ภาคผนวก ก

Poiseuille' s Law

Weiss T.F. (1996:251-253) กำหนดความสัมพันธ์ระหว่างความดันและอัตราการไหลของของเหลวหนืดในรูพรุนที่มีลักษณะท่อทรงกระบอก รัศมี r ในรูปสมการที่ 1 และ 2 ซึ่งเป็นสมการเชิงเส้นของการเคลื่อนที่ของของเหลวและสมการอนุรักษ์มวล ตามลำดับ

$$\rho_m \frac{\partial U}{\partial t} = -\nabla P + \eta \nabla^2 U \quad (1)$$

$$\nabla \bullet U = -\frac{\partial \rho_m}{\partial t} \quad (2)$$

เมื่อ U คือความเร็วของของเหลว P คือความดัน ρ_m คือความหนาแน่นของของเหลว η คือ ความหนืดของของเหลว และ ∇ คือ ตัวดำเนินการเดล โดยเทอมทางซ้ายมือของสมการ 1 คือแรงเฉื่อน เทอมแรกทางขวามือคือแรงเนื่องจากเกรเดียนต์ความดัน และเทอมที่สองคือแรงหนืด สำหรับการไหลที่คงที่ จะได้ว่า $\frac{\partial u}{\partial t}=0$ และสำหรับของเหลวที่มีความหนืดไม่สามารถอัดผ่านรูพรุนได้ จะได้ว่า $\frac{\partial \rho_m}{\partial t}=0$ จากสมการ 1 และ 2 เขียนใหม่ได้ดังนี้

$$\nabla P = \eta \nabla^2 U \quad (3)$$

และ $$\nabla \bullet U = 0 \quad (4)$$

ถ้าการไหลอยู่แนวแกน Z ในระบบพิกัดทรงกระบอก ดังแสดงในรูป 5 จะได้ U = $U_Z \varepsilon_Z$ เมื่อ ε_Z คือ เวคเตอร์ในแนวแกน Z โดยสมมติให้การไหลมีความสมมาตร ดังนั้น P และ U_Z จึงไม่ขึ้นกับ θ จากสมการ 4 จะได้

$$\frac{\partial U_Z}{\partial Z} = 0 \quad (5)$$

โดยที่ U_Z เป็นฟังก์ชันของ R ดังนั้นสามารถเขียนสมการ 3 ได้ใหม่ดังนี้

$$\frac{\partial P}{\partial Z} = \eta \nabla^2 U_Z(R) \quad (6)$$

นำสมการ 6 มาอินทิเกรตจาก $Z = 0$ ถึง $Z = d$ จะได้

$$P(d) - P(0) = -\Delta P = d\eta \nabla^2 U_Z(R) \quad (7)$$

แต่

$$\nabla^2 U_Z(R) = \frac{1}{R}\frac{d}{dR}\left(R\frac{dU_Z}{dR}\right) \quad (8)$$

แทนค่าจากสมการ 8 ลงในสมการ 7 แล้วนำมาอินทิเกรตจะได้

$$\int d\left(R\frac{dU_Z}{dR}\right) = -\frac{\Delta P}{\eta d}\int R\,dR$$

$$R\frac{dU_Z}{dR} = -\frac{\Delta P}{\eta d}\frac{R^2}{2} + C_1$$

$$\frac{dU_Z}{dR} = -\frac{\Delta P}{\eta d}\frac{R}{2} + \frac{C_1}{R} \quad (9)$$

อินทิเกรตสมการ 9 เทียบ R จะได้

$$U_Z = -\frac{\Delta P}{\eta d}\frac{R^2}{4} + C_1 \ln R + C_2 \quad (10)$$

กำหนดให้ $C_1 = 0$, $U = 0$ และขอบเขตเงื่อนไข $R = r$ จะได้

$$0 = -\frac{\Delta P}{\eta d}\frac{r^2}{4} + C_2 \quad (11)$$

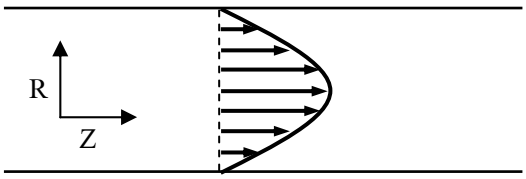
แทนค่า C_1 และ C_2 ลงในสมการ 10 จะได้

$$U_Z = \frac{\Delta P}{\eta d}\left(\frac{r^2 - R^2}{4}\right) \quad (12)$$

เพราะฉะนั้น อัตราการไหลของของเหลว (Q) ผ่านรูพรุนรูปทรงกระบอกที่มีลักษณะคล้ายรูปพาราโบลา ดังแสดงในภาพประกอบที่ 1 คือ

$$Q = \int_0^r U_Z(R)\, 2\pi R\, dR = \frac{\pi \Delta P}{2\eta d} \int_0^r \left(r^2 R - R^3 \right) dR \qquad (13)$$

$$Q = \frac{\pi \Delta P}{2\eta d} \left(\frac{r^2 R^2}{2} - \frac{R^4}{4} \right)_0^r = \frac{\pi r^4}{8\eta d} \Delta P \qquad (14)$$

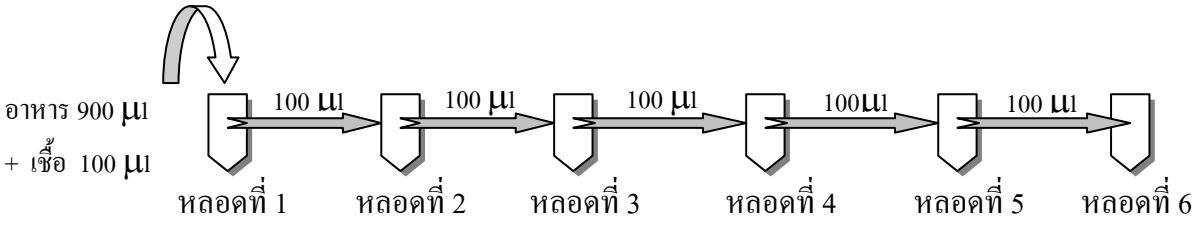


ภาพประกอบที่ 1 การไหลของของเหลวเป็นรูปพาราโบลาในรูพรุนที่มีลักษณะท่อทรงกระบอก กำหนดโดย Poiseuille' s Law

ภาคผนวก ข

การนับความหนาแน่นแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* ด้วยวิธี drop plate

1. เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงดังรายละเอียดในหัวข้อ 3.3.1 โดยเพิ่มส่วนผสม 1.5% agar (w/v) แล้วนำไปต้มจนละลายเป็นเนื้อเดียวกัน
2. นำอาหารเพาะเลี้ยงแบบเหลวปริมาตร 900 μl. ใส่ลงใน microcentrifuge tube ทั้งหมด 6 หลอด
3. ใส่เชื้อแบคทีเรียที่ต้องการนับ 100 μl. ลงในหลอดที่ 1 แล้วนำไปปั่นผสมให้เข้ากัน
4. นำเชื้อแบคทีเรียและอาหารเพาะเลี้ยงที่ปั่นผสมแล้วในหลอดที่ 1 ปริมาตร 100 μl. ใส่ลงในหลอดที่ 2 แล้วนำไปปั่นผสม
5. ทำอย่างนี้เรื่อย ๆ จนถึงหลอดที่ 6 ดังภาพประกอบที่ 2



ภาพประกอบที่ 2 วิธีการเตรียมเชื้อแบคทีเรียให้เจือจางเพื่อนำไปนับเซลล์ต่อไป

6. หยดเชื้อจากทั้ง 6 หลอดด้วยไมโครปิเปตปริมาตร 10 μl ลงในอาหารเพาะเลี้ยงแบบแข็ง
7. ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30 ^{0}C) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
8. นับจำนวนโคโลนีจากหยดที่มีเชื้อ 20-50 โคโลนี
9. นำค่าที่ได้จากการนับไปคำนวณหาค่าความหนาแน่นเซลล์โดยมีวิธีการคำนวณดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 วิธีการคำนวณความหนาแน่นเซลล์จากการนับเซลล์

