

บทที่ 4

ผลและการอภิปรายผล

ในบทนี้จะนำเสนอผลการทดลองและอภิปรายผลเบื้องต้นของ CC4S และ CE4S พร้อมผลการทดสอบลักษณะเบื้องต้นทางกายภาพ (Physical characterization of cellulose membrane) และทดสอบการกรองด้วยระบบกรองแบบปิดตาย

4.1 ผลของพีเอชต่อการผลิตเซลลูโลสและการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

4.1.1 ผลของพีเอชต่อการผลิตเซลลูโลส

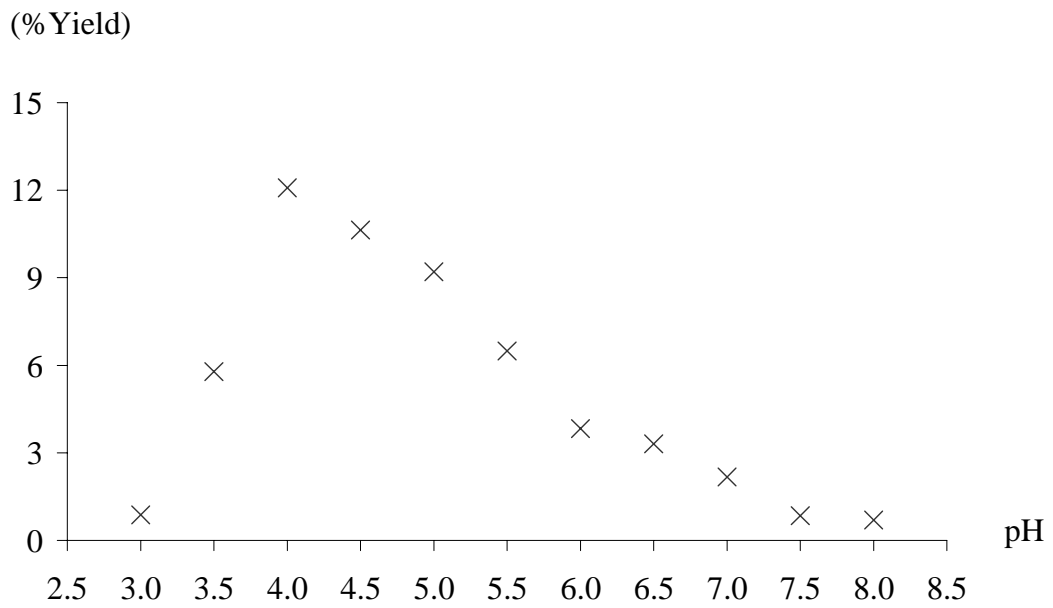
การศึกษาเบื้องต้นได้เพาะเลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเพาะเลี้ยงที่แบ่งค่าพีเอชเป็น 3 ช่วง คือ ที่พีเอชเริ่มต้น 3 5 และ 8 ตามวิธีการที่บรรยายในหัวข้อ 3.3.1 เป็นเวลา 3 วัน พบว่าอาหารเพาะเลี้ยงมีสีขุ่นเนื่องจากการสร้างเส้นใยเซลลูโลส ความขุ่นจะมากขึ้นตามระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง และจะมีการเปลี่ยนแปลงของสีเร็วที่สุดในชุดที่มีพีเอชเริ่มต้น 5.0 ดังรายละเอียดที่บันทึกไว้ในตารางที่ 4.1 สังเกตเห็นว่าในอาหารเพาะเลี้ยงที่มีสีขุ่นกว่าจะมีเส้นใยเซลลูโลสกระจายอยู่มากกว่า และเนื่องจากน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนที่สำคัญในการผลิตเส้นใยเซลลูโลส (Jonas R. และ Farah L.F., 1998) จึงได้บันทึกมวลรวมของเซลลูโลส/มวลเริ่มต้นของน้ำตาลซูโครสในอาหารเพาะเลี้ยงเพื่อหาเปอร์เซ็นต์ผลได้ (% Yield) (รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก) โดยเก็บเกี่ยวผลผลิตทุก ๆ 3 วัน จนกระทั่งอาหารเพาะเลี้ยงซึ่งเก็บที่ปริมาตร 50 มิลลิลิตรจะงวดลงตามวันที่เก็บเกี่ยวและพบว่าอาหารจะแห้งหมดภายในเวลา 27 - 45 วัน ขึ้นกับระดับพีเอชเริ่มต้นที่ผันแปร เมื่อเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ผลได้กับค่าพีเอชเริ่มต้น ภาพประกอบที่ 4.1 แสดงให้เห็นว่าอาหารเพาะเลี้ยงที่ค่าพีเอชเริ่มต้น 4.0 ให้ผลผลิตต่อปริมาณน้ำตาลสูงที่สุดคือ 12.1 % รองลงมาคือที่ค่าพีเอชเริ่มต้น 4.5 5.0 5.5 และ 3.5 ตามลำดับ ในขณะที่การทดลองของ Toda K. และคณะ (1997) พบว่าเมื่อใช้ซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนในอาหารเพาะเลี้ยง GPY ที่ค่าพีเอชเริ่มต้น 6.0 จะให้เปอร์เซ็นต์ผลได้ของการผลิตเซลลูโลสประมาณ 10% ซึ่งมีค่าน้อยกว่าในงานวิจัยนี้เล็กน้อย อาจเนื่องมาจากสูตรอาหารและค่าพีเอชเริ่มต้นของการเพาะเลี้ยงแตกต่างกัน งานวิจัยของ Hwang J.W. และคณะ (1999) ได้หาเปอร์เซ็นต์ผลได้เทียบกับระดับพีเอชที่คงที่โดยใช้อาหารเพาะเลี้ยง HS พบว่าที่ค่าพีเอช 5.0 แบคทีเรียให้ค่าเปอร์เซ็นต์

ผลได้มากที่สุดคือ 20.5% เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยนี้จะเห็นว่าค่าพีเอชที่ทำให้เปอร์เซ็นต์ผลได้สูงสุดต่างกันและในงานวิจัยให้ค่าน้อยกว่า ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากแหล่งคาร์บอนที่ต่างกันและในงานวิจัยไม่ได้ควบคุมระดับพีเอชให้คงที่ตลอดการเพาะเลี้ยง

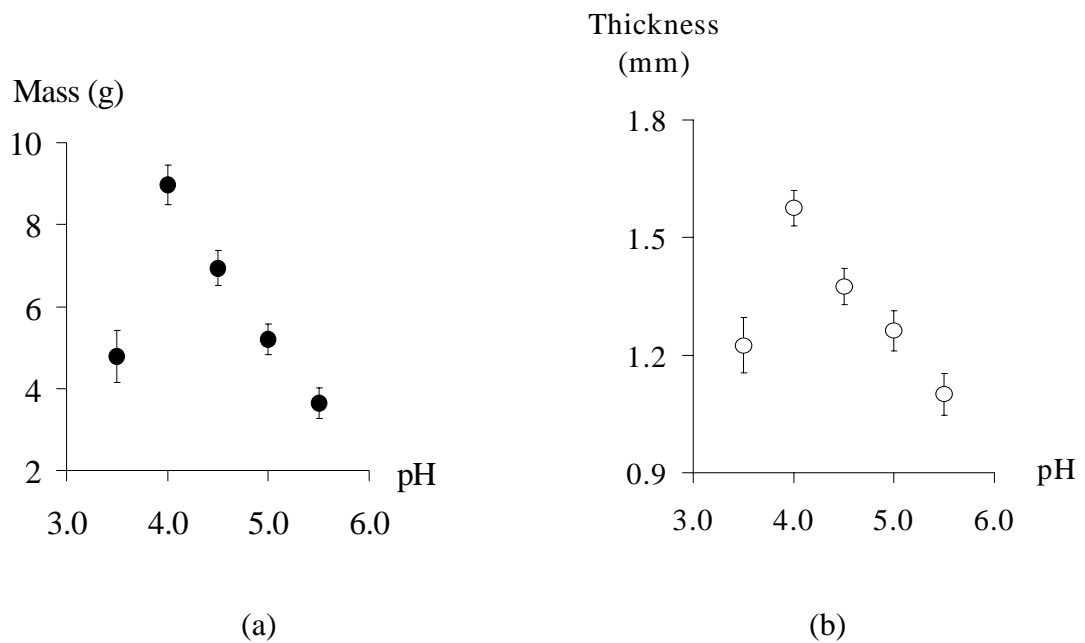
ตารางที่ 4.1 ผลของระดับพีเอชเริ่มต้นต่อสีของอาหารเพาะเลี้ยงและระดับเส้นใยเซลลูโลส

เวลา	ผลการทดลอง		
	พีเอช 3.0	พีเอช 5.0	พีเอช 8.0
1 วัน	อาหารเพาะเลี้ยงคงสีเดิม	ผิวบนของอาหารเพาะเลี้ยงเริ่มมีสีขุ่น	ลักษณะเหมือนที่พีเอช 5.0
2 วัน	อาหารเพาะเลี้ยงคงสีเดิม	ผิวบนของอาหารเพาะเลี้ยงมีสีขุ่นมากขึ้นกว่าเดิม และสังเกตเห็นเส้นใยกระจายได้อย่างชัดเจน	ผิวบนของอาหารเพาะเลี้ยงมีสีขุ่นมากขึ้นกว่าเดิม แต่การกระจายของเส้นใยน้อยกว่าที่พีเอช 5.0
3 วัน	สังเกตเห็นเป็นเส้นใยขุ่นกระจายอยู่บนผิวของอาหารเพาะเลี้ยง	ผิวบนของอาหารเพาะเลี้ยงปกคลุมด้วยแผ่นเซลลูโลสสีขาวขุ่น ลักษณะคล้ายวุ้นหนาประมาณ 2 - 3 มิลลิเมตร	ผิวบนของอาหารเพาะเลี้ยงมีสีขาวขุ่น คล้ายกับมีแผ่นบาง ๆ ปกคลุมอยู่ หนาประมาณ 1 มิลลิเมตร

เมื่อเปรียบเทียบความหนาและมวลของแผ่นเซลลูโลสที่ผลิตได้ แล้วเขียนกราฟมวลและความหนาเฉลี่ยกับค่าพีเอชที่เก็บเกี่ยวทุก ๆ 3 วันในอาหารที่มีค่าพีเอชเริ่มต้น 3.5 4.0 4.5 5.0 และ 5.5 พบว่ามวลและความหนาของแผ่นเซลลูโลสมีการเปลี่ยนแปลงไปในทิศทางเดียวกัน กล่าวคือ จะได้มวลสูงสุดเมื่อเพิ่มพีเอชจาก 3.5 ถึง 4.0 และมวลจะค่อย ๆ ลดลงเมื่อเพิ่มพีเอชจนถึงพีเอช 5.5 โดยที่พีเอชเริ่มต้น 4.0 จะได้แผ่นเซลลูโลสหนาที่สุดคือ 1.58 ± 0.05 มิลลิเมตร และมีมวลมากที่สุดคือ 8.97 ± 0.48 กรัม (ดังภาพประกอบที่ 4.2) จะเห็นว่าที่พีเอชเริ่มต้น 4.0 การผลิตเส้นใยเซลลูโลสของเซลล์มีความสอดคล้องกันทั้งในแง่เปอร์เซ็นต์ผลได้ มวลและความหนาของแผ่นเซลลูโลส



