

การศึกษาขนาดรูและความพรุนของเยื่อกรองเซลลูโลสโดยการถ่ายภาพจาก SEM (ณ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์) ของเยื่อกรองเซลลูโลสทุกชนิดที่ผลิต คือเยื่อกรอง CE(SHB) , CE(CCB), CE(CCB):E3, CE(CCB):E5, CE(CCB):E7, และ CE(CCB):E10 ดังรูปที่ 3.7 (a-f) เปรียบเทียบระหว่างชุดควบคุม จะเห็นได้ว่าเยื่อกรองเซลลูโลสชนิด CE(SHB) มีขนาดของรูพรุนโดยรวมใหญ่กว่าของเยื่อกรองเซลลูโลสชนิด CE(CCB) (เปรียบเทียบรูปที่ 3.7 a กับ 3.7 b) เมื่อพิจารณาจากภาพถ่าย SEM ของเยื่อกรองเซลลูโลส ชุด CE(CCB):E3 ถึง CE(CCB):E10 ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยไฟฟ้าระดับต่างๆ พบว่าเยื่อกรองที่ได้มีการกระจายของรูแตกต่างกัน และเยื่อกรองที่เหนี่ยวนำด้วยไฟฟ้า มีสารอื่นเคลือบอยู่ที่ผิวบน ซึ่งน่าจะส่งผลต่อจำนวนพื้นที่รูให้น้ำผ่าน และทำให้มีค่าลดลง



รูปที่ 3.7 ภาพ SEM ของเซลลูโลสเมมเบรนที่ผลิตผลิตโดย Acetobacter xylinum TISTR No.975 ภายใต้เงื่อนไขต่างๆ ดังนี้

(a), และ (b) คือ CE(SHB) และ CE(CCB) ชุดควบคุม กำลังขยาย 20,000 เท่า

(c), (d), (e), และ (f) คือ CE(CCB):E3, CE(CCB):E5, CE(CCB):E7 และ CE(CCB):E10 ตามลำดับ

3.9 ความทนต่อกรด-ด่างของเยื่อกรองเซลลูโลส

การศึกษาผลของความทนกรด-ด่างของเยื่อกรอง CE(SHB) และ CE(CCB) ทำโดยการตัดเยื่อกรองขนาด 1 x 1 เซนติเมตร จำนวน 30 ชิ้น แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 นำไปแช่ในน้ำกลั่นจำนวน 10 ชิ้น กลุ่มที่ 2 แช่ในสารละลาย HCl pH 4 จำนวน 10 ชิ้น และกลุ่มที่ 3 แช่ในสารละลาย NaOH pH 10 จำนวน 10 ชิ้น ได้บันทึกมวลแห้งก่อนนำไปแช่ในสารดังกล่าว หลังการแช่ได้นาน 120 ชั่วโมง (5 วัน) ได้ซับน้ำที่ผิวเยื่อกรองด้วยกระดาษกรองที่สะอาดก่อนนำไปชั่งหามวล แล้วนำมวลที่ได้มาหักลบกับมวลเริ่มต้น ผลการทดลองได้แสดงในตารางที่ 3.10 (a), (b) และ (c) จากข้อมูลสามารถสรุปได้ว่า เยื่อกรองเซลลูโลสทั้งสองชนิดมีมวลไม่เปลี่ยนแปลง สามารถทนต่อกรด HCl pH 4 และด่าง NaOH pH 10 นาน ได้ถึง 120 ชั่วโมง อีกนัยหนึ่งคือ เยื่อชนิดนี้สามารถนำไปกรองสารละลายที่มี pH ช่วง 4-10 ได้ติดต่อกันนานถึง 5 วัน โดยไม่มีผลกระทบต่อมวลของเยื่อ

ตารางที่ 3.10 เปรียบเทียบมวลของเมมเบรนก่อนและหลังการแช่ในกรดและด่าง

(a) เยื่อกรองชนิด CE(SHB)

เงื่อนไขที่ทำการศึกษา	มวลของเยื่อกรองเซลลูโลส CE(SHB) (mg)		
	Control	HCl	NaOH
น้ำหนักแห้ง	2.0 ± 0.1	2.0 ± 0.2	2.0 ± 0.2
น้ำหนักหลังแช่ 30นาที	4.8 ± 0.3	4.9 ± 0.2	5.0 ± 0.4
น้ำหนักหลังแช่ 5 วัน	4.9 ±0.3	5.0 ±0.3	5.1 ± 0.3

(b) เยื่อกรองชนิด CE(CCB)

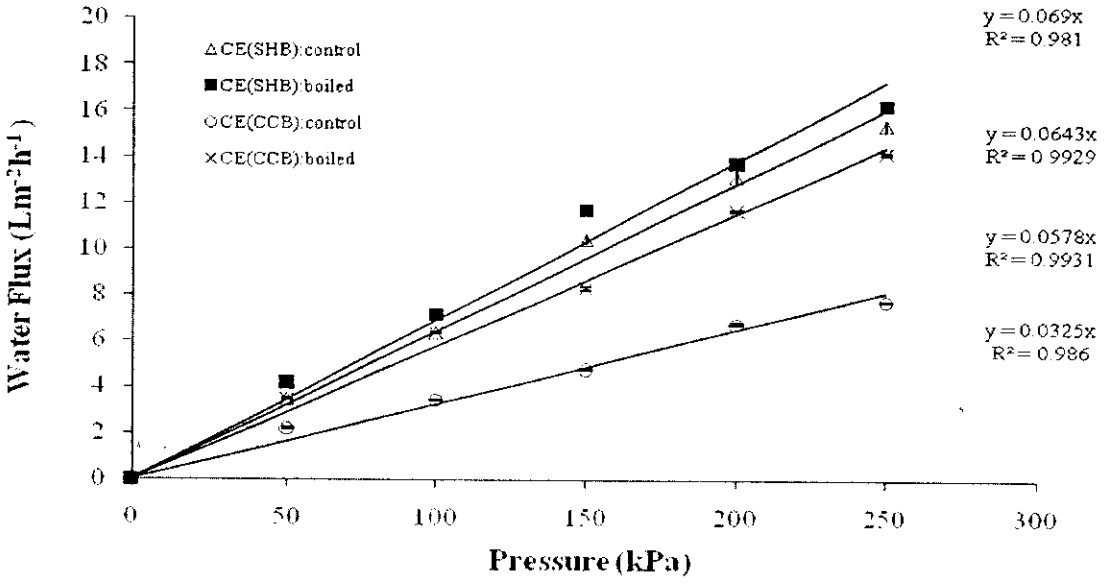
เงื่อนไขที่ทำการศึกษา	มวลของเยื่อกรองเซลลูโลส CE(CCB) (mg)		
	Control	HCl	NaOH
น้ำหนักแห้ง	2.7 ± 0.2	2.7 ±0.2	2.6 ± 0.2
น้ำหนักหลังแช่ 30นาที	5.4 ± 0.2	5.4 ±0.2	5.6 ± 0.3
น้ำหนักหลังแช่ 5 วัน	5.6 ± 0.2	5.5 ±0.3	5.7 ± 0.5

(c) เปรียบเทียบมวลของเยื่อกรองทั้งสองชนิดหลังการแช่ในกรด และด่างนาน 5 วัน

สารละลาย	มวลของเมมเบรน (mg)			
	CE(SHB)		CE(CCB)	
	แช่น้ำ 30 min	แช่สารละลาย 120 h	แช่น้ำ 30 min	หลังแช่ 120 h
น้ำกลั่น	5	5	5	6
HCl pH 4	5	5	5	5
NaOH pH 10	5	5	6	6

3.10 การกำจัดสารตกค้างบนเยื่อกรองโดยการต้ม

เมื่อต้มเยื่อกรอง CE(SHB) และ CE(CCB) ในน้ำเดือดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำไปทดสอบการกรองเพื่อหาค่าเพอร์มิเอทฟลักซ์ พบว่าค่าเพอร์มิเอทฟลักซ์ของเยื่อกรอง CE(SHB) มีค่าสูงขึ้น 1.07 เท่า และของเยื่อกรองชนิด CE(CCB) มีค่าสูงขึ้น 1.78 เท่า ดังรูปที่ 3.8 ส่งผลให้ค่าประสิทธิ์การนำน้ำ L_p เปลี่ยนแปลงด้วย ดังแสดงในตารางที่ 3.11 แสดงว่าการต้มช่วยกำจัดสิ่งตกค้างที่ผิวได้ระดับหนึ่ง ซึ่งเห็นผลได้ชัดเจนในเยื่อ CE(CCB) ซึ่งชี้ให้เห็นว่าไขมันที่ปนอยู่ในอาหารเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์สูตร CCB มีส่วนทำให้ฟลักซ์น้ำในผลการทดลองรูปที่ 3.5 มีค่าน้อย นอกจากนี้ยังแสดงให้เห็นว่าการต้มในน้ำเดือดไม่ทำลายเยื่อกรอง หรือกล่าวอีกนัยหนึ่ง คือเยื่อกรองชนิดนี้สามารถนำไปใช้งานได้ที่อุณหภูมิสูงถึง 100° C



รูปที่ 3.8 เปรียบเทียบเพอมิเอทฟลักซ์ของน้ำกลั่นผ่าน CE(SHB) และ CE(CCB) ที่ผ่านการต้มในน้ำเดือดนาน 1 ชั่วโมง

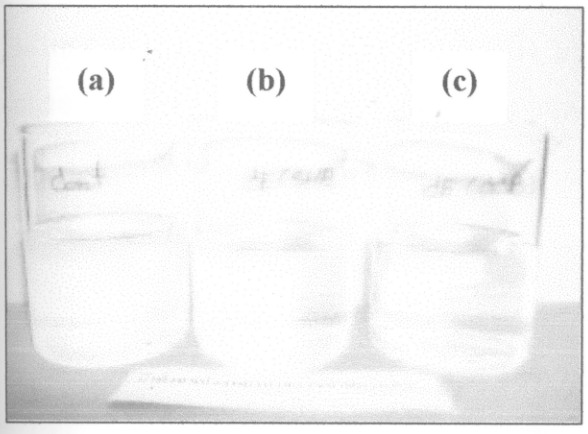
ตารางที่ 3.11 สัมประสิทธิ์การนำน้ำ (L_p) ของเยื่อกรองเซลลูโลสภายหลังผ่านการต้มในน้ำเดือดนาน 1 ชั่วโมง

ชนิดของเยื่อกรองเซลลูโลส	L_p ($m^3N^{-1}s^{-1}$)
CE(SHB) : Control	17.88×10^{-12}
CE(SHB) : Boiled 1 h	19.18×10^{-12}
CE(CCB) : Control	9.04×10^{-12}
CE(CCB) :Boiled 1 h	16.07×10^{-12}

3.11 ทดสอบการกรองน้ำทิ้งจากโรงพยาบาล

จากการทดสอบการกรองตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ ที่บริเวณบ่อน้ำทิ้ง(บ่อแรก) หลังโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ แล้วนำมาทดลองกรอง ด้วยเยื่อกรองเซลลูโลส 2 ชนิด คือ CE-SHB และ CE-CCB ด้วยเครื่องกรองแบบปิดตาย (Micro Filtration : MF) ที่ความดัน 250 kPa พบว่าน้ำทิ้งจากโรงพยาบาลที่ผ่านการกรองด้วยเยื่อกรองทั้งสองชนิดมีความใสขึ้นมากเมื่อเทียบกับลักษณะของน้ำทิ้งที่ยังไม่ผ่านการกรอง แต่เมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างน้ำทิ้งที่ผ่านการกรองทั้งสองชุดแล้ว พบว่าลักษณะภายนอกของน้ำที่สังเกตุได้ด้วยตาเปล่ามีความใสไม่แตกต่างกัน ดังรูปที่ 3.9 และพบว่า CE(SHB) ให้ค่า ฟลักซ์น้ำ 30 $Lm^{-2}h^{-1}$ สูงกว่า CE(CCB) ซึ่งให้ค่าฟลักซ์ 23 $Lm^{-2}h^{-1}$

จากตารางที่ 3.12 จะเห็นว่า CE(SHB) มีประสิทธิภาพในการกักกันและทำให้คุณภาพน้ำทิ้งทางกายภาพ (สี) และทางเคมี เช่น ของแข็งแขวนลอย (SS) ของแข็งละลายน้ำทั้งหมด (TDS) ค่าความสกปรกของสารอินทรีย์ในรูป COD มีประสิทธิภาพในการกักกันร้อยละ -27.58, 80, -4.16 และ -47.69 ตามลำดับ ส่วนเยื่อกรอง CE(CCB) กรองน้ำทิ้งจากโรงพยาบาล มีประสิทธิภาพในการกักกันและทำให้คุณภาพน้ำทิ้งทางกายภาพ (สี) และทางเคมี เช่น ของแข็งแขวนลอย (SS) ของแข็งละลายน้ำทั้งหมด (TDS) ค่าความสกปรกของสารอินทรีย์ในรูป COD มีประสิทธิภาพในการกักกันร้อยละ 34.48, 90, -3.24 และ 46.46 ตามลำดับ จึงสรุปได้ว่าเยื่อกรองทั้งสองชนิดนี้สามารถกักกันสารแขวนลอยทั้งอินทรีย์ อนินทรีย์ และอนุภาคของสีได้ระดับดีถึงดีมาก และสามารถกักกันสารอินทรีย์ในรูป COD ได้ระดับหนึ่ง อย่างไรก็ดี ค่า BOD_5 ที่วิเคราะห์ในน้ำเพอมิเอท สูงกว่า น้ำเข้า น่าจะมีข้อผิดพลาด แต่ไม่สามารถกักกันสารประกอบไนโตรเจนในรูป TKN และ NH_3 ได้



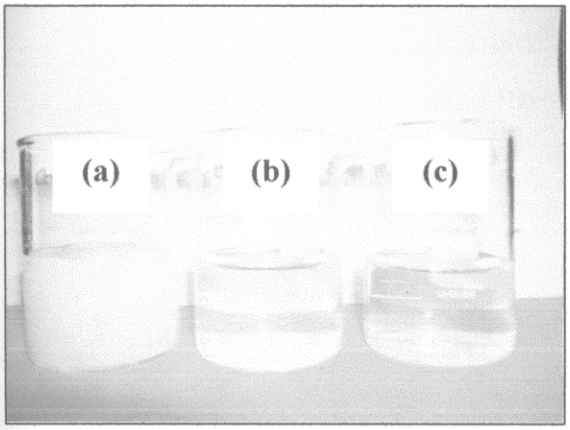
รูปที่ 3.9 ลักษณะของสีน้ำทิ้งโรงพยาบาล
(a) ตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงพยาบาล
(b) ลักษณะของน้ำที่ผ่านการกรองด้วย CE(SHB)
(c) ลักษณะของน้ำที่ผ่านการกรองด้วย CE(CCB)

ตารางที่ 3.12 ค่าของสารแขวนลอยที่อยู่ในน้ำทิ้งจากโรงพยาบาลที่ผ่านการกรองด้วย CE(SHB) และ CE(CCB) เปรียบเทียบกับที่ไม่ผ่านการกรอง

รายการที่วิเคราะห์	วิธีการวิเคราะห์	หน่วย	น้ำทิ้งจากโรงพยาบาลสงขลานครินทร์		
			ไม่ผ่านการกรอง	กรองผ่าน CE(SHB)	กรองผ่าน CE(CCB)
SS	Dried at 103-105^{0}C	mg/l	10	2	1
TDS	TDS meter	mg/l	216	225	223
COD	Photometric Method	mg/l	650	960	348
BOD_5	5-Day BOD test	mg/l	30	94.5	79
TKN	Photometric Method	mg/l	36	34	52
NH_3^+	Photometric Method	mg/l	3.45	2.67	4.34
Color	Photometric Method	HAZEN	29	37	19
Flux	กรองด้วยเครื่องกรองแบบปิดตายที่ความดัน 2500 kPa	$Lm^{-2}h^{-1}$		29.62	22.92

3.12 ทดสอบการกรองน้ำทิ้งจากโรงงานยาง

กรองน้ำทิ้งจากโรงงานยาง ในอำเภอสะเดา จังหวัดสงขลา ด้วยเยื่อกรองเซลลูโลสทั้งสองชนิด ด้วยเครื่องกรองแบบปิดตายระดับไมโคร ที่ความดัน 250 kPa พบว่าสีน้ำทิ้งจากโรงงานยางเปลี่ยนจากสีครีมขุ่นเป็นสีเหลืองอ่อนใสและมีความใสกว่าเล็กน้อยหากกรองด้วยเยื่อ CE(SHB) โดยเพอมิเอทฟลักซ์ 13 $Lm^{-2}h^{-1}$ สูงกว่าของเยื่อ CE(CCB) เล็กน้อย (10 $Lm^{-2}h^{-1}$) การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าเยื่อกรองทั้งสองชนิดสามารถกักกันสารแขวนลอยจำพวกโปรตีนได้ระดับหนึ่ง และเมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างน้ำทิ้งที่ผ่านการกรองด้วยเยื่อกรองทั้งสองชนิดจากลักษณะภายนอกด้วยตาเปล่าพบว่ามีความใสไม่แตกต่างกัน ดังรูปที่ 3.10



รูปที่ 3.10 ลักษณะของสีน้ำจากโรงงานยาง
(a) น้ำทิ้งจากโรงงานยาง
(b) ลักษณะของน้ำทิ้งที่ผ่านการกรองด้วย CE(SHB)
(c) ลักษณะของน้ำทิ้งที่ผ่านการกรองด้วย CE(CCB)

ตารางที่ 3.13 แสดงค่าของสารแขวนลอยที่อยู่ในน้ำทิ้งจากโรงงานยางที่ผ่านการกรองด้วย CE(SHB) และ CE(CCB) เปรียบเทียบกับน้ำที่ไม่ผ่านการกรอง

รายการที่วิเคราะห์	วิธีการวิเคราะห์	หน่วย	น้ำทิ้งจากโรงงานยาง		
			ไม่ผ่านการกรอง	กรองผ่าน CE(SHB)	กรองผ่าน CE(CCB)
SS	Dried at 103-105^{0}C	mg/l	233	33	40
TDS	TDS meter	mg/l	25,900	25,250	25,150
COD	Photometric Method	mg/l	45,000	33,000	12,600
BOD_5	5-Day BOD test	mg/l	13,200	9,600	9,300
TKN	Photometric Method	mg/l	28	34	25
NH_3^+	Photometric Method	mg/l	0.21	0.17	0.10
Color	Photometric Method	HAZEN	7,940	298	369
Flux	กรองด้วยเครื่องกรองแบบปิดตายที่ความดัน 2500 kPa	$Lm^{-2}h^{-1}$	-	13.39	10.56

จากตารางที่ 3.13 จะเห็นว่าข้อมูลน้ำทิ้งมีค่าความสกปรกสารอินทรีย์ในรูป COD และ BOD_5 สูงมาก หลังจากทดสอบการกรองด้วยเยื่อกรองชนิด CE(SHB) และ CE(CCB) แล้ว พบว่า เยื่อชนิดนี้มีประสิทธิภาพในการกักกันของแข็งแขวนลอย (อนุภาคเนื้อยาง) และสีได้ดีมาก กล่าวคือมีประสิทธิภาพการกักกันร้อยละ 85.83, 96.25 และ 82.83, 95.35 ตามลำดับ เนื่องด้วยลักษณะน้ำเสียของโรงงานยางที่มีสารแขวนลอยสูงและมีเนื้อยางปน ซึ่งถูกกักกันได้ด้วยเยื่อกรอง จึงส่งผลให้ค่าความสกปรกในรูป COD และ BOD_5 ลดลงอย่างชัดเจน ถึงร้อยละ 72 และ 29.54 ตามลำดับ ส่วนประสิทธิภาพในการกักกันสารประกอบไนโตรเจนในรูป TKN และ NH_3 ค่อนข้างต่ำ เนื่องจากสารประกอบกลุ่มนี้อยู่ในรูปละลายน้ำและมีขนาดโมเลกุลเล็กกว่าขนาดรูของเยื่อกรองมาก

3.13 การกรองน้ำที่มีสนิมเหล็ก

การทดสอบการกรองน้ำสนิมเหล็ก โดยเก็บตัวอย่างน้ำที่มีสนิมเหล็ก ณ ตำบลปริก อำเภอสะเดา จังหวัดสงขลา โดยทำการสุ่มตรวจตัวอย่าง 3 จุด คือ หมู่ที่ 1 (หมู่บ้านใหม่-ทุ่งศาลาดาล), หมู่ที่ 4 (หมู่บ้านตะเคียนเภา) และหมู่ที่ 9 (หมู่บ้านยางเกาะ) ในการทดลองนี้ได้ทำการตรวจวัดปริมาณสนิมเหล็กในน้ำด้วย Iron Test Kit รุ่น HI 3834 บริษัท Hanna instruments ซึ่งสามารถวัดค่าเหล็กในช่วง 0-5 ppm โดยใส่ตัวอย่างน้ำลงใน plastic vessel ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เท reagent HI 3834-0 ลงใน plastic vessel แล้วผสมให้ reagent HI 3834-0 ละลาย จากนั้นเทสารผสมลงใน color comparator cube ทิ้งไว้ 4 นาที แล้วอ่าน

ค่า จากการทดสอบพบว่าเยื่อกรองเซลลูโลสทั้งสองสูตร คือ CE(CCB) และ CE(SHB) สามารถกรองสนิมเหล็กได้ร้อยเปอร์เซ็นต์ดังผลที่แสดงในตารางที่ 3.14

ตารางที่ 3.14 แสดงค่าสนิมเหล็กในน้ำก่อนและหลังการกรอง

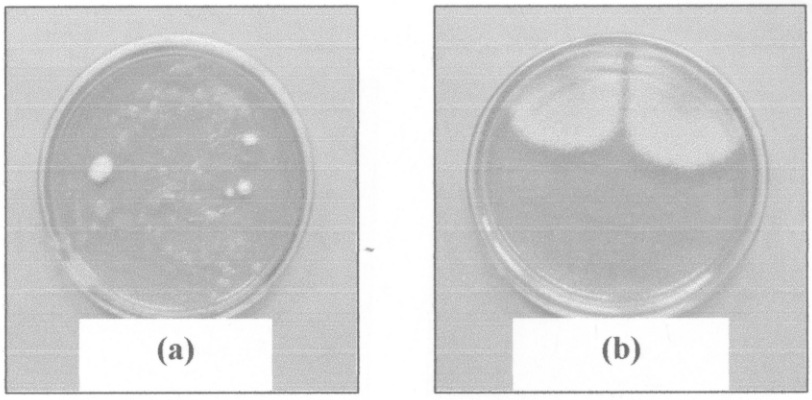
ตัวอย่างน้ำ	ค่าสนิมเหล็ก (ppm)		
	ก่อนกรอง	กรองผ่าน CE(CCB)	กรองผ่าน CE(SHB)
น้ำกลั่น	0	0	0
หมู่ที่ 1 (หมู่บ้านใหม่-ทุ่งศาลาดาล)	3-4	0	0
หมู่ที่ 4 (หมู่บ้านตะเคียนเภา)	1-2	0	0
หมู่ที่ 9 (หมู่บ้านยางเกาะ)	0.1	0	0