หลอดที่	จำนวนเซลล์ที่นับได้	ค่าการเจือจาง	ค่าความหนาแน่นเซลล์ (cfu ml^{-1})
1	n	10^3	$n \times 10^3$
2	n	10^4	$n \times 10^4$
3	n	10^5	$n \times 10^5$
4	n	10^6	$n \times 10^6$
5	n	10^7	$n \times 10^7$
6	n	10^8	$n \times 10^8$

ภาคผนวก ค

เปอร์เซ็นต์ผลได้เส้นใยเซลลูโลสเทียบกับระดับพีเอชเริ่มต้น

การหาเปอร์เซ็นต์ผลได้ (%Yield) ของการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเซลลูโลส เสนอในหน่วยของเปอร์เซ็นต์ระหว่างมวลรวมของเซลลูโลส/ปริมาณน้ำตาลซูโครสเริ่มต้นในอาหารเพาะเลี้ยง ซึ่งการทดลองนี้ได้ใช้ปริมาณน้ำตาล 2 กรัม ในอาหารเพาะเลี้ยงปริมาตร 50 มิลลิลิตร ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์ผลได้ของการผลิตเซลลูโลสที่แต่ละระดับพีเอช

ค่าพีเอชที่ศึกษา	มวลรวมเซลลูโลส (กรัม)	เปอร์เซ็นต์ผลได้ (%)
3.0	0.0175	0.875
3.5	0.1157	5.785
4.0	0.2416	12.080
4.5	0.2127	10.635
5.0	0.1841	9.205
5.5	0.1298	6.490
6.0	0.0767	3.835
6.5	0.0662	3.310
7.0	0.0435	2.175
7.5	0.0170	0.850
8.0	0.0140	0.700

ตัวอย่างวิธีการคำนวณที่ค่าพีเอช 4.0

ปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นในอาหารเพาะเลี้ยง 2 กรัม ได้ปริมาณเซลลูโลส 0.2416 กรัม

ปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นในอาหารเพาะเลี้ยง 100 กรัม ได้ปริมาณเซลลูโลสเท่ากับ

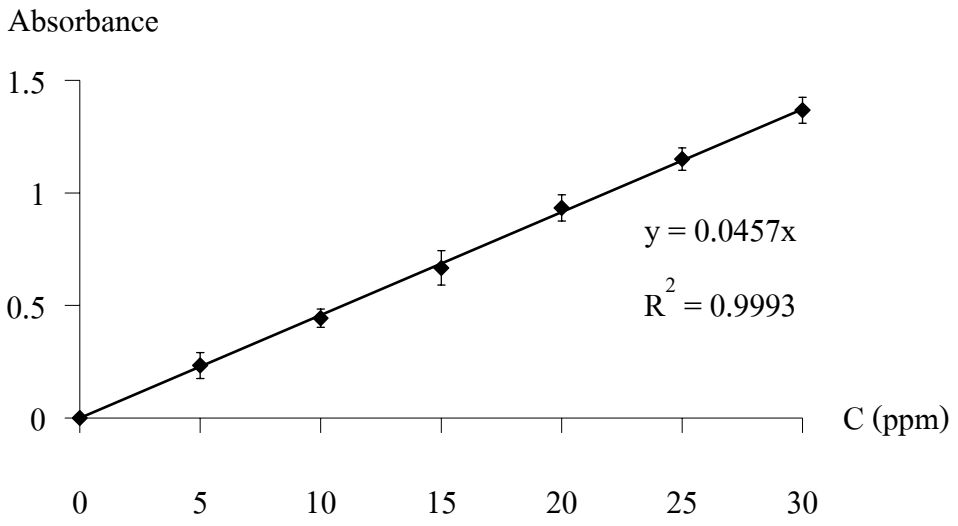
$$\frac{0.2416 \times 100}{2} = 12.080 \quad \text{กรัม}$$

นั่นคือเปอร์เซ็นต์ผลได้เส้นใยเซลลูโลสของอาหารเพาะเลี้ยงที่ระดับพีเอช 4.0 คือ 12.080 %

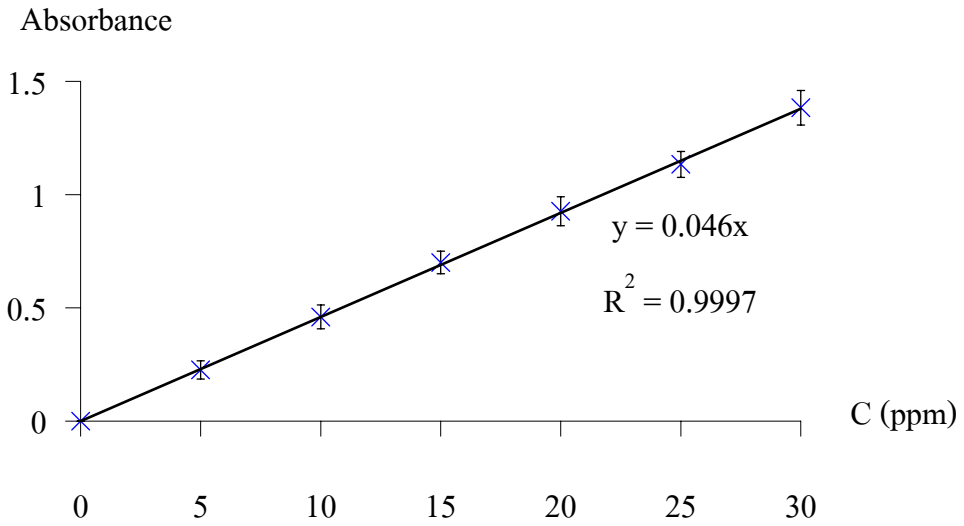
ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ความเข้มข้นของสารละลาย PEG (Sabde A.D., et al., 1997)

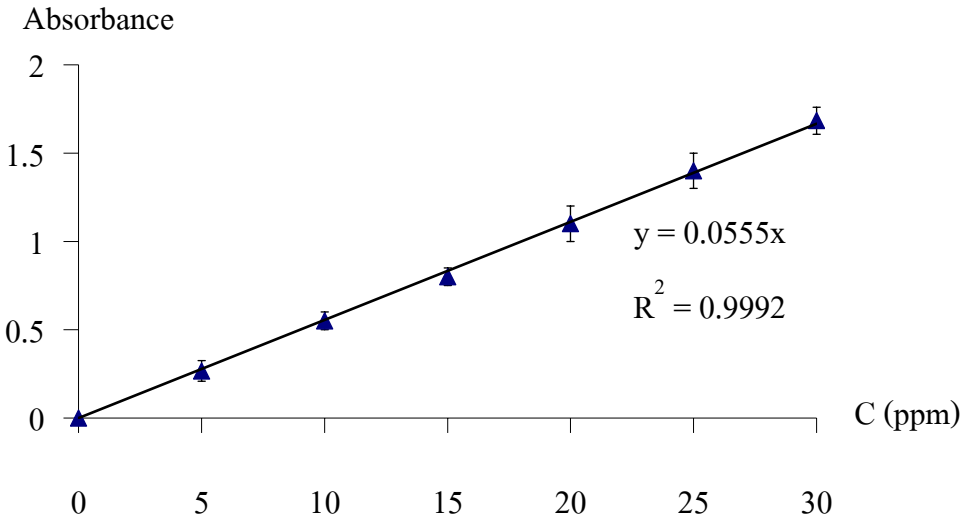
1. เตรียมสารละลาย Reagent เพื่อวิเคราะห์ความเข้มข้นของสารละลาย PEG ดังนี้
   1.1 Reagent A ประกอบด้วย 5% $BaCl_2$ (w/v) ละลายใน HCl 1 N
   1.2 Reagent B ประกอบด้วย 1.27 กรัม ของ I_2 ละลายใน 0.2% KI (w/v)
2. นำสารละลาย PEG เข้มข้น 5 10 15 20 25 30 ppm และน้ำกลั่นปริมาตร 4 ml ใส่ในหลอดทดลองขนาด 10 ml เติมสารละลาย Reagent A และ B อย่างละ 1 ml ผสมให้เข้ากัน แล้วทิ้งไว้ 15 นาที
3. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 535 nm โดยวัดเทียบกับชุดควบคุม (bank) ซึ่งใช้น้ำกลั่นแทนสารตัวอย่าง
4. นำค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้ไปเขียนกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย PEG กับค่าการดูดกลืนแสง ดังภาพประกอบที่ 3
5. นำสารละลายตัวอย่างที่ต้องการหาความเข้มข้น PEG มาวัดค่าการดูดกลืนแสง
6. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารละลาย PEG ได้จากกราฟมาตรฐาน



