



รายงานการวิจัย

การศึกษาการพัฒนาการผลิตเอทานอลแบบต่อเนื่องจากกากน้ำตาลอ้อยโดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในถังหมักแบบใช้เยื่อแผ่น

(Continuous production of ethanol from sugar cane molasses using *Saccharomyces cerevisiae* in a membrane bioreactor)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก  
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว



## รายงานการวิจัย

การศึกษาการพัฒนาการผลิตเอทานอลแบบต่อเนื่องจากกากน้ำตาลอ้อยโดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในถังหมักแบบใช้เยื่อ

(Continuous production of ethanol from sugar cane molasses using *Saccharomyces cerevisiae* in a membrane bioreactor)

### คณะผู้วิจัย

#### หัวหน้าโครงการ

อาจารย์ ดร. อภิชาติ บุญทาวิน  
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ  
สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร  
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

#### ผู้ร่วมวิจัย

นางสาว ไพลิน แพนวิจิต

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2548

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

พฤศจิกายน 2549

### กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่องการศึกษาการพัฒนาการผลิตเอทานอลแบบต่อเนื่องจากกากน้ำตาลอ้อยโดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในถังหมักแบบใช้เยื่อแผ่นนี้ ได้ทำการวิจัยที่ห้องปฏิบัติการวิศวกรรมกระบวนการทางชีวภาพ อาคารปฏิบัติการ 3 ซึ่งสามารถสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2548

ขอขอบคุณคุณ อนุชิต เรืองวิทยานนท์ สำหรับงานวิเคราะห์เยื่อแผ่นด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope) คุณจิรวัดน์ ด้านทองกลางสำหรับงานเครื่องมือกลในการผลิตเมมเบรนโมดูลและขอขอบคุณภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่สำหรับเครื่องมือที่ใช้ในการผลิตเยื่อแผ่น โดยวิธี solution casting

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณบริษัท Rhodia (Thailand) จำกัด, บริษัท Dow Corning (Thailand) จำกัด ที่ได้เอื้อเฟื้อยางซิลิโคนสังเคราะห์ชนิด Polydimethyl Siloxane (PDMS) สำหรับการผลิตเมมเบรน และบริษัท Arkema (Thailand) จำกัดสำหรับการเอื้อเฟื้อ Polyvinylidene fluoride (KYNAR 760<sup>®</sup>) เพื่อใช้เป็นวัสดุในการผลิตเยื่อแผ่นเชิงประกอบ

สุดท้ายนี้ ขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุนทร กาญจนทวี เป็นอย่างยิ่งที่ได้กรุณาอ่านรายงานการวิจัยและให้ข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์

อาจารย์ ดร. อภิชาติ บุญทาวัน  
สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ  
สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร  
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี  
22 พฤศจิกายน 2549