ภาพประกอบที่ 4.1 เปอร์เซนต์ผลได้เส้นใยเซลลูโลสเทียบกับระดับพีเอชเริ่มต้น

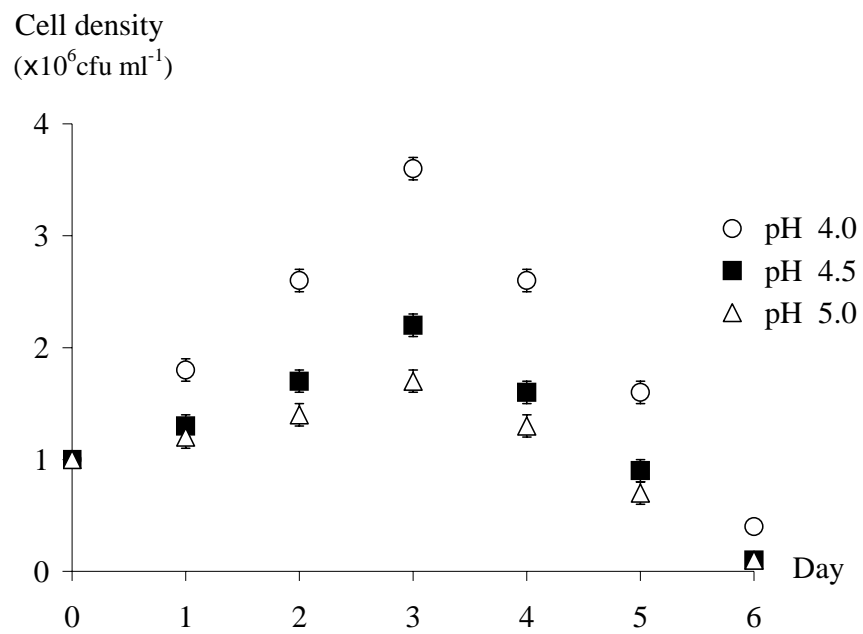


ภาพประกอบที่ 4.2 มวล (a) และความหนา (b) ของแผ่นเซลลูโลสเทียบกับระดับพีเอชเริ่มต้น
เฉลี่ยจาก 8 การทดลอง

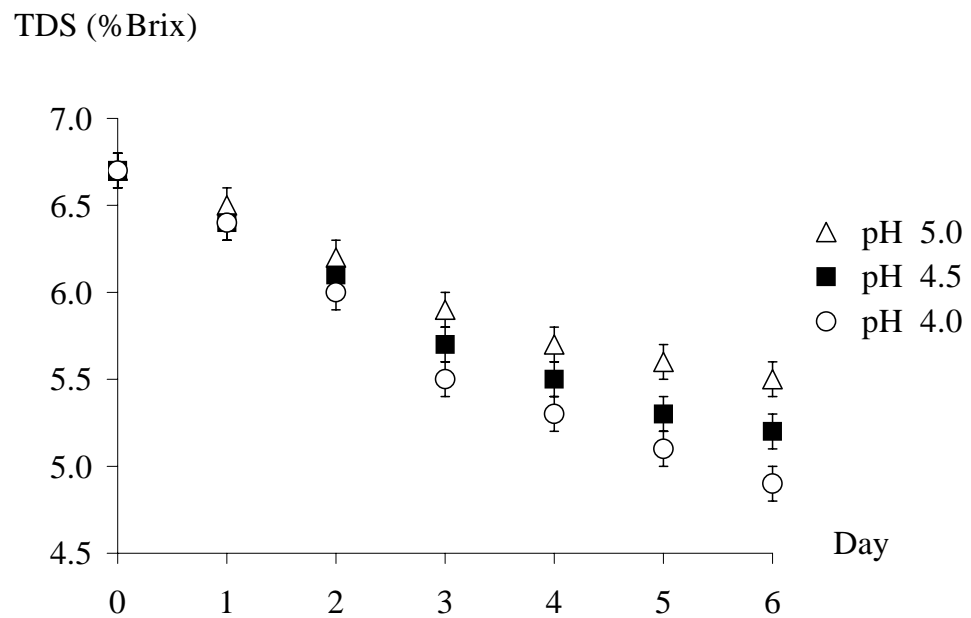
4.1.2 ผลของพีเอชต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

จากผลการทดลองในหัวข้อ 4.1.1 พบว่าอาหารเพาะเลี้ยงที่พีเอชเริ่มต้น 4.0 เซลล์ผลิตเส้นใยเซลลูโลสได้มากที่สุด จึงตั้งสมมติฐานว่าเซลล์น่าจะมีการเจริญเติบโตได้ดีที่พีเอชเริ่มต้น 4.0 ด้วย ได้หาความหนาแน่นของเซลล์ในอาหารระหว่างการเพาะเลี้ยงโดยใช้ค่าพีเอชตั้งต้นที่ 4.0 4.5 และ 5.0 เป็นเวลา 6 วัน พบว่าความหนาแน่นเซลล์เพิ่มขึ้นในช่วง 3 วันแรกของการเพาะเลี้ยงที่ทุกค่าพีเอช คือจาก 1×10^6 cfu ml⁻¹ เป็น 3.6×10^6 cfu ml⁻¹ 2.2×10^6 cfu ml⁻¹ และ 1.7×10^6 cfu ml⁻¹ ตามลำดับ หลังจาก 3 วันความหนาแน่นเซลล์ก็จะลดลงเหลือ 0.4×10^6 cfu ml⁻¹ 0.1×10^6 cfu ml⁻¹ และ 0.1×10^6 cfu ml⁻¹ ในวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยงตามลำดับ ดังแสดงในภาพประกอบที่ 4.3(a) คาดว่าน่าจะเกิดจากปริมาณน้ำตาลที่เหลือในอาหารมีไม่เพียงพอเมื่อเทียบกับจำนวนเซลล์ที่เพิ่มขึ้น จึงตั้งข้อสังเกตว่าปริมาณน้ำตาลที่เหลือในอาหารน่าจะมีผลต่อการเจริญเพิ่มจำนวนของเซลล์ จากการติดตามปริมาณน้ำตาลโดยวัดเป็นค่า Total dissolved solids (TDS) ในอาหารที่ระดับพีเอชเริ่มต้น 4.0 4.5 และ 5.0 เป็นเวลา 6 วัน พบว่าค่า TDS ในอาหารลดลงตามระยะเวลา ดังภาพประกอบที่ 4.3(b) จากความชันของกราฟตีความได้ว่า เซลล์มีอัตราการใช้น้ำตาลสูงภายใน 3 วันแรกของการเพาะเลี้ยงที่ทุกค่าพีเอช หลังจาก 3 วันอัตราการใช้น้ำตาลก็จะช้าลง

การทดลองในหัวข้อ 4.1 นี้ทำให้ทราบว่า ค่าพีเอชเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเซลล์และการผลิตเส้นใยเซลลูโลส ในสูตรอาหารเพาะเลี้ยงดังหัวข้อ 3.3.1 คือค่าพีเอช 4.0 ดังนั้นการศึกษามูลของไฟฟ้าที่มีต่อการเจริญเติบโตของเซลล์จึงเลือกทำการศึกษาที่ค่า พีเอช 4.0 เพียงค่าเดียว



(a)



(b)

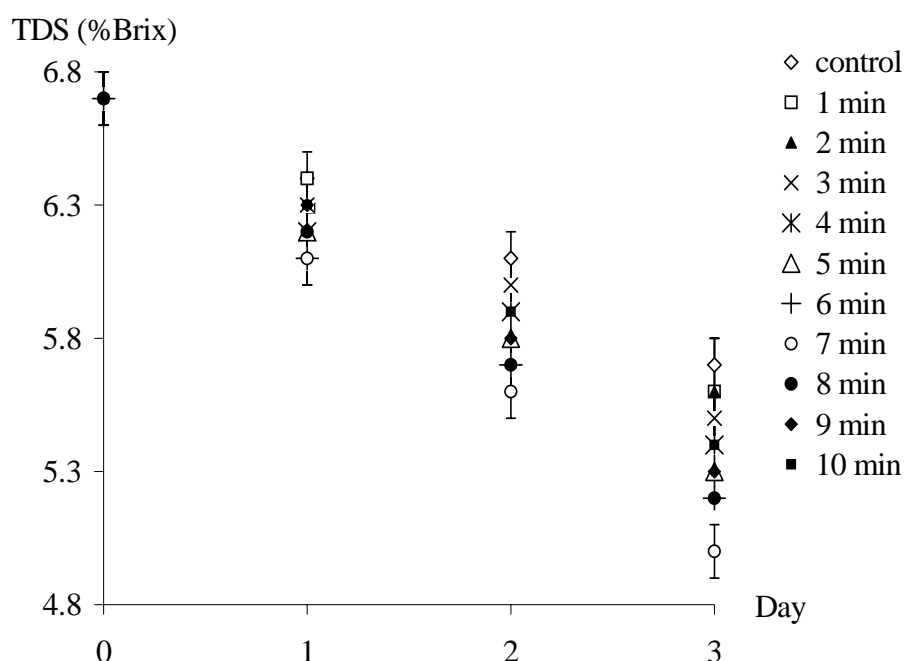
ภาพประกอบที่ 4.3 เปรียบเทียบความหนาแน่นเซลล์ (a) และค่า TDS (b) ในอาหารเพาะเลี้ยง
กับจำนวนวันที่เพาะเลี้ยง เฉลี่ยจาก 6 การทดลอง

4.2 ผลของเวลา สนามไฟฟ้า และความถี่ของสัญญาณไฟฟ้าต่อการใช้ปริมาณน้ำตาลของแบคทีเรีย

ในการศึกษาเบื้องต้นได้ตั้งสมมติฐานว่า การเหนี่ยวนำเซลล์ด้วยไฟฟ้ากระแสสลับน่าจะมีผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ ถ้าเซลล์มีการเจริญเติบโตมากก็น่าจะผลิตเส้นใยเซลลูโลสได้เร็ว ซึ่งจะทดสอบโดยวัดปริมาณน้ำตาลในอาหารระหว่างการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 วัน โดยวัดเป็นค่า Total dissolved solids (TDS) เนื่องจากผลการทดลองก่อนหน้านี้พบว่า ปริมาณน้ำตาลที่ลดลงมากที่สุดสืบเนื่องมาจากเซลล์มีความหนาแน่นมากที่สุด ซึ่งทดลองตามวิธีการที่บรรยายในหัวข้อ 3.3.4