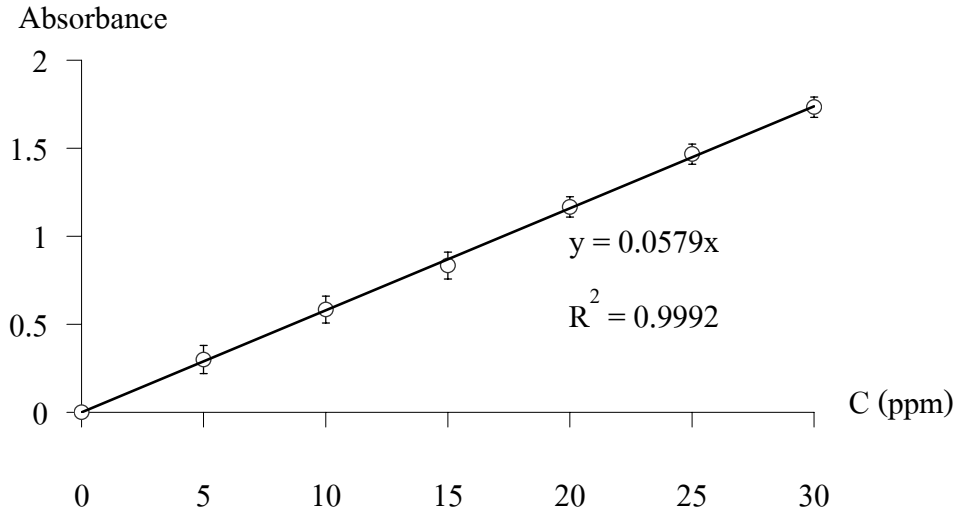
(a) PEG 20 kDa



(b) PEG 35 kDa



(c) PEG 100 kDa



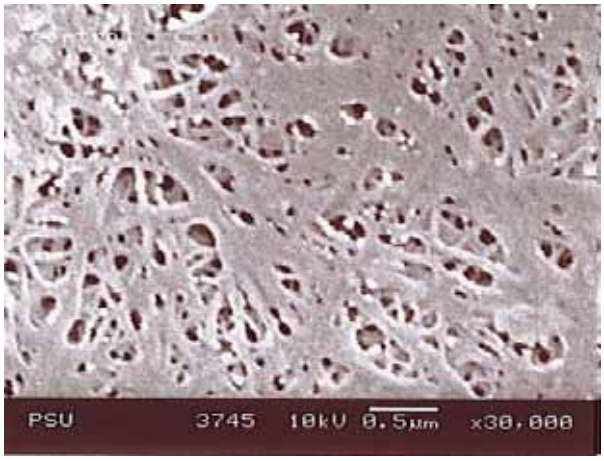
(d) PEG 200 kDa

ภาพประกอบที่ 3 กราฟมาตรฐานระหว่างการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับความเข้มข้นของสารละลาย PEG ที่แต่ละค่าน้ำหนักโมเลกุล

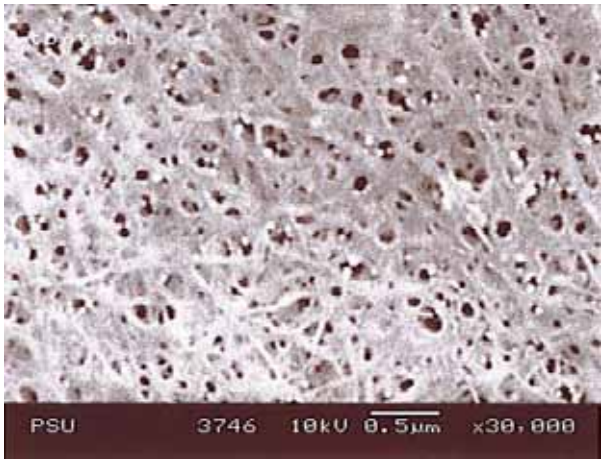
ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์หาขนาดรูพรุนและค่าความพรุนโดยโปรแกรมการนับรอยจากภาพถ่าย SEM ดังนี้

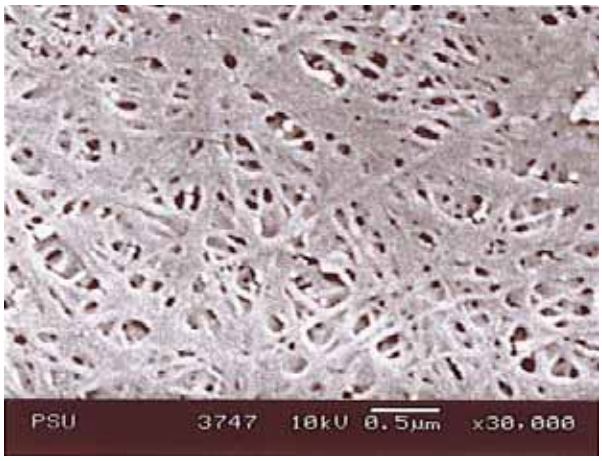
1. ภาพถ่าย SEM ของเยื่อบาง CC4S



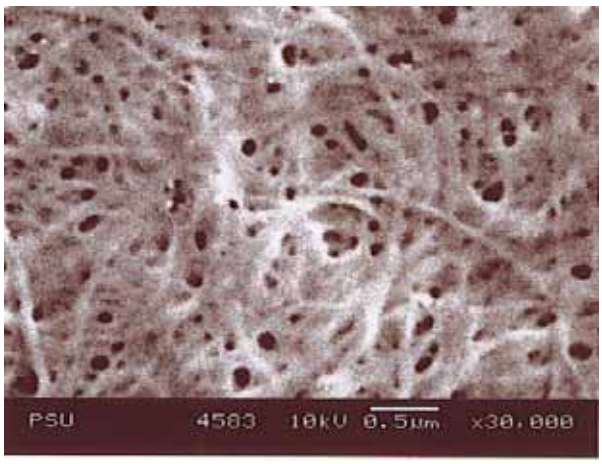
Minimum : 0.034 µm
Mean : 0.077 µm
Max : 0.231 µm
Standard deviation : 0.036 µm
Porosity : 5.48 %



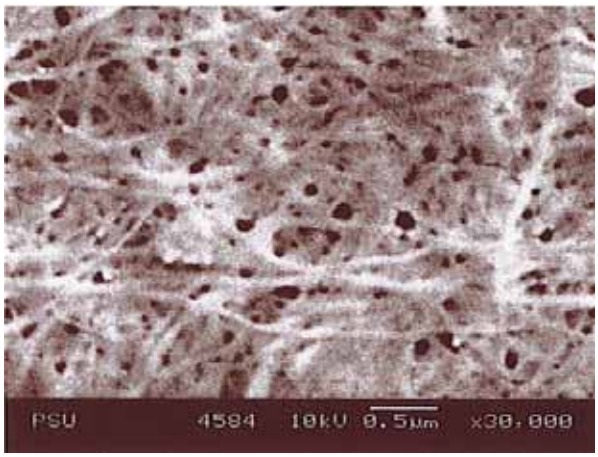
Minimum : 0.034 µm
Mean : 0.072 µm
Max : 0.179 µm
Standard deviation : 0.027 µm
Porosity : 4.10 %