3.14 ทดสอบการกรองจุลินทรีย์

เนื่องจากเยื่อกรองเซลลูโลสที่ผลิตขึ้นนี้มีขนาดรูที่มีขนาดเล็กประมาณ 0.1 ไมครอนตามที่สาฟีตรีและปริศนารายงาน จึงน่าจะสามารถกรองเชื้อจุลินทรีย์ได้ จึงได้ทำการทดสอบโดยใช้น้ำเลี้ยง (อาหารเชื้อ) ที่เหลือจากการผลิตเยื่อเซลลูโลสเป็นสารป้อน เนื่องจากยังมีเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter xyliinum* TISTR No. 975 ปะปนอยู่จำนวนหนึ่ง (ความหนาแน่นเชื้อ1.2 x 10^8 cell/ml) ใช้เครื่องกรองแบบปิดตาย (รูปที่ 2.15) โดยก่อนที่จะใช้นำส่วนประกอบต่างๆของเครื่องกรองซึ่งเป็นแสตนเลสแช่น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90-95 $^{\circ}$C เป็นเวลา 15 นาที แล้วเช็ดด้วยผ้าสะอาดชุบแอลกอฮอล์ 70% นำเยื่อกรองเซลลูโลสที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (โดยการฉีดแอลกอฮอล์ 70% จนทั่วแผ่นทิ้งไว้เป็นเวลา 15 นาที) มาแช่ในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเช่นกันนาน 1 ชั่วโมงเพื่อให้ดูดซับน้ำเต็มที่ก่อนทดลอง เมื่อใส่อาหารเพาะเลี้ยงที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วลงในเครื่องกรองแล้ว ใช้ความดัน 250 kPa และนำหลอดฝาเกลียวขนาดกลางที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วมารองรับสารเพอมิเอท ทั้งนี้เพื่อทดสอบว่าเยื่อกรองเซลลูโลสแต่ละชนิดสามารถกรองเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ได้หรือไม่ นำสารที่กรองได้ไปทำการ Spread plate แล้วเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 วัน (ตามมาตรฐานการตรวจสอบ) ที่อุณหภูมิห้อง (ระหว่าง 27-30°C) ส่วนเยื่อกรองที่ใช้กรองอาหารเชื้อแล้ว ถูกนำไปวางบน PDA เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิห้องเช่นกัน ทั้งนี้เพื่อยืนยันว่ามีเชื้อดังกล่าวถูกกักกันไว้บนเยื่อกรองจริง

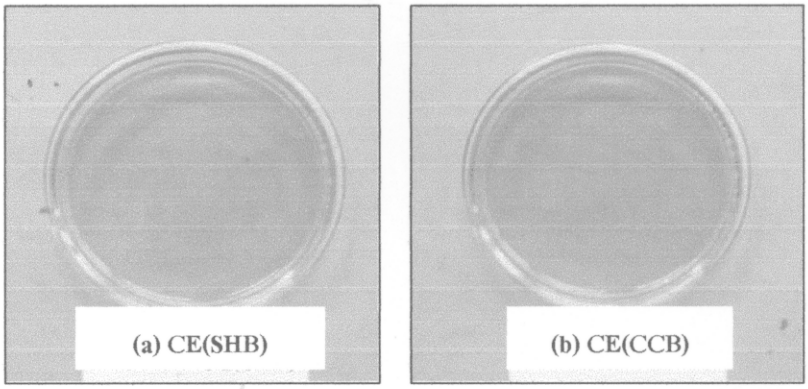
หมายเหตุ ทุกขั้นตอนดังกล่าวใช้วิธี Aseptic technique

ผลการทดสอบโดยวิธีเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์พบว่า อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อที่ไม่ได้ผ่านการกรองด้วยเยื่อเซลลูโลสมีการเจริญของแบคทีเรีย *Acetobacter xyliinum* TISTR No. 975 และเชื้อราที่มีลักษณะเส้นใยสีขาวสปอร์สีเขียว ดังรูปที่ 3.11 (a) และ (b)



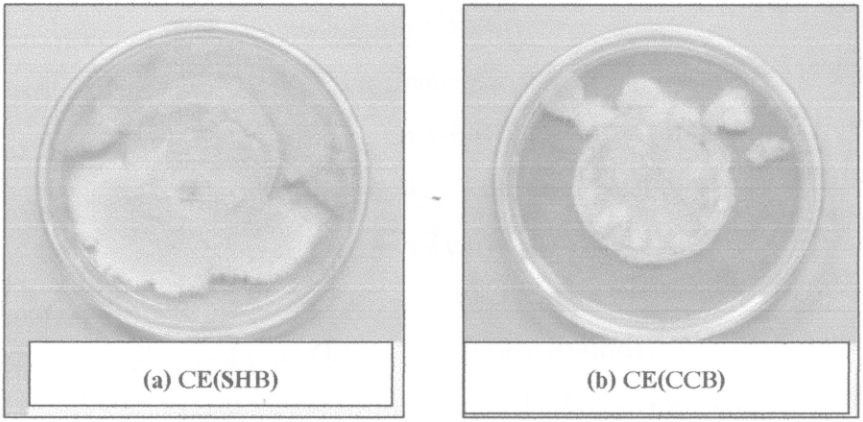
รูปที่ 3.11 ผลการตรวจจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ผ่านการกรองด้วยเยื่อกรองเซลลูโลส
(a) ลักษณะของโคโลนีของ A. xylinum และลักษณะของโคโลนีของเชื้อรา(โคโลนีใหญ่สีขาว)
(b) ลักษณะของโคโลนีของเชื้อราในรูป (a) เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงใหม่จนเจริญเต็มที่ (สร้างสปอร์สีเขียว)

ส่วนอาหารเพาะเลี้ยงที่ผ่านการกรองด้วยเยื่อเซลลูโลส CE(SHB) และ CE(CCB) ไม่พบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ใดๆ ดังรูปที่ 3.12 แสดงว่าเยื่อทั้งสองสามารถกรองเชื้อจุลินทรีย์ได้ 100%



รูปที่ 3.12 ผลการตรวจจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อหลังจากผ่านการกรองด้วยเยื่อกรอง (a) C(SHB) และ (b) C(CCB)

นอกจากนี้ได้ทำการตรวจสอบจุลินทรีย์บนเยื่อกรองเซลลูโลสที่ถูกใช้กรองอาหารเชื้อแล้ว พบว่า มีการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter xyliinum* TISTR No. 975 และเชื้อรา ที่มีลักษณะเส้นใยสีขาวสปอร์สีเขียวดังแสดงในรูปที่ 3.13 ซึ่งเป็นไปในทำนองเดียวกับผลที่พบข้างต้น (ในรูปที่ 3.11) แสดงถึงความสอดคล้องกันระหว่างผลการทดสอบทั้งสองกรณี จึงสรุปได้ว่าเยื่อกรองเซลลูโลส CE(SHB) และ CE(CCB) ที่ผลิตจากงานวิจัยนี้สามารถกรองเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราได้



รูปที่ 3.13 ผลการตรวจจุลินทรีย์บนแผ่นเยื่อกรองเซลลูโลสทั้งสองชนิดหลังการนำไปใช้กรองอาหารเชื้อ

บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง

4.1 วิธีการผลิตเซลลูโลสให้ปลอดเชื้อแบบกึ่งอัตโนมัติ

การกรองน้ำมะพร้าวที่ใช้เป็นส่วนผสมของสูตรอาหารเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ ด้วยระบบกรองแบบ MF นั้น แม้จะหลีกเลี่ยงการให้ความร้อนแก่สารอาหารก็ตาม แต่ระบบกรองจะต้องมีการดูแลให้ปลอดเชื้อด้วย มิฉะนั้น จะยังคงมีจุลชีพติดปนมากับสารอาหาร ทำให้การเพาะเลี้ยงเซลล์มีปัญหา ซึ่งส่งผลต่อความสม่ำเสมอของเยื่อเซลลูโลสในกระบวนการผลิต จึงแก้ไขโดยการต้มสารอาหารก่อนนำไปใช้ และอบฆ่าเชื้ออุปกรณ์ทุกชนิดก่อนทำการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ หลังจากสารอาหารและเชื้อเย็นตัวลงแล้ว การปล่อยสารอาหารเข้าสู่ถาดเพาะเลี้ยงด้วยท่อซิลิโคน และไม่มีการสัมผัสกับระบบเพาะเลี้ยงอีกเลย จึงจะสามารถผลิตเซลลูโลสให้ได้ผลดีตามต้องการ ระบบนี้สามารถเพาะเลี้ยงเยื่อเซลลูโลสขนาด 50x100 cm^2 ได้

จากผลการวัดขนาดจุลินทรีย์ในน้ำมะพร้าว พบว่ามีขนาดโดยเฉลี่ยไม่เล็กกว่า 0.5 ไมครอน ส่วนเยื่อเซลลูโลสมีขนาดรูไม่เกิน 0.1 ไมครอน จึงเป็นเหตุผลอธิบายผลการกรองจุลินทรีย์ได้ 100% ในผลทดลองข้อ 3.14 (รูปที่ 3.12)

4.2 เปรียบเทียบผลผลิตจากสูตรอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงจุลินทรีย์

จากการศึกษาเปรียบเทียบมวลและความหนาของเซลลูโลสที่ผลิตจากสูตรอาหารมาตรฐานที่มีและไม่มีน้ำมะพร้าวเป็นส่วนประกอบ ในหัวข้อ 3.4 พบว่าน้ำมะพร้าวช่วยเร่งการผลิตเซลลูโลส กล่าวคือ ภายใน 3 วัน ให้มวลเซลลูโลสขนาด 60x120 cm^2 เพิ่มขึ้นจาก 9.4 กรัม เป็น 15.2 กรัม และมีความหนาขณะเปียกเพิ่มขึ้นจาก 1.28 mm เป็น 2.41 mm ดังนั้น เมื่อทำให้แห้ง เยื่อเซลลูโลสที่ผลิตโดยมีน้ำมะพร้าวเป็นส่วนผสม CE(CCB) จะมีความแน่นของเส้นใยสูงกว่าจึงส่งผลให้ขนาดรูเล็กลง ทั้งนี้ใช้วิธีตรวจสอบด้วยการเปรียบเทียบสัมประสิทธิ์การนำน้ำ ในหัวข้อถัดไป

นอกจากนี้ เมื่อใช้เซลล์เพาะเลี้ยงที่ความหนาแน่น $1x10^6$ ต่อ ml พบว่าการเพิ่มปริมาตรของสูตรอาหาร ไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อมวลหรือความหนาของเซลลูโลสที่ผลิตได้ ส่วนผลการเหนี่ยวนำเซลล์ด้วยไฟฟ้าก่อนการเพาะเลี้ยง โดยใช้สูตรอาหารที่มีน้ำมะพร้าวเป็นส่วนประกอบ พบว่า การเหนี่ยวนำเซลล์นาน 7 นาที ที่แรงดันไฟฟ้า 6 V_{p-p} ให้ผลผลิตดีที่สุด แต่จากการทดลองนี้ปรากฏว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเหนี่ยวนำด้วยไฟฟ้า จึงนำไปสู่การตัดสินใจว่าการศึกษาในขั้นตอนต่อจากนั้นจึงไม่ได้ใช้วิธีเหนี่ยวนำเซลล์ด้วยไฟฟ้าก่อนการเพาะเลี้ยง ความแตกต่างเกี่ยวกับการเหนี่ยวนำด้วยไฟฟ้าระหว่างผลจากงานวิจัยนี้กับงานวิจัยที่ผ่านมาของสาฟีตรี [9] และปริศนา [7] น่าจะเกิดจากสารอาหารที่ใช้ในงานวิจัยนี้แตกต่างกันนั่นเอง ซึ่งจะต้องทำการศึกษาหาเงื่อนไข การเหนี่ยวนำที่เหมาะสมต่อไป

4.3 เปรียบเทียบสัมประสิทธิ์การนำน้ำ

เนื่องจากเยื่อเซลลูโลส CE(CCB) ที่ผลิตโดยมีน้ำมะพร้าวเป็นส่วนประกอบ มีความหนามากกว่าเยื่อชนิด CE(SHB) ประมาณ 1.5 เท่า กล่าวคือ เยื่อ CE(CCB) มีความหนาเมื่อแห้งแล้วเท่ากับ 150 ไมครอน ขณะที่เยื่อชนิด CE(SHB) หนาเพียง 90 ไมครอน ด้วยเหตุนี้ น้ำเมื่อถูกดันผ่านเยื่อทั้ง 2 ชนิด จะพบว่า เยื่อ CE(CCB) ให้ฟลักซ์น้ำน้อยกว่า เนื่องจากความดันต่อระยะทาง ($\Delta P/ \Delta X$) มีค่าลดลง ผลการวัดฟลักซ์น้ำสำหรับเยื่อที่ผลิตโดยวิธีเหนี่ยวนำด้วยไฟฟ้า มีผลในทำนองเดียวกัน ตารางที 3.9 แสดงค่าสัมประสิทธิ์การนำน้ำ (L_p) ซึ่งคำนวณได้จากความชันของกราฟในรูปที่ 3.5 และ 3.6 พบว่าค่าที่ได้จัดไว้เป็นกลุ่มเยื่อกรองระดับอัลตรา เช่นเดียวกับที่ได้รายงานไว้แล้ว (Wanichapichart et al., 2003)

4.4 ความทนกรด – ด่าง ของเยื่อเซลลูโลส

การศึกษานี้ ได้แช่เยื่อทั้ง 2 ชนิดในกรด HCl pH 4 และ NaOH pH 10 ดังตารางที่ 3.10 ซึ่งทำให้เชื่อมั่นว่า การนำเยื่อบางนี้ไปใช้งานในสภาวะที่เป็นกรด หรือด่าง จะมีความเสถียร หรือไม่มีการเปลี่ยนคุณสมบัติ เนื่องจากการสัมผัสกับสารละลายระดับ pH ต่างๆ ที่นำมากรอง แต่อย่างใด อย่างน้อยตลอดเวลาการใช้งานนานถึง 5 วัน

4.5 การนำไปใช้ประโยชน์

เพื่อทดสอบการทนความร้อนของเยื่อเซลลูโลสที่ผลิตได้ จึงได้ทดลองต้มเยื่อชนิด CE(CCB) และชนิด CE(SHB) ในน้ำเดือดนาน 1 ชั่วโมง พบว่าการต้มช่วยให้สารตกค้างต่างๆ ในเยื่อบางหลุดออกมาได้ เนื่องจากเมื่อทดสอบฟลักซ์น้ำ พบว่า เยื่อยอมให้น้ำผ่านได้ดีกว่าเดิม ดังผลในรูปที่ 3.8 และมีการปรับปรุงทำให้ค่า L_p ของเยื่อสูงขึ้นอย่างชัดเจน จนมีค่าใกล้เคียงกับเยื่อ SE(SHB) การปรับปรุงนี้เห็นได้ชัดเจนกว่าในเยื่อ CE(CCB) แสดงว่า น้ำมะพร้าวที่ใช้อาจทำให้เกิดสารตกค้างเกาะบริเวณผิวของเส้นใยทั้งจากส่วนที่ผลิตออกจากเซลล์จุลินทรีย์และไขมันที่ปนอยู่ในน้ำมะพร้าว จึงสรุปว่าการผลิตเยื่อเซลลูโลสชนิดที่ใช้น้ำมะพร้าว ควรนำไปต้มน้ำก่อนนำไปใช้งาน

จากการทดสอบเยื่อกรองด้วยน้ำทิ้งจากโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ น้ำทิ้งจากโรงงานยางพารา พบว่า หลังการกรองด้วยเยื่อกรองเซลลูโลส คุณภาพน้ำดีขึ้นระดับหนึ่ง กล่าวคือเยื่อกรองมีประสิทธิภาพในการกักกันและทำให้คุณภาพน้ำทิ้งทางกายภาพ (สี) และทางเคมี เช่น ของแข็งแขวนลอย (SS) ของแข็ง และค่าความสกปรกของสารอินทรีย์ในรูป COD มีประสิทธิภาพในการกักกันร้อยละ 80-90 และ 46-70 ตามลำดับ จึงสรุปได้ว่าเมมเบรนชนิดนี้สามารถกักกันสารแขวนลอยทั้งอินทรีย์ อนินทรีย์ และอนุภาคของสีได้ระดับดีถึงดีมาก การที่เยื่อกรองสามารถกักกันสีและ COD ในน้ำเสียของโรงงานยางได้ดีกว่า เนื่องจากในน้ำเสียมีสารแขวนลอยสูงและเป็นเนื้อยาง ซึ่งสามารถแยกออกได้ด้วยเมมเบรนได้ดี จึงส่งผลให้เยื่อกรองสามารถกักกันได้ผลดีอย่างชัดเจน นอกจากนี้ยังพบว่า เยื่อกรองที่ผลิตได้นี้สามารถกรองจุลินทรีย์ได้ 100% เมื่อกรองน้ำที่มีสนิมเหล็กปนเปื้อนเกินมาตรฐานคุณภาพน้ำดื่ม พบว่าสามารถกรองได้ 100% เช่นกัน

4.6 การปรับปรุงผิวเซลลูโลสด้วยเทคนิคพลาสมา

ได้ทดลองปรับปรุงผิววัสดุด้วยการอาบพลาสมาของก๊าซออกซิเจนที่เงื่อนไขพลังงาน ความดันของระบบ และเวลาที่อาบพลาสมา พบข้อมูลที่น่าสนใจ กล่าวคือ เกิดการลดความชอบน้ำ หรือเสริมให้เยื่อชอบน้ำมากขึ้น หากเลือกเงื่อนไขที่เหมาะสม นอกจากนี้เกิดการปรับเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชั่นระดับโมเลกุลที่ผิวของเซลลูโลส ซึ่งได้นำเสนอในการประชุมวิชาการระดับนานาชาติ SMMIB2009 (Surface Modifications of Materials by Ion Beams) ที่นครโตเกียว ประเทศญี่ปุ่น ระหว่างวันที่ 13-18 กันยายน 2552 และเตรียมต้นฉบับเพื่อตีพิมพ์ดังเอกสารแนบในภาคผนวก ก

4.7 การจัดอบรม

ดูรายละเอียดในภาคผนวก ข

เอกสารอ้างอิง

[1] พิกุล วณิชาภิชาติ และวิริยะ ดวงสุวรรณ (2003) การสร้างอุปกรณ์ต้นแบบในการกรองน้ำกร่อยโดยใช้เมมเบรน รายงานวิจัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

[2] พิกุล วณิชาภิชาติ พรทิพย์ ศรีแดง อภิรดี แซ่ลิ่ม และโชโกะ โอกินาว่า (2005) รายงานวิจัยเรื่อง การจัดการระบบน้ำเพื่อลดปัญหาจากการปนเปื้อนสารหนู รายงานวิจัย สวรส. ภาคใต้.

[3] Wanichapichart P., Kaewnoparat S., Phud-hai W., and Buaking K.(2003) Characteristic of Filtration Membranes Produced by *Acetobacter xylinum*. Songklanakarin J. Sci. Technol. Vol. 24 (Suppl.) 2002: 855-862.

[4] Wanichapichart P., Kaewnopparat S., and Nawae S., and Rakbamrung P. (2005) Characteristic of Cellulose Membranes Produced by Pretreated *Acetobacter xylinum*. The 3rd Regional Symposium on Membrane Science and Technology. 24-26 April, Bandung, Indonesia.

[5] Howell J.A., Sanchez V., and Field R.W. (1993) Membranes in Bioprocessing: Theory and Applications, Chapman& Hall, London. P. 35-41.

[6] ดวงพร คันธโชติ. 2545. นิเวศวิทยาของจุลินทรีย์. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพมหานคร.

[7] ปริศนา รักบำรุง,2550. คุณลักษณะของเยื่อประกอบที่เตรียมจากเซลลูโลสที่ผลิตจากแบคทีเรียละไคโตซานเพื่อกรองระดับอัตราและนาโน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบันฑิต สาขาวิชาฟิสิกส์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

[8] ธนุสรา เหล่าเจริญสุข. 2545. คู่มือปฏิบัติการจุลชีววิทยา. แผนกชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

[9] สาฟีตรี นาแว. 2548. ผลของพีเอชและสนามไฟฟ้าต่อการผลิตเยื่อเซลลูโลสจากแบคทีเรีย Acetobacter xylinum TISTR 975. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาฟิสิกส์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

[10] วรรณา ชูฤทธิ์, สุกัญญา จันทะชุม, นัยทัศน์ ภู่ศรัณย์ และ อรัญ หันพงศ์กิตติกูล. 2539. คู่มือปฏิบัติการจุลินทรีย์ของผลิตผลเกษตร 2. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพอุตสาหกรรม คณะอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

[11] Casimiro M.H., Leal J.P. and Gil M.H. 2005. Characterisation of gamma irradiated chitosan/pHEMA membrane for biomedical purposes. Nuclear Instruments and Method in Physics Research B 236 : 482-487

[12] http://www.fisheryhouse.com/home/index.php?option=com_content&task=view&id=23&Itemid=41

[13] http://www.tistr.or.th/t/publication/page_area_show_bc.asp?i1=81&i2=5

[14] http://www.school.net.th/library/webcontest2003/100team/dlns132/page03.html

[15] http://science.kmutt.ac.th/class/mic291/mic291lab7.doc

ภาคผนวก ก

ผลงานวิจัยที่นำเสนอ
ในที่ประชุมวิชาการระดับนานาชาติ
นครโตเกียว ประเทศญี่ปุ่น
วันที่ 13-18 กันยายน 2552

Modification of Cellulose Membrane by Oxygen Plasma

P. Wanichapichart[a,d], W. Taweepreeda[b], S. Sirijarukul[a], and B. Paosawatyanyong[c,d]

[a] Membrane Science and Technology Research Center, Department of Physics, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Kanjanavanich Road, Hat-Yai, Songkhla, Thailand 90110
[b] Membrane Science and Technology Research Center, Polymer Science Program, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Kanjanavanich Road, Hat-Yai, Songkhla, Thailand 90110
[c] Department of Physics, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Payathai Road, Bangkok, Thailand 10330
[d] ThEP Center, CHE, 328 Si Ayutthaya Rd., Bangkok 10400, Thailand

Corresponding e-mail address: pikul.v@psu.ac.th, Phone: 66+74 288749, Fax: 66+74 212817

Abstract

Bacterial cellulose was produced from *A. xylinum* using two culture media for a comparison, and dried to form a thin membrane with hydrophilic property. Plasma treatments of the membranes produced with coconut juice supplement were conducted under the variation of pressure, exposure time, and net power dissipation from the RF source using oxygen gas. Water flux of the membrane was reduced to the same magnitude in all cases after the treatments, regardless of changes in its surface contact angle. ATR-FTIR results showed some changes in functional groups of this bio-polymer. The peak at 713cm^{-1} for O-H out-of-plane bend increased remarkably. A broader peak at 3340cm^{-1} indicated the higher number of water molecules surrounding the membrane. This corresponded with the change in more hydrophilicity of the membrane and the surface contact angle. An AFM image exhibited larger microfibril aggregates after the plasma treatment.