4.2.1 ผลของเวลา

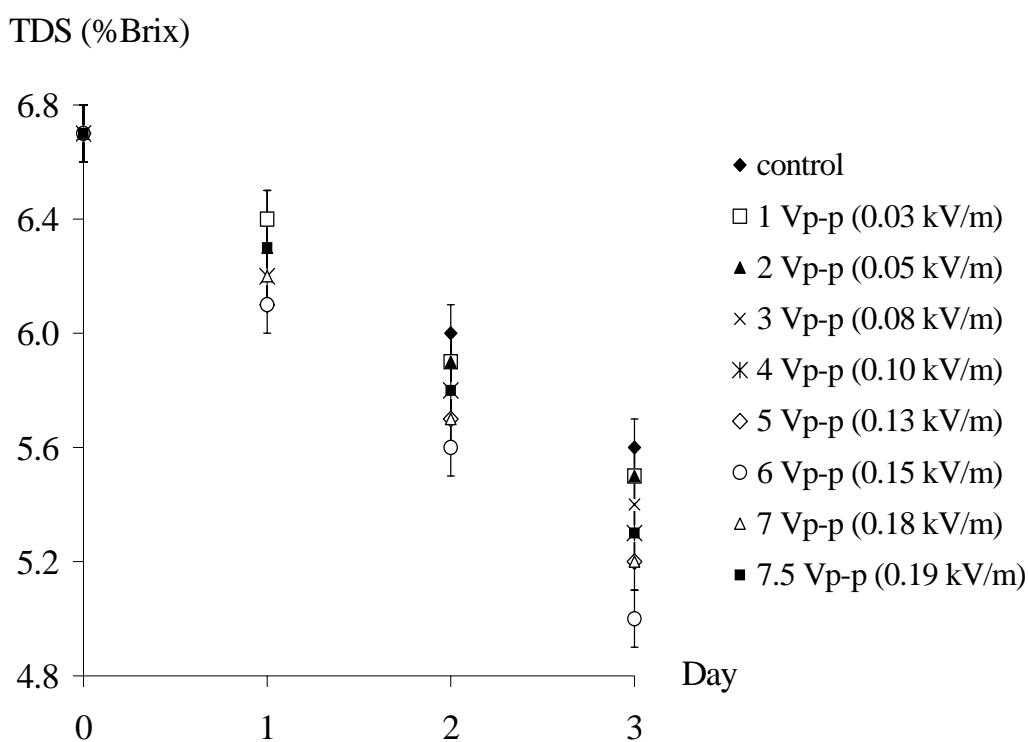
หาระยะเวลาที่เซลล์ถูกเหนี่ยวนำด้วยไฟฟ้า ได้ใช้ศักย์ไฟฟ้าและความถี่ที่ $7.5 V_{p-p}$ และ 0.5 MHz ตามลำดับ โดยผันแปรระยะเวลาที่เหนี่ยวนำเซลล์ก่อนนำเซลล์ไปเพาะเลี้ยงนาน 1-10 นาที พบว่าค่า TDS (%Brix) ที่เหลือในอาหารเพาะเลี้ยงลดลงตามเวลา โดยเฉพาะที่การเหนี่ยวนำเซลล์ก่อนการเพาะเลี้ยงนาน 7 นาที จะมีการใช้น้ำตาลมากที่สุดทั้งสามวันของการเพาะเลี้ยง ดังภาพประกอบที่ 4.4



ภาพประกอบที่ 4.4 เปรียบเทียบระยะเวลาที่ใช้เหนี่ยวนำเซลล์กับค่า TDS ในอาหารเพาะเลี้ยง ซึ่งเฉลี่ยจาก 6 การทดลอง

4.2.2 ผลของสนามไฟฟ้า

หาค่าสนามไฟฟ้าโดยผันแปรค่าศักย์ไฟฟ้าในการเหนี่ยวนำเซลล์ระหว่าง 1-7.5 V_{p-p} ขณะที่ระยะห่างระหว่างขั้วไฟฟ้าเท่ากับทุกชุดการทดลองคือ 1.4 เซนติเมตร และใช้ความถี่ในการเหนี่ยวนำเซลล์ที่ 0.5 MHz เป็นเวลานาน 7 นาที พบว่าค่า TDS (%Brix) ที่เหลือในอาหารเพาะเลี้ยงลดลงตามศักย์ไฟฟ้า โดยเฉพาะที่ค่าศักย์ไฟฟ้า 6 V_{p-p} จะมีการใช้น้ำตาลมากที่สุด ดังภาพประกอบที่ 4.5 จากค่าศักย์ไฟฟ้าที่ได้สามารถคำนวณหาค่าสนามไฟฟ้าได้โดยอาศัยสมการในหัวข้อ 2.1 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.15 kV m^{-1}

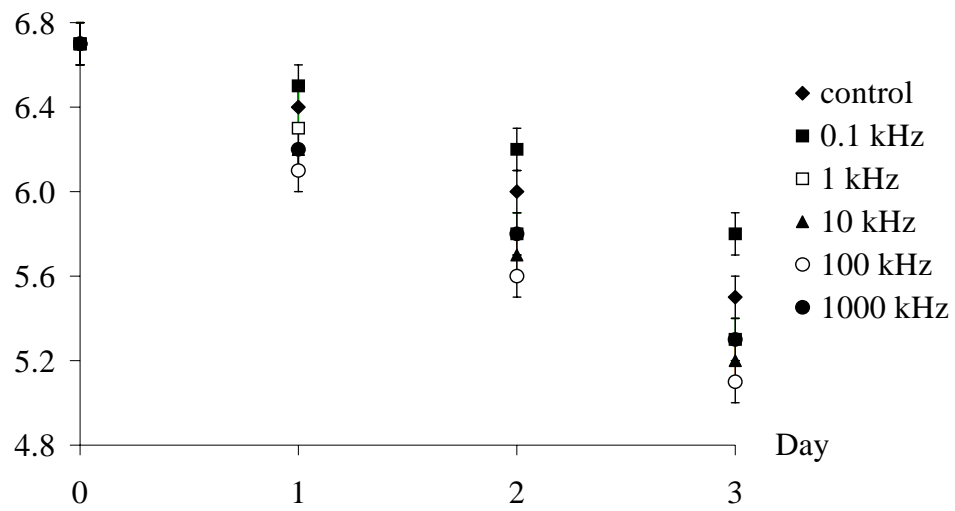


ภาพประกอบที่ 4.5 เปรียบเทียบศักย์ไฟฟ้าที่ใช้เหนี่ยวนำเซลล์กับค่า TDS ในอาหารเพาะเลี้ยง ซึ่งเฉลี่ยจาก 6 การทดลอง

4.2.3 ผลของความถี่สัญญาณไฟฟ้า

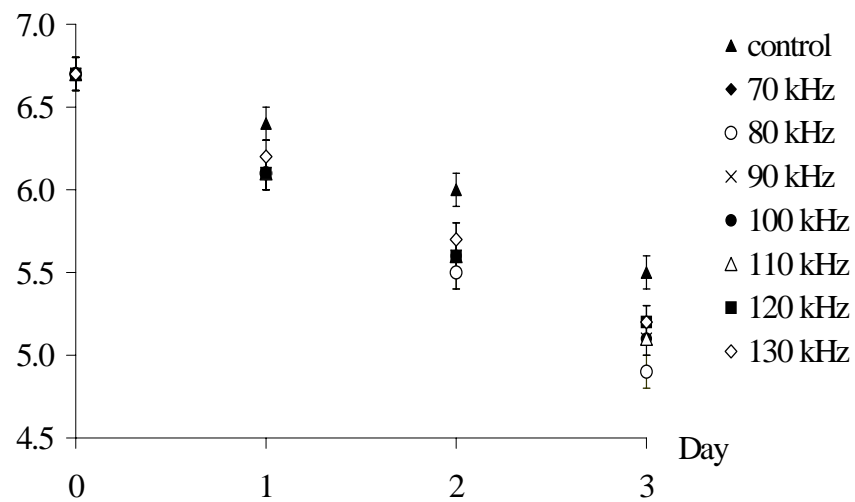
หาค่าความถี่ที่ใช้ในการเหนี่ยวนำเซลล์ด้วยไฟฟ้า สํารวจเบื้องต้นโดยใช้ความถี่ 0.1 1 10 100 และ 1000 kHz และใช้ค่าศักย์ไฟฟ้าที่ 6 V_{p-p} เป็นเวลานาน 7 นาทีก่อนการเพาะเลี้ยง พบว่าค่า TDS (%Brix) ที่เหลือในอาหารเพาะเลี้ยงลดลงตามความถี่ ยกเว้นที่ความถี่ 0.1 kHz โดยที่ความถี่ 100 kHz จะมีการใช้น้ำตาลมากที่สุด จึงทำการศึกษาต่อโดยผันแปรค่าความถี่อีก 7 ระดับ คือ 70 80 90 100 110 120 และ 130 kHz พบว่าค่า TDS (%Brix) ที่เหลือในอาหารลดลงตามความถี่ โดยที่ความถี่ 80 kHz จะมีการใช้น้ำตาลมากที่สุด ดังภาพประกอบที่ 4.6

TDS (%Brix)



(a)

TDS(%Brix)



(b)

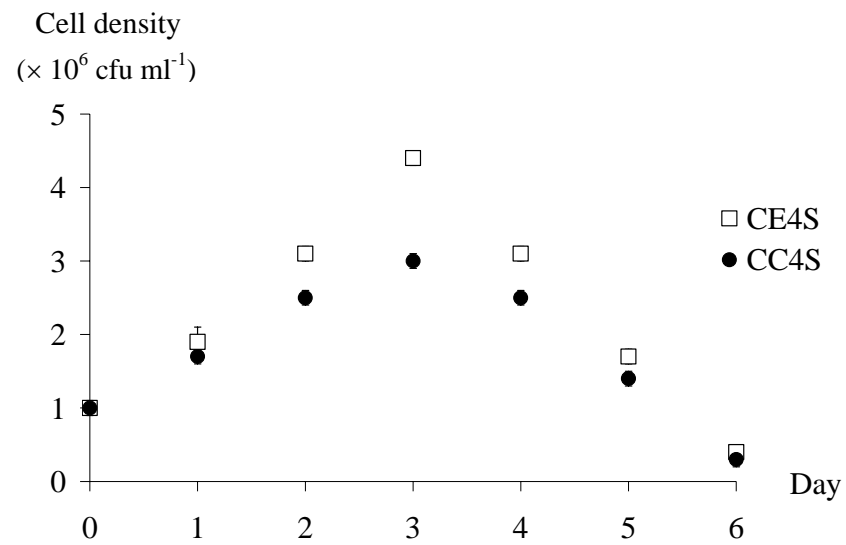
ภาพประกอบที่ 4.6 (a) และ (b) เปรียบเทียบความถี่ที่ใช้เหนี่ยวนำเซลล์กับค่า TDS ในอาหารเพาะเลี้ยง ซึ่งเฉลี่ยจาก 6 การทดลอง