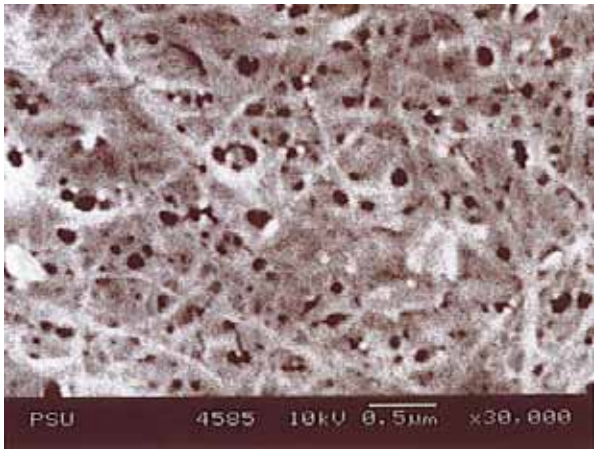
Minimum : 0.034 µm
Mean : 0.080 µm
Max : 0.234 µm
Standard deviation : 0.030 µm
Porosity : 5.50 %



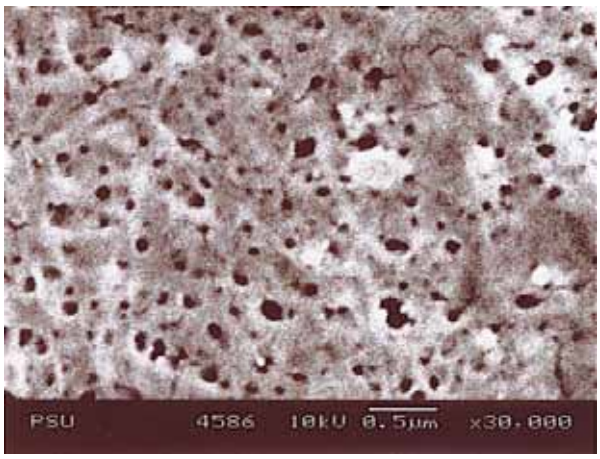
Minimum : 0.034 µm
Mean : 0.091 µm
Max : 0.209 µm
Standard deviation : 0.034 µm
Porosity : 4.21 %



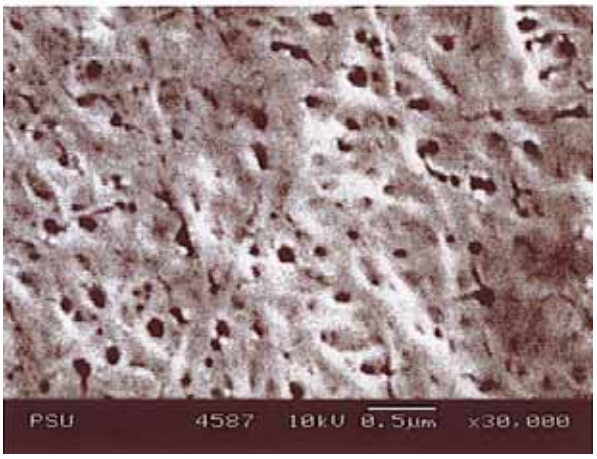
Minimum : 0.034 µm
Mean : 0.091 µm
Max : 0.296 µm
Standard deviation : 0.039 µm
Porosity : 4.11 %



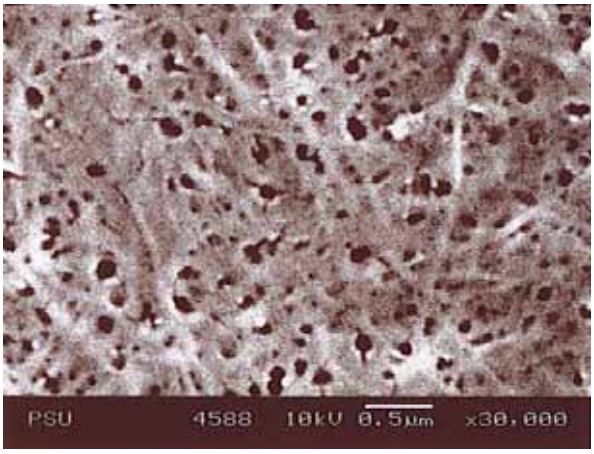
Minimum : 0.378 µm
Mean : 0.087 µm
Max : 0.189 µm
Standard deviation : 0.032 µm
Porosity : 4.13 %



Minimum : 0.038 µm
Mean : 0.083 µm
Max : 0.199 µm
Standard deviation : 0.031 µm
Porosity : 3.65 %

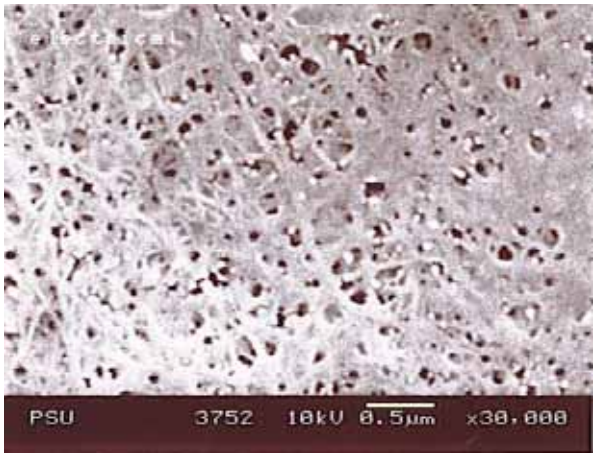


Minimum : 0.034 µm
Mean : 0.088 µm
Max : 0.259 µm
Standard deviation : 0.035 µm
Porosity : 3.32 %

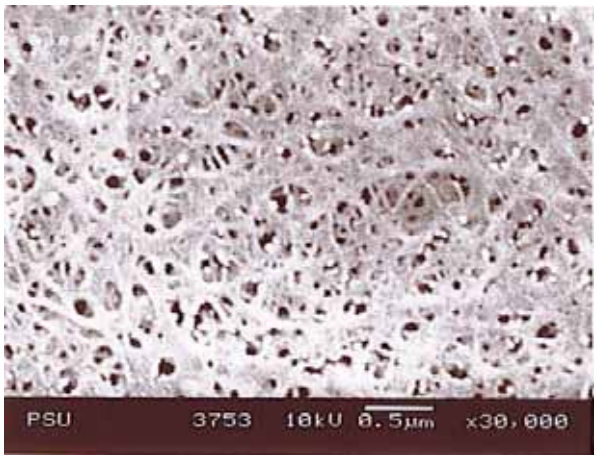


Minimum : 0.034 µm
Mean : 0.085 µm
Max : 0.223 µm
Standard deviation : 0.031 µm
Porosity : 4.59 %