Keywords: Cellulose, *Acetobacter xylinum*, Water flux, Oxygen plasma, FT-IR, AFM

Introduction

Cellulose is the most abundant biopolymer on Earth. Sources of cellulose come directly from wood pulp or are generated by several bacteria as nano-fibers crossing cell membrane to form micro-ribbons. The quality of cellulose depends on the degree of crystallinity which was governed by cell types, carbon sources and growth conditions [1-3]. The structure with strong hydrogen bonds prevents it from being easily dissolved in a normal solution, hence, several investigations were reported towards work in gas separation and wastewater treatment. [4-6]. Its biodegradable and biocompatible properties provide possibilities to apply it directly in medical purposes [7,8]. However, regenerated cellulose was utilized in case of wastewater treatment to avoid deterioration caused by bacteria.

Ion beam and plasma modifications have been known for the improvement of material surface properties such as hydrophilicity, morphology, functional groups, ionic strength, and biocompatibility. Examples of the improved properties reported were antifouling of protein in microfiltration polypropylene membrane after NH_3 plasma treatment, increasing hydrophilic surface of polysulfone membranes to reduce protein fouling after CO_2 plasma treatment, an increase in anionic/cationic permeability ratio across dense chitosan membranes after N-ion beam and argon plasma treatments with the finding of anti-fungi property [9-13]. Utilization of O_2 plasma for modification of polyacrylonitrile membrane, cellulose acetate membrane and regenerated cellulose membrane have been reported for water flux enhancement, protein enrichment and water-ethanol separation improvement, respectively [14-16]. These improved properties by plasma treatment have become increasingly attractive, since chemical usage can be reduced during manufacturing processes.

Modifications of biopolymers, such as chitosan and cellulose, for filtration purpose in this laboratory have been reported [11-13, 17-19]. Previously, bacterial cellulose membranes produced by A. *xylinum* for 3 days possessed pore size of 0.01 μm, determining by using molecular weight cut off method. This porous membrane was used for modeling plant cell envelope to explain the effect of beam bombardment in living systems, and also used as a base membrane for chitosan coating in salt filtration studies. The chitosan/cellulose composite membrane [19] performed 80% $MgSO_4$ rejection. Nevertheless, only dense chitosan membrane was proved to exhibit antifungal property after N^+ and Ar^+ beam treatments. Also, chain strengthening and scissoring effect were reported in terms of a decrease and increase in water flux, respectively. In fact, bacterial cellulose and chitosan possesses the same back bone structure, except aldehyde group replacing hydroxyl group. As being biocompatible, it has been utilized extensively in wound dressing work. However, plasma treatment on bacterial cellulose has not been reported before. It is, therefore, of interest to explore possibility to treat bacterial cellulose with O_2 plasma. Preliminary tests such as water contact angle, water flux, Scanning Electron Microscopy, Atomic Force Microscopy, and Fourier Transform Infrared Spectroscopy were reported.

Experimental

Cellulose membranes were produced by *A. xylinum* (TISTR No.975) at $1x10^6$ cells/cm^2 density in a standard solution at pH 4, with and without coconut juice supplement. The mass and the thickness of these membranes were recorded after 3 days culturing, then the membranes were dried at 32±3° C for 4 days and kept in a dust free container. The coconut-juice supplemented membrane was designated as CCB membrane, and the other was designated as SHB membrane. After comparing cellulose produced from the two media (Table 1), the CCB membrane was chosen for further experimentation. Several pieces of 5x5 cm^2 membranes were cut and treated with inductively coupled RF O_2 plasma. Gas pressure for O_2 input was 0.1 and 1.0torr, under 200 and 300W operating condition. Membrane exposure times were chosen at 60 and 180s for this investigation. Methods for water flux measurement were described in details before [18]. Contact angle measurement, SEM micrographs, and FT-IR analysis were obtained using the same methods as described elsewhere [12-13]. The structure of cellulose membranes was studied using AFM (Nanosurf® easyScan 2). AFM pictures were taken with the use of non-contact module (tapping mode), at room temperature. The cantilever used was the silica, N-type, 0.01-0.025 ohm/cm.

Plasma Reactor

In order to avoid contamination from metal electrodes in the plasma system to the cellulose membranes during the plasma treatment, two possible type of plasma reactors have been utilized, which were the Microwave Resonance Cavity Plasma (MRCP) and the RF Inductively Coupled Plasma (RFICP) reactors. However, earlier study showed that the density of charged species in RF plasma could be considerably larger than in a microwave one. Also RF reactor was found to provide radial uniformity for wider ranges of operation parameters than the microwave counterpart [20]. Therefore, a planar coil RFICP reactor was set up for the treatment of cellulose membranes in this study. Fig. 1 shows a schematic diagram of the reactor. Basically, the system consists of a vacuum chamber, an RF generator, an impedance matching network, and the gas and pressure handling peripherals detail of which has been given elsewhere [21-22]. In this work, the plasma was generated by applying RF power from a 13.56-MHz generator (Dressler Cesar-1310) through a matching network to a planar-shape coil antenna. A quartz window was placed on the top of the vacuum chamber to allow the visual inspection inside the reactor and maintain the vacuum while still allow the RF power to couple into the gases inside.

Results

The mass and the thickness of bacterial cellulose produced from the two growth media were compared in Table 1. The coconut juice supplemented CCB membrane possesses greater wet mass and after being dried the membrane thickness was about 150 μm. It should be noted that coconut juice supplement for CCB membrane production contained a trace of fat and a considerable amount of sugar of 0.04% and 0.50% Brix, respectively. Besides these differences, some hormones and enzymes content in coconut juice would enhance the pellicle production. After the plasma treatments, Table 2a shows that water contact angle of the membrane is clearly creased from 35^{o} to 50^{o} degree under 200W and 0.1 torr condition. However, upon the increased power of 300W and 1.0 torr condition, the water contact angle slightly increased if the 60s exposure time was selected. The reduced water fluxes by 30% of the control membrane after the treatment are shown in Figure 2a and 2b, indicating a decrease in membrane effective pore area. Interestingly, this reduction was the same in all cases, regardless of the treatment conditions used. In other words, the result suggests that the increased contact angle up to 50^{o} degree has no effect on water permeation. As a consequence, water permeability of these membranes deduced from the slope of graphs is the same as shown in Table 2b.

The surface morphology of plasma treated membranes is shown in (Figure 3 a-e). As is seen, aggregations of cellulose threads appear at 0.1 torr 200 W operating condition. The pore sealant at the membrane surface is obvious after 1.0 torr operating pressure was used. With 300 W, cellulose aggregation is increased, creating some depth between the aggregates. This is more pronounced at 180s exposure time. Apparently, one would expect some differences in the water permeability among these membranes after the treatments. The disagreement might be due to large applied pressures used in water flux measurements, compared to the treatment depth (see Figure 5), and they might overcome the blockage at the modified surface.

More details of polymer functional groups were studied using FTIR analysis. Figure 4a shows the major characteristic peaks of cellulose membrane at 3340 cm^{-1} (O–H stretch), 2894 cm^{-1} (C–H stretch), 1641 cm^{-1} (C=O stretch of carbonyl group), 1360 cm^{-1} (C–H stretch of methyl group), 1160 cm^{-1} (bridge O stretch), and at 1050 cm^{-1} (C–O stretch). After the plasma treatment at 1.0 torr, the peak at 713 cm^{-1} (O-H out-of-plane bend) was increased remarkably as shown in figure 4b. The broader peak at 3340 cm^{-1} (hydroxyl group, H-bonded OH stretch) in figure 4c is broaden, indicating the higher number of water molecules surrounding the membrane [23]. Moreover, under changing the operating pressure from 0.1 to 1 torr the peak at 1733 cm^{-1} (aldehyde group) of the treated membrane occurs due to the degradation [24]. AFM images in Figure 5a and 5b illustrate the structure of whiskers cellulose transformed to larger microfibril bundles after the plasma treatment. The groves created by the treatment were enlarged, explaining the finding of cellulose aggregation by the above SEM micrographs. These suggest that the polarity of the cellulose is increased, showing the potential to produce the cellulose with higher strength and stiffness for high-performance applications because of the modified microfibril bundles.

Discussion

The details from water flux measurement and the SEM micrographs suggested that O_2 plasma somehow reduced pore size of the membrane surface and hence it would be able to select smaller molecules for separation process. As done before [19] by filtering known molecular weight of Poly(ethelene) glycol (PEG) ranging from 4,000 – 20,000 Da, the rejection reached 90% value at 12,000 Da for CCB control membrane and became less than 2,000 Da for the 1.0 torr plasma treated one, confirming that the treated membranes were ultrafiltration membrane type, which might be suitable for protein filtration. In polypropylene microfiltration and polysulfone ultrafiltration membranes [9,10], a decrease in adsorption ability was reported after plasma treatment, which lead to a reduction of protein fouling. In this study, the aldehyde group would introduce more positive charges to the membrane surface after modification. This would certainly affect protein adhesion, which depends greatly on the pH level used. For flux improvement, it was found in a later experiment that the control membrane could be increased in water permeability from $9x10^{-12}$ to $16x10^{-12}$ $m^3N^{-1}s^{-1}$ after being boiled for 1 h prior to filtration.

It should be pointed out that after O_2 plasma treatment the grove depth was increased from 100 nm to about 220 nm from the top surface. As far as the morphology (Figure 3 and Figure 5) and functional groups (Figure 4) are concerned, the treated membrane might also be best for being an anchorage of biomaterials or some living organisms. In a later experiment, it was found that the CCB membrane could totally reject *A. xylinum* and the plasma treated membranes would be better for filtering nano-scale molecules. It is certain that the treated CCB membrane would not be as good as the bacterial cellulose producing around 60-300 μm diameter pins, as reported by Rambo et al. [7], in term of oxygen permeation for tissue engineering task. However, smaller pores sizes ranging from 10-100 μm were required in their case for promoting cell selectivity during cell culture.

Conclusions

Surface modification of cellulose membranes occurred after O_2 plasma treatment, leading to a decrease in membrane effective pore area and water flux. Under 200 W 0.1 torr conditions, the membrane was increased in O-H group and slightly increased in water contact angle without affecting water permeation under applied pressures. It was explained as due to only a few hundreds nanometer of the surface was modified. Further effect was found in aldehyde group, which related to enhancing membrane positive charges.

References

1. A. Kurosumi, C. Sasaki, Y. Yamashita, Y. Nakamura, Carbohydrate Polymers, 76 (2009) 333
2. M. Ishihara, M. Matsunaga, N. Hayashi, V. Tisler, Enzyme Microb Technol., 31 (2002) 986
3. S.O. Bae and M. Shoda, Appl Microbiol Biotechnol, 67 (2005) 45
4. J. Wu and Q.Yuan, J. membr. Sci., 204 (2002) 185
5. B.R. Evans, H.M. O'Neill, V.P. Malyvanh, I. Lee, and J. Woodward, Biosensors and Bioelectronics, 18(2003 917
6. X. Yang, Y.M. Cao, R. Wang, Q. Yuan, J. Membr. Sci., 305 (2007) 247
7. C.R. Rambo, D.O.S. Recouvreux, C.A. Carminatti, A.K. Pitlovanciv, R.V. Antonio, and L.M. Porto, Material Science and Engineering C, 28 (2008) 549
8. W.K. Czaja, D.J. Young, M. Kawecki, and R. M. Brown, Jr., Biomacromolecules, 8(1) (2007) 1
9. M.G. Yan, L.Q. Liu, Z.Q. Tang, L. Huang, W. Li,J. Zhou, J.S. Gu, X.W. Wei, H.T. Yu, Chemical Engineering J., 145 (2008) 218
10. D.S. Wavhal and E.R. Fisher, Desalination, 172 (2005) 189
11. P. Wanichapichart, L.D. Yu, Surf. Coat. Technol., 201 (2007) 8165
12. P. Wanichapichart, R.Sungkum, W. Taweepreda, and M. Nisoa, Surf. Coat. Technol., 203 (2009) 2531
13. P. Wanichapichart, W. Taweepreeda, P. Choomgan, and L.D. Yu, Radiat. Phys. Chem., (2009) doi: 10.1016/j. radphyschem.2009.08.040 (In Press).
14. T.D. Tran, S. Mori, and M. Suzuki, Thin Solid Films, 515 (2007) 4148
15. S.P. Kusumocahyo, T. Kanamori, T. Iwatsubo, K. Sumaru, and T. Shinbo, J. Membr. Sci., 208 (2002) 223
16. C. Kim, C. Ryu, B.W. Kim, S.J. Sim, and H. Chae, J. of the Korean Physical Society, 51 (3) (2007) 993
17. K. Prakrajang, P.Wanichapichart, S. Anuntalabhochai, S. Pitakrattananukool, L.D. Yu, NIM B, 267 (2009) 1649
18. P. Wanichapichart, S. Kaewnoparat, W. Phud-hai, K. Buaking, Songklanakarin J. Sci. Technol., 24 (2003) 855
19. P. Rakbumrong, P. Wanichapichart, Y. Tirawanichkul, J. Applied Membrane Science, 4 (2006), 43
20. S. N. Averkin, A.P. Ershov, A.A. Orlikovsky, K.V. Rudenko, and Y.N. Sukhanov, Rus. Microelect., 32 (2003) 292
21. B. Paosawatyanyang, J. Sci. Res. Chula., 29 (2) (2004), 198
22. B. Paosawatyanyong, T. Supasai, V. Pavaraiarn, and S.K. Hodak, Inter Polym. Process. 23 (2) (2008) 135
23. P. Schmidt, J. Dybal, and M. Trchová, Vibrational Spectroscopy. 42 (2006) 278
24. J. Coates, Interpretation of Infrared Spectra in Encyclopedia of Analytical Chemistry John 5-10837, Wiley & Sons Ltd, Chichester, 2000, p. 108

Acknowledgement

This work is partially support by National Nanotechnology Center (NANOTEC), NSTDA, Ministry of Science and Technology, Thailand, through its Center of Excellence network. The authors wish to thank Membrane Science and Technology research center and Department of Physics for technical support.

Table 1 Comparing cellulose pellicles produced from a medium with (CCB membrane) and without (SHB membrane) coconut juice supplement.

Membrane Type	Mass		Thickness	
	Wet (g)	Dried (g)	Wet (mm)	Dried (mm)
SHB	9.34 ± 0.08	0.06 ± 0.01	1.28 ± 0.02	0.09 ± 0.01
CCB	15.17 ± 0.32	0.12 ± 0.01	2.41 ± 0.05	0.15 ± 0.03

Table 2 The effect of plasma treatments on water contact angle (a) and hydraulic permeability (b) of CCB membranes.

	(a)	(b)
Plasma treatment	Contact angle (degree)	$L_p(m^3N^{-1}s^{-1})$
Control CCB	35	8.6×10^{-12}
200W, 180s:		
0.1torr	50	3.0×10^{-12}
1.0torr	26	3.1×10^{-12}
300W, 1.0Torr:		
60s	39	3.2×10^{-12}
180s	26	3.2×10^{-12}

Figure captions

Figure 1 Schematic diagram of the RFICP reactor

Figure 2 Comparing the effect of O_2 plasma on water flux under different conditions
(a) Change in reactor pressure but kept 200W and 180s exposure time constant
(b) Change in exposure time but kept 300W and 1.0torr reactor pressure constant

Figure 3 SEM micrographs of treated membranes (b-e) compared to the control one (a)

Figure 4 ATR-FTIR spectra of cellulose membrane
(a) Control
(b) 200W, 0.1torr treatment
(c) 300W, 1.0torr treatment.

Figure 5 AFM images of control cellulose membrane (a) and O_2 plasma treatment (b)