4.3 ผลของการเหนี่ยวนำเซลล์ด้วยไฟฟ้าต่อการเจริญเติบโตและการผลิตเซลล์ของแบคทีเรีย

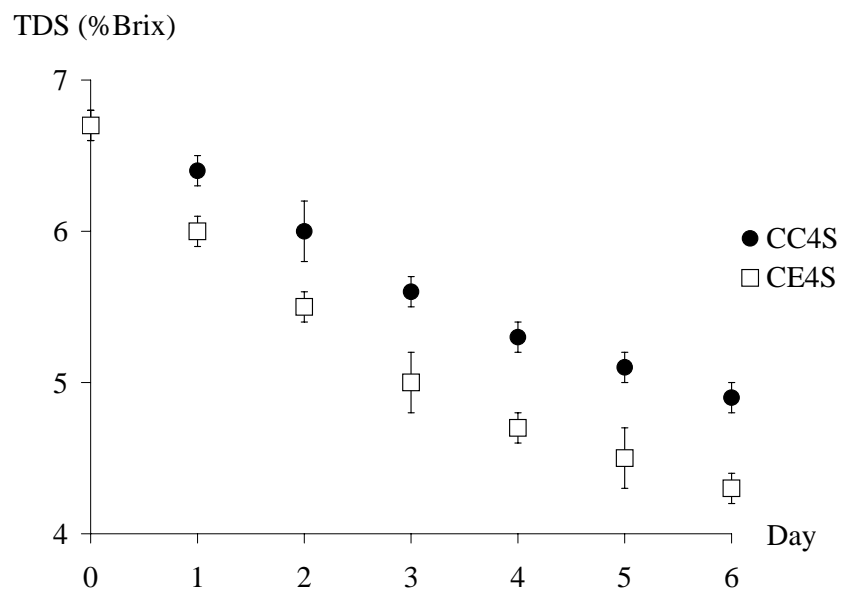
4.3.1 ผลของการเหนี่ยวนำเซลล์ด้วยไฟฟ้าต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

เมื่อได้เงื่อนไขที่เหมาะสมในการเหนี่ยวนำเซลล์แล้ว คือ เหนี่ยวนำเซลล์ด้วยสนามไฟฟ้ากระแสสลับ 0.15 kV m^{-1} ความถี่ 80 kHz เป็นเวลานาน 7 นาที จึงทดสอบความหนาแน่นเซลล์ในอาหารระหว่างการเพาะเลี้ยงของชุดควบคุมและชุดเหนี่ยวนำเซลล์ด้วยไฟฟ้าเป็นเวลา 6 วัน พบว่าความหนาแน่นเซลล์เพิ่มขึ้นในช่วง 3 วันแรกของการเพาะเลี้ยง คือ จาก $1 \times 10^6 \text{ cfu ml}^{-1}$ เป็น $3.0 \times 10^6 \text{ cfu ml}^{-1}$ และ $4.4 \times 10^6 \text{ cfu ml}^{-1}$ ตามลำดับ หลังจาก 3 วันความหนาแน่นเซลล์ก็จะลดลงเหลือ $0.3 \times 10^6 \text{ cfu ml}^{-1}$ และ $0.4 \times 10^6 \text{ cfu ml}^{-1}$ ในวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยงตามลำดับ ดังแสดงในภาพประกอบที่ 4.7(a) ซึ่งคาดว่าน่าจะเกิดจากปริมาณน้ำตาลที่เหลือในอาหารมีไม่เพียงพอเมื่อเทียบกับจำนวนเซลล์ที่เพิ่มขึ้น และจะเห็นว่าความหนาแน่นเซลล์ของชุดเหนี่ยวนำเซลล์มีค่ามากกว่าชุดควบคุมประมาณ 1.5 เท่า จากการติดตามปริมาณน้ำตาลในอาหารเป็นเวลา 6 วัน ด้วยค่า TDS พบว่าค่า TDS ในอาหารลดลงตามระยะเวลา ดังภาพประกอบที่ 4.7(b) และจะเห็นว่าค่า TDS ในอาหารเพาะเลี้ยงของชุดเหนี่ยวนำเซลล์มีค่าน้อยกว่าชุดควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับผลความหนาแน่นเซลล์

ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าค่าสนามไฟฟ้า ความถี่ และเวลาที่เหมาะสมต่อการเหนี่ยวนำเซลล์เพื่อเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์ คือ 0.15 kV m^{-1} 80 kHz และ 7 นาที ตามลำดับ



(a)



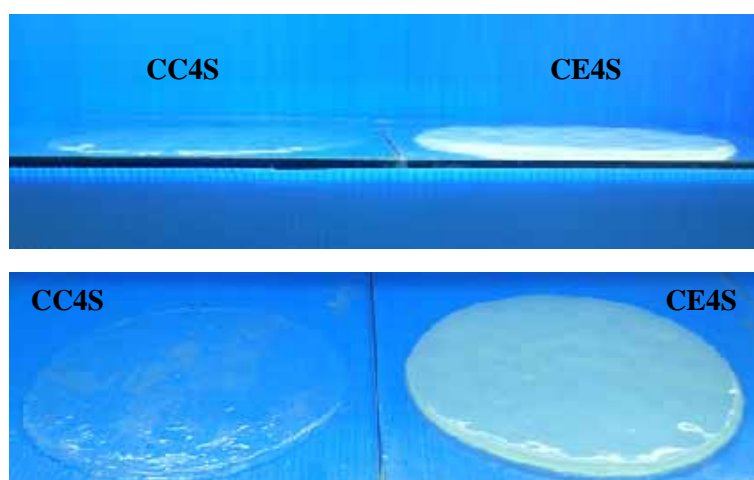
(b)

ภาพประกอบที่ 4.7 เปรียบเทียบความหนาแน่นเซลล์ (a) และค่า TDS ในอาหารเพาะเลี้ยง (b) ระหว่างชุดควบคุมและชุดเหนี่ยวนำเซลล์ ซึ่งเฉลี่ยจาก 6 การทดลอง

4.3.2 ผลของการเหนี่ยวนำเซลล์ด้วยไฟฟ้าต่อการผลิตเซลล์

หลังจากเก็บเกี่ยวแผ่นเซลล์ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 วัน แล้วนำแผ่นเซลล์ไปล้างตามวิธีการที่อธิบายในหัวข้อ 3.3.5 จะได้แผ่นเซลล์ที่มีลักษณะคล้ายแผ่นวุ้นที่มีความหนาแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับเงื่อนไขในการเพาะเลี้ยง ดังภาพประกอบที่ 4.8 เมื่อเปรียบเทียบความหนาและมวล พบว่าแผ่นเซลล์ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยไฟฟ้ามีความหนากว่าชุดควบคุมประมาณ 1.8 เท่า และมีมวลมากกว่าประมาณ 1.3 เท่า ดังรายละเอียดที่บันทึกไว้ในตารางที่ 4.2

จากหัวข้อ 4.3 นี้สามารถสรุปได้ว่า เซลล์ที่ได้รับการเหนี่ยวนำด้วยไฟฟ้ามีการเจริญเติบโตและผลิตเซลล์ได้ดีกว่าเซลล์ที่ไม่ได้รับการเหนี่ยวนำด้วยไฟฟ้า



ภาพประกอบที่ 4.8 ความหนาของแผ่นเซลล์ที่เพาะเลี้ยงในงานแก้วเป็นเวลา 3 วัน

ตารางที่ 4.2 ความหนาและมวลของแผ่นเซลล์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 วัน ข้อมูลเฉลี่ยจาก 8 การทดลอง

แผ่นเซลล์	ความหนา (mm.)	มวล (g)
CC4S	1.56 ± 0.14	8.97 ± 0.48
CE4S	2.75 ± 0.18	11.87 ± 0.35

4.4 เปรียบเทียบคุณลักษณะของเยื่อบาง CC4S และ CE4S

จากวิธีการที่บรรยายในหัวข้อ 3.3.5 เมื่อนำแผ่นเซลลูโลสมาอบให้แห้ง ก็จะได้แผ่นเยื่อบางที่พร้อมสำหรับนำไปใช้งาน เมื่อเปรียบเทียบความหนาและมวล พบว่าเยื่อบางชุดหนึ่งยวน่าเซลลล์มีมวล และความหนามากกว่าชุดควบคุมประมาณ 1.3 และ 1.4 เท่า ตามลำดับ ดังรายละเอียดที่บันทึกไว้ในตารางที่ 4.3 เมื่อเปรียบเทียบความหนาของเยื่อบางที่เตรียมโดย Dubey V. และคณะ (2002) ซึ่งมีความหนาอยู่ระหว่าง 50-100 μm (0.05-0.10 mm) จะเห็นว่าหนากว่าเยื่อบางในงานวิจัยถึง 2-3 เท่า เนื่องจากระยะเวลาของการเพาะเลี้ยงไม่เท่ากัน โดยในงานวิจัยใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงเพียง 3 วัน ขณะที่ Dubey V. และคณะ ใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงถึง 2 สัปดาห์ จากนั้นนำเยื่อบางมาทดสอบคุณลักษณะต่าง ๆ ดังนี้

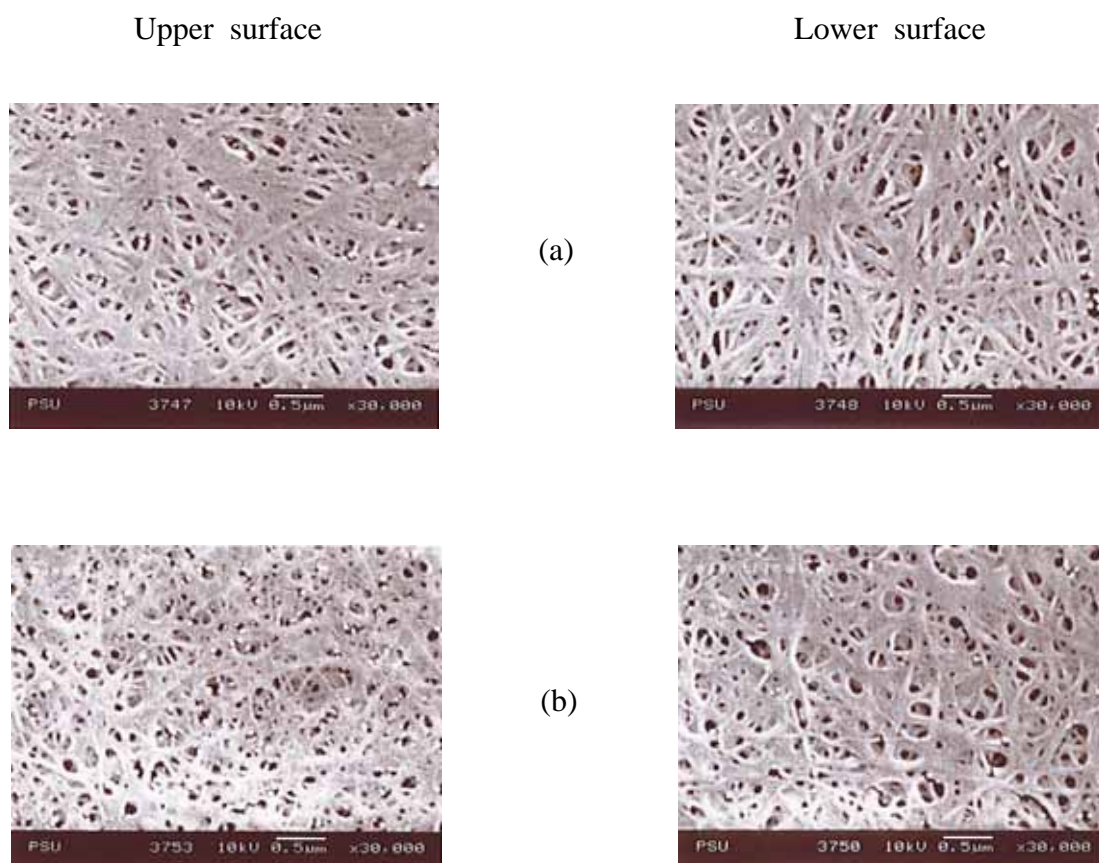
ตารางที่ 4.3 ความหนาและมวลของเยื่อบางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 วัน ข้อมูลเฉลี่ยจาก 20 การทดลอง