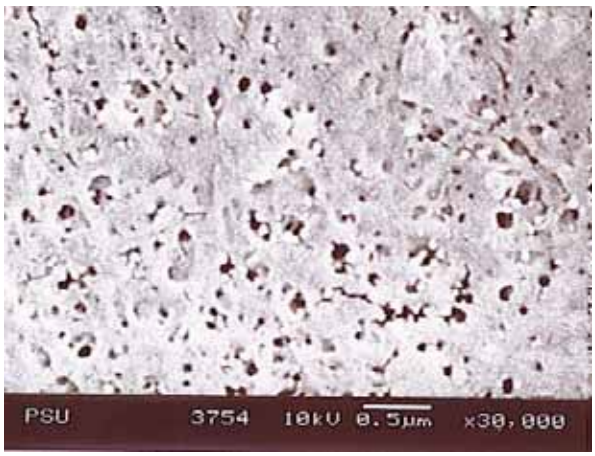
2. ภาพถ่าย SEM ของเยื่อบาง CE4S



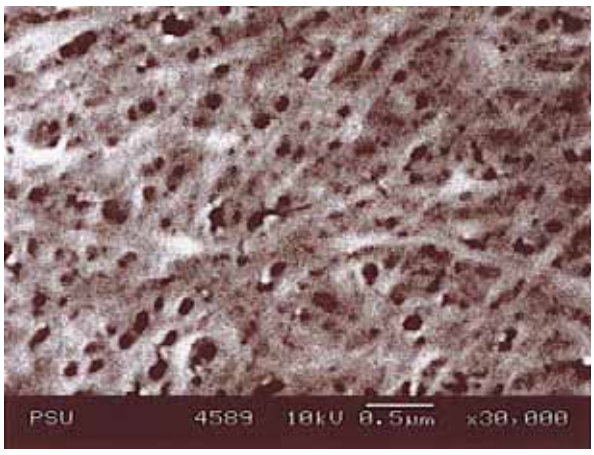
Minimum : 0.034 µm
Mean : 0.080 µm
Max : 0.217 µm
Standard deviation : 0.029 µm
Porosity : 6.21 %



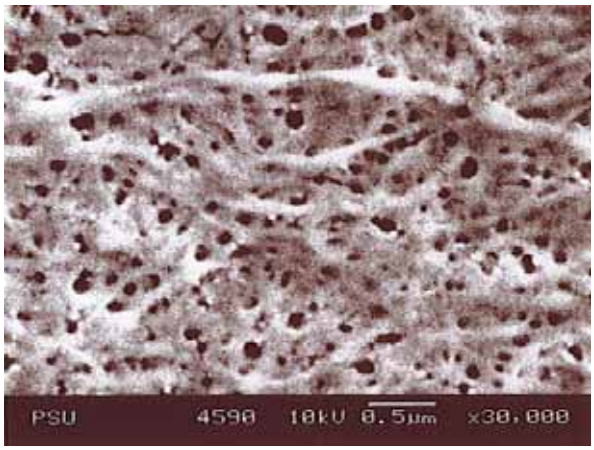
Minimum : 0.034 µm
Mean : 0.080 µm
Max : 0.265 µm
Standard deviation : 0.032 µm
Porosity : 8.05 %



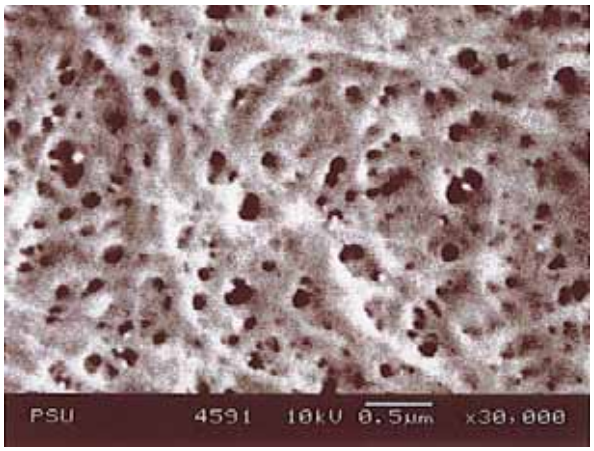
Minimum : 0.031 µm
Mean : 0.081 µm
Max : 0.231 µm
Standard deviation : 0.035 µm
Porosity : 5.85 %



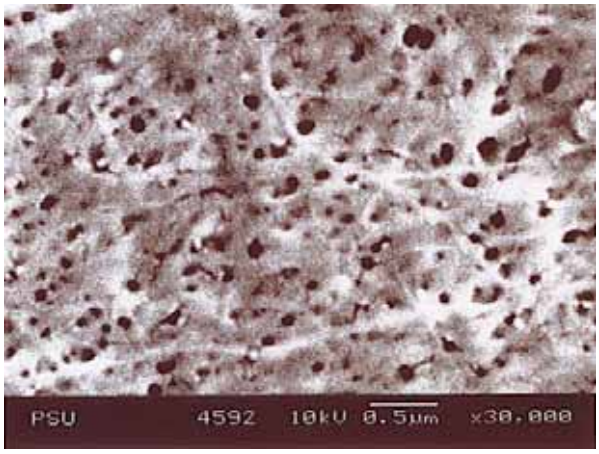
Minimum : 0.014 µm
Mean : 0.073 µm
Max : 0.286 µm
Standard deviation : 0.044 µm
Porosity : 4.87 %



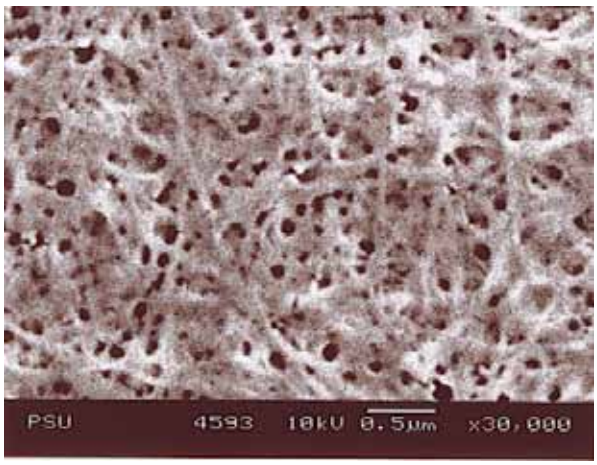
Minimum : 0.014 µm
Mean : 0.077 µm
Max : 0.317 µm
Standard deviation : 0.045 µm
Porosity : 6.00 %



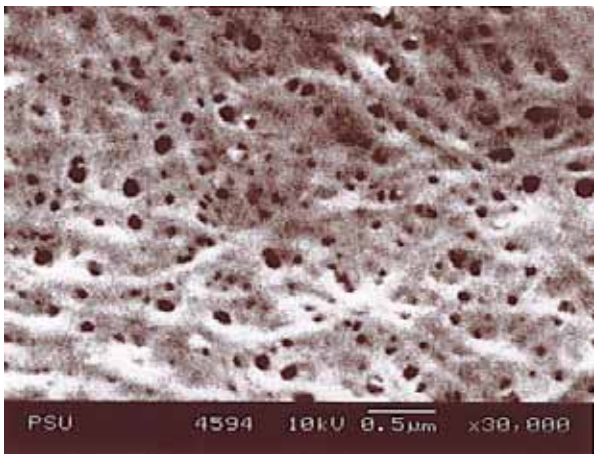
Minimum : 0.014 µm
Mean : 0.076 µm
Max : 0.363 µm
Standard deviation : 0.043 µm
Porosity : 4.98 %



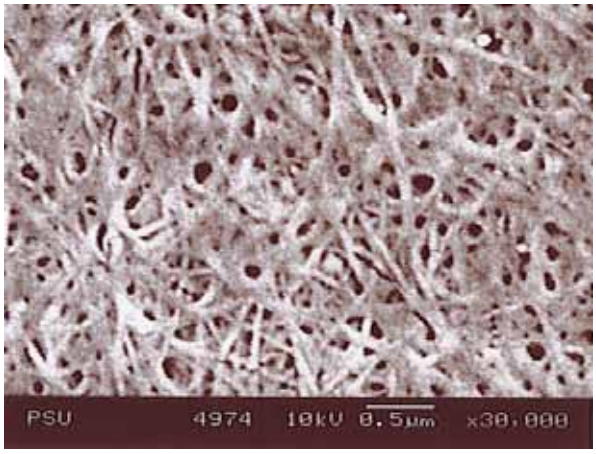
Minimum : 0.045 µm
Mean : 0.102 µm
Max : 0.265 µm
Standard deviation : 0.039 µm
Porosity : 5.41 %



