การศึกษาเยื่อกรองชนิดประกอบระหว่างไคโตแซนและเซลลูโลสที่ผลิตจากจุลินทรีย์ *Acetobacter xylinum*

(A Study of Composite Membranes between Chitosan and Cellulose Produced by *Acetobacter xylinum*)

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ผลิตเยื่อกรองชนิดประกอบระหว่างเซลลูโลสและไคโตแซน ซึ่งแบ่งงานออกเป็นสองขั้นตอนคือ ผลิตและทดสอบคุณสมบัติของเยื่อฐานเซลลูโลส ส่วนขั้นตอนที่สองศึกษาการเคลือบไคโตแซนบนเยื่อฐานดังกล่าว

เยื่อฐานผลิตจากจุลินทรีย์ *Acetobacter xylinum* ในขั้นต้นได้ลองเปรียบเทียบการใช้สูตรอาหารมาตรฐาน Schramn&Hestrin (BSH) กับน้ำมะพร้าวที่เติมซูโครส 4% โดยใช้ความหนาแน่นเซลล์เท่ากัน พบว่าจุลินทรีย์สร้างเซลลูโลสได้หนากว่าภายใต้เงื่อนไขเดียวกัน จึงทดลองเพาะเลี้ยงเซลล์ในน้ำมะพร้าว โดยผันแปรความหนาแน่น 2 ระดับ คือ $1x10^8$ และ $2x10^8$ cfu.ml^{-1} พบว่าเยื่อชนิด C12 ซึ่งผลิตจากเซลล์ที่หนาแน่นน้อยกว่ายอมให้น้ำผ่านได้ดีกว่า แม้จะมีความหนาใกล้เคียงกันกับเยื่อ C25 ซึ่งผลิตจากเซลล์ที่มีความหนาแน่น 2 เท่า จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดพบว่า ผิวทั้งสองด้านของเยื่อไม่เหมือนกัน กล่าวคือด้านบนมีลักษณะการสานของโซ่พอลิเมอร์แน่นกว่า จึงทำให้ค่าสภาพยอมน้ำต่ำกว่าด้านล่างเล็กน้อย แต่การวิเคราะห์ขนาดรูและความพรุนของเยื่อด้วยโปรแกรม Carnoy พบว่าเยื่อทั้งสองชนิดมีขนาดรูเฉลี่ยเท่ากันและความพรุนไม่ขึ้นกับจำนวนเซลล์ที่ใช้ผลิตเยื่อ จึงได้ทดลองวัดอิมพีแดนซ์ของเยื่อทั้งสองเพื่อเปรียบเทียบกัน พบว่าเยื่อ C25 มีค่าอิมพีแดนซ์สูงกว่าเยื่อ C12 ถึง 2 เท่า ซึ่งเป็นตัวชี้ว่าเยื่อ C25 มีการสานกันของพอลิเมอร์ได้แน่นกว่า

เมื่อนำ C12 และ C25 ไปทดสอบการกรองเซลล์ *Chlorella* sp. ขนาด 2.5 μm และโปรตีน Bovine serun albumin (BSA) ซึ่งมีขนาด 64 อังสตรอม พบว่าเยื่อทั้งสองกรองเซลล์ได้ 100 % และเยื่อ C25 กรอง BSA ได้เกือบ 100 % ขณะที่เยื่อ C12 กรองได้เพียง 70%

งานวิจัยนี้ได้เตรียมสารละลายไคโตแซน 3 ระดับคือ 0.5% 1.0% และ 2.0% ในกรดอะซิติดเข้มข้น 1% และทดลองใช้วิธีเคลือบ 4 วิธี คือ แบบจุ่ม (Immersion) แบบรีด (Slip casting) แบบอาศัยแรงโน้มถ่วง และแบบอัดความดัน เฉพาะแบบรีดจะใช้ไคโตแซน 2% และแบบอัดใช้ไคโตแซน 0.5% พบว่าส่วนการเคลือบไคโตแซนแบบจุ่มทำให้เสียความพรุนของด้าน Sub layer ของเยื่อฐาน วิธีรีดทำให้เยื่อมีความหนาและสามารถปิดรูของเยื่อฐานได้หมด ทำให้ผิวบนของเยื่อฐานเป็น Selective layer เหมาะต่อการดึงดูดอนุภาคมีประจุลบมาเกาะติดผิว ส่วนการเคลือบแบบอาศัยแรงโน้มถ่วง ทำให้ผิวมีความไม่สม่ำเสมอ ส่วนการอัดความดันสิ้นเปลืองไคโตแซนน้อยที่สุด กล่าวคือต้องใช้สารละลายไคโตแซน 0.5% ปริมาตร 0.7 ลิตร ต่อเยื่อฐานขนาด 1 ตารางเมตร ที่ความดัน 100

kPa ซึ่งมีความหนาประมาณ 5 μm วิธีนี้ทำให้เยื่อที่ได้มีความพรุนลดลงจาก 1.4-1.8% เป็น 0.9% โดยไคโตแซนไปอุดรูที่ใหญ่ให้เล็กลง และอุดรูขนาดเล็กให้หายไป