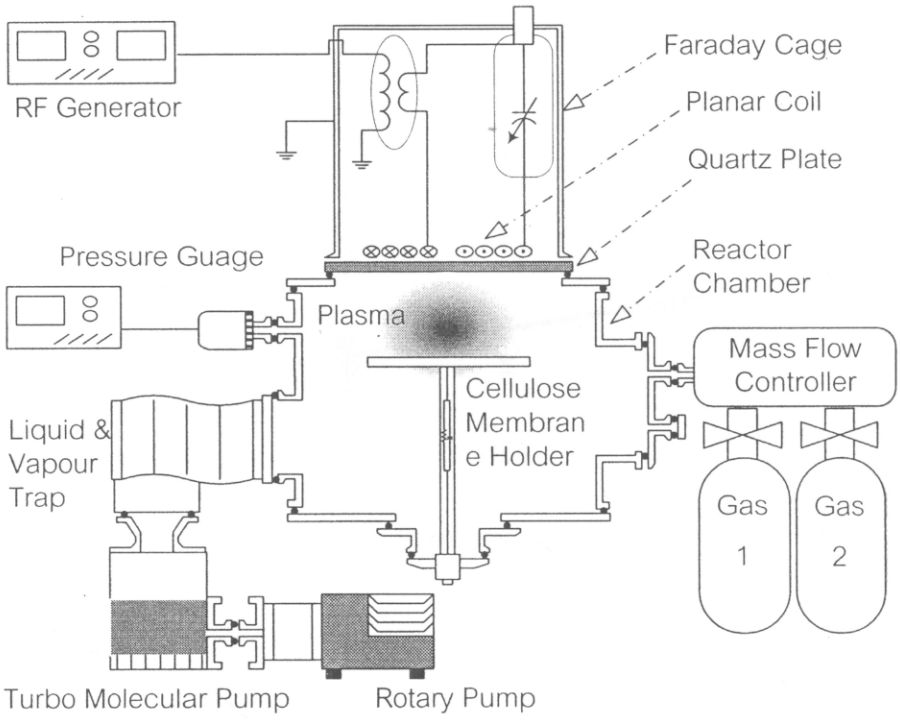


figure 1

PikulWanichapichart
PSU, Thailand

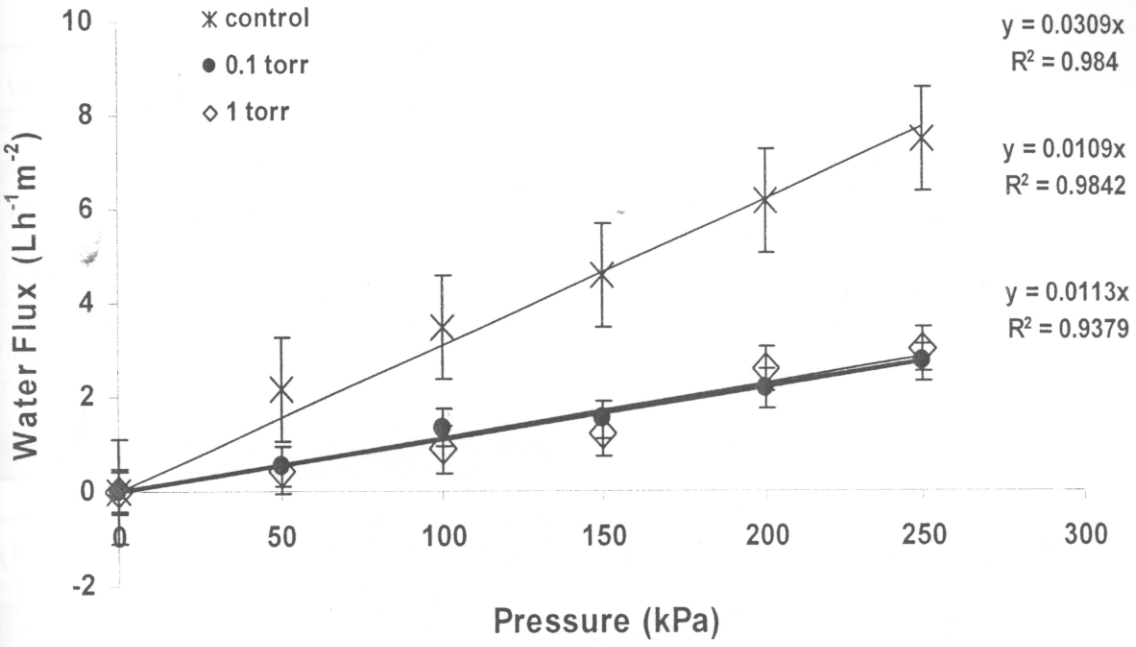


figure 2a

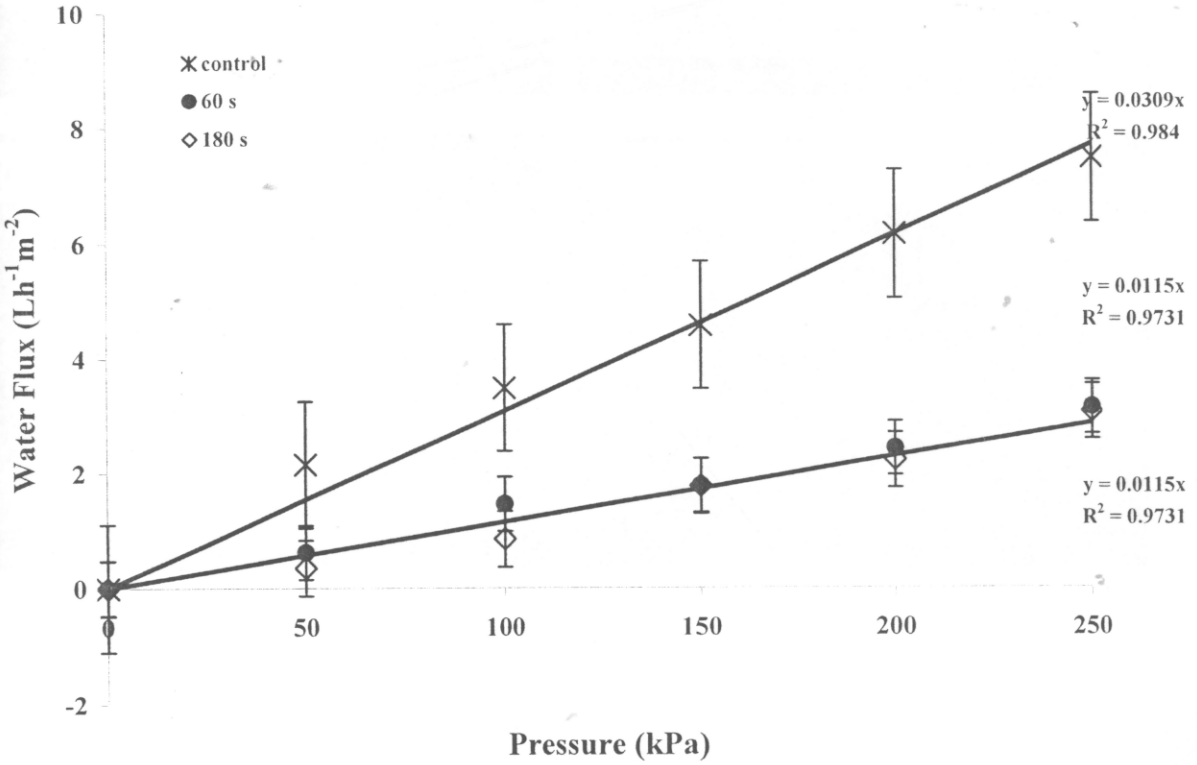


figure 2b

PikulWanichapichart
PSU, Thailand

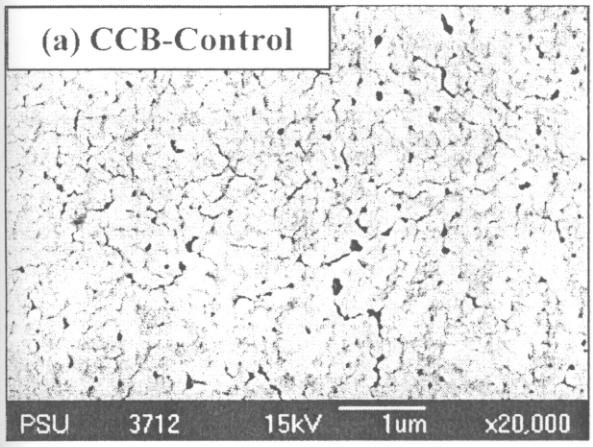
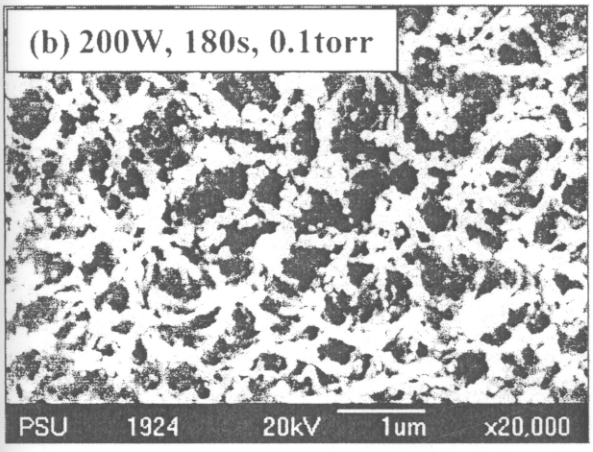
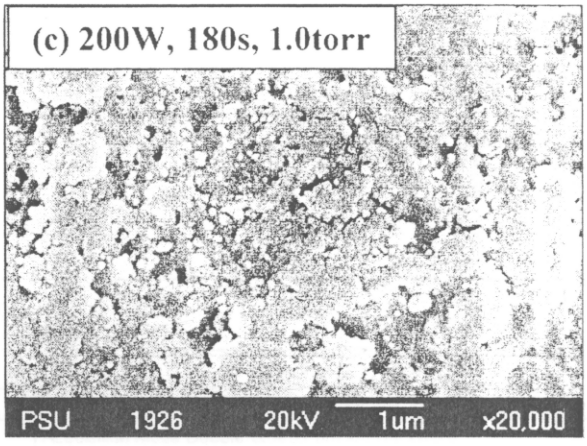
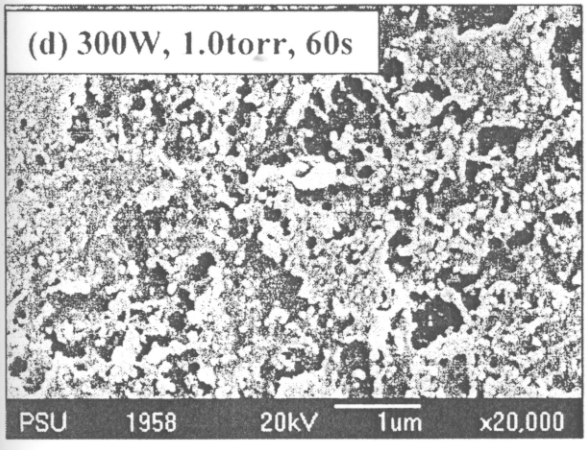
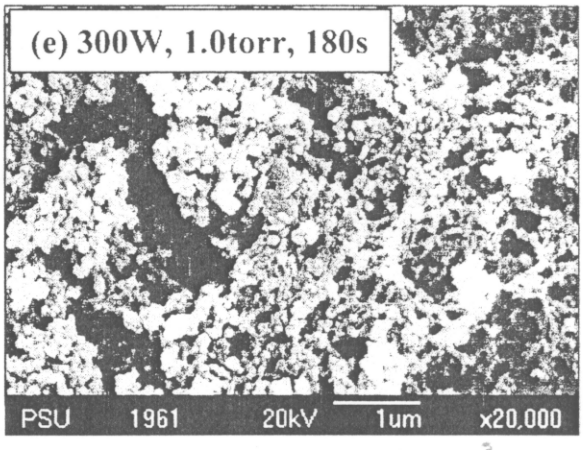


figure 3



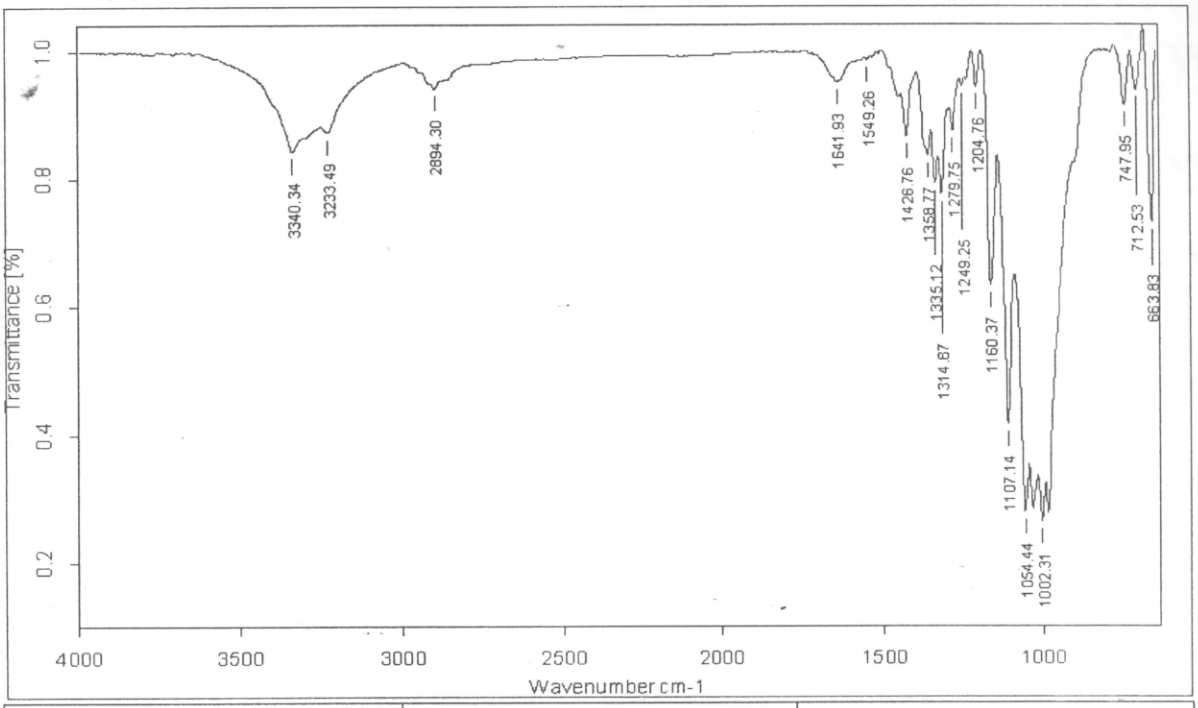






PikulWanichapichart
PSU, Thailand

Scientific Equipment Center , PSU.



Sample : Control	Frequency Range :4000-400 cm-1	Measured on : 23/02/2009	
File name: 0473PIKUL	Resolution : 4	Instrument : EQUINOX55	Sample Scans : 32
Customer : Pikul	Zerofilling : 2	Acquisition Mode Double Sided,Forward-Backward	

FT-IR Spectroscopy

figure 4a

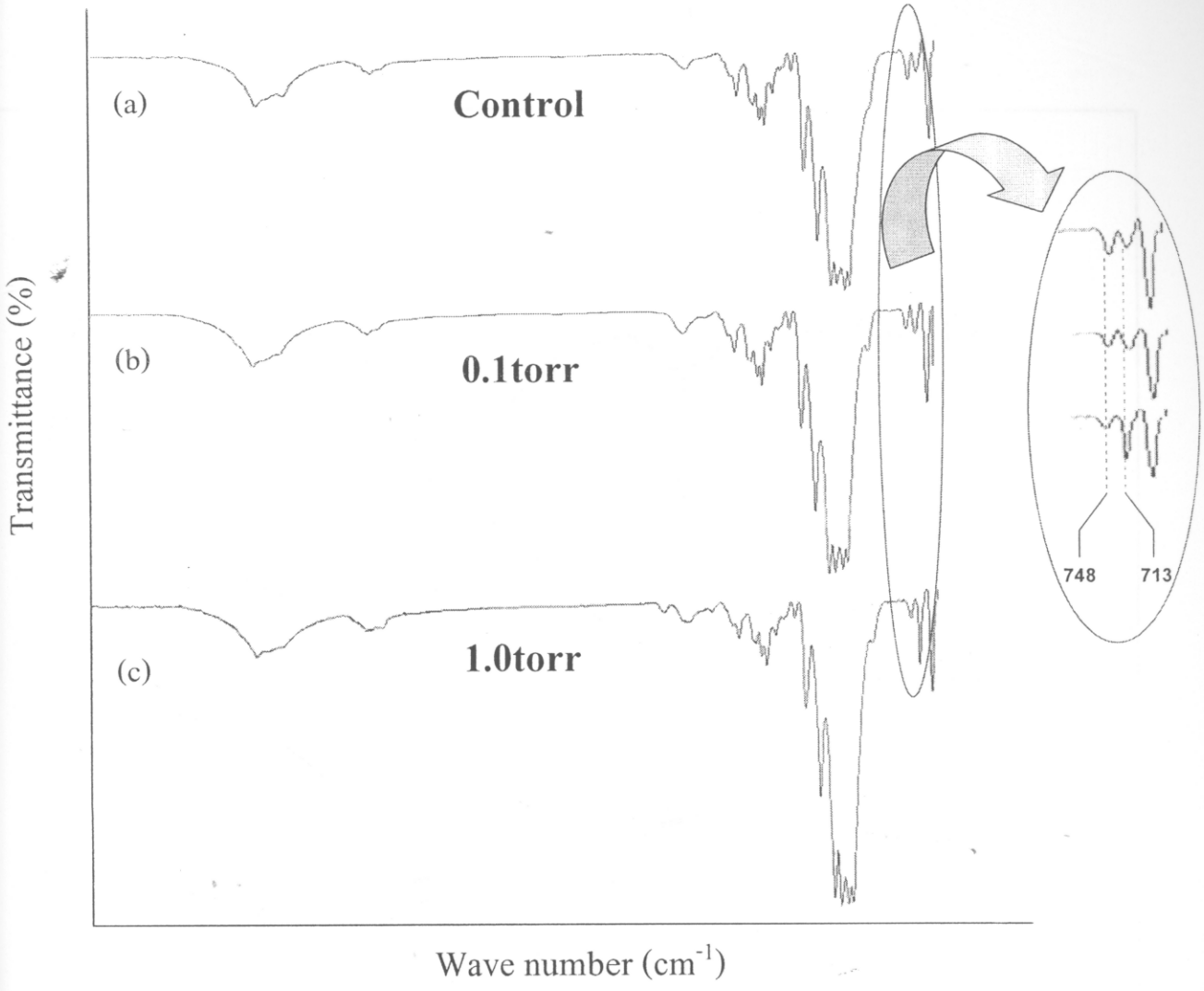


figure 4b

PikulWanichapichart
PSU, Thailand

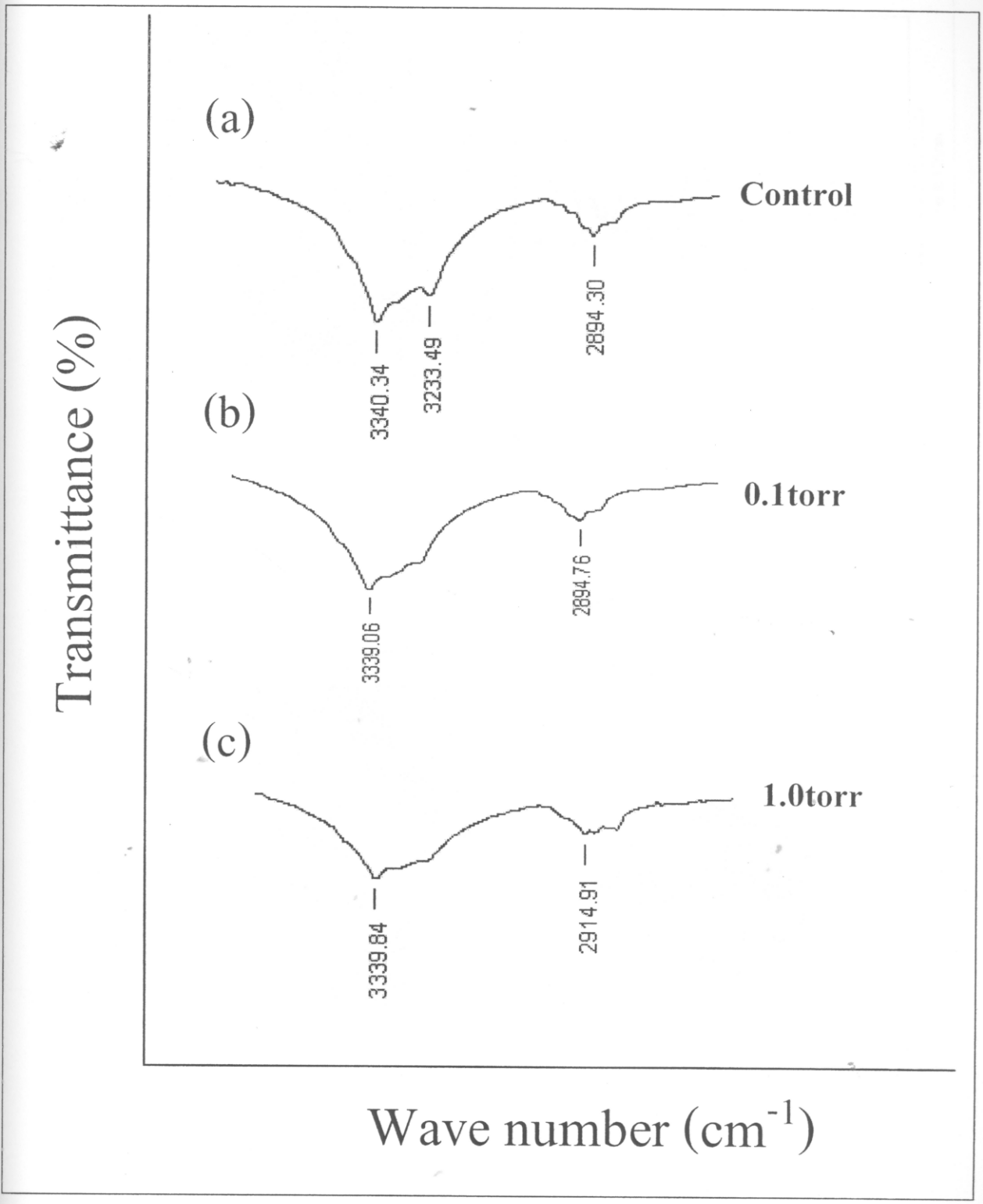


Figure 4c

PikulWanichapichart
PSU, Thailand

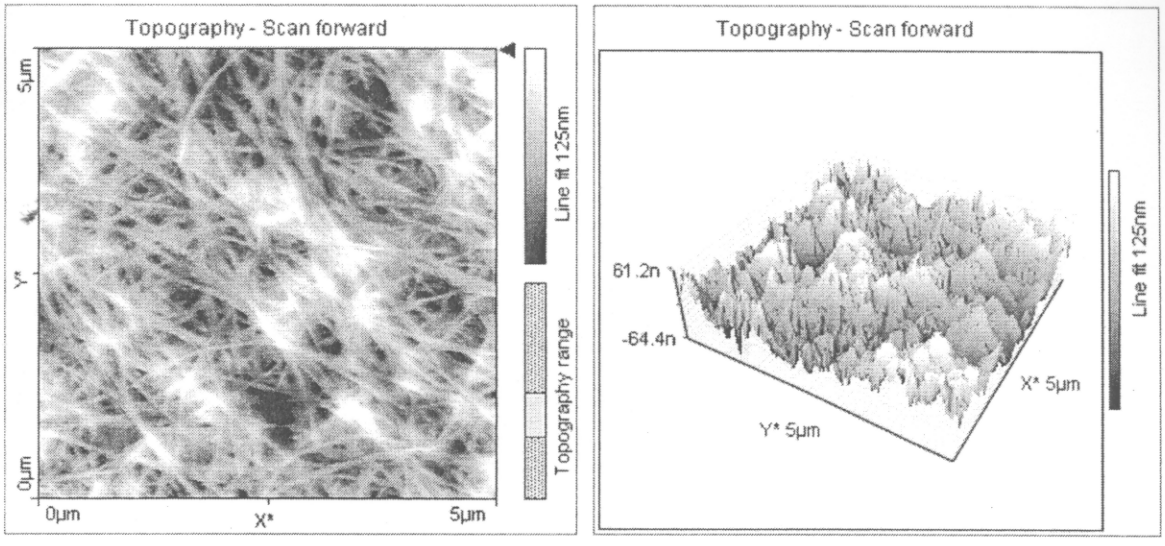


figure 5a

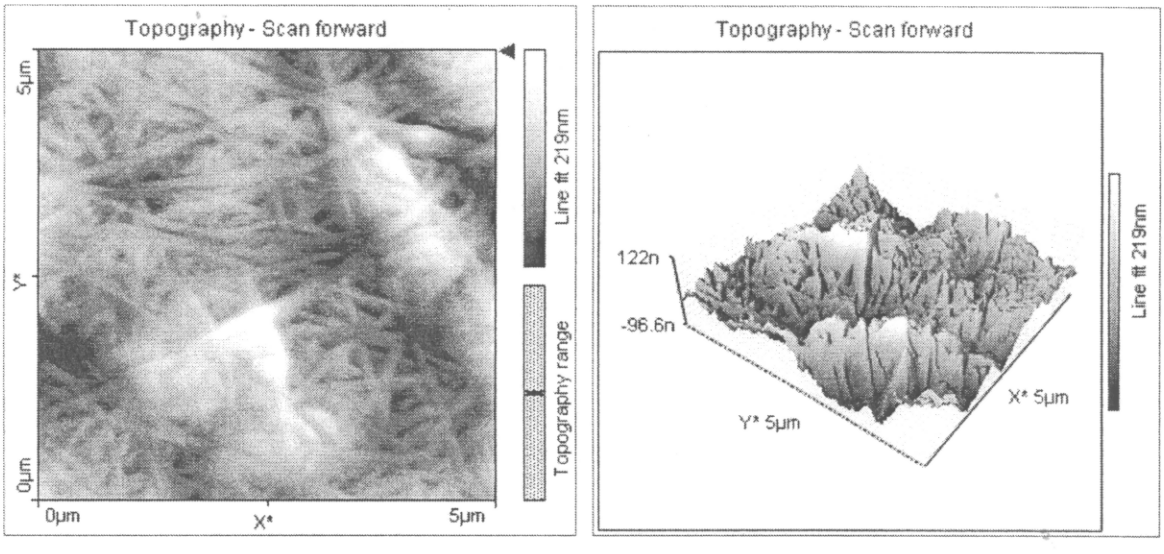


figure 5b

PikulWanichapichart
PSU, Thailand

ภาคผนวก ข

รายงานผลการจัดอบรมเรื่อง

การผลิตเยื่อกรองเซลลูโลสระดับไมโครโดยระบบเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์แบบกึ่งอัตโนมัติเพื่อใช้ในกระบวนการเตรียมน้ำดิบสำหรับการผลิตน้ำดื่มชุมชน

วันที่ 29 กันยายน 2552

เวลา 8.30-16.30 น.

โปรแกรมการอบรม

เรื่อง " การผลิตเยื่อกรองเซลลูโลสโดยระบบเพาะเลี้ยงแบบกึ่งอัตโนมัติ "

ณ. ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

วันที่ 29 กันยายน 2552 เวลา 8.30-16.30 น.