เยื่อบาง	ความหนา (mm.)	มวล (g)
CC4S	0.027 ± 0.003	0.12 ± 0.01
CE4S	0.038 ± 0.003	0.16 ± 0.01

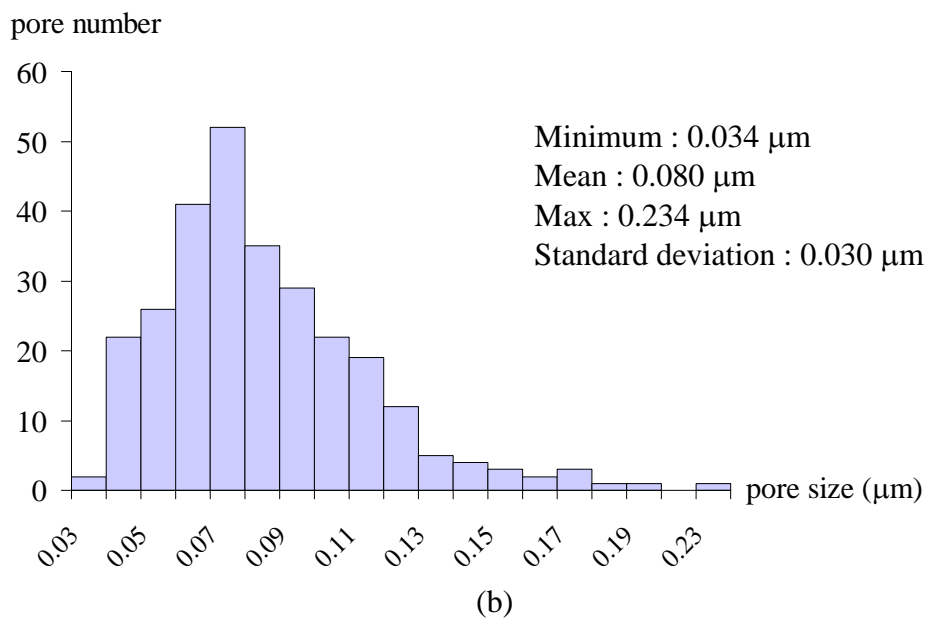
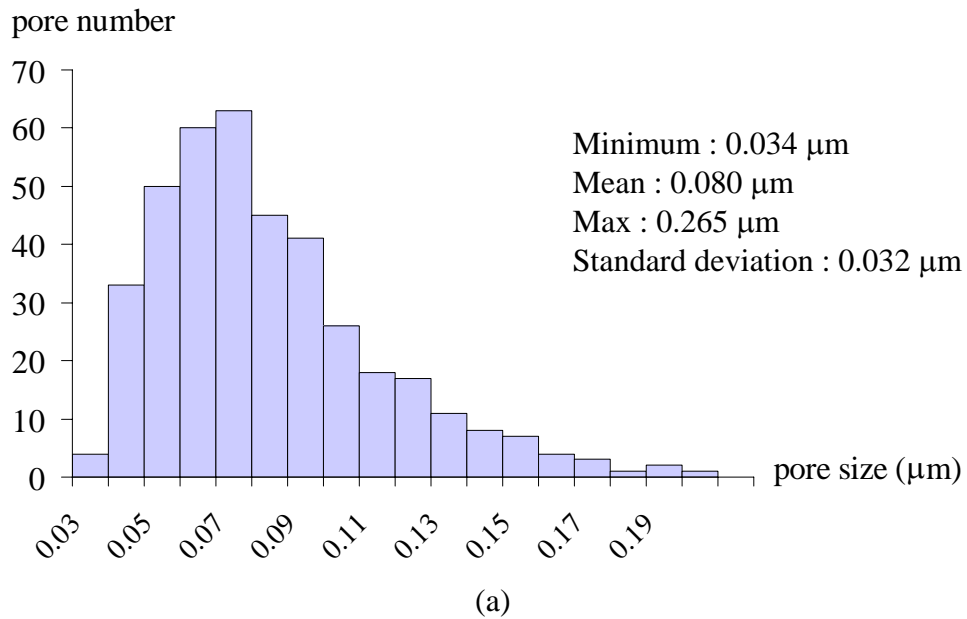
4.4.1 ความพรุนและขนาดรูของเยื่อบางเซลลูโลส

งานวิจัยนี้ได้เลือกใช้โปรแกรมคาร์นอย (Carnoy Software) ในการวิเคราะห์และเปรียบเทียบความพรุนและขนาดรูของเยื่อบางโดยภาพถ่าย SEM ตามวิธีการที่บรรยายในหัวข้อ 3.3.6 ในการวิเคราะห์หาความพรุนและขนาดรูจะใช้ภาพถ่าย SEM ที่ซูมจากเยื่อบางหลาย ๆ ชุด และหลายตำแหน่งเพื่อนำมาหาค่าเฉลี่ย การทดลองได้ใช้ภาพถ่าย SEM ของเยื่อบาง CC4S และ CE4S ทั้งหมด 9 และ 31 ภาพตามลำดับ ภาพประกอบที่ 4.9 แสดงตัวอย่างภาพถ่าย SEM จากหลาย ๆ ภาพที่ถ่ายจากเยื่อบาง CC4S และ CE4S ที่ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 วัน จากการรวบรวมผลทางสถิติของภาพถ่าย SEM ของเยื่อบางทั้งหมด (รายละเอียดแต่ละภาพถ่าย SEM แสดงในภาคผนวก จ) โดยใช้โปรแกรมคาร์นอยพบว่า การกระจายของรูบนเยื่อบางเซลลูโลสทั้งชุดควบคุมและชุดหนึ่งยวน่าเซลลล์ด้วยไฟฟ้ามีลักษณะคล้ายทรงระฆังคว่ำซึ่งมีขนาดรูระหว่าง 0.03-0.25 μm ดังภาพประกอบที่ 4.10 เมื่อนำมาคำนวณทางสถิติจากการทดลอง 40 การทดลอง และจากสมการ 3.1 จะได้ขนาดรูเฉลี่ยทั้งสองชุดคือ 0.08 μm แต่มีค่าความพรุนเฉลี่ยต่างกัน คือ 4.34% และ 6.74% ตามลำดับ ดังรายละเอียดที่บันทึกไว้ในตารางที่ 4.4 ซึ่งจะเห็นว่ามีความ

พูนสูงกว่าเยื่อบางเซลลูโลสที่เตรียมได้ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียที่มีความหนาแน่นเซลล์ 2×10^8 cfu ml⁻¹ ด้วยสูตรอาหาร HS และน้ำมะพร้าว คือ 1.4 - 2.4 % (Wanichapichart P., et al., 2002) นอกจากนี้ได้นำภาพถ่าย SEM ของเยื่อบาง PVDF ขนาดรูพรุนเฉลี่ย 0.1 μ m มาวิเคราะห์หาความพูนและการกระจายของรูพรุนโดยโปรแกรมคาร์นอย ดังภาพประกอบที่ 4.11 และ 4.12 พบว่ามีความพูน 5.89 % ซึ่งมีค่ามากกว่าเยื่อบางเซลลูโลสชุดควบคุม ขณะที่การกระจายของรูพรุนเป็นช่วงกว้างระหว่าง 0.2-1.3 μ m ขนาดรูพรุนเฉลี่ย 0.46 μ m และเมื่อเปรียบเทียบกับค่าความพูนกับเยื่อบาง polycarbonate ขนาดรูพรุนเฉลี่ย 0.1 μ m พบว่าเยื่อบาง polycarbonate มีค่าความพูนที่ 4% (Palacio L., et al., 1999) ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับความพูนของเยื่อบางชุดควบคุมที่เตรียมได้ในงานวิจัย ขณะที่เยื่อบางชุดเหนี่ยวนำมีค่าความพูนสูงกว่าเยื่อบางทางการค้าทั้งสองชุด



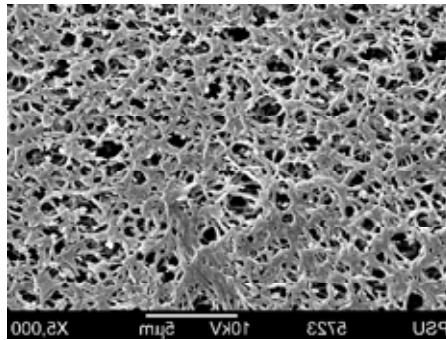
ภาพประกอบที่ 4.9 ตัวอย่างภาพถ่าย SEM ของเยื่อบาง CC4S (a) และ CE4S (b)



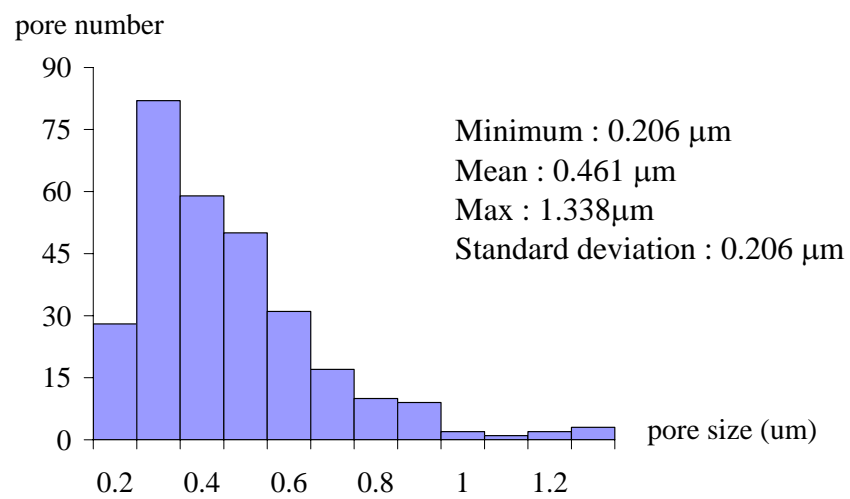
ภาพประกอบที่ 4.10 ตัวอย่างการวิเคราะห์ห่าจำนวนรูเทียบกับขนาดรูบนเยื่อบาง
 CC4S (a) และ CE4S (b) ที่ผิวหน้าของเยื่อบาง

ตารางที่ 4.4 เปรียบเทียบขนาดรูและความพรุนของเยื่อบาง CC4S และ CE4S

เยื่อบาง	ขนาดรู โดยเฉลี่ย (μm)	ความพรุน (%)
CC4S	0.08 ± 0.01	4.34 ± 0.74
CE4S	0.08 ± 0.01	6.74 ± 1.13