เป็นที่น่าสังเกตุว่าทั้งเยื่อฐานและไคโตแซนมีคุณสมบัติดูดซับน้ำได้ดี การบวมน้ำของไคโตแซนเมื่ออยู่บนเยื่อเซลลูโลสย่อมทำให้รูบนเยื่อเล็กลงขณะกรอง จึงคาดว่าเยื่อประกอบที่ผลิตจากเยื่อ C12 จะกักกัน BSA ได้ดีขึ้นกว่าการใช้เยื่อฐาน C12 อย่างเดียว งานวิจัยนี้คาดว่าเยื่อประกอบชนิดแน่นน่าจะมีประโยชน์ต่อการแยกน้ำออกจากสารละลายผสมได้

คำหลัก *Acetobacter xylinum*, cellulose, chitosan, water flux, hydraulic permeability, c*hlorella* sp., BSA, filtration

Abstract

This work deals with a preparation of composite membranes from cellulose and chitosan. There are two parts: one on preparation of cellulose membranes from bacteria *Acetobacter xylinum* and the other on coating method of chitosan solution on the previously prepared membranes.

On preparation of cellulose membranes, a standard Schramn&Hestrin (BSH) solution was used in comparison with coconut juice which was supplemented with 4% sucrose. With the same cell density, it appeared that cellulose membrane was formed at a faster rate in the coconut juice. When varying cell density from $1x10^8$ to $2x10^8$ $cfu.ml^{-1}$, C12 membranes produced from coconut juice medium with less cell density provided greater water flux, although the thickness of membranes produced from the high density medium C25 was similar. From a scanning electron microscope, it appeared that both membrane surfaces possessed different pore density. The skin layer showed denser surface, and hence smaller pores, which allowed water to pass through slightly less than from the sub layer. However, when the SEM was analyzed for pore size and porosity, using a computer Canoy program, it showed similar average pore size. Moreover, membrane porosity did not seem to agree with the cell density used during cell culturing. A trial was, therefore, made by using impedance spectroscopy method to reveal how electrical meaning could be utilized to explain the membranes. This experiment was carried out under an assumption that cellulose threads would obstruct current passage when the membrane was immersed in an electrolyte. The results showed that C25 membranes possessed two times greater impedance than C12 membranes, indicating that C25 contained more cellulose threads and possibly inter-twining at a faster rate and the cellulose thread must be so fine that it could not reflect in term of membrane thickness.

When C12 and C25 membranes were used to filter 2.5 μm *Chlorella* sp. and 0.1% BSA with globular size of 64 angstrom, it was found that both membranes could filter the cell by 100%. The C25 membrane rejected BSA nearly 100%, where as the C12 membrane could retain the protein by 70%

Three levels of chitosan solution, 0.5%, 1.0% and 2.0% in 1% acetic acid were prepared in this study. For coating the solution onto the cellulose support, four methods of trials were performed. These were by immersion, slip casting, gravity method, and pressure extrusion. Only for the slip casting that a viscous chitosan solution of 2.0% was used. The 0.5% chitosan was used in the pressure extrusion method. This study found that the immersion method was not suitable for making the composite membrane. This was due to the fact that chitosan covered all the pores on the sub-layer, which would obstruct permeate water flux. By manually slip casting, chitosan formed a dense layer on the cellulose support, but the thickness was not homogeneous. This also happened to the coating with the gravity method. It was found that the pressure method required less chitosan. Only 0.7 liter of 0.5% chitosan was needed to coat 1 m^2 of cellulose membrane under 100 kPa. Membrane thickness produced by this method was about 5 μm. The prepared membranes possessed an average of 1.4-1.8% porosity and its porosity was reduced to about 0.9% after the membrane was coated with chitosan. In this connection, the larger pores were reduced in size and the smaller pores were closed.

It was noted that both cellulose and chitosan membranes absorbed water easily. The smaller pore size was expected when a composite membrane was used during filtration. After being coated with chitosan, the composite membrane made from C12 cellulose was expected to reject BSA far better than the porous C12 one.

In addition, the dense chitosan on top of cellulose support might be beneficial to an application, which separates water from a mixture solution.

Key Words:

Acetobacter xylinum, cellulose, chitosan, water flux, hydraulic permeability, *chlorella* sp., BSA, filtration