หัวข้อกิจกรรม	ผู้บรรยาย
08.30 น. ลงทะเบียน	
09.00 น. เมมเบรนเทคโนโลยีมีประโยชน์อย่างไร (P. 205)	รศ.ดร. พิกุล วณิชาภิชาติ
09.30 น. การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ (P. 205)	นางสาวพัสตราภรณ์ ชุมแก่น
10.00 น. การเตรียมเมมเบรนในตู้ปลอดเชื้อ (P. 205)	นางสาวพัสตราภรณ์ ชุมแก่น
10.15 น. อาหารว่าง (P. 205)	
10.30 น. สาธิตการผลิตเมมเบรน (P. 409)	นางสาวพัสตราภรณ์ ชุมแก่น
12.00 น. พักเที่ยง (P. 205)	
13.00 น. ลงทะเบียน	
13.15 น. การทดสอบเมมเบรนและการประยุกต์ใช้ (P. 205)	รศ.ดร. พิกุล วณิชาภิชาติ
14.00 น. สาธิตการทดสอบเมมเบรน (P. 409)	นางสาวพัสตราภรณ์ ชุมแก่น
15.30 น. อาหารว่าง	
15.45 น. สรุปผล ตอบแบบสอบถาม และปิดการอบรม	รศ.ดร. พิกุล วณิชาภิชาติ และ นางสาวพัสตราภรณ์ ชุมแก่น

<u>หมายเหตุ</u>

1 ไม่มีค่าลงทะเบียน

2 จัดอบรมฟรี รับจำนวนไม่เกิน 30 คน

3 เลี้ยงอาหารว่าง และมื้อกลางวัน

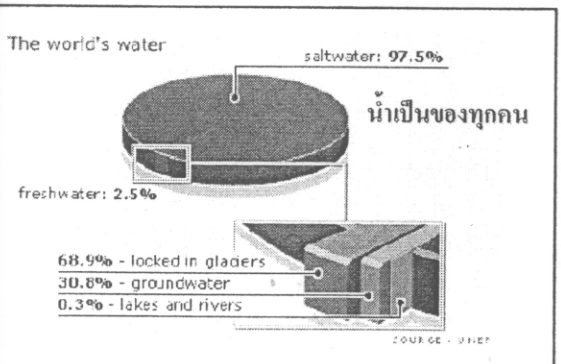
4 จ่ายค่าเดินทางให้ผู้เข้าอบรม 50%

ประโยชน์ของเมมเบรนเทคโนโลยี

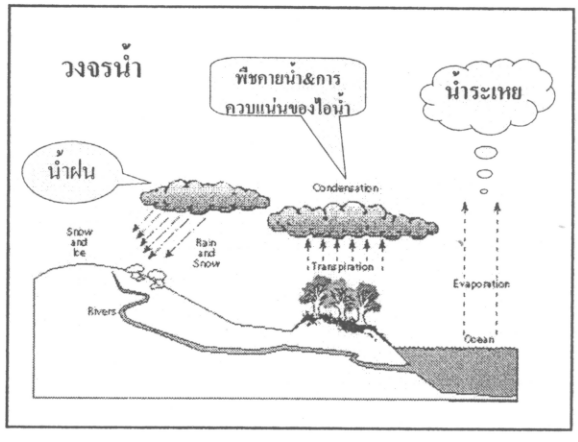
รศ. ดร. พิกุล วณิชาภิชาติ
สถานวิจัยวิทยาศาสตร์และ
เทคโนโลยีเมมเบรน

ขาดแคลนน้ำสะอาด... ใช่หรือไม่

- น้ำบ่อ
- น้ำบาดาล
- น้ำฝน
- น้ำประปา
- น้ำสระ
- น้ำคลอง



The picture taken from BBC web site

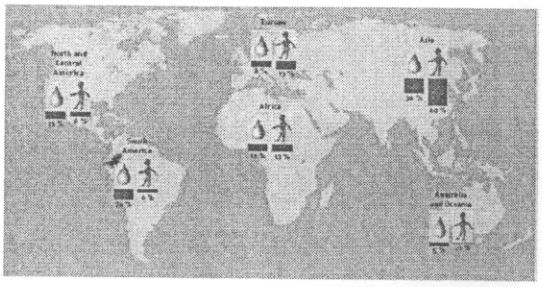


น้ำเป็นของทุกคน

- ทุกหยดน้ำ ไม่ได้สูญหายไปจากโลก เพียงแต่เปลี่ยนสถานะเท่านั้น
- แต่เรากำลังทำให้น้ำเกิดมลภาวะทุกวัน พร้อมๆกับการเพิ่มของประชากรโลก

คุณค่าของน้ำสะอาด

- ของเสีย 2 ล้านตัน (จากอุตสาหกรรม การเกษตร สารเคมี และมนุษย์) ถูกทิ้งลงสู่แหล่งน้ำทุกวัน
- ทุกๆ 1 ลิตรของของเสีย ปนอยู่ในน้ำสะอาดจำนวน 8 ลิตร หรือเทียบเท่าน้ำที่ถูกปนเปื้อนสารพิษจำนวน 12,000 ลบ กิโลเมตร ทั่วโลก
- ปัจจุบันประชากรโลกกว่าพันล้านคน (20%) ขาดโอกาสที่จะเข้าถึงแหลางน้ำ ปี 2025 สหประชาชาติคาดว่าตัวเลขจะเพิ่มขึ้นเป็น 2 พันล้านคน



Source: Executive Summary of « The United Nations World Water Development Report p.9

ประมาณ 50 ประเทศทั่วโลก ขาดแคลนน้ำสะอาด และกำลังเพิ่มความรุนแรงขึ้น ยิ่งถูกซ้ำเติมด้วยปัญหาโลกร้อน

ผลกระทบต่อมนุษย์

- น้ำมี แต่ดื่มไม่ได้
- โอกาสการเข้าถึงแหล่งน้ำมีไม่เท่ากัน
- น้ำกับปัญหาของสังคมเมืองที่เจริญ
- น้ำและการท่องเที่ยว
- น้ำกับสภาพภูมิอากศ
- น้ำและสุขภาพ

ถ่ายของแพทย์ไบโอ 290909

ภัย...ที่มากับน้ำดื่ม

ถ่ายของแพทย์ไบโอ 290909

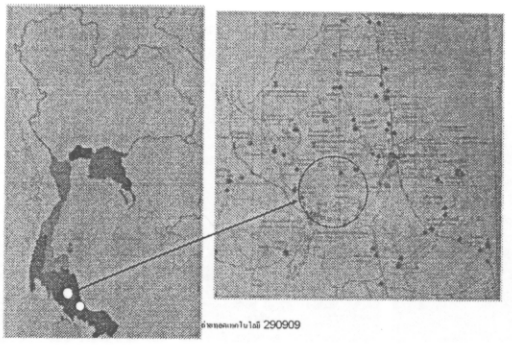
(ก) สารพิษที่เกิดบนเปลือกโลก		(ข) สารพิษที่เกิดจากมือมนุษย์	
ชนิด	อวัยวะที่สะสมและผลกระทบ	ชนิด	อวัยวะที่สะสมและผลกระทบ
โครเมียม	มะเร็งทางเดินอาหาร หากสูดดมจะเกิดมะเร็งปอด	แอมโมเนีย (NH3, NH4)	ไม่มีรายงาน
สารหนู	มะเร็ง หากได้รับในปริมาณ 0.17 µg/l ตลอดชีวิต	แคดเมียม	สะสมในไต มะเร็งปอด (มีครึ่งชีวิตทางชีวภาพ 10-35 ปี)
อลูมิเนียม	ร่างกายขับออกทางปัสสาวะ	ไซยาไนด์	ต่อมไทรรอยด์ และระบบประสาท
ฟลูออไรด์	หากมากเกิน ทำให้ฟันขาวคก กระ ดำ-ด่าง เสี่ยงต่อการเกิดกระดูกผุ	ตะกั่ว	สะสมในกระดูก และมีผลต่อระบบประสาท (ในเด็กและหญิงมีครรภ์)
เหล็ก	เหล็กมีประโยชน์ต่อร่างกาย หากมากเกิน ร่างกายสามารถขับออกได้	1,2-Dichloroethane	ตับ ไต และปอด
แมงกานีส พบคู่กับเหล็ก	ไม่มีรายงานผลเสียหาย	ปรอท	ไต และประสาทส่วนกลาง
		ทองแดง	หาก >3mg/l เกิดการระคายในกระเพาะอาหาร

ถ่ายของแพทย์ไบโอ 290909

ภัยจากน้ำดื่ม...รอบตัวเรา

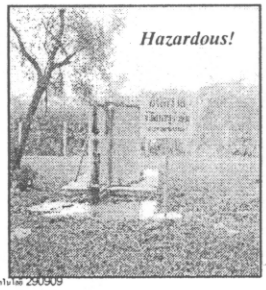
ถ่ายของแพทย์ไบโอ 290909

เหมืองดีบุกร้าง...สารหนูถูกทิ้งไว้เกลื่อนเมือง



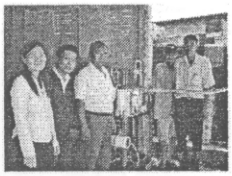
ถ่ายของแพทย์ไบโอ 290909

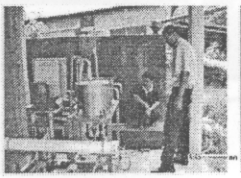
กรณีตัวอย่าง....จากน้ำธรรมชาติที่ร่อนพิบูลย์

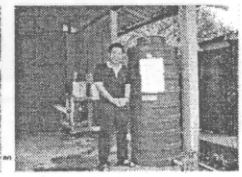


ติดตั้งระบบกรองน้ำดื่มปลอดสารหนู

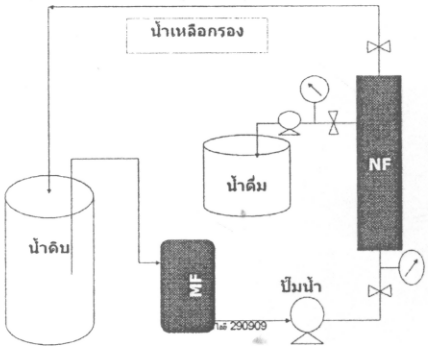
18 Jan. 05



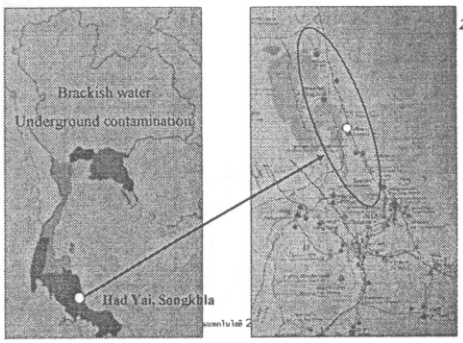




ระบบผลิตน้ำดื่มด้วยเทคโนโลยีเมมเบรน ประกอบด้วยการกรองระดับ MF และ NF



น้ำทะเลรุกแหล่งน้ำใต้ดิน...สทิ้งพระ

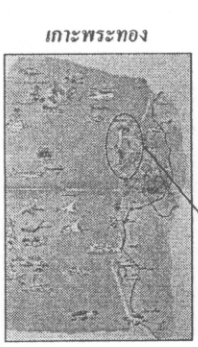


น้ำสนิมเหล็ก...ตำบลคลองรี อำเภอสทิ้งพระ จังหวัดสงขลา

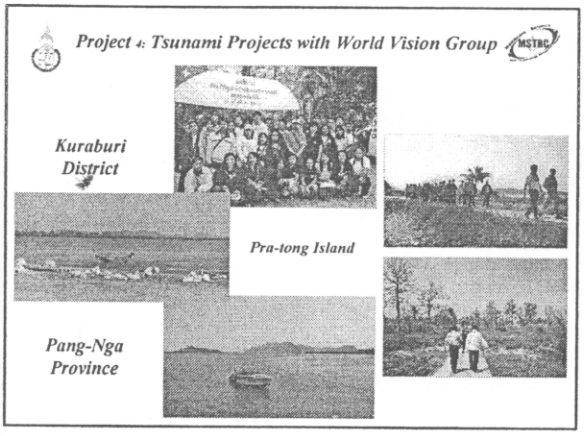
น้ำกร่อย มีสนิมเหล็กปน และมีความกระด้างสูง

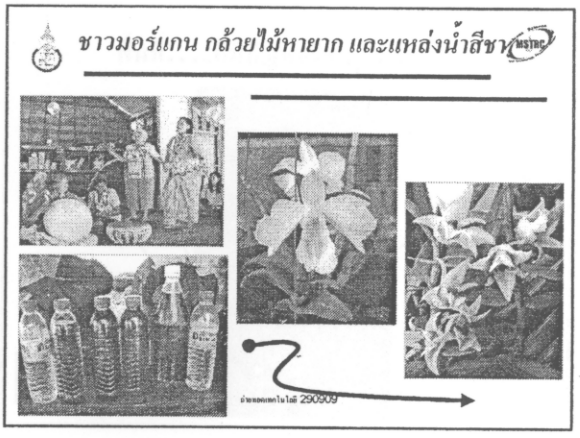
ซึนามิ...ที่คุระบุรี จังหวัดพังงา

เกาะพระทอง

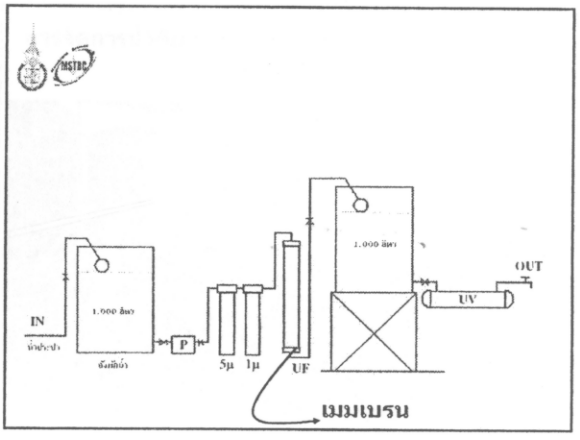


น้ำท่วมหาดใหญ่


Project 4: Tsunami Projects with World Vision Group
Kuraburi District
Pra-tong Island
Pang-Nga Province

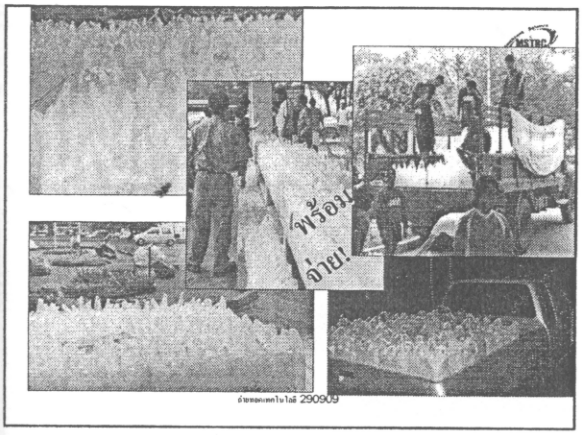

ชาวมอร์แกน กล้วยไม้หายาก และแหล่งน้ำสีชา

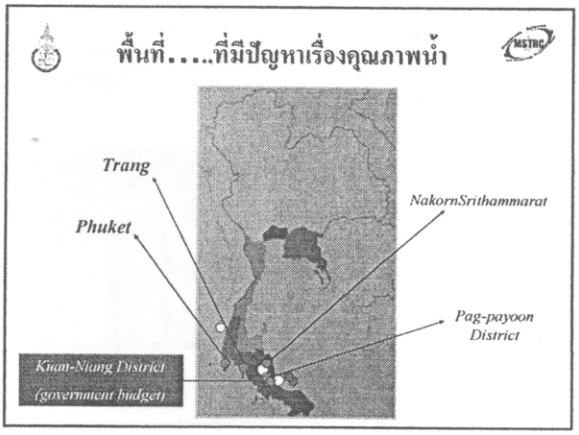
ระบบ UF ผลิตน้ำดื่ม สนับสนุนโดยมูลนิธิคุภนิมิตประเทศไทย
ผมเป็นหมอครับ...
Clean water
2,000 L/hr.
Cartridge MF 5.0 µm and 1.0 µm
Hallow fibre UF (0.01 µm) 4x40 in.


IN
1,000 ลิตร
P
5µ
1µ
UF
1,000 ลิตร
UV
OUT
เมมเบรน

ผลิตน้ำดื่มด้วยเทคโนโลยีเมมเบรน
Dec., 2005
7 วัน 144,000 ขวดลิตร
5 เครื่อง

ขวดรับบริจาค !!
ทำงาน 3 กะ



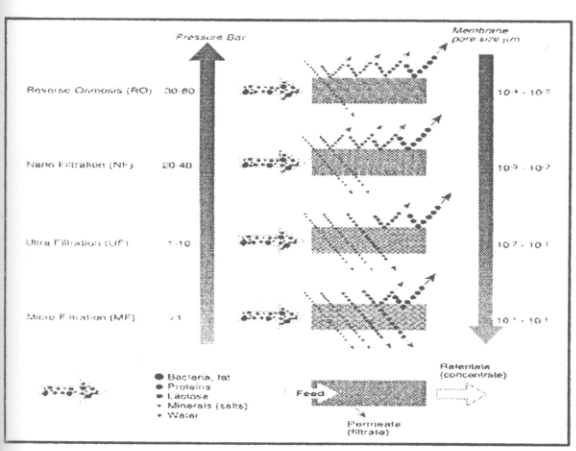


รายงานผลวิเคราะห์/ทดสอบ

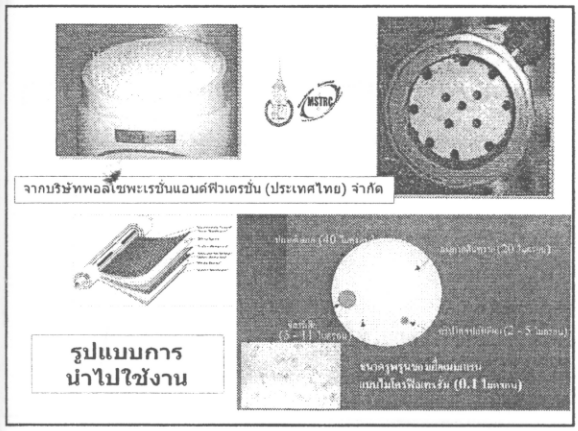
รายการวิเคราะห์	ค่ามาตรฐาน	โรงเรียนปากจ่าวิทยา
• ความเป็นกรด-ด่าง (pH)	6.5-8.5	8.61
• ปริมาณมวลสารที่ละลายในน้ำ (TDS)	ไม่เกิน 500 mg/l	239
• สี	ไม่เกิน 20 HZ	10
• ความขุ่น	ไม่เกิน 20 FAU	2
• ความกระด้าง (as $CaCO_3$)	ไม่เกิน 100 mg/l	78.32
• ซัลเฟต	ไม่เกิน 250 mg/l	43
• คลอไรด์	ไม่เกิน 250 mg/l	97.50
• ไนเตรตคำนวณเป็นไนโตรเจน	ไม่เกิน 4.0 mg/l	1.50
• เหล็ก	ไม่เกิน 0.3 mg/l	0.59
• สารพิษอื่นๆ เช่น สารหนู ตะกั่ว	ไม่เกิน 0.05 mg/l	ไม่พบ

หมายเหตุ คุณภาพน้ำอยู่ในเกณฑ์ที่ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานน้ำบริโภค กระทรวงสาธารณสุข ฉ.135 (พ.ศ 2534)

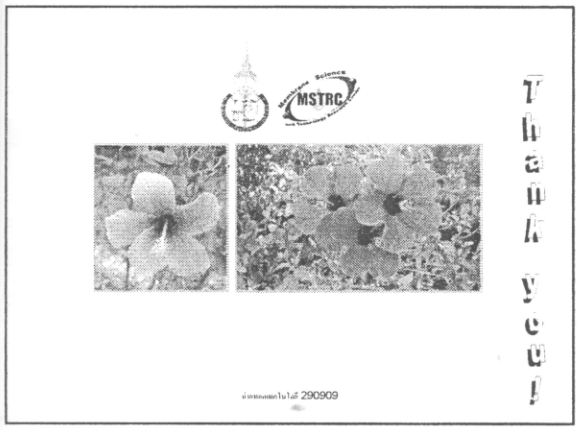
การจัดการน้ำดื่มจากน้ำที่ด้อยคุณภาพด้วยเทคโนโลยีเมมเบรน



ชนิดของสาร	ขนาด (ไมครอน)	กระบวนการของเมมเบรน
เม็ดทราย	100-1000	การกรองหยาบ
แบคทีเรีย เชื้อโรค หรือจุลชีพ	0.3-50	ไมโครฟิวเตรชั่น (MF)
สารแขวนลอยขนาดต่างๆ	0.01-2.0	ไมโคร-อัลตราฟิวเตรชั่น (MF- UF)
ไวรัส และโปรตีน	0.01-0.1	อัลตราฟิวเตรชั่น (UF)
สารอินทรีย์ที่ละลายน้ำ	<0.001-0.1	อัลตรา-นาโนฟิวเตรชั่น (UF- NF) และรีเวอร์สออสโมซิส (RO)
แร่ธาตุ และเกลือ	<0.001-0.003	นาโนฟิวเตรชั่น (NF) – รีเวอร์สออสโมซิส (RO)


จากบริษัทพอลไซพะเรชั่นแอนด์ฟิวเตรชั่น (ประเทศไทย) จำกัด
รูปแบบการ
นำไปใช้งาน

เครื่องกรองน้ำที่มีขายทั่วไปในท้องตลาด
ประกอบด้วย
ก ชุดกรองหยาบ (10 ไมครอน)
ข ชุดกรองจุลินทรีย์ (0.3 ไมครอน)
กำจัดแบคทีเรีย และสนิมเหล็ก
ค ชุดกรองถ่านกัมมันต์
กำจัดกลิ่น สี คลอรีน ตะกั่ว และแคดเมี่ยม
ก ข ก


Thank you!

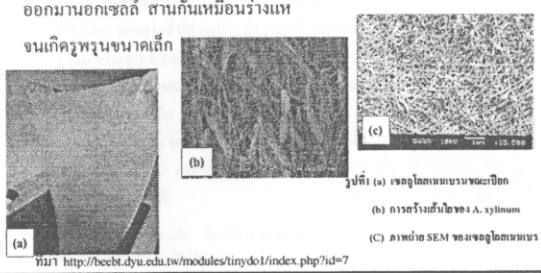
การผลิตเซลลูโลสเมมเบรน โดยระบบเพาะเลี้ยงแบบกึ่งอัตโนมัติ

โดย

สถานวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเมมเบรน
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

เซลลูโลสเมมเบรน คืออะไร...?