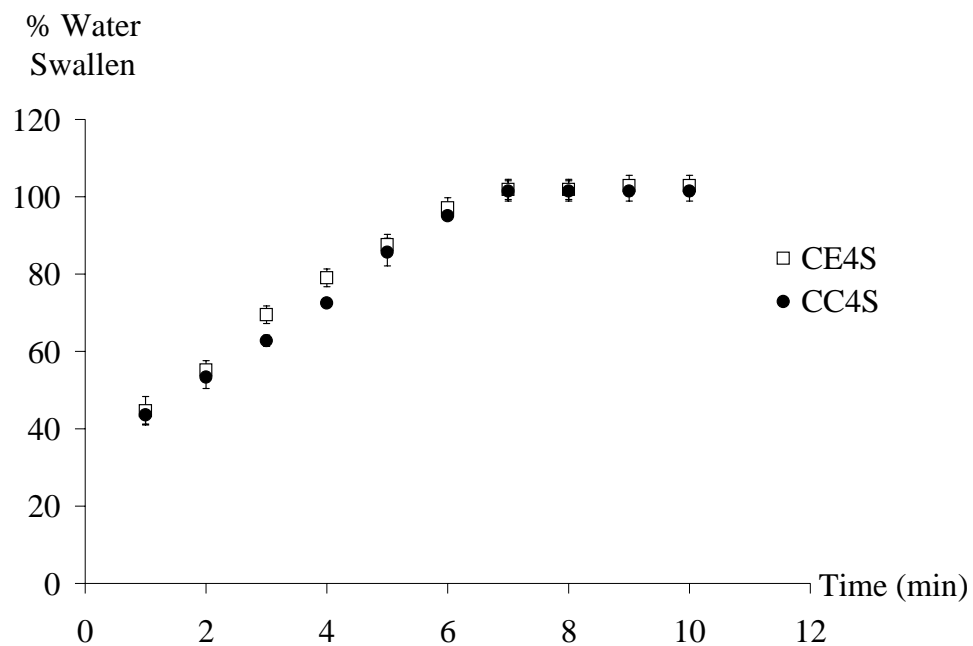
ภาพประกอบที่ 4.11 ตัวอย่างภาพถ่าย SEM ของเยื่อบาง PVDF



ภาพประกอบที่ 4.12 ตัวอย่างการวิเคราะห์หาจำนวนรูเทียบกับขนาดรูที่ผิวหน้าบนเยื่อบาง PVDF

4.4.2 การบวมน้ำของเยื่อบาง (Water Swallen)

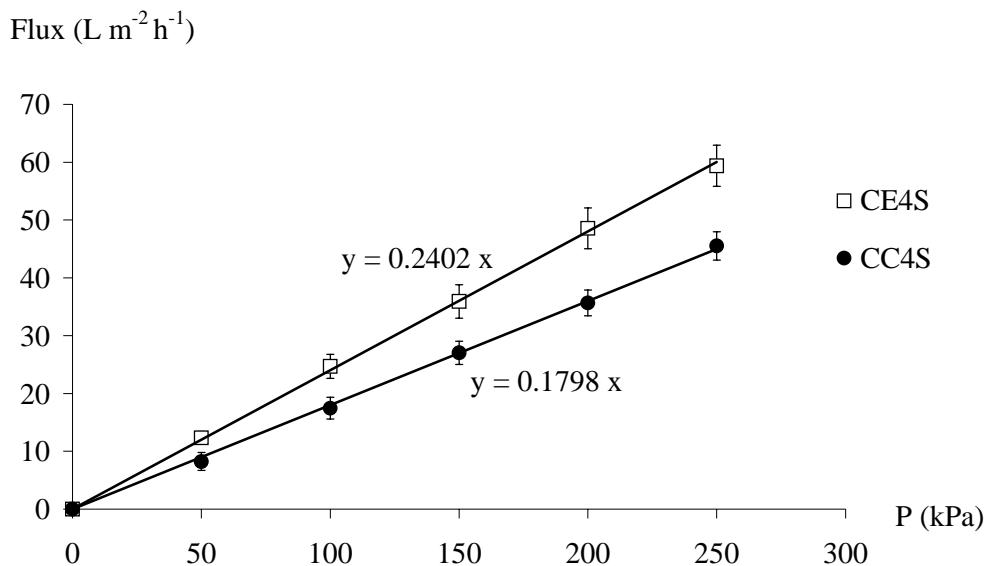
หลังจากนำเยื่อบางเซลลูโลสแช่น้ำกลั่น พบว่าเยื่อบางมีการดูดซับน้ำเพิ่มขึ้นตามเวลา ระหว่างช่วง 1-7 นาที จากการทดลอง 5 ครั้งพบว่าเยื่อบาง CC4S และ CE4S เป็นเยื่อบางชนิดชอบน้ำที่มีการบวมน้ำสูงสุดเฉลี่ย $101.5 \pm 2.6 \%$ และ $101.9 \pm 2.6 \%$ ตามลำดับ ที่เวลา 7 นาที ซึ่งเปอร์เซ็นต์การบวมน้ำของเยื่อบางทั้งสองชุดมีค่าไม่แตกต่างกันที่ทุกช่วงเวลา ดังภาพประกอบที่ 4.13 และเยื่อบางทั้งสองชุดมีการบวมน้ำได้สูงสุดภายใน 7 นาที แสดงว่าการนำเยื่อบางไปใช้งานควรแช่น้ำเยื่อบางในน้ำกลั่นก่อนใช้งาน ขณะที่เยื่อบางเซลลูโลสที่เตรียมโดย Dubey V. และคณะ (2002) มีเปอร์เซ็นต์การบวมน้ำสูงถึง 135% เนื่องจากเยื่อบางมีความหนาแน่นมากกว่า 2-3 เท่า



ภาพประกอบที่ 4.13 เปอร์เซ็นต์การบวมน้ำของเยื่อบาง CC4S และ CE4S ซึ่งเฉลี่ยจาก 5 การทดลอง

4.4.3 สภาพให้ซึมผ่านของน้ำ (Hydraulic permeability)

เมื่อนำเยื่อบางเซลลูโลสไปหาเพอมีเอทฟลักซ์ดังรายละเอียดในหัวข้อ 3.3.8 พบว่าฟลักซ์น้ำมีขนาดเพิ่มตามความดันที่เพิ่มขึ้นแบบเชิงเส้น ได้ความสัมพันธ์ดังภาพประกอบที่ 4.14 จะเห็นว่าเยื่อบาง CE4S มีค่าเพอมีเอทฟลักซ์สูงกว่าเยื่อบาง CC4S ที่ทุกค่าความดัน และจากความชันของกราฟจะได้ค่าสภาพให้ซึมผ่านของน้ำ (L_p) ของเยื่อบาง ซึ่งเมื่อนำมาแปลงหน่วยจาก $L m^{-2} h^{-1} kPa^{-1}$ ให้อยู่ในรูป $m^3 N^{-1} s^{-1}$ จะได้ค่า L_p ของเยื่อบาง CC4S และ CE4S เท่ากับ 4.98×10^{-11} และ $6.65 \times 10^{-11} m^3 N^{-1} s^{-1}$ ตามลำดับ ซึ่งจัดเยื่อบางทั้งสองอยู่ในกระบวนการกรองระดับอัลตรา ($L_p = 2.60 \times 10^{-11} - 4.01 \times 10^{-10} m^3 N^{-1} s^{-1}$, Nunes S.P., et al., 1995) และจากข้อมูล L_p ที่ได้สามารถคาดการณ์ได้ว่าเยื่อบาง CE4S มีความพรุนสูงและ/หรือขนาดรูใหญ่กว่า ในขณะที่เยื่อบางเซลลูโลสที่เตรียมโดย Dubey V. และคณะ (2002) ให้ค่าเพอมีเอทฟลักซ์ $31 g m^{-2} h^{-1}$ (หรือ $0.031 L m^{-2} h^{-1}$) ที่ความดัน 1 mmHg (หรือ 133.31 Pa) ซึ่งเมื่อเทียบกับงานวิจัยนี้ที่ความดันเดียวกัน จะได้ค่าเพอมีเอทของเยื่อบาง CC4S และ CE4S คือ 0.024 และ $0.032 L m^{-2} h^{-1}$ ตามลำดับ จะเห็นว่าเยื่อบาง CE4S และเยื่อบางเซลลูโลสดังกล่าวมีค่าเพอมีเอท ฟลักซ์ใกล้เคียงกัน



ภาพประกอบที่ 4.14 เพอมีเอทฟลักซ์ของน้ำกลั่นผ่านเยื่อบาง CC4S และ CE4S ซึ่งเฉลี่ยจาก 15 การทดลอง

จากสมการ Hagen-Poiseuille สมการที่ 2.6 ค่า L_p ที่หาได้ข้างต้นสามารถนำมาคำนวณหาค่าความพรุนของเยื่อบางเซลล์โอสได้ ดังรายละเอียดที่บันทึกไว้ในตารางที่ 4.5 โดยสมมติค่าความคดตั้งแต่ 1.0 -1.5 รัศมีรูเฉลี่ยของเยื่อบางทั้งสองมีค่า $0.04 \mu\text{m}$ และความหนืดของน้ำ (Weast R.C., 1975) มีค่า 0.8909 mPas

ตารางที่ 4.5 เปอร์เซ็นต์ความพรุนที่คำนวณจากสมการ Hagen-Poiseuille

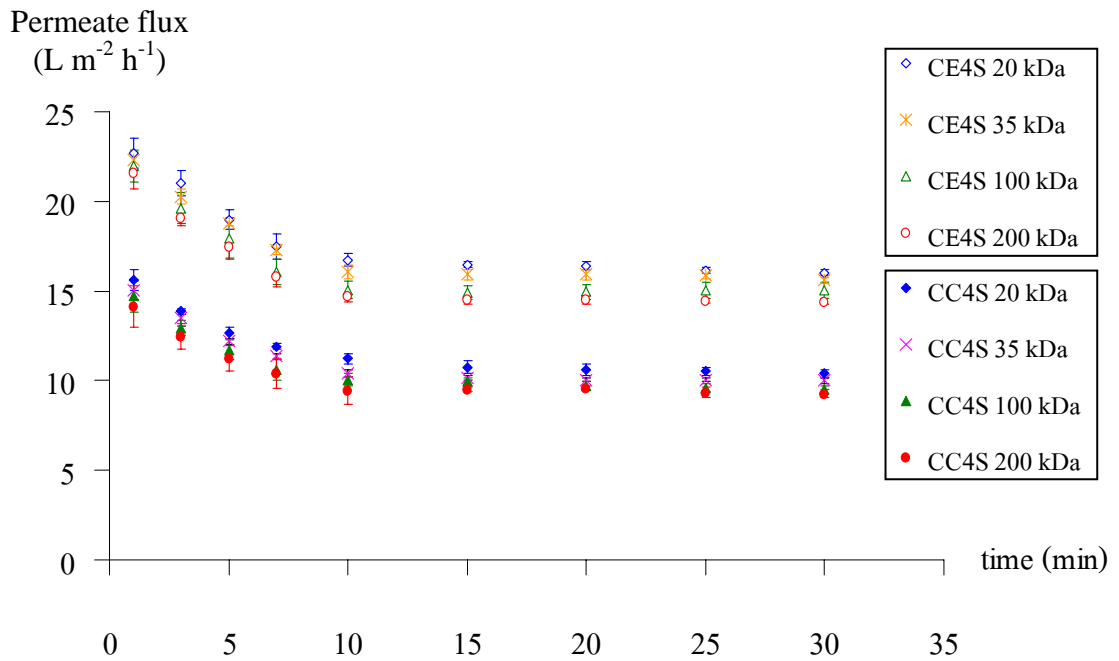
เยื่อบาง	$L_p(\text{m}^3 \text{N}^{-1} \text{s}^{-1})$	$\Delta X \text{ (mm)}$	τ	$\varepsilon \text{ (%)}$
CC4S	4.98×10^{-11}	0.027	1.0	0.60
			1.1	0.66
			1.2	0.72
			1.3	0.78
			1.4	0.84
			1.5	0.91
CE4S	6.65×10^{-11}	0.038	1.0	1.13
			1.1	1.24
			1.2	1.36
			1.3	1.47
			1.4	1.58
			1.5	1.69