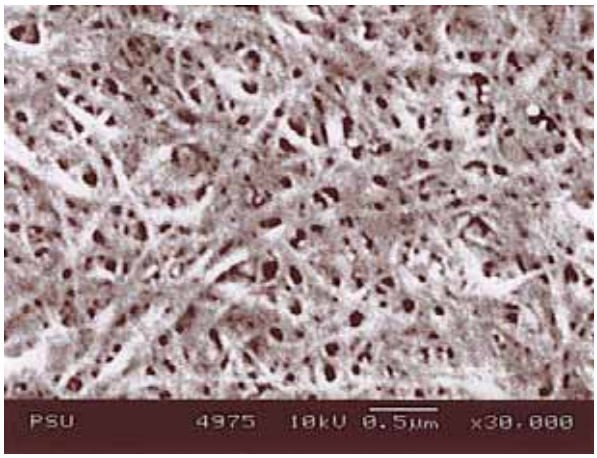
Minimum : 0.017 µm
Mean : 0.066 µm
Max : 0.257 µm
Standard deviation : 0.033 µm
Porosity : 4.87 %



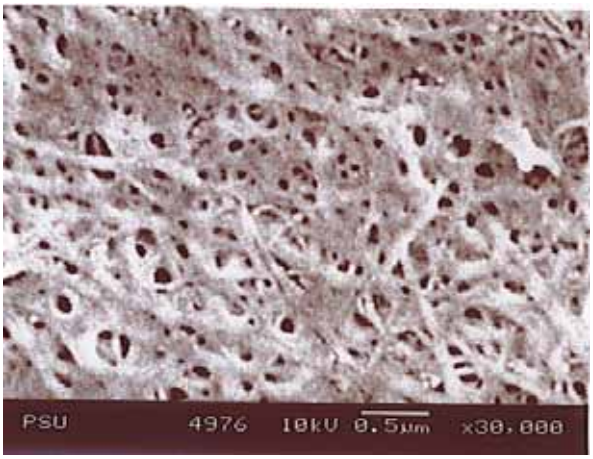
Minimum : 0.014 µm
Mean : 0.069 µm
Max : 0.298 µm
Standard deviation : 0.041 µm
Porosity : 4.32 %



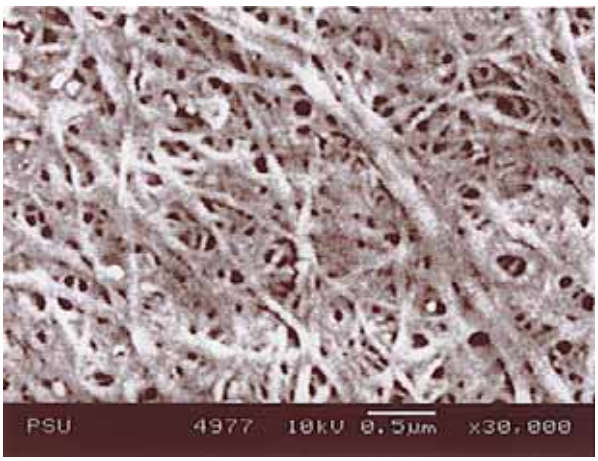
Minimum : 0.031 µm
Mean : 0.075 µm
Max : 0.212 µm
Standard deviation : 0.027 µm
Porosity : 7.04 %



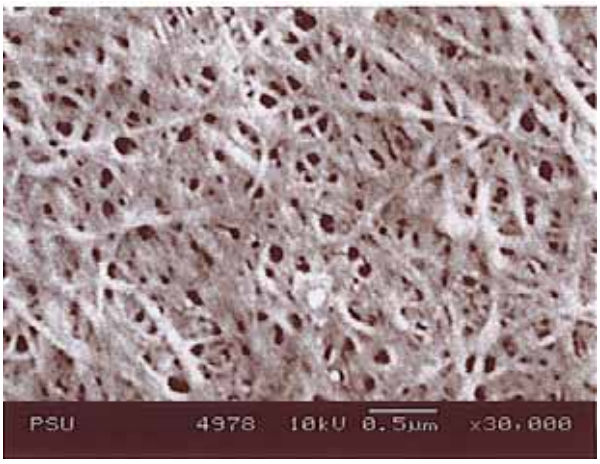
Minimum : 0.031 µm
Mean : 0.073 µm
Max : 0.172 µm
Standard deviation : 0.025 µm
Porosity : 6.10 %



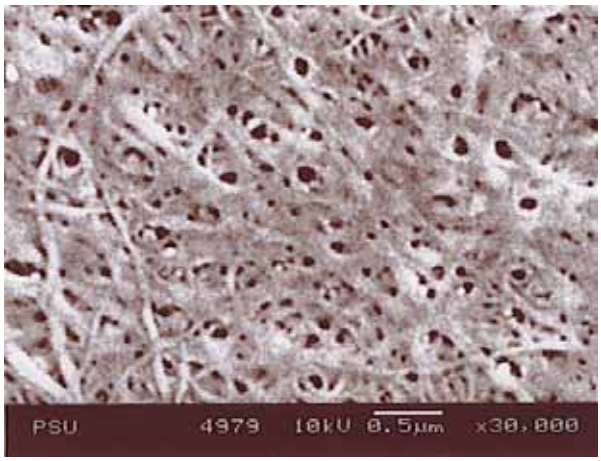
Minimum : 0.035 µm
Mean : 0.078 µm
Max : 0.232 µm
Standard deviation : 0.030 µm
Porosity : 5.91 %



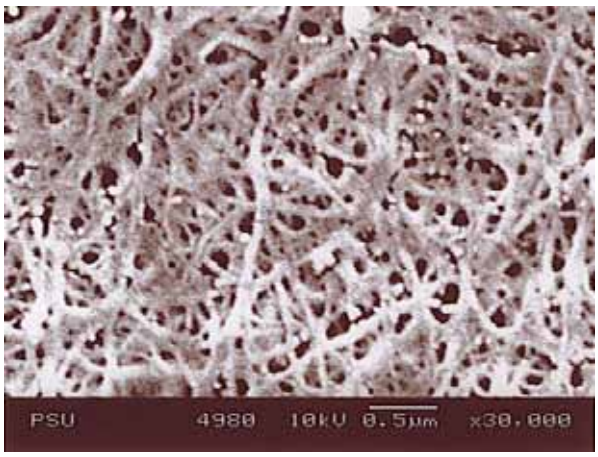
Minimum : 0.034 µm
Mean : 0.084 µm
Max : 0.199 µm
Standard deviation : 0.031 µm
Porosity : 7.43 %



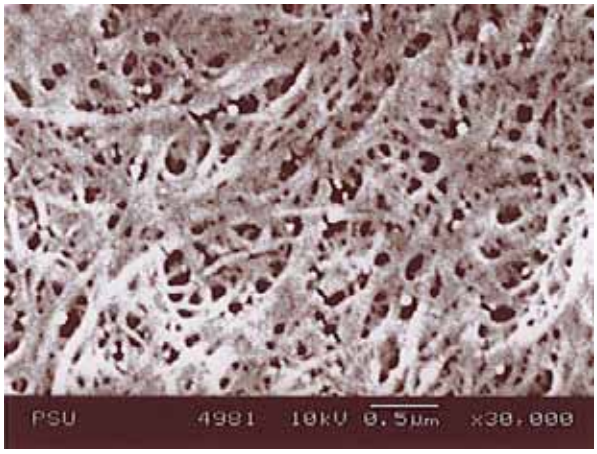
Minimum : 0.034 µm
Mean : 0.077 µm
Max : 0.222 µm
Standard deviation : 0.027 µm
Porosity : 7.23 %