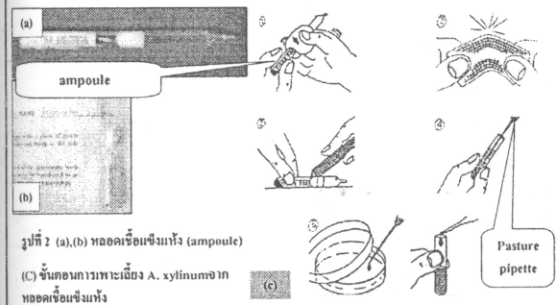
เซลลูโลสเมมเบรน คือ เยื่อบางที่เกิดจากเส้นใยขนาดเล็กๆเพียง 200 นาโนเมตรที่จุลลินทรีย์(Acytobacter xylinum) สร้างขึ้นและปล่อยออกมานอกเซลล์ สานกันเหมือนร่างแห จนเกิดรูพรุนขนาดเล็ก



รูปที่1 (a) เซลลูโลสเมมเบรนขณะเปียก
(b) การสร้างเส้นใยของ A. xylinum
(C) ภาพถ่าย SEM ของเซลลูโลสเมมเบรน

ที่มา http://beebt.dyu.edu.tw/modules/tinyd01/index.php?id=7

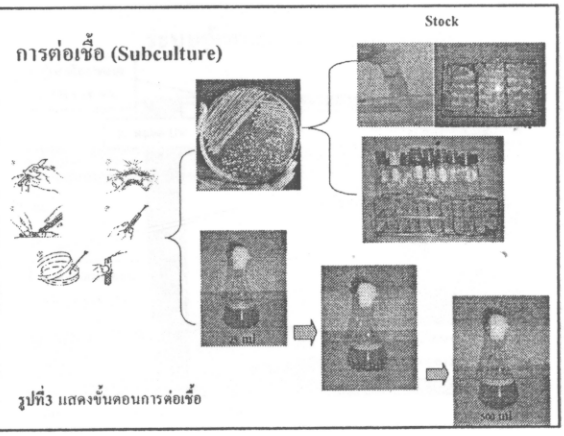
การเพาะเลี้ยง *Acetobacter xylinum* TISTR No.975 จากหลอดเชื้อแข็งแห้ง



รูปที่ 2 (a),(b) หลอดเชื้อแข็งแห้ง (ampoule)
(C) ขั้นตอนการเพาะเลี้ยง A. xylinumจากหลอดเชื้อแข็งแห้ง

(ที่มา http://www.tistr.or.th/mircen/pdf/FM%20-%20MIR%20-%2009%20-%20005%20%20Rev.5.pdf)

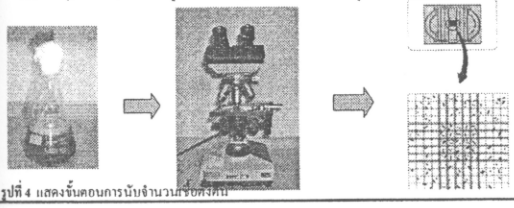
การต่อเชื้อ (Subculture)



รูปที่3 แสดงขั้นตอนการต่อเชื้อ

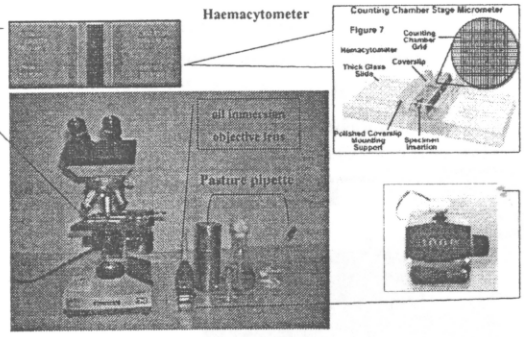
การนับจำนวนเชื้อตั้งต้นด้วยHaemacytometer

- วางกระจกปิด (cover slide) ลงบน Haemacytometer
- ดูดเชื้อด้วยหลอดดูดเชื้อ (pasture pipette) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว มาแตะบริเวณช่องว่างระหว่าง Haemacytometer กับกระจกปิด (cover slide) เพื่อให้สารละลายเข้าไปในช่องว่างดังกล่าว
- ซับสารละลายส่วนเกินออก นำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40 หรือ 100 เท่า (oil immersion objective lens) ของเลนส์ใกล้วัตถุ



รูปที่ 4 แสดงขั้นตอนการนับจำนวนเชื้อตั้งต้น

อุปกรณ์ในการนับจำนวนเซลล์ตั้งต้น



รูปที่5 แสดงอุปกรณ์ในการนับจำนวนเซลล์

การคำนวณหาจำนวนเซลล์ต่อ 1 มิลลิลิตรของตัวอย่าง

เนื่องจาก

สี่เหลี่ยมลูกบาสก์เล็กมีความกว้าง 0.05 mm ยาว 0.05 mm chamber ลึก 0.1 mm

ดังนั้น สี่เหลี่ยมลูกบาสก์เล็กมีปริมาตร = 0.05 x 0.05 x 0.1 mm^3

ถ้านับจำนวนเซลล์ที่เห็นต่อสี่เหลี่ยมลูกบาสก์เล็ก = X เซลล์

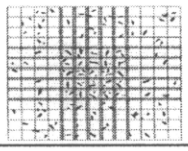
ปริมาตรตัวอย่าง 0.05 x 0.05 x 0.1 mm3 มีแบคทีเรีย = X เซลล์

ปริมาตรตัวอย่าง 1000 mm3 มีแบคทีเรีย = X x 1000 เซลล์

เนื่องจาก 1 ml = 1cc = 1000 mm^3

ดังนั้นสูตรการคำนวณคือ

$$\text{จำนวนเซลล์ / 1 ml} = \frac{\text{X x 1000 เซลล์}}{\text{0.05 x 0.05 x 0.1}}$$



รูปที่6 แสดงตารางบน Heamacytometer

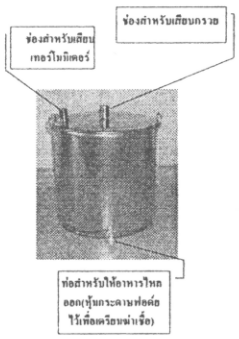
การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงสูตรน้ำมะพร้าว

1) กรองน้ำมะพร้าวด้วยผ้าขาวบาง 3 ชั้น
2) นำน้ำมะพร้าวในข้อ 1 ไปต้มให้เดือด 10-15 นาทีเพื่อไล่ไขมัน เมื่อน้ำมะพร้าวเดือดให้เปิดฝาหม้อเพื่อให้ไขมันได้ระเหยออกไป
3) เตรียมสารอาหารที่มีส่วนประกอบ ดังนี้ Sucrose4% , Peptone 0.5%, Yeast extract 0.5%, Citric 0.0115% และ Na_2HPO_4 0.033% โดยละลายส่วนประกอบทั้งหมดลงในน้ำมะพร้าวที่ต้มไล่ไขมันแล้ว ปรับค่าพีเอชด้วย กรด HCl เข้มข้น 1.94 N จนได้ค่า pH 4
4) เทใส่ขวด Duran ขนาด 1 ลิตรแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C ภายใต้ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

หมายเหตุ (%W/V) หมายถึง น้ำหนักของสาร(กรัม) ต่อปริมาตรของสารละลาย 100 มิลลิลิตร

รูปที่7 แสดงลักษณะของอาหารเพาะเลี้ยงซึ่งบรรจุอยู่ในขวด Duran

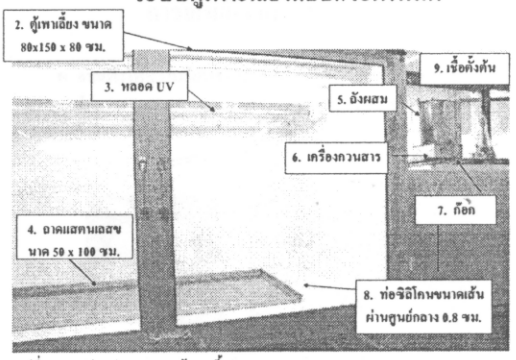
การเตรียมระบบเพาะเลี้ยงแบบกึ่งอัตโนมัติ



1. ถังผสมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 เซนติเมตร ความสูง 20เซนติเมตร (ปริมาตร 6.285 ลิตร) ฝาหม้อประกอบด้วยช่องสำหรับเสียบเทอร์โมมิเตอร์(เส้นผ่านศูนย์กลางภายในขนาด 1.0 เซนติเมตร) และช่องสำหรับเสียบกรวย(เส้นผ่านศูนย์กลางภายในขนาด 1.8เซนติเมตร) ดังรูปที่1.1 (A)

รูปที่8 แสดงลักษณะของถังผสม

ระบบตู้เพาะเลี้ยงแบบกึ่งอัตโนมัติ



รูปที่9 แสดงส่วนประกอบของตู้เพาะเลี้ยง

การฆ่าเชื้อภายในตู้เพาะเลี้ยง

ก่อนทำการผลิตเมมเบรนหรือเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ใดๆ ต้องทำการฆ่าเชื้อภายในตู้เพาะเลี้ยงก่อน โดยการเช็ดด้วย 70% Ethanol แล้วเปิด UV ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

การถ่ายเชื้อ *A. xylinum* เพื่อผลิตเซลลูโลสเมมเบรน

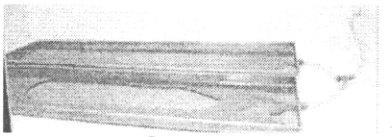
- วางถังผสมบนเครื่องกวนสาร (Magnetic stirrer)
- ต่อท่อซิลิโคนกับถังผสมและถาดเพาะเลี้ยง โดยปิดวาวไว้ก่อน
- เทอาหารเพาะเลี้ยงที่ฆ่าเชื้อแล้วลงในถังผสมทางช่องเสียบกรวยที่ฝาถัง
- เติมเชื้อ *A. xylinum* ที่เพาะเลี้ยงไว้ในอาหารสูตรเดียวกันเป็นเวลา 3 วันและได้นับจำนวนเซลล์เริ่มต้นแล้ว โดยเติมลงไปในอัตราส่วน 1x106 เซลล์ต่อหนึ่งมิลลิลิตรของอาหาร

หมายเหตุ อุปกรณ์ทุกอย่างต้องผ่านการฆ่าเชื้อ

รูปที่10 แสดงอุปกรณ์ในการถ่ายเชื้อ

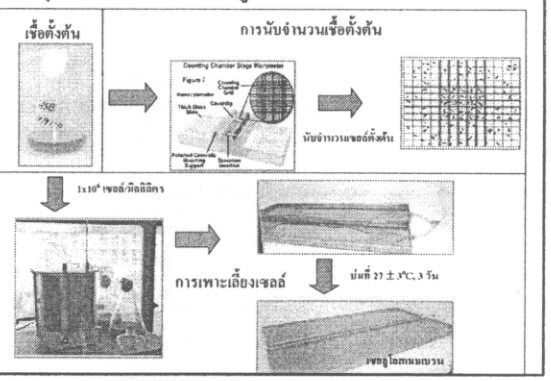
การถ่ายเชื้อ *A. xylinum* เพื่อผลิตเซลลูโลสเมมเบรน (ต่อ)

- หมุน Speed Control ไปที่ระดับ 4 กวนเป็นเวลา 5 นาที
- เปิดวาวให้อาหารเพาะเลี้ยงไหลลงสู่ถาดเพาะเลี้ยงจนหมด
- ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 27±2 องศาเซลเซียส
- เก็บเกี่ยวเมมเบรน



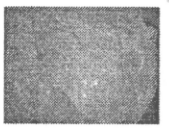
รูปที่ 11 แสดงการปล่ออาหารเข้าสู่ถาดเพาะเลี้ยง

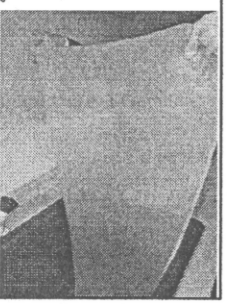
สรุปขั้นตอนการผลิตเซลลูโลสเมมเบรนแบบกึ่งอัตโนมัติ



การเก็บเกี่ยวเมมเบรน

- นำแผ่นเซลลูโลสที่ผลิตได้มาต้มที่มีอุณหภูมิ 90°C , 20 นาที
- แช่ 1.5 N NaOH , 2 วัน
- ล้างจนกระทั่งน้ำล้างมีค่า pH เป็นกลาง
- แช่ในสารละลาย 1.94 N HCl, 1 ชั่วโมง
- ล้างจนกระทั่งน้ำล้างมีค่า pH เป็นกลาง

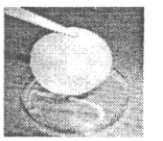


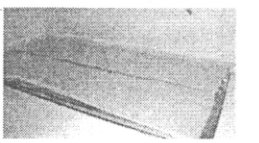


รูปที่ 13 แสดงลักษณะของเซลลูโลสเมมเบรนขณะเปียก

การเก็บเกี่ยวเมมเบรน (ต่อ)

- อบแห้งให้ความร้อนจากหลอดไฟทังสเตน ขนาดกำลัง 100 W จำนวน 4 หลอด อุณหภูมิภายในตู้คือ 32 ±30C ตลอด 24 ชั่วโมง นาน 4 วัน





รูปที่ 14 แสดงลักษณะของเซลลูโลสเมมเบรนที่ตากแห้งแล้ว

การทดสอบเมมเบรนและการประยุกต์ใช้

- การศึกษาเปรียบเทียบความหนา-น้ำหนักทั้งในขณะแห้งและเปียก
- การศึกษาฟลักซ์น้ำผ่านเซลลูโลสเมมเบรน
- สภาพให้ซึมผ่านของน้ำ (Lp) หรือสภาพนำน้ำ (Hydraulic conductivity)
- การศึกษาขนาดรูและความพรุนของเซลลูโลสเมมเบรน
- การทดสอบการกรองน้ำทิ้งจากโรงพยาบาล
- การทดสอบการกรองน้ำทิ้งจากโรงงานยาง
- การทดสอบการกรองจุลินทรีย์
- การศึกษาผลของความทนกรด-ด่างต่อเซลลูโลสเมมเบรน
- การกำจัดสารตกค้างโดยการต้ม
- การกรองน้ำที่มีสนิมเหล็ก

การศึกษาเปรียบเทียบความหนาและน้ำหนัก ทั้งในขณะแห้งและเปียก

จากการทดลองพบว่าเมมเบรนชนิด CE(CCB) มีมวลและความหนาทั้งขณะเปียก และขณะแห้งประมาณสองเท่าของเมมเบรนชนิด CE(SHB) ดังข้อมูลที่แสดงในตารางที่ 1

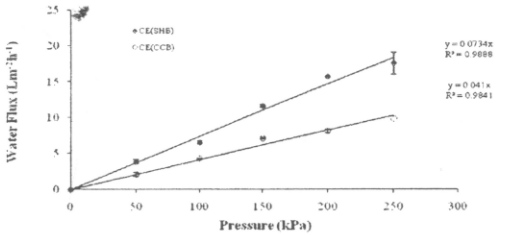
ตารางที่ 1 แสดงค่าน้ำหนักและความหนาของ CE(SHB) และ CE(CCB)

รายการที่ศึกษา	เมมเบรน CE(SHB)	เมมเบรน CE(CCB)
น้ำหนักเปียก (g)	9.336 ± 0.084	15.166 ± 0.316
น้ำหนักแห้ง (g)	0.0574 ± 0.0009	0.1146 ± 0.0064
ความหนาขณะเปียก (mm)	1.28 ± 0.02	2.41 ± 0.05

หมายเหตุ CE(SHB) คือ เซลลูโลสสูตรน้ำตาล, CE(CCB) คือ เซลลูโลสสูตรน้ำมพร้าว

การศึกษาฟลักซ์น้ำผ่านเซลลูโลสเมมเบรน

จากการศึกษาเพอมิเอทฟลักซ์น้ำผ่านของ CE(SHB) และ CE(CCB) พบว่า CE(SHB) ให้ค่าเพอมิเอทฟลักซ์ของน้ำกลั่นสูงกว่า CE(CCB) ประมาณ 2 เท่า ดังรูปที่15 แสดงว่าความพรุนของ CE(SHB) น่าจะมีค่ามากกว่า CE(CCB)



รูป15 แสดงการเปรียบเทียบเพอมิเอทฟลักซ์ของน้ำกลั่นผ่านเมมเบรน CE(SHB) และ CE(CCB)

สภาพให้ซึมผ่านของน้ำ (Lp) หรือสภาพนำน้ำ (Hydraulic conductivity)

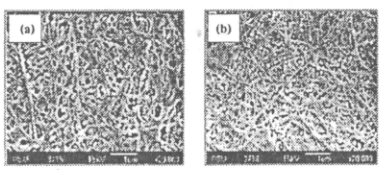
จากการศึกษาพบว่า CE(SHB) ยอมให้น้ำผ่านได้มากกว่า CE(CCB) ประมาณ 2.5 เท่า แสดงให้เห็นว่า CE(SHB) น่าจะมีความพรุนมากกว่า CE(CCB) ด้วย

ตารางที่ 2 แสดงค่าสภาพการยอมให้น้ำผ่าน (L_p) ของเซลลูโลสเมมเบรนที่ผลิตภายใต้เงื่อนไขต่างๆ

ชนิดของเซลลูโลสเมมเบรน	L_p ($m^3N^{-1}s^{-1}$)
CE(SHB)	20.41×10^{-12}
CE(CCB)	8.59×10^{-12}

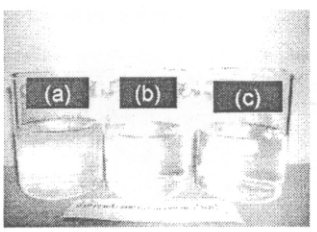
การศึกษาขนาดรูและความพรุนของเซลลูโลสเมมเบรน

จากภาพถ่ายภาพจาก SEM ที่กำลังขยาย 20,000 เท่า (โดย ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ ม.สงขลานครินทร์) พบว่า CE(SHB) มีพื้นที่ของรูพรุนมากกว่า CE(CCB) ดังรูป ซึ่งสอดคล้องกับค่าเพอร์มิเอทฟลักซ์และสภาพการยอมให้น้ำผ่าน(Lp) ข้างต้น ส่วนขนาดรูประมาณ 0.1 μm ตามที่สาฟีครี (2548) อย่างไรก็ดี เมื่อศึกษาโดยใช้ค่า Molecular Weight Cut Off โดยปริตนา (2550) พบว่ามีขนาดเทียบเท่ากับ 0.01 μm ขนาดของรูจัดเป็นกลุ่มของเมมเบรนระดับอัลตรา ซึ่งสามารถกรองโปรตีนบางชนิดได้ และสามารถกรองจุลินทรีย์ได้ 100%



รูป16 แสดงภาพ SEM ที่กำลังขยาย 20,000 เท่า (a) คือ CE(SHB) และ (b) คือ CE(CCB)

การทดสอบการกรองน้ำทิ้งจากโรงพยาบาล



รูปที่ 17 แสดงลักษณะของน้ำ
(a) ตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงพยาบาล
(b) ลักษณะของน้ำที่ผ่านการกรองด้วย CE(SHB)
(c) ลักษณะของน้ำที่ผ่านการกรองด้วย CE(CCB)

ตารางที่3 แสดงค่าของสารแขวนลอยที่อยู่ในน้ำทิ้งจากโรงพยาบาลที่กรองด้วย CE(CCB)

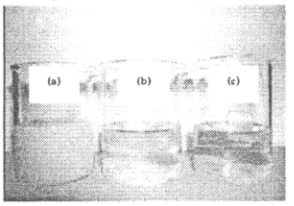
รายการที่วิเคราะห์	วิธีการวิเคราะห์	หน่วย	น้ำทิ้งจากโรงพยาบาลสงขลานครินทร์	
			ไม่ผ่านการกรอง	กรองผ่าน CE(CCB)
Color	Photometric Method	HAZEN	29	19
SS	Dried at 103-105°C	mg/l	10	1
TDS	TDS meter	mg/l	216	223
COD	Photometric Method	mg/l	650	348
BOD_5	5-Day BOD test	mg/l	30	79
TKN	Photometric Method	mg/l	36	52
NH_3^+	Photometric Method	mg/l	3.45	4.34
Flux	กรองด้วยเครื่องกรองแบบปิดความดันต้น 250kPa	$Lm^{-2}h^{-1}$	-	22.92

การทดสอบการกรองน้ำทิ้งจากโรงพยาบาล (ต่อ)

- จะเห็นว่า CE(CCB) มีประสิทธิภาพในการกักกันสารแขวนลอยทั้งอินทรีย์อนินทรีย์ และอนุภาคของสีได้ระดับดีถึงดีมาก และสามารถกักกันสารอินทรีย์ในรูป COD ได้ระดับหนึ่ง (กักกันสี 34.48%, ของแข็งแขวนลอย (SS) 90%, COD ได้ 46.46%)
- แต่ไม่สามารถกักกันสารประกอบไนโตรเจนในรูป TKN และ NH_3 ได้

การทดสอบการกรองน้ำทิ้งจากโรงงานยาง

จากการทดสอบการกรองน้ำทิ้งจากโรงงานยาง ในอำเภอสะเดา จังหวัดสงขลา พบว่าเปลี่ยนจากสีครีมขุ่น เป็นสีเหลืองอ่อนใส แสดงว่า CE(CCB) สามารถกักกันสารแขวนลอยจำพวกโปรตีนได้ระดับหนึ่ง และเมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างน้ำทิ้งที่ผ่านการกรองด้วย CE(SHB) และ CE(CCB) จากลักษณะภายนอกด้วยตาเปล่าพบว่ามีความใสไม่แตกต่างกัน ดังรูป



รูปที่ 18
- ลักษณะของน้ำทิ้งที่ผ่านการกรองด้วย CE(SHB)
(c) ลักษณะของน้ำทิ้งที่ผ่านการกรองด้วย CE(CCB)

ตารางที่4 แสดงค่าของสารแขวนลอยที่อยู่ในน้ำทิ้งจากโรงงานยางที่ผ่านการกรองด้วย CE(CCB)

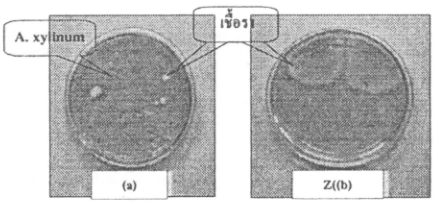
รายการที่วิเคราะห์	วิธีการวิเคราะห์	หน่วย	น้ำทิ้งจากโรงงานยาง	
			ไม่ผ่านการกรอง	กรองผ่าน CE(CCB)
Color	Photometric Method	HAZEN	7,940	369
SS	Dried at 103-105°C	mg/l	233	40
TDS	TDS meter	mg/l	25,900	25,150
COD	Photometric Method	mg/l	45,000	12,600
BOD_5	5-Day BOD test	mg/l	13,200	9,300
TKN	Photometric Method	mg/l	28	25
NH_3^+	Photometric Method	mg/l	0.21	0.10
Flux	กรองด้วยเครื่องกรองแบบปิดตายที่ความดัน 250 kPa	$Lm^{-2}h^{-1}$	-	10.56

การทดสอบการกรองน้ำทิ้งจากโรงงานยาง (ต่อ)