### บทคัดย่อภาษาไทย

ในกระบวนการหมักเอทานอลโดยใช้น้ำตาลเป็นแหล่งพลังงาน ปฏิกิริยาจะสิ้นสุดลงจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์เนื่องจากเกิดการสะสมของเอทานอลที่เพิ่มขึ้นในน้ำหมัก ซึ่งความเข้มข้นของเอทานอลที่ 1-2% โดยน้ำหนักสามารถก่อให้เกิดความเครียดในเชื้อยีสต์ได้และความเข้มข้นของเอทานอลที่ประมาณ 10% จะมีผลทำให้การหมักสิ้นสุดลงสืบเนื่องมาจากการที่เชื้อยีสต์หยุดกิจกรรมและตายไปในที่สุด ปัญหาพื้นฐานนี้ทำให้ผลผลิตที่ได้ (yield) มีค่าต่ำ ทำให้ต้นทุนการผลิตสูง การทดลองนี้ได้มีการประยุกต์ใช้เยื่อแผ่นซิลิโคนร่วมกับการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์หรือที่เรียกว่าระบบเพอร์สแทรกชัน (perstraction) ซึ่งเทคนิคดังกล่าวจะใช้เยื่อแผ่นยางซิลิโคนชนิด Polydimethylsiloxane (PDMS) ซึ่งมีลักษณะเป็นแผ่นใสและไม่มีรูพรุน (dense polymeric material) มีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ (hydrophobic property) แต่จะยอมให้สารอินทรีย์ซึมผ่านได้ดี โดยที่น้ำและสารประกอบที่ละลายได้ในน้ำชนิดอื่น ๆ รวมทั้งเซลล์ยีสต์จะไม่สามารถซึมผ่านเยื่อแผ่นดังกล่าวได้จากการทดลองในการแยกเอทานอลออกจากของผสมน้ำ/เอทานอล พบว่าค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลโดยรวมอยู่ระหว่าง  $3.0 \times 10^{-7}$  –  $4.21 \times 10^{-6}$  เมตรต่อวินาที และจากการศึกษาความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้นในกระบวนการหมักพบว่าเซลล์ที่ความเข้มข้นสูงจะมีการผลิตเอทานอลได้สูง ดังนั้นงานวิจัยนี้ได้ทำการเลี้ยงเซลล์ยีสต์ให้ได้ความเข้มข้นสูงมากกว่า 25 กรัมต่อลิตรโดยใช้อาหารสูตรเฉพาะที่ปรับแต่งขึ้นโดยรูปแบบของการหมักเป็นแบบกึ่งกะ (fed-batch fermentation) ซึ่งมีอัตราการป้อนของกากน้ำตาลย่อยแบบต่อเนื่องที่ 0.004, 0.006, 0.01, และ 0.02 กรัม<sub>น้ำตาล</sub>ต่อวินาทีต่อกรัม<sub>เซลล์</sub> โดยผลการทดลองพบว่าที่อัตราการป้อนของกากน้ำตาลย่อยที่ 0.006 กรัม<sub>น้ำตาล</sub>ต่อวินาทีต่อกรัม<sub>เซลล์</sub> มีความสามารถในการผลิตเอทานอลสูงสุด คือ 4.83 กรัม<sub>เอทานอล</sub>ต่อลิตรต่อชั่วโมง และความเข้มข้นเอทานอลสูงสุด คือ 171 กรัมต่อลิตร ในขั้นตอนสุดท้ายเยื่อแผ่นที่ได้ผลิตขึ้น (พื้นที่ผิว 50 ซม<sup>2</sup>) ได้ถูกนำมาทดสอบสำหรับการแยกเอทานอล ออกจากน้ำหมักโดยตรงจากน้ำหมักเริ่มต้น 1 ลิตร จากนั้นทำการหมักเอทานอลแบบกึ่งกะโดยมีตัวทำละลายอินทรีย์ (เดคานอล) เป็นตัวเก็บเกี่ยวเอทานอลออกจากถังหมัก พบว่าผลผลิตของเอทานอลจากเชื้อยีสต์ในระบบดังกล่าวสูงกว่าในกระบวนการหมักแบบกึ่งกะ (12.0 กรัม<sub>เอทานอล</sub>ต่อกรัม<sub>เซลล์</sub> เทียบกับ 9.8 กรัม<sub>เอทานอล</sub>ต่อกรัม<sub>เซลล์</sub>) และได้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 300 กรัมต่อลิตร นอกจากนี้การเปรียบเทียบอัตราการตายจำเพาะได้ยืนยันว่าการแยกเอทานอลออกกระหว่างที่การหมักดำเนินไปนั้น สามารถลดอัตราการตายของเซลล์ได้จาก  $2.47 \times 10^{-2}$  ในกระบวนการหมักแบบกึ่งกะ เป็น  $1.50 \times 10^{-2}$  ต่อชั่วโมง แต่อย่างไรก็ตามผลผลิตของเอทานอลที่ได้ยังต่ำกว่าที่คาดหวังไว้ โดยที่ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดของสาเหตุ

### บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

In ethanol fermentation, product inhibition is a major problem affecting both yield and volumetric productivity. This work employed a conventional stirred-tank bioreactor equipped with an external flat sheet composite membrane unit to separate ethanol from fermentation broth into decanol as an organic solvent. The membrane was fabricated in our laboratory and was comprised of a thin non-porous polydimethyl siloxane (PDMS) selective layer coated on a microporous support layer cast from polyvinylidene fluoride (PVDF). Characterizations of the membranes were carried out using SEM, and revealed a thin film of PDMS with a thickness of approximately 2-5  $\mu\text{m}$  coated on a finger-like structure of the PVDF support layer. The overall mass transfer coefficients ( $k_{ov}$ ) were found to be in the range of  $3.0 \times 10^{-7} - 4.21 \times 10^{-6} \text{ m.s}^{-1}$  depending mainly on the aqueous hydrodynamic conditions, and thickness of selective layer. High-cell-density cultivation was carried out using special formulated media, and obtained biomass concentration up to  $25 \text{ g.L}^{-1}$ . The main objectives of this study were to increase production rate in parallel with reduction of deleterious effects of substrate and/or product inhibition. Fermentation kinetics studies were subsequently investigated in fed-batch process with different feeding rates of molasses ranging from 0.004 to 0.02  $\text{g.s}^{-1} \cdot \text{g}_{\text{cell}}^{-1}$ . The experimental data showed that feeding rate at  $0.006 \text{ g.s}^{-1} \cdot \text{g}_{\text{cell}}^{-1}$  resulted in the highest ethanol volumetric productivity of  $4.83 \text{ g.L}^{-1} \cdot \text{hr}^{-1}$  with the highest concentration of  $171 \text{ g.L}^{-1}$ . A flat sheet membrane module with membrane area of approximately  $50 \text{ cm}^2$  was subsequently investigated with 1.0 litre of initial fermentation broth in order to increase the production yields and volumetric productivity. Production yield ( $Y_{p/x}$ ) in the membrane bioreactor was an order of magnitude higher than fed-batch fermentation ( $12.0$  versus  $9.80 \text{ g}_{\text{ethanol}} \cdot \text{g}_{\text{cell}}^{-1}$ ), and resulted in the maximum ethanol concentration of  $300 \text{ g.L}^{-1}$ . Finally, relative viability of the cell was observed under microscope, and showed a decrease in deactivation constant ( $k_d$ ) of  $1.50 \times 10^{-2} \text{ hr}^{-1}$  compared to  $2.47 \times 10^{-2} \text{ hr}^{-1}$  in fed-batch process. However, the yield was lower than expected result, and the reason of this phenomenon was unclear.

## สารบัญเรื่อง

กิตติกรรมประกาศ.....	3
บทคัดย่อภาษาไทย.....	4
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	5
สารบัญเรื่อง.....	6
สารบัญตาราง.....	9
สารบัญภาพ.....	10
สารบัญภาพ.....	10
คำอธิบายสัญลักษณ์.....	13
บทที่ 1 บทนำ.....	16
1.1 การหมักเอทานอลจากกากน้ำตาลอ้อย.....	16
1.2 กระบวนการหมักเอทานอลในแบบต่าง ๆ.....	18
1.2.1 การหมักแบบกะ (Batch fermentation).....	18
1.2.2 การหมักแบบต่อเนื่อง (Continuous fermentation).....	19
1.2.3 การหมักแบบกึ่งกะ (Fed-batch fermentation).....	19
1.3 ปัญหาด้านเทคนิคในการผลิตเอทานอล.....	21
1.3.1 ปัญหาที่เกิดขึ้นเชื้อยีสต์.....	21
1.3.2 ปัญหาในด้านการทำให้บริสุทธิ์.....	22
1.4 การแยกผลิตภัณฑ์ในระหว่างที่การหมักกำลังดำเนินอยู่ (Extractive fermentation).....	23
1.4.1 การเลือกใช้วิธีการแยก.....	23
1.5 กระบวนการแยกโดยใช้เยื่อแผ่นสังเคราะห์.....	25
1.6 การผลิตเยื่อแผ่น.....	26
1.6.1 เยื่อแผ่นสมมาตร (symmetric membranes).....	26
1.6.2 เยื่อแผ่นไม่สมมาตร (asymmetric or anisotropic membranes).....	29
1.6.3 เยื่อแผ่นเชิงประกอบ (composite membrane).....	30
1.7 การจำแนกชนิดของเยื่อแผ่น.