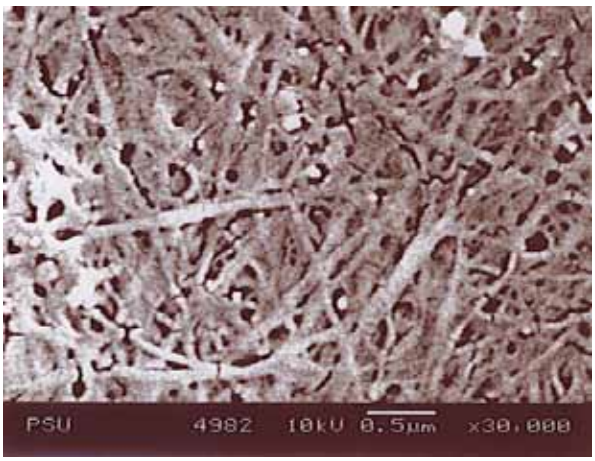
Minimum : 0.034 µm
Mean : 0.083 µm
Max : 0.285 µm
Standard deviation : 0.034 µm
Porosity : 7.90 %



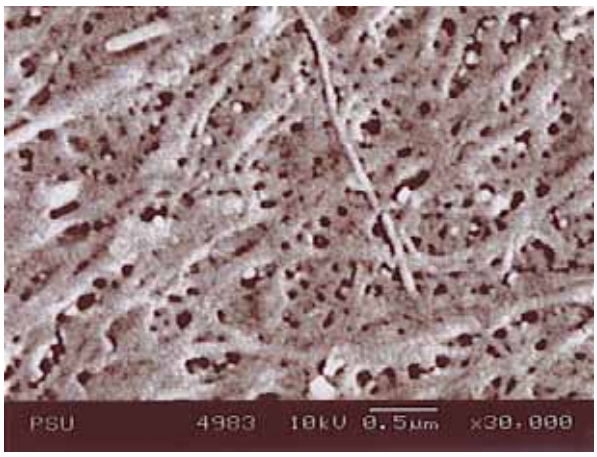
Minimum : 0.035 µm
Mean : 0.084 µm
Max : 0.331 µm
Standard deviation : 0.038 µm
Porosity : 8.83 %



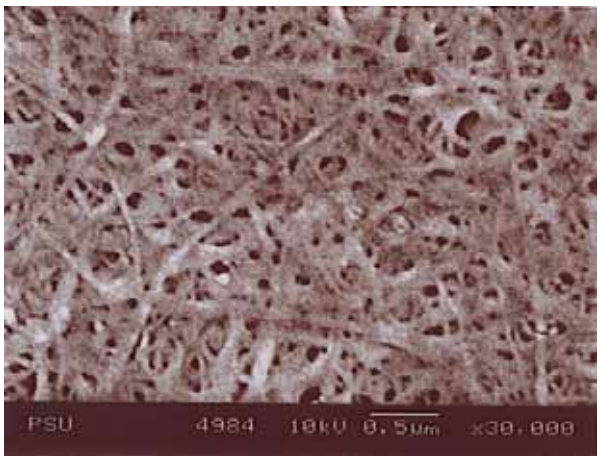
Minimum : 0.034 µm
Mean : 0.083 µm
Max : 0.346 µm
Standard deviation : 0.039 µm
Porosity : 8.10 %



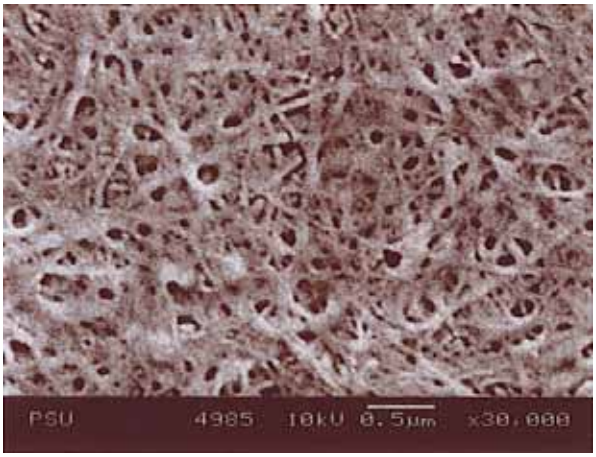
Minimum : 0.034 µm
Mean : 0.092 µm
Max : 0.317 µm
Standard deviation : 0.039 µm
Porosity : 8.03 %



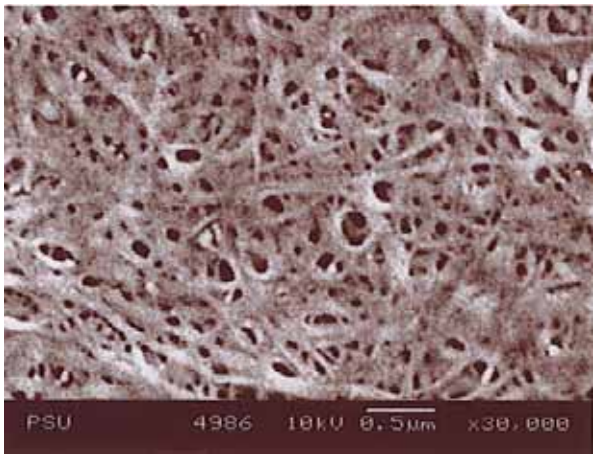
Minimum : 0.034 µm
Mean : 0.091 µm
Max : 0.276 µm
Standard deviation : 0.039 µm
Porosity : 7.90 %



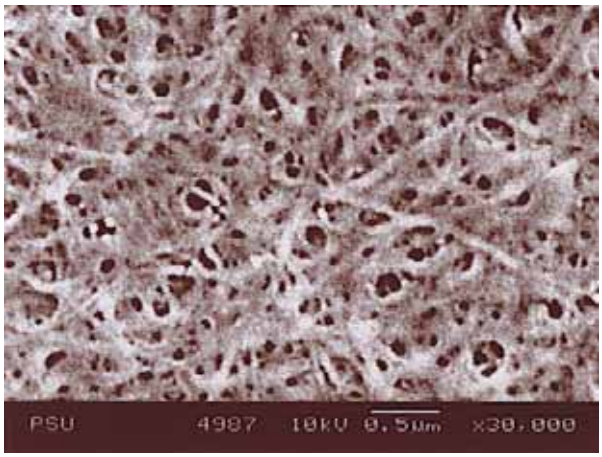
Minimum : 0.031 µm
Mean : 0.081 µm
Max : 0.200 µm
Standard deviation : 0.030 µm
Porosity : 6.28 %



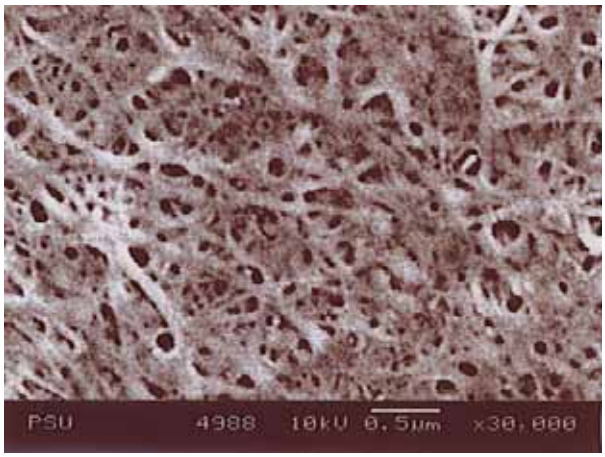
Minimum : 0.038 µm
Mean : 0.087 µm
Max : 0.272 µm
Standard deviation : 0.033 µm
Porosity : 7.46 %