- จากตารางจะเห็นว่าน้ำทิ้งที่ยังไม่ผ่านการกรองมีค่า COD และ BOD5 สูงมาก และพบว่าหลังจากกรองผ่าน CE(CCB) แล้วพบว่า เมมเบรนมีประสิทธิภาพในการกักกันของแข็งแขวนลอย (อนุภาคเนื้อยาง) และสีได้ดีมาก(กล่าวคือมีประสิทธิภาพการกักกันร้อยละ 88.83 และ 95.35 ตามลำดับ
- และเนื่องด้วยลักษณะน้ำเสียของโรงงานยางที่มีสารแขวนลอยสูงและเป็นเนื้อยาง ซึ่งสามารถแยกออกได้ด้วยเมมเบรนได้ดี จึงส่งผลให้ค่าความสกปรกในรูป COD และ BOD5 ลดลงอย่างชัดเจน ถึงร้อยละ 72 และ 29.54 ตามลำดับ
- ส่วนประสิทธิภาพในการกักกันสารประกอบไนโตรเจนในรูป TKN และ NH_3 ค่อนข้างต่ำ เนื่องจากสารประกอบกลุ่มนี้อยู่ในรูปละลายน้ำและมีขนาดโมเลกุลเล็กกว่าขนาดรูของเมมเบรนมาก

การทดสอบการกรองจุลินทรีย์

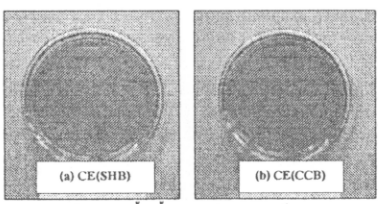
การตรวจจุลินทรีย์ในอาหารที่เหลือจากการผลิตเซลล์โลสเมมเบรน ซึ่งยังไม่ผ่านการกรองด้วยเซลลูโลสเมมเบรน



รูป19 แสดงผลการตรวจจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ผ่านการกรองด้วยเซลลูโลสเมมเบรน
(a) คือลักษณะของโคโลนีของ A. xylinum และลักษณะของโคโลนีของเชื้อรา(โคโลนีใหญ่สีขาว)
(b) คือลักษณะของโคโลนีของเชื้อราในรูป (a) (โคโลนีใหญ่สีขาว) ซึ่งนำมาเพาะเลี้ยงในหน่วยเจริญเต็มที่(ตรึงสปอร์สีเขียว)

การทดสอบการกรองจุลินทรีย์ (ต่อ)

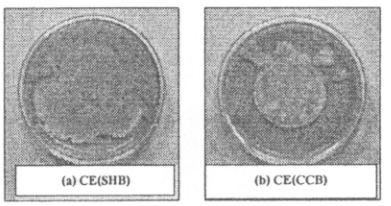
จากการตรวจจุลินทรีย์ในอาหารที่เหลือจากการผลิตเซลล์โลสเมมเบรน ที่ผ่านการกรองด้วย CE(SHB) และ CE(CCB) ไม่พบการเจริญของจุลินทรีย์ใดๆ



รูปที่ 20 ผลการตรวจจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อหลังจากผ่านการกรองด้วยเมมเบรน
(a) CE(SHB) และ (b) CE(CCB)

การทดสอบการกรองจุลินทรีย์ (ต่อ)

- ตรวจสอบจุลินทรีย์ที่ติดค้างอยู่บนเมมเบรน



รูปที่ 21 ผลการตรวจจุลินทรีย์บนแผ่นเซลลูโลสเมมเบรนทั้งสองชนิดหลังการนำไปใช้กรองอาหารเชื้อ

การศึกษาผลของความทนกรด-ด่างต่อเซลลูโลสเมมเบรน

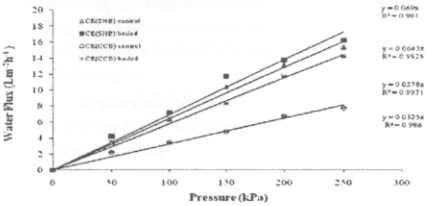
จากการศึกษาผลของความเป็นกรด-ด่างต่อ CE(CCB) โดยการแช่ในสารละลาย HCl pH 4 และแช่ในสารละลาย NaOH pH 10 เป็นเวลา 120 ชั่วโมง (5 วัน) พบว่า CE(CCB) มีมวลไม่เปลี่ยนแปลง แสดงว่าเซลลูโลสทนกรดและด่างได้ดีและสามารถใช้กรองได้ต่อเนื่องนาน 5 วัน

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบมวลของเมมเบรนก่อนและหลังการแช่ในกรดและด่าง

เงื่อนไขที่ทำการศึกษา	มวลของเซลลูโลสเมมเบรนชนิด CE(CCB) (mg)		
	Control	HCl	NaOH
น้ำหนักแห้ง	2.7 ± 0.2	2.7 ±0.2	2.6 ± 0.2
น้ำหนักหลังแช่ 30นาที	5.4 ± 0.2	5.4 ±0.2	5.6 ± 0.3
น้ำหนักหลังแช่ 5 วัน	5.6 ± 0.2	5.5 ±0.3	5.7 ± 0.5

การกำจัดสิ่งตกค้างโดยการต้ม

- การต้มเซลลูโลสเมมเบรนเป็นเวลา 1ชั่วโมง ช่วยเพิ่มสภาพการซึมผ่านของน้ำ (Lp) กล่าวคือเมมเบรนชนิด CE(SHB) สูงขึ้น 1.07 เท่า และ CE(CCB) สูงขึ้น 1.78 เท่า
- คาดว่าการต้มช่วยกำจัดสิ่งตกค้างที่ผิวเมมเบรนออกได้ระดับหนึ่ง ซึ่งเห็นผลชัดเจนในเมมเบรนที่มีไขมันจากอาหารเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ที่มีน้ำมะพร้าวเป็นส่วนประกอบ



รูปที่22 เปรียบเทียบเพอมิเอทฟลักซ์ของน้ำกลั่นผ่าน CE(SHB) และ CE(CCB) หลังผ่านการต้ม

การกรองน้ำที่มีสนิมเหล็ก

- การทดสอบการกรองน้ำสนิมเหล็ก โดยเก็บตัวอย่างน้ำที่มีสนิมเหล็ก ณ ตำบลปริก อำเภอสะเดา จังหวัดสงขลา โดยทำการสุ่มตรวจตัวอย่าง 3 จุด คือ หมู่ที่ 1 (หมู่บ้านใหม่-ทุ่งศาลาดาล), หมู่ที่ 4 (หมู่บ้านตะเตียนเภา) และหมู่ที่ 9 (หมู่บ้านยางเกาะ)
- ในการทดลองนี้ได้ทำการตรวจวัดปริมาณสนิมเหล็กในน้ำ ด้วย Iron Test Kit รุ่น HI 3834 บริษัท Hanna instruments ซึ่งสามารถวัดค่าเหล็กในช่วง 0-5 ppm

การกรองน้ำที่มีสนิมเหล็ก (ต่อ)

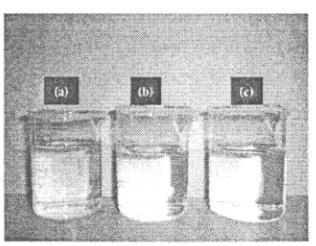
จากการทดสอบพบว่าเซลลูโลสเมมเบรนทั้งสองสูตร คือ CE(CCB) และ CE(SHB) สามารถกรองสนิมเหล็กได้ร้อยเปอร์เซ็นต์ดาราง

ตารางที่6 แสดงค่าสนิมเหล็กในน้ำก่อนและหลังการกรองผ่านเมมเบรน

ตัวอย่างน้ำ	ค่าสนิมเหล็ก (ppm)		
	ก่อนกรอง	กรองผ่าน CE(CCB)	กรองผ่าน CE(SHB)
น้ำกลั่น	0	0	0
หมู่ที่ 1 (หมู่บ้านใหม่-ทุ่งศาลาดาล)	3-4	0	0
หมู่ที่ 4 (หมู่บ้านตะเตียนเภา)	1-2	0	0
หมู่ที่ 9 (หมู่บ้านยางเกาะ)	0.1	0	0

การกรองน้ำที่มีสนิมเหล็ก (ต่อ)

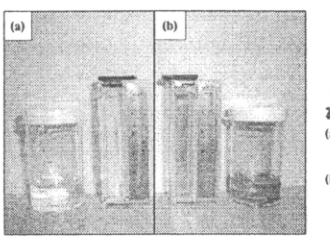
เปรียบสีของน้ำสนิมเหล็กและน้ำสนิมเหล็กที่ผ่านการกรองด้วยเมมเบรน



รูปที่ 23
(a) น้ำสนิมเหล็ก
(b) น้ำสนิมเหล็กที่ผ่านการกรองด้วย CE(SHB)
(c) น้ำสนิมเหล็กที่ผ่านการกรองด้วย CE(CCB)

การกรองน้ำที่มีสนิมเหล็ก (ต่อ)

เปรียบเทียบการวัดค่าสนิมเหล็กของน้ำสนิมเหล็กและน้ำสนิมเหล็กที่ผ่านการกรองด้วยเมมเบรน



รูปที่ 24
(a) น้ำสนิมเหล็กที่กรองด้วย CE(CCB)
(b) น้ำสนิมเหล็กที่ที่ยังไม่ผ่านการกรอง

การประยุกต์ใช้เซลลูโลสเมมเบรนในด้านอื่นๆ

บริษัท ไทยนาโนเซลลูโลส จำกัด จากการสนับสนุน โครงการสนับสนุนการพัฒนาเทคโนโลยีของอุตสาหกรรมไทย(iTAP) ภายใต้กำกับของศูนย์บริหารจัดการเทคโนโลยี(TMC) สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) และศูนย์บ่มเพาะวิสาหกิจมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ,สำนักนวัตกรรมแห่งชาติ และ สำนักงานส่งเสริมวิสาหกิจขนาดกลางและขนาดย่อม(สสว.)

ได้นำคุณสมบัติเด่นของเส้นใยเซลลูโลส คือ สีขาวนวล เรียบนุ่ม เหนียว บริสุทธิ์ โปร่งแสง มีรูพรุนขนาดเล็ก 200-300 นาโนเมตร ทำให้อุ้มน้ำได้ดี ทนกรด ด่าง รังสี และความร้อน และให้ความรู้สึกเย็นเมื่อสัมผัส มาผลิตผ้าก๊อตแผ่นมาร์คหน้า แผ่นติดใต้ขอบตา และแผ่นปิดรอบลำตัว สำหรับธุรกิจสปา ในอนาคตยังคาดว่าสามารถนำเซลลูโลสชีวภาพมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์อื่นๆ อีก ได้แก่ แผ่นฟิล์มบริโภคได้สำหรับบรรจุอาหาร และเครื่องปรุง

http://news.pharmacy.psu.ac.th/index.php?option=com_content&task=view&id=213&Itemid=1

การประยุกต์ใช้เซลลูโลสเมมเบรนในด้านอื่นๆ

- ด้วยคุณสมบัติที่ไม่แนบติดอยู่กับบาดแผลและสามารถปรับเปลี่ยนรูปร่างได้ง่าย ทั้งยังมีลักษณะโปร่งใส ทำให้บรรดาแพทย์ในสหรัฐอเมริกาสนใจทดลองใช้เซลลูโลสในการตกแต่งบาดแผล
- เนื่องจากเส้นใยเซลลูโลสจากแบคทีเรียมีลักษณะละเอียดและแข็งแรง สามารถคงรูปร่างอยู่ได้แม้ถูกหล่อและสามารถถ่ายทอดเสียงได้เร็วพอๆ กับอะลูมิเนียม โดยให้เสียงก้องเพียงน้อยนิด บริษัทโซนี่ ได้ใช้เซลลูโลสในการผลิตหูฟังคุณภาพเยี่ยมที่เรียกว่า "ไบโอเซลลูโลส"
- คุณสมบัติของเซลลูโลสที่ไม่ได้ให้พลังงานกับร่างกายแต่อย่างใด อาหารประเภทนี้จึงทานได้โดยไม่ต้องกลัวอ้วน และนั่นอาจทำให้เซลลูโลสกลายเป็นสารช่วยลดความอ้วนได้อย่างน่าอัศจรรย์

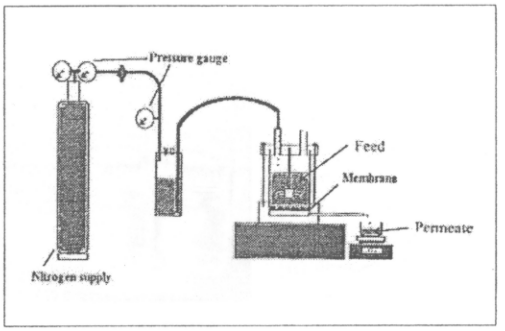
ที่มา http://web.ku.ac.th/schoolnet/snet4/feb18/cellulos.htm โดยหทัย คำปิงส์ "ปฏิบัติการผลิตเซลลูโลสด้วยจุลชีพ"

ขอบคุณสำหรับการรับฟัง

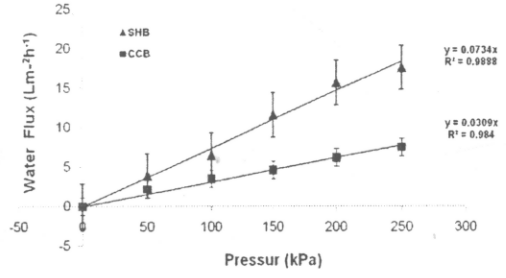
สถานวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเมมเบรน
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

- การตรวจคุณภาพของเยื่อกรอง

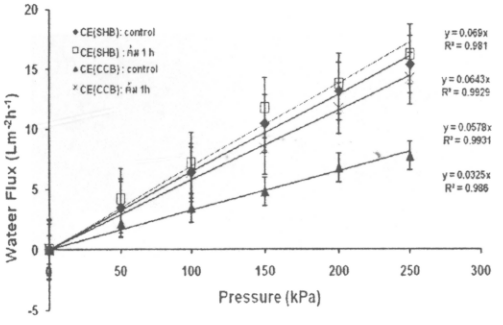
การไหลผ่านของน้ำภายใต้ความดัน



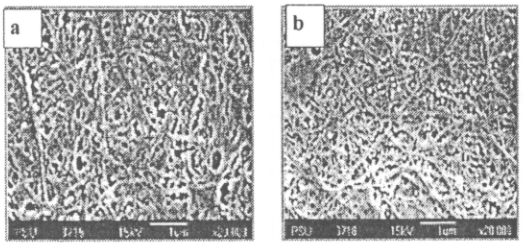
ผลการกรองน้ำ



ปรับปรุงอัตราการไหลผ่านของน้ำโดยการต้ม

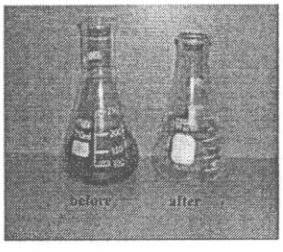


ขนาดรู จำนวนรู พื้นที่รู



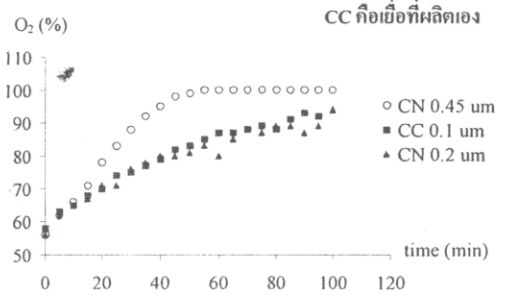
a คือ CE-SHB b คือ CE-CCB

กรองน้ำทิ้งจากโรงงานปาล์ม



การกรองน้ำทิ้งจากโรงงานปาล์ม โดยใช้เยื่อกรองซินิคเซลลูโลสที่ผลิตจากจุลินทรีย์ *A. xylinum*) ก่อน (before) และหลัง (after) การกรองผ่านเยื่อเซลลูโลส

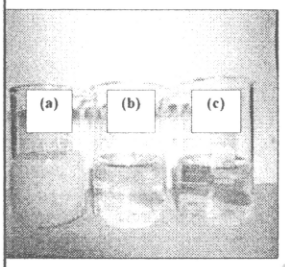
การให้ออกซิเจนผ่าน



กรองน้ำทิ้งจากโรงพยาบาล มอ

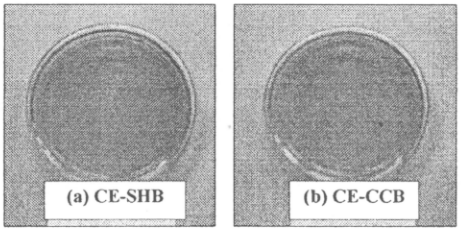
แสดงลักษณะของน้ำ
(a) ตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงพยาบาล
(b) ลักษณะของน้ำที่ผ่านการกรองด้วย CE-SHB
(c) ลักษณะของน้ำที่ผ่านการกรองด้วย CE-CCB

กรองน้ำทิ้งจากโรงงานยาง



แสดงลักษณะของน้ำ
(a) น้ำทิ้งจากโรงงานยาง
(b) ลักษณะของน้ำทิ้งที่ผ่านการกรองด้วย CE-SHB
(c) ลักษณะของน้ำทิ้งที่ผ่านการกรองด้วย CE-CCB

กรองจุลินทรีย์



ความทนทานต่อกรดและด่าง

เงื่อนไขที่ทำการศึกษา	มวลของเซลลูโลสเมมเบรนชนิด CE-CCB (mg)		
	ชุดควบคุม	แช่ในกรด HCl	แช่ในด่าง NaOH
น้ำหนักแห้ง	2.7 ± 0.2	2.7 ± 0.2	2.6 ± 0.2
น้ำหนักหลังแช่ 30 นาที	5.4 ± 0.2	5.4 ±0.2	5.6 ± 0.3
น้ำหนักหลังแช่ 5 วัน	5.6 ± 0.2	5.5 ± 0.3	5.7 ± 0.5

กรองสนิมเหล็กในน้ำ

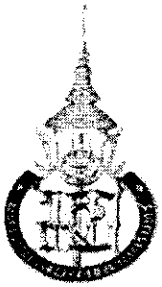
ตัวอย่างน้ำ	ค่าสนิมเหล็ก (ppm)	
	ก่อนกรอง	กรองผ่าน CE(CCB)
น้ำกลั่น	0	0
หมู่ที่ 1 (หมู่บ้านใหม่-ทุ่งศาลาดาล)	3-4	0
หมู่ที่ 4 (หมู่บ้านตะเตียนเภา)	1-2	0
หมู่ที่ 9 (หมู่บ้านยางเภา)	0.1	0

เปรียบเทียบเซลลูโลสเมมเบรนที่ผลิตได้จาก *Acetobacter xylinum* TISTR No.975 ด้วยอาหารเพาะเลี้ยงสูตร SHB และ CCB

รายการที่ศึกษา	เมมเบรน C-SHB	เมมเบรน C- CCB
น้ำหนักเปียก (g)	9.336 ± 0.084	15.166 ± 0.316
น้ำหนักแห้ง (g)	0.0574 ± 0.0009	0.1146 ± 0.0064
ความหนาขณะเปียก (mm)	1.28 ± 0.02	2.41 ± 0.05

คำถาม

โครงการวิจัยเรื่อง "การผลิตเยื่อกรองเซลลูโลสระดับไมโครโดยระบบเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์แบบกึ่งอัตโนมัติเพื่อใช้ในกระบวนการเตรียมน้ำดิบสำหรับการผลิตน้ำดื่มชุมชน" งบประมาณแผ่นดินปี 2549-2551



แบบตอบรับการเข้าร่วมฝึกอบรมโครงการ

" การผลิตเยื่อกรองเซลลูโลสโดยระบบเพาะเลี้ยงแบบกึ่งอัตโนมัติ"

วันจันทร์ที่ 29 กันยายน 2552 เวลา 8.30 – 16.30 น.

ณ ห้อง P 205 (ชั้น 2) และ สถานวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเมมเบรน (ชั้น 4)

ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ข้าพเจ้า (นาย/นาง/นางสาว)....โสหัส.....เจริญศรี.....**อาชีพ**....ผู้ผลิตวุ้นมะพร้าว.....

หน่วยงาน 325/10 ถ.เสน่ห์ อ.หาดใหญ่ **ตำแหน่ง** อ. สงขลา

โทรศัพท์.....084-0691201.....**โทรสาร**.....**E-mail**.....

ชื่อผู้เข้าร่วมฝึกอบรม

1. ชื่อ – สกุล .....โสหัส.....เจริญศรี.....

หมายเลขโทรศัพท์ ..... .084-0691201.....

2. ชื่อ – สกุล .....~~วิรวรรณ.....ศรีจันทร์~~ ไม่มา.....

หมายเลขโทรศัพท์ .....

ลงชื่อ.....

(.....โสหัส.....เจริญศรี.....)

(หัวหน้าหน่วยที่เกี่ยวข้อง)

รับจำนวนจำกัด

กรุณาส่งแบบตอบรับมายัง คุณบุญนภา วัฒนวาที โทร. 074-288749 โทรสาร 074-288754 หรือแจ้งทาง e-mail :Boonnapa.w@psu.ac.th ภายในวันที่ 20 กันยายน 2552 จักขอบคุณยิ่ง

โครงการวิจัยเรื่อง "การผลิตเยื่อกรองเซลลูโลสระดับไมโครโดยระบบเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์แบบกึ่งอัตโนมัติเพื่อใช้ใน กระบวนการเตรียมน้ำดิบสำหรับการผลิตน้ำดื่มชุมชน" งบประมาณแผ่นดินปี 2549-2551

แบบตอบรับการเข้าร่วมฝึกอบรมโครงการ

" การผลิตเยื่อกรองเซลลูโลสโดยระบบเพาะเลี้ยงแบบกึ่งอัตโนมัติ"

วันจันทร์ที่ 29 กันยายน 2552 เวลา 8.30 – 16.30 น.