จากการหาค่าความพรุนโดยโปรแกรมคาร์นอย และจากการคำนวณด้วยสมการ Hagen-Poiseuille พบว่ามีค่าแตกต่างกันมาก เนื่องจากโปรแกรมคาร์นอยมีข้อจำกัดต่อการหาความพรุนสำหรับเยื่อบางที่มีรูเป็นลักษณะท่อทรงกระบอก แต่รูของเยื่อบางเซลล์โอสได้จากการสานกันของเส้นใยลักษณะของรูที่ได้จึงมีความคด และบางรูอาจจะไม่ทะลุผิวด้านหลังแต่มีลักษณะเป็นหลุมเฉพาะที่บริเวณผิวด้านหน้า ส่วนการหาค่าความพรุนโดยวัดค่า L_p เยื่อบางต้องสัมพันธ์กับน้ำซึ่งอาจส่งผลต่อคุณสมบัติบางประการของเยื่อบาง เช่น ขนาดของรูพรุน ทำนองเดียวกันกับการทดลองของ Combe C. และคณะ (1999) ได้หาค่าความพรุนที่คำนวณจากสมการ Hagen-Poiseuille น้อยกว่าความพรุนที่หาได้จากภาพถ่าย AFM โดยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ประมาณ 5-20 เท่า ขณะที่ Palacio L. และคณะ (1999) ได้เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ความพรุนของเยื่อบางโดยวิธีต่าง ๆ ซึ่งพบว่าในแต่ละวิธีมีค่าความพรุนต่างกัน โดย Palacio L. ได้สรุปว่าไม่มีวิธีการที่เป็นมาตรฐานสำหรับคำนวณค่าความพรุนของเยื่อบาง ดังนั้นแม้ว่าจะใช้วิธีใดก็ตามก็ไม่สามารถสรุปค่าความพรุนของเยื่อบางได้ แต่น่าจะสามารถนำมาเปรียบเทียบระหว่างเยื่อบางได้ในวิธีใดวิธีหนึ่งเท่านั้น

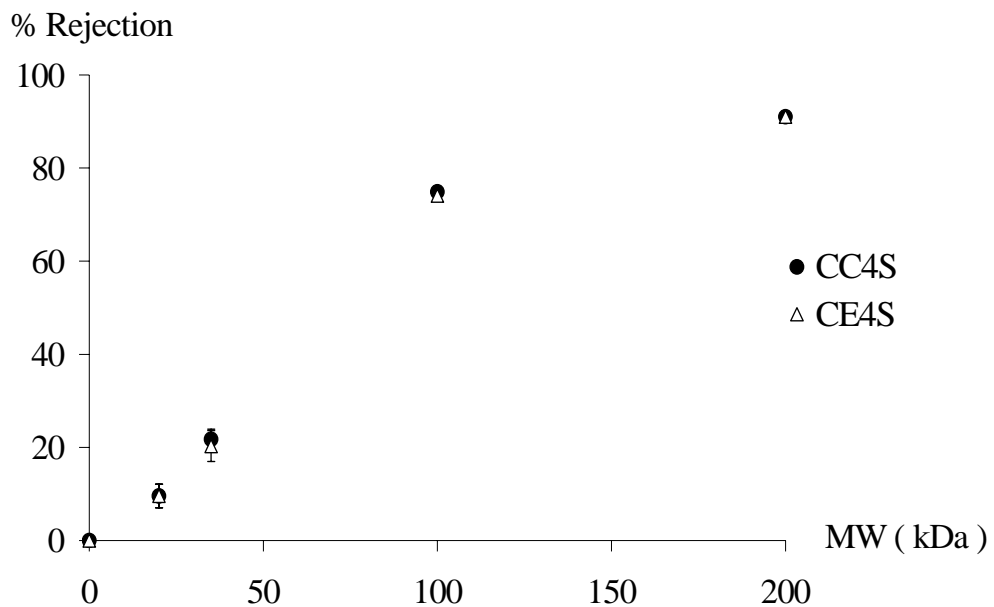
4.4.4 MWCO ของเยื่อบางเซลลูโลส

เมื่อป้อนสารละลาย PEG ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 20 35 100 และ 200 kDa ความเข้มข้น 50 ppm ภายใต้ความดันคงที่ 100 kPa พบว่าเพอมีเอทฟลักซ์มีค่าลดลงตามเวลา จนกระทั่งที่เวลา 10 นาที เพอมีเอทฟลักซ์มีค่าคงที่ ดังภาพประกอบที่ 4.15 ซึ่งคาดว่าเยื่อบางทั้งสองอาจจะเกิดการอุดตันของ PEG บางส่วนเข้าไปในรูทำให้เพอมีเอทฟลักซ์ลดลงรวดเร็ว แล้วเกิดเจลที่ผิวหน้าเยื่อบางทำให้เพอมีเอทฟลักซ์คงที่ การที่เยื่อบาง CC4S มีเพอมีเอทฟลักซ์น้อยกว่าเยื่อบาง CE4S ทุกค่าน้ำหนักโมเลกุลของสารป้อน แสดงว่าเยื่อบาง CC4S น่าจะมีพื้นที่รูยังผลน้อยกว่าเยื่อบาง CE4S นอกจากนี้จะเห็นว่า การลดลงของเพอมีเอทฟลักซ์ยังขึ้นกับการเพิ่มของน้ำหนักโมเลกุลของ PEG แสดงว่าหากการอุดตันเกิดขึ้นในรูเยื่อบางในระยะเวลา 10 นาทีแรก โมเลกุลใหญ่กว่าจะมีผลให้เพอมีเอทน้อยกว่า

สำหรับเปอร์เซ็นต์การกักกัน PEG ของเยื่อบางภายหลังการกรองนาน 10 นาที พบว่าเปอร์เซ็นต์การกักกัน PEG ของเยื่อบางทั้งสองชนิดมีค่าเดียวกันที่ทุกน้ำหนักโมเลกุลของ PEG ดังภาพประกอบที่ 4.16 จึงคาดว่าเยื่อบางทั้งสองชนิดน่าจะมีขนาดรูเฉลี่ยใกล้เคียงกัน จากค่าเปอร์เซ็นต์การกักกัน PEG น้ำหนักโมเลกุล 200 kDa ประมาณ 90% จึงสรุปว่าค่า MWCO ของเยื่อบาง CC4S และ CE4S มีค่าประมาณ 200 kDa จากการทดลองของ Vandamme E.J. และคณะ (1998) พบว่าเยื่อบางเซลลูโลสที่ได้มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 145 kDa และการทดลองของ Dubey V. และคณะ (2002) พบว่าเยื่อบางเซลลูโลสมีค่าน้ำหนักโมเลกุล 116 kDa ซึ่งจะเห็นว่าค่าน้ำหนักโมเลกุลของเยื่อบางในงานวิจัยมีค่ามากกว่าของนักวิจัยท่านอื่น อาจเนื่องมาจากในการทดลองกรอง PEG ช่วงน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 100-200 kDa ค่อนข้างกว้าง ซึ่งค่า MWCO ของเยื่อบางเซลลูโลสอาจจะอยู่ระหว่าง 100-200 kDa



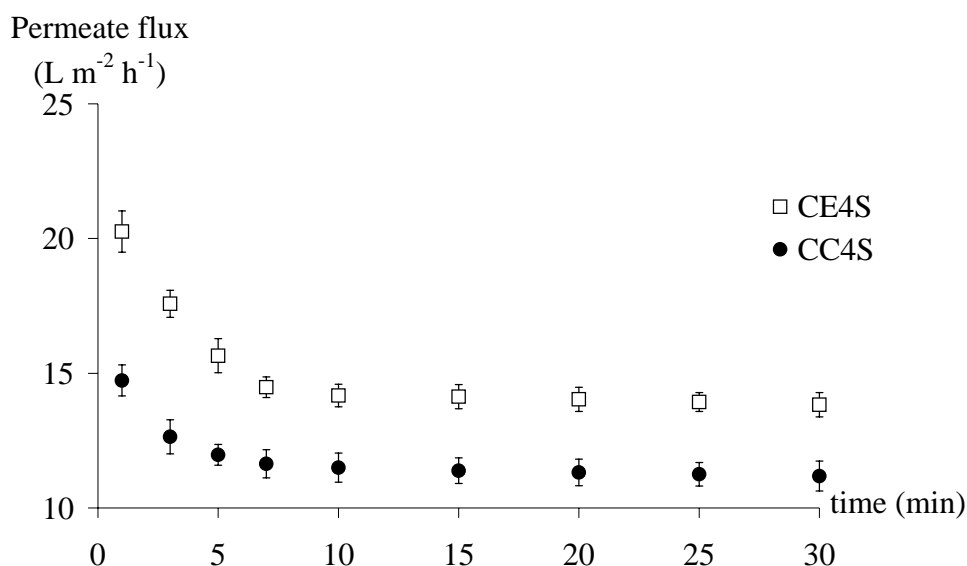
ภาพประกอบที่ 4.15 เอมิเอฟลักซ์ของสารละลาย PEG ที่ค่าน้ำหนักโมเลกุลต่างๆ ผ่านเยื่อบาง CC4S และ CE4S เทียบกับเวลาที่ความดัน 100 kPa



ภาพประกอบที่ 4.16 เปอร์เซนต์การกักกันของเยื่อบางเซลลูโลสเทียบกับ น้ำหนักโมเลกุลของสารละลาย PEG ที่ความดัน 100 kPa

4.5 ทดสอบการกรองแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum*

จากรายงานของ Kreig N.R. (1984) ได้กล่าวถึงแบคทีเรีย *Acetobacter* ว่ามีลักษณะเป็นรูปแท่ง ขนาดประมาณ $0.6 - 0.8 \mu\text{m} \times 1.0 - 4.0 \mu\text{m}$ แต่ทั้งนี้รูปร่างและขนาดของเซลล์ยังขึ้นอยู่กับแต่ละสปีชีส์ จึงได้ทดลองกรองแบคทีเรียด้วยเยื่อบาง CC4S และ CE4S ซึ่งนำเยื่อบางที่เตรียมได้ตัดเป็นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.7 เซนติเมตร วัดความหนาของเยื่อบางโดยใช้ไมโครมิเตอร์ แล้วแช่เยื่อบางในน้ำกลั่นเป็นเวลา 10 นาทีก่อนการทดสอบ ประกอบเยื่อบางเข้ากับอุปกรณ์ทดสอบแบบปิดตาย เติมสารละลายอาหารที่มี *Acetobacter xylinum* ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใช้ความดันคงที่ที่ 100 kPa พบว่าเพอมีเอทฟลักซ์มีค่าลดลงตามเวลา จนกระทั่งที่เวลา 10 นาทีฟลักซ์มีค่าคงที่ ดังภาพประกอบที่ 4.17 ติความได้ในทำนองเดียวกันกับการกรองสารละลาย PEG คือ เยื่อบางน่าจะมีการอุดตันสูงสุดภายในเวลา 10 นาทีของการกรอง แล้วจึงเกิดเจลขึ้นที่ผิวหน้าเยื่อบาง การที่เยื่อบาง CC4S มีเพอมีเอทฟลักซ์น้อยกว่าเยื่อบาง CE4S แสดงว่าเยื่อบาง CC4S น่าจะมีพื้นที่รูยังผลน้อยกว่าเยื่อบาง CE4S และจากการหาค่าความหนาแน่นเซลล์ของเพอมีเอทหลังการกรองนาน 10 นาที โดยนับ colony ของเซลล์ด้วยวิธี drop plate ดังภาคผนวก ข พบว่าไม่พบเซลล์ปรากฏบนอาหารเพาะเลี้ยงแบบแข็งภายในเวลา 3 วัน ซึ่งเป็นระยะเวลาที่เซลล์มีการเจริญเติบโตสูงที่สุด แสดงว่าเปอร์เซ็นต์การกักกันของเยื่อบางทั้งสองชนิดมีค่า 100% และเซลล์มีขนาดใหญ่กว่ารูกรองของเยื่อบางเซลลูโลส