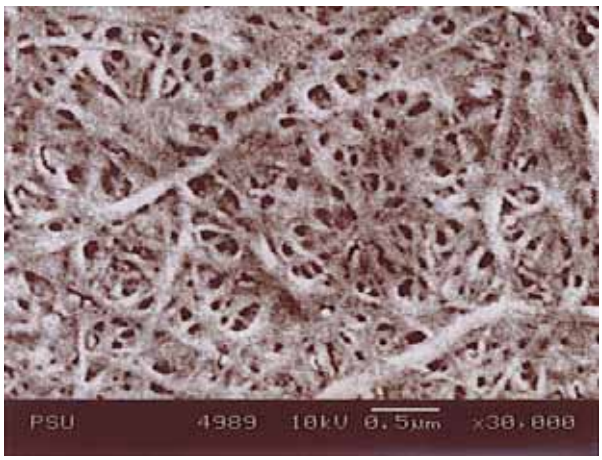
Minimum : 0.034 µm
Mean : 0.088 µm
Max : 0.247 µm
Standard deviation : 0.035 µm
Porosity : 7.90 %



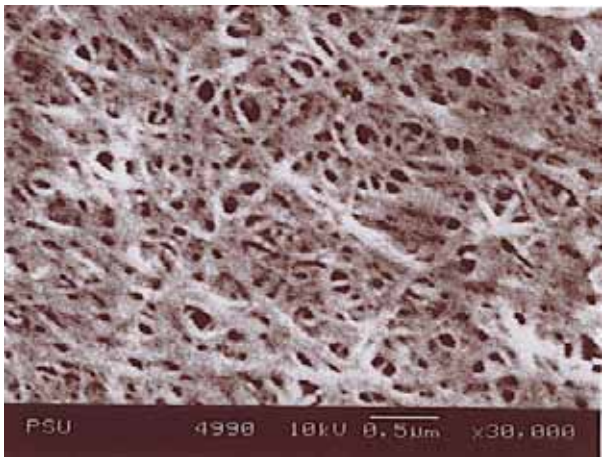
Minimum : 0.034 µm
Mean : 0.089 µm
Max : 0.220 µm
Standard deviation : 0.036 µm
Porosity : 7.01 %



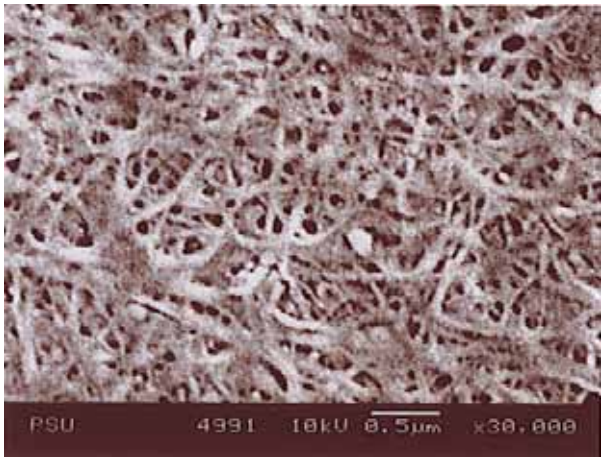
Minimum : 0.034 µm
Mean : 0.078 µm
Max : 0.202 µm
Standard deviation : 0.027 µm
Porosity : 7.02 %



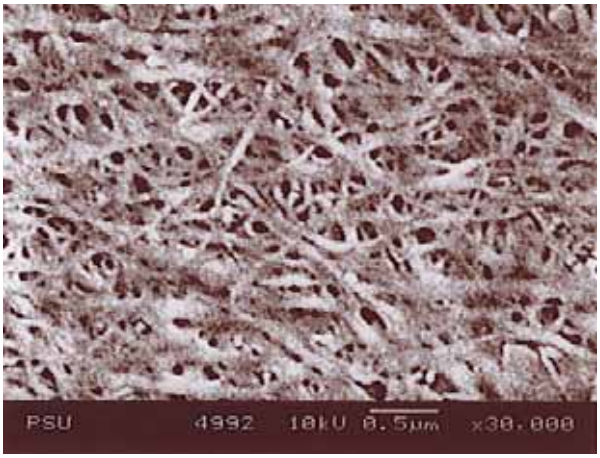
Minimum : 0.035 µm
Mean : 0.082 µm
Max : 0.242 µm
Standard deviation : 0.030 µm
Porosity : 5.93 %



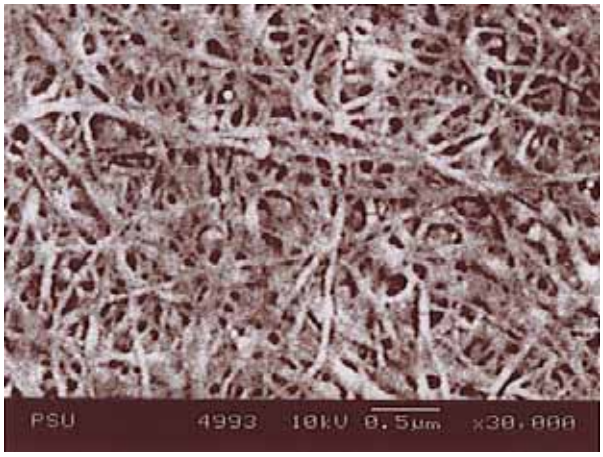
Minimum : 0.038 µm
Mean : 0.086 µm
Max : 0.228 µm
Standard deviation : 0.031 µm
Porosity : 6.31 %



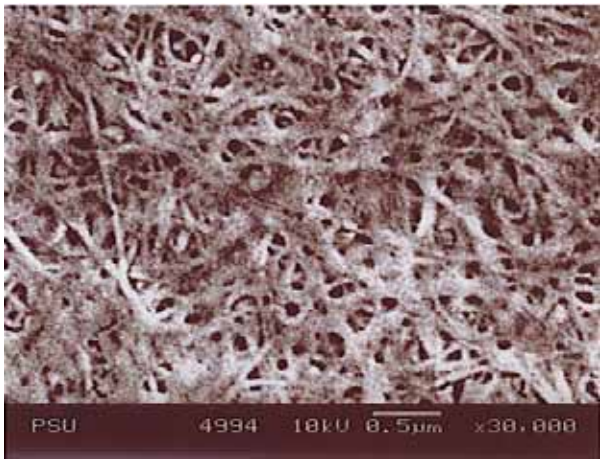
Minimum : 0.034 µm
Mean : 0.081 µm
Max : 0.206 µm
Standard deviation : 0.029 µm
Porosity : 7.16 %



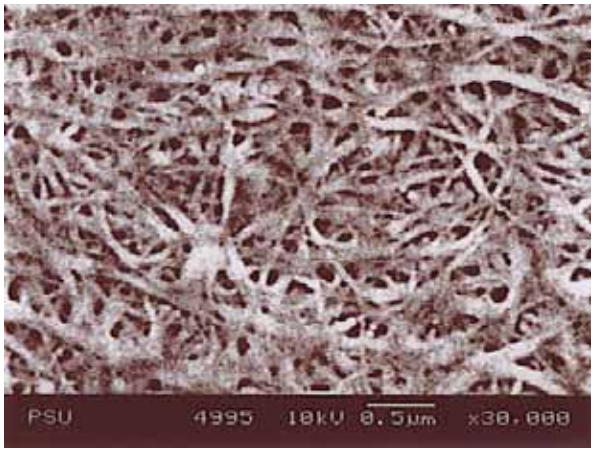
Minimum : 0.034 µm
Mean : 0.089 µm
Max : 0.305 µm
Standard deviation : 0.039 µm
Porosity : 7.63 %



Minimum : 0.031 µm
Mean : 0.076 µm
Max : 0.283 µm
Standard deviation : 0.030 µm
Porosity : 6.44 %



Minimum : 0.038 µm
Mean : 0.085 µm
Max : 0.222 µm
Standard deviation : 0.032 µm
Porosity : 7.14 %



Minimum : 0.031 µm
Mean : 0.089 µm
Max : 0.199 µm
Standard deviation : 0.031 µm
Porosity : 7.58 %