ณ ห้อง P 205 (ชั้น 2) และ สถานวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเมมเบรน (ชั้น 4)

ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ข้าพเจ้า (นาย/นาง/นางสาว) หมอมงคล ณ สงขลา **อาชีพ** วิทยากร

หน่วยงาน ภาควิชาฟิสิกส์ **ตำแหน่ง** นักวิจัย

โทรศัพท์ 074-386539 **โทรสาร** 074-386539 **E-mail**

ชื่อผู้เข้าร่วมฝึกอบรม

1. **ชื่อ – สกุล** หมอมงคล ณ สงขลา

หมายเลขโทรศัพท์

2. **ชื่อ – สกุล**

หมายเลขโทรศัพท์

3. **ชื่อ – สกุล**

หมายเลขโทรศัพท์

ลงชื่อ

(หมอมงคล ณ สงขลา)

(หัวหน้าหน่วยที่เกี่ยวข้อง)

รับจำนวนจำกัด

กรุณาส่งแบบตอบรับมายัง คุณบุญนภา วัฒนวาที โทร. 074-288749 โทรสาร 074-288754 หรือแจ้งทาง e-mail :Boonnapa.w@psu.ac.th ภายในวันที่ 20 กันยายน 2552 จักขอบคุณยิ่ง

แบบตอบรับการเข้าร่วมฝึกอบรมโครงการ

" การผลิตเยื่อกรองเซลลูโลสโดยระบบเพาะเลี้ยงแบบกึ่งอัตโนมัติ"

วันจันทร์ที่ 29 กันยายน 2552 เวลา 8.30 – 16.30 น.

ณ ห้อง P 205 (ชั้น 2) และ สถานวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเมมเบรน (ชั้น 4)

ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ข้าพเจ้า (นาย/นาง/นางสาว) กรร ฮ่วย อาชีพ รับราชการ

หน่วยงาน ภาควิชาฟิสิกส์ ตำแหน่ง อาจารย์ 6

โทรศัพท์ 2262 โทรสาร E-mail KASORN@PSU.AC.TH

ส่งชื่อผู้แทนเข้าร่วมฝึกอบรม

1. ชื่อ – สกุล .....

หมายเลขโทรศัพท์ .....

2. ชื่อ – สกุล .....

หมายเลขโทรศัพท์ .....

ลงชื่อ .....

(.....)

(หัวหน้าหน่วยที่เกี่ยวข้อง)

รับจำนวนจำกัด

กรุณาส่งแบบตอบรับมายัง คุณบุญนภา วัฒนวาที โทร. 074-288749 โทรสาร 074-288754 หรือแจ้งทาง e-mail :Boonnapa.w@psu.ac.th ภายในวันที่ 20 กันยายน 2552 จักขอบคุณยิ่ง

โครงการวิจัยเรื่อง "การผลิตเยื่อกรองเซลลูโลสระดับไมโครโดยระบบเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์แบบกึ่งอัตโนมัติเพื่อใช้ในกระบวนการเตรียมน้ำดิบสำหรับการผลิตน้ำดื่มชุมชน" งบประมาณแผ่นดินปี 2549-2551

แบบตอบรับการเข้าร่วมฝึกอบรมโครงการ

" การผลิตเยื่อกรองเซลลูโลสโดยระบบเพาะเลี้ยงแบบกึ่งอัตโนมัติ"

วันจันทร์ที่ 29 กันยายน 2552 เวลา 8.30 – 16.30 น.

ณ ห้อง P 205 (ชั้น 2) และ สถานวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเมมเบรน (ชั้น 4)

ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ข้าพเจ้า (นาย/นาง/นางสาว) ประณี อร่ามรัตน์ **อาชีพ** ธุรกิจส่วนตัว

หน่วยงาน ..... **ตำแหน่ง** .....

โทรศัพท์ 081-6985034 **โทรสาร** ..... **E-mail** .....

ชื่อผู้เข้าร่วมฝึกอบรม

1. ชื่อ – สกุล นาย ประพาน อร่ามรัตน์

หมายเลขโทรศัพท์ 073-349721 086-6238776

2. ชื่อ – สกุล .....

หมายเลขโทรศัพท์ .....

3. ชื่อ – สกุล .....

หมายเลขโทรศัพท์ .....

ที่อยู่ 179 ถ. ปัตตานีภิรมย์ ต. ตาเนาะรู อ. เมือง จ. ปัตตานี 94000

ลงชื่อ.....

(.....)

(หัวหน้าหน่วยที่เกี่ยวข้อง)

รับจำนวนจำกัด

กรุณาส่งแบบตอบรับมายัง คุณบุญนภา วัฒนวาที โทร. 074-288749 โทรสาร 074-288754 หรือแจ้งทาง e-mail :Boonnapa.w@psu.ac.th ภายในวันที่ 20 กันยายน 2552 จักขอบคุณยิ่ง

โครงการวิจัยเรื่อง "การผลิตเยื่อกรองเซลลูโลสระดับไมโครโดยระบบเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์แบบกึ่งอัตโนมัติเพื่อใช้ในกระบวนการเตรียมน้ำดิบสำหรับการผลิตน้ำดื่มชุมชน" งบประมาณแผ่นดินปี 2549-2551

แบบตอบรับการเข้าร่วมฝึกอบรมโครงการ

" การผลิตเยื่อกรองเซลลูโลสโดยระบบเพาะเลี้ยงแบบกึ่งอัตโนมัติ"

วันจันทร์ที่ 29 กันยายน 2552 เวลา 8.30 – 16.30 น.

ณ ห้อง P 205 (ชั้น 2) และ สถานวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเมมเบรน (ชั้น 4)

ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ข้าพเจ้า (นาย/นาง/นางสาว) ผ.ส. บุรบง อาชีพ รับราชการ

หน่วยงาน ภาควิชาฟิสิกส์ **ตำแหน่ง** ผู้ปฏิบัติงานวิจัย

โทรศัพท์ 081-6987385 **โทรสาร** 074-212817 **E-mail** urai.b@psu.ac.th

ชื่อผู้เข้าร่วมฝึกอบรม

1. ชื่อ – สกุล น.ส. อุไร บุรบง

หมายเลขโทรศัพท์ :8730

2. ชื่อ – สกุล .....

หมายเลขโทรศัพท์ .....

3. ชื่อ – สกุล .....

หมายเลขโทรศัพท์ .....

ลงชื่อ.....

(น.ส. อุไร บุรบง)

(หัวหน้าหน่วยที่เกี่ยวข้อง)

รับจำนวนจำกัด

กรุณาส่งแบบตอบรับมายัง คุณบุญนภา วัฒนวาที โทร. 074-288749 โทรสาร 074-288754 หรือแจ้งทาง e-mail :Boonnapa.w@psu.ac.th ภายในวันที่ 20 กันยายน 2552 จักขอบคุณยิ่ง

โครงการวิจัยเรื่อง "การผลิตเยื่อกรองเซลลูโลสระดับไมโครโดยระบบเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์แบบกึ่งอัตโนมัติเพื่อใช้ในกระบวนการเตรียมน้ำดิบสำหรับการผลิตน้ำดื่มชุมชน" งบประมาณแผ่นดินปี 2549-2551

แบบตอบรับการเข้าร่วมฝึกอบรมโครงการ

" การผลิตเยื่อกรองเซลลูโลสโดยระบบเพาะเลี้ยงแบบกึ่งอัตโนมัติ"

วันจันทร์ที่ 29 กันยายน 2552 เวลา 8.30 – 16.30 น.

ณ ห้อง P 205 (ชั้น 2) และ สถานวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเมมเบรน (ชั้น 4)

ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ข้าพเจ้า (นาย/~~นาง~~/~~นางสาว~~) สมพงศ์ รสิตเปาล์ **อาชีพ** นักศึกษา

หน่วยงาน ฟิสิกส์ **ตำแหน่ง**.....

โทรศัพท์.....**โทรสาร**.....**E-mail** Tor_Evolution@hotmail.com

ชื่อผู้เข้าร่วมฝึกอบรม

1. ชื่อ – สกุล .....

หมายเลขโทรศัพท์ .....

2. ชื่อ – สกุล .....

หมายเลขโทรศัพท์ .....

3. ชื่อ – สกุล .....

หมายเลขโทรศัพท์ .....

ลงชื่อ.....

(.....)

(หัวหน้าหน่วยที่เกี่ยวข้อง)

รับจำนวนจำกัด

กรุณาส่งแบบตอบรับมายัง คุณบุญนภา วัฒนวาที โทร. 074-288749 โทรสาร 074-288754 หรือแจ้งทาง e-mail :Boonnapa.w@psu.ac.th ภายในวันที่ 20 กันยายน 2552 จักขอบคุณยิ่ง

โครงการวิจัยเรื่อง "การผลิตเยื่อกรองเซลลูโลสระดับไมโครโดยระบบเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์แบบกึ่งอัตโนมัติเพื่อใช้ในกระบวนการเตรียมน้ำดิบสำหรับการผลิตน้ำดื่มชุมชน" งบประมาณแผ่นดินปี 2549-2551

แบบตอบรับการเข้าร่วมฝึกอบรมโครงการ

" การผลิตเยื่อกรองเซลลูโลสโดยระบบเพาะเลี้ยงแบบกึ่งอัตโนมัติ"

วันจันทร์ที่ 29 กันยายน 2552 เวลา 8.30 – 16.30 น.

ณ ห้อง P 205 (ชั้น 2) และ สถานวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเมมเบรน (ชั้น 4)

ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ข้าพเจ้า (นาย/นาง/นางสาว) สมโภช บุญฉาด อาชีพ รับราชการ

หน่วยงาน องค์การบริหารส่วนตำบลปริก ตำแหน่ง นักวิชาการสุขาภิบาล 5

โทรศัพท์ 074-298213 โทรสาร 074-298214ต่อ17 E-mail

ชื่อผู้เข้าร่วมฝึกอบรม

1. **ชื่อ – สกุล** นายไสว จู่เท่า

หมายเลขโทรศัพท์ 074-298213

2. **ชื่อ – สกุล** นางสาวสุธาดา มหาพรหม

หมายเลขโทรศัพท์ 074-298213

3. **ชื่อ – สกุล** นางสาวนงลักษณ์ พรหมร่วมแก้ว

หมายเลขโทรศัพท์ 074-298213

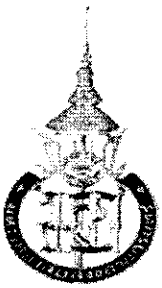
ลงชื่อ

(นายสมโภช บุญฉาด)

(หัวหน้าหน่วยที่เกี่ยวข้อง)

รับจำนวนจำกัด

กรุณาส่งแบบตอบรับมายัง คุณบุญนภา วัฒนวาที โทร. 074-288749 โทรสาร 074-288754 หรือแจ้งทาง e-mail :Boonnapa.w@psu.ac.th ภายในวันที่ 20 กันยายน 2552 จักขอบคุณยิ่ง



แบบตอบรับการเข้าร่วมฝึกอบรมโครงการ

" การผลิตเยื่อกรองเซลลูโลสโดยระบบเพาะเลี้ยงแบบกึ่งอัตโนมัติ"

วันจันทร์ที่ 29 กันยายน 2552 เวลา 8.30 – 16.30 น.

ณ ห้อง P 205 (ชั้น 2) และ สถานวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเมมเบรน (ชั้น 4)

ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ข้าพเจ้า (~~นาย/นาง~~/นางสาว) เครือวัลย์ หัวนกุ้ง **อาชีพ** นักศึกษา

หน่วยงาน ภาคฟิสิกส์ **ตำแหน่ง** -

โทรศัพท์ 081-2772234 **โทรสาร** - **E-mail** krwawan-hk@hotmail.com

ชื่อผู้เข้าร่วมฝึกอบรม

1. ชื่อ – สกุล น.ส. เครือวัลย์ หัวนกุ้ง

หมายเลขโทรศัพท์ 081-2772234

2. ชื่อ – สกุล .....

หมายเลขโทรศัพท์ .....

3. ชื่อ – สกุล .....

หมายเลขโทรศัพท์ .....

ลงชื่อ เครือวัลย์ หัวนกุ้ง

(น.ส. เครือวัลย์ หัวนกุ้ง)

(หัวหน้าหน่วยที่เกี่ยวข้อง)

รับจำนวนจำกัด

กรุณาส่งแบบตอบรับมายัง คุณบุญนภา วัฒนวาที โทร. 074-288749 โทรสาร 074-288754 หรือแจ้งทาง e-mail :Boonnapa.w@psu.ac.th ภายในวันที่ 20 กันยายน 2552 จักขอบคุณยิ่ง

โครงการวิจัยเรื่อง "การผลิตเยื่อกรองเซลลูโลสระดับไมโครโดยระบบเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์แบบกึ่งอัตโนมัติเพื่อใช้ในกระบวนการเตรียมน้ำดิบสำหรับการผลิตน้ำดื่มชุมชน" งบประมาณแผ่นดินปี 2549-2551

แบบตอบรับการเข้าร่วมฝึกอบรมโครงการ

" การผลิตเยื่อกรองเซลลูโลสโดยระบบเพาะเลี้ยงแบบกึ่งอัตโนมัติ"

วันจันทร์ที่ 29 กันยายน 2552 เวลา 8.30 – 16.30 น.

ณ ห้อง P 205 (ชั้น 2) และ สถานวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเมมเบรน (ชั้น 4)

ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ข้าพเจ้า (นาย/นาง/นางสาว) สัลวา ดาอีป อาชีพ นักศึกษา ป.โท

หน่วยงาน ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ ตำแหน่ง -

โทรศัพท์ 086-7496540 โทรสาร - E-mail T.salwa@hotmail.com

ชื่อผู้เข้าร่วมฝึกอบรม

1. ชื่อ – สกุล สัลวา ดาอีป

หมายเลขโทรศัพท์ 086-7496540

2. ชื่อ – สกุล .....

หมายเลขโทรศัพท์ .....

3. ชื่อ – สกุล .....

หมายเลขโทรศัพท์ .....

ลงชื่อ สัลวา ดาอีป

(นางสาวสัลวา ดาอีป)

(หัวหน้าหน่วยที่เกี่ยวข้อง)

รับจำนวนจำกัด

กรุณาส่งแบบตอบรับมายัง คุณบุญนภา วัฒนวาที โทร. 074-288749 โทรสาร 074-288754 หรือแจ้งทาง e-mail :Boonnapa.w@psu.ac.th ภายในวันที่ 20 กันยายน 2552 จักขอบคุณยิ่ง

โครงการวิจัยเรื่อง "การผลิตเยื่อกรองเซลลูโลสระดับไมโครโดยระบบเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์แบบกึ่งอัตโนมัติเพื่อใช้ในกระบวนการเตรียมน้ำดิบสำหรับการผลิตน้ำดื่มชุมชน" งบประมาณแผ่นดินปี 2549-2551

แบบประเมินผลการจัดอบรม

เรื่อง " การผลิตเยื่อกรองเซลลูโลสโดยระบบเพาะเลี้ยงแบบกึ่งอัตโนมัติ "

ณ. ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

วันที่ 29 กันยายน 2552 เวลา 8.30-16.30 น.

กรุณาขีด √ ลงในช่องที่เห็นว่าเหมาะสม

เกณฑ์ประเมิน 5 = ดีมาก 4=ดี 3= ปานกลาง 2= ต้องปรับปรุง

หัวข้อกิจกรรม	ระดับการประเมินผล			
	5	4	3	2
การบรรยาย 8.30 – 12.00 น.				
1 หัวข้อ เมมเบรนเทคโนโลยีมีประโยชน์อย่างไร	√			
2 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์	√			
3 การเตรียมเมมเบรนในตู้ปลอดเชื้อ	√			
4 สาธิตการผลิตเมมเบรน	√			
ภาคปฏิบัติการ 13.00-16.30 น.				
5 การทดสอบเมมเบรนและการประยุกต์ใช้	√			
6 สาธิตการทดสอบเมมเบรน	√			
7 สถานที่	√			
8 เอกสาร	√			

เสนอแนะเพื่อการปรับปรุง

ช่วยปรับปรุงเรื่องเครื่องปรับอากาศด้วยครับ

ช่วงบ่ายไม่เย็นเลย ติดลมไม่ได้เรื่องเลยตัวเองเลย

ห้องน้ำหลายคนไม่อยากเข้า แต่มีธรรมดาแล้วมากๆ

เสนอแนะหัวข้อที่ต้องการให้บรรยายในโอกาสต่อไป

ขอขอบคุณที่ให้ความร่วมมือ

แบบประเมินผลการจัดอบรม

เรื่อง " การผลิตเยื่อกรองเซลลูโลสโดยระบบเพาะเลี้ยงแบบกึ่งอัตโนมัติ "

ณ. ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

วันที่ 29 กันยายน 2552 เวลา 8.30-16.30 น.

กรุณาขีด √ ลงในช่องที่เห็นว่าเหมาะสม

เกณฑ์ประเมิน 5 = ดีมาก 4=ดี 3= ปานกลาง 2= ต้องปรับปรุง

หัวข้อกิจกรรม	ระดับการประเมินผล			
	5	4	3	2
การบรรยาย 8.30 – 12.00 น.				
1 หัวข้อ เมมเบรนเทคโนโลยีมีประโยชน์อย่างไร	√			
2 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์	√			
3 การเตรียมเมมเบรนในตู้ปลอดเชื้อ	√			
4 สาธิตการผลิตเมมเบรน	√			
ภาคปฏิบัติการ 13.00-16.30 น.				
5 การทดสอบเมมเบรนและการประยุกต์ใช้	√			
6 สาธิตการทดสอบเมมเบรน	√			
7 สถานที่	√			
8 เอกสาร	√			

เสนอแนะเพื่อการปรับปรุง

- ..อยากให้มีการประชาสัมพันธ์ในมหาวิทยาลัย เพื่อเป็นประโยชน์แก่ชุมชน..มหาวิทยาลัย.....
- ..อยากให้ทำคู่มือเข้าใจ ในรูปเล่ม และเนื้อหา แก่ผู้ที่สนใจหรือประชาชนทั่วไปมากกว่านี้ เพื่อ
เผยแพร่..ดังนั้นผู้ที่สนใจ..เทคนิคอบรม.....
.....

เสนอแนะหัวข้อที่ต้องการให้บรรยายในโอกาสต่อไป

.....
.....
.....

ขอขอบคุณที่ให้ความร่วมมือ

โครงการวิจัยเรื่อง "การผลิตเยื่อกรองเซลลูโลสระดับไมโครโดยระบบเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์แบบกึ่งอัตโนมัติเพื่อใช้ในกระบวนการเตรียมน้ำดิบสำหรับการผลิตน้ำดื่มชุมชน" งบประมาณแผ่นดินปี 2549-2551

แบบประเมินผลการจัดอบรม

เรื่อง " การผลิตเยื่อกรองเซลลูโลสโดยระบบเพาะเลี้ยงแบบกึ่งอัตโนมัติ "

ณ. ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

วันที่ 29 กันยายน 2552 เวลา 8.30-16.30 น.

กรุณาขีด √ ลงในช่องที่เห็นว่าเหมาะสม

เกณฑ์ประเมิน 5 = ดีมาก 4=ดี 3= ปานกลาง 2= ต้องปรับปรุง

หัวข้อกิจกรรม	**ระดับการประเมินผล**			
	5	**4**	**3**	**2**
การบรรยาย 8.30 – 12.00 น.				
1 หัวข้อ เมมเบรนเทคโนโลยีมีประโยชน์อย่างไร	/			
2 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์		/		
3 การเตรียมเมมเบรนในตู้ปลอดเชื้อ		/		
4 สาธิตการผลิตเมมเบรน		/		
ภาคปฏิบัติการ 13.00-16.30 น.				
5 การทดสอบเมมเบรนและการประยุกต์ใช้		/		
6 สาธิตการทดสอบเมมเบรน		/		
7 สถานที่	/			
8 เอกสาร	/			

เสนอแนะเพื่อการปรับปรุง

การบรรยายเรื่อง ควรมีตัวอย่างที่เข้าใจง่าย มีความเกี่ยวข้องและประโยชน์อย่างไร ควรมีโจทย์ปัญหาเป็นกรณีศึกษา

เสนอแนะหัวข้อที่ต้องการให้บรรยายในโอกาสต่อไป

ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์

ขอขอบคุณที่ให้ความร่วมมือ

แบบประเมินผลการจัดอบรม

เรื่อง " การผลิตเยื่อกรองเซลลูโลสโดยระบบเพาะเลี้ยงแบบกึ่งอัตโนมัติ "

ณ. ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

วันที่ 29 กันยายน 2552 เวลา 8.30-16.30 น.

กรุณาขีด √ ลงในช่องที่เห็นว่าเหมาะสม

เกณฑ์ประเมิน 5 = ดีมาก 4=ดี 3= ปานกลาง 2= ต้องปรับปรุง

หัวข้อกิจกรรม	ระดับการประเมินผล			
	5	4	3	2
การบรรยาย 8.30 – 12.00 น.				
1 หัวข้อ เมมเบรนเทคโนโลยีมีประโยชน์อย่างไร		√		
2 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์		√		
3 การเตรียมเมมเบรนในตู้ปลอดเชื้อ		√		
4 สาธิตการผลิตเมมเบรน		√		
ภาคปฏิบัติการ 13.00-16.30 น.				
5 การทดสอบเมมเบรนและการประยุกต์ใช้		√		
6 สาธิตการทดสอบเมมเบรน		√		
7 สถานที่	√			
8 เอกสาร	√			

เสนอแนะเพื่อการปรับปรุง

.....

.....

.....

.....

เสนอแนะหัวข้อที่ต้องการให้บรรยายในโอกาสต่อไป

.....

.....

.....

ขอขอบคุณที่ให้ความร่วมมือ

แบบประเมินผลการจัดอบรม

เรื่อง " การผลิตเยื่อกรองเซลลูโลสโดยระบบเพาะเลี้ยงแบบกึ่งอัตโนมัติ "

ณ. ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

วันที่ 29 กันยายน 2552 เวลา 8.30-16.30 น.

กรุณาขีด √ ลงในช่องที่เห็นว่าเหมาะสม

เกณฑ์ประเมิน 5 = ดีมาก 4=ดี 3= ปานกลาง 2= ต้องปรับปรุง

หัวข้อกิจกรรม	ระดับการประเมินผล			
	5	4	3	2
การบรรยาย 8.30 – 12.00 น.				
1 หัวข้อ เมมเบรนเทคโนโลยีมีประโยชน์อย่างไร	✓			
2 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์	✓			
3 การเตรียมเมมเบรนในตู้ปลอดเชื้อ	✓			
4 สาธิตการผลิตเมมเบรน	✓			
ภาคปฏิบัติการ 13.00-16.30 น.				
5 การทดสอบเมมเบรนและการประยุกต์ใช้	✓			
6 สาธิตการทดสอบเมมเบรน	✓			
7 สถานที่	✓			
8 เอกสาร	✓			

เสนอแนะเพื่อการปรับปรุง ,

- อยากให้ใช้หัวเรื่องที่เข้าใจง่าย และเข้าถึงชาวบ้าน
- อยากให้มีการประชาสัมพันธ์ให้ทั่วถึงมากกว่านี้

เสนอแนะหัวข้อที่ต้องการให้บรรยายในโอกาสต่อไป

.....

.....

.....

ขอขอบคุณที่ให้ความร่วมมือ