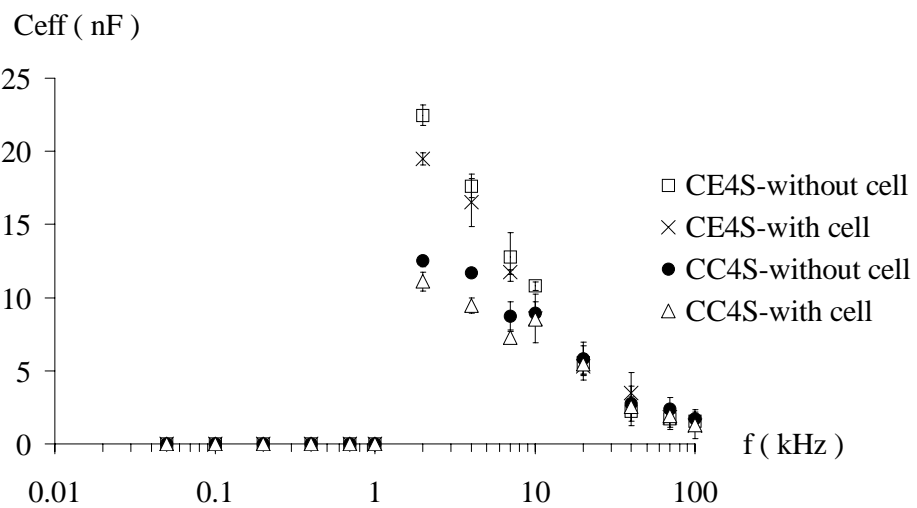
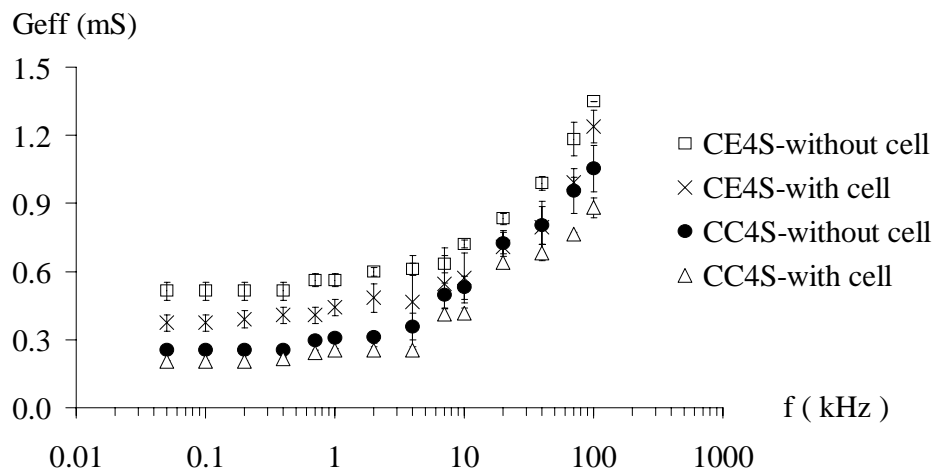
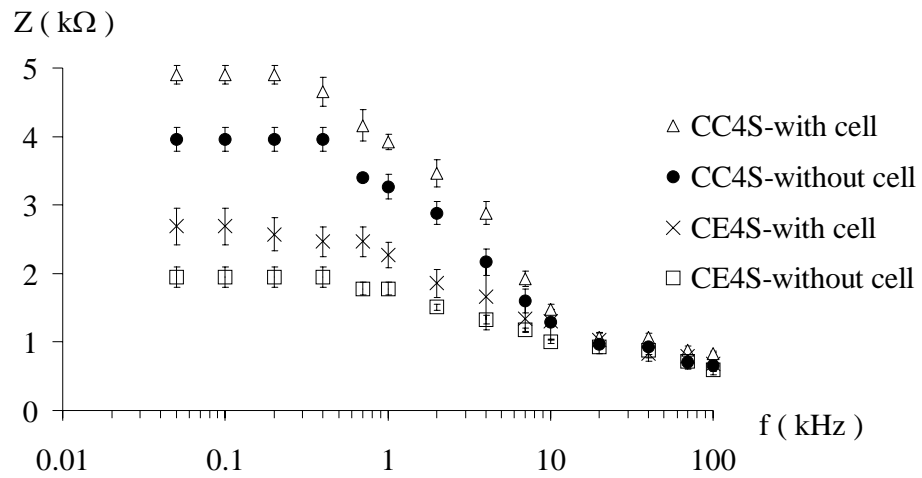


ภาพประกอบที่ 4.17 เพอมีเอทฟลักซ์ของแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* ผ่านเยื่อบาง CC4S และ CE4S เทียบกับเวลาที่ความดัน 100 kPa

4.6 อิมพีแดนซ์สเปกโตรสโคปีของเยื่อบางเซลลูโลส

การทดลองนี้เพื่อศึกษาค่า Z , G_{eff} และ C_{eff} ของเยื่อบางแต่ละชนิด ตามที่บรรยายในหัวข้อ 2.5 โดยเปรียบเทียบเยื่อบางที่สะอาดและเยื่อบางที่ใช้กรอง *Acetobacter xylinum* แล้วตรึงเยื่อบางในอุปกรณ์ดังหัวข้อ 3.3.10 พบว่าค่า Z ของเยื่อบาง CC4S และ CE4S ทั้งก่อนและหลังการกรองระหว่างความถี่ 50 - 200 Hz มีค่าคงที่ ดังภาพประกอบที่ 4.18 โดยที่เยื่อบาง CC4S ที่สะอาด มีค่า Z สูงกว่าเยื่อบาง CE4S ที่สะอาดอยู่ 2 เท่า ตีความได้ว่าเยื่อบาง CE4S น่าจะมีพื้นที่รูยังผลมากกว่า หลังจากกรอง *Acetobacter xylinum* นาน 60 นาที แล้วนำเยื่อบางไปล้างด้วยน้ำกลั่น และนำไปวัดสมบัติทางไฟฟ้า พบว่าค่า Z ของเยื่อบางทั้งสองเพิ่มขึ้นประมาณ 1.2 เท่า คาดว่าเยื่อบางอาจจะเกิดการอุดตันของแบคทีเรียบางส่วนเข้าไปในรู ซึ่งสอดคล้องกับผลเพอมีเอทฟลักซ์ที่ลดลงอย่างรวดเร็วดังหัวข้อ 4.5 และนอกจากนี้ยังพบอีกว่าการเพิ่มขึ้นของค่า Z หลังกรองของเยื่อบาง CE4S มากกว่าเยื่อบาง CC4S แสดงว่าเยื่อบาง CE4S น่าจะเกิดการอุดตันได้มากกว่าเยื่อบาง CC4S

สำหรับค่า G_{eff} ของเยื่อบางเซลลูโลสที่สะอาด พบว่าเยื่อบาง CE4S มีค่า G_{eff} สูงกว่าเยื่อบาง CC4S ซึ่งอธิบายได้ในทำนองเดียวกันกับค่า Z คือ เยื่อบาง CE4S น่าจะมีพื้นที่รูยังผลมากกว่า และจะมีค่าลดลงภายหลังการกรองแบคทีเรีย เนื่องจากเกิดการอุดตันขึ้นทำให้ความนำไฟฟ้าลดลง ส่วนค่า C_{eff} ของเยื่อบางในช่วงความถี่ 50 Hz - 1 kHz พบว่ามีค่าเป็นศูนย์ เนื่องจากการอ่านค่าจากเครื่องมือไม่เห็นความแตกต่างของผลต่างมุมเฟสระหว่างกระแสของวงจรกับกระแสที่ผ่านเยื่อบาง



ภาพประกอบที่ 4.18 ค่า Z G_{eff} และ C_{eff} กับความถี่ของเยื่อบาง CC4S และ CE4S ที่สะอาดและที่ใช้กรอง *Acetobacter xylinum*

4.7 ต้นทุนการผลิตเยื่อบางเซลลูโลสโดยแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum*

ในการเพาะเลี้ยง 1 ครั้ง สามารถผลิตเยื่อบางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.7 เซนติเมตร ได้ 120 แผ่น ซึ่งในแต่ละครั้งของการเพาะเลี้ยงใช้ต้นทุนประมาณ 1,200 บาท ดังนั้นราคาต้นทุนของเยื่อบางที่ผลิตได้ (0.1 μm) คือ 10 บาท / แผ่น แสดงดังตารางที่ 4.6 ซึ่งพบว่าการผลิตเยื่อบางเซลลูโลสโดยแบคทีเรีย สามารถลดค่าใช้จ่ายในการสั่งซื้อเยื่อบางจากต่างประเทศได้มาก ขณะที่เยื่อบาง mixcellulose ester (0.1 μm) มีราคาต่อแผ่นที่ 90 บาท เยื่อบาง Polyvinylidene fluoride (PVDF, 0.1 μm) มีราคาต่อแผ่นที่ 460 บาท และเยื่อบาง Polyethersulfone (PES, 0.1 μm) มีราคาต่อแผ่นที่ 800 บาท

ตารางที่ 4.6 การคิดค่าต้นทุนการผลิตเยื่อบางเซลลูโลสโดยแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum*

รายการ	ราคา(บาท)/หน่วย	ราคา(บาท) / การเพาะเลี้ยง 1 ครั้ง
น้ำตาลซูโครส	15 บาท / 1,000 กรัม	2.4
peptone	3,756 บาท / 500 กรัม	150.24
yeast extract	4,190 บาท / 500 กรัม	167.6
Na ₂ HPO ₄	665 บาท / 500 กรัม	1.76
citric acid	366 บาท / 500 กรัม	0.32
หลอดไฟยูวี	1,050 บาท / หลอด	1
แอลกอฮอล์	90 บาท / ขวด	18
กระดาษฟรอยด์	110 บาท / ม้วน	10
ค่าแบคทีเรีย	500 บาท / แอมพูล	10
ค่าไฟ	-	100
เหมาจ่ายค่าแรง	-	600
อื่น ๆ	-	138
	รวม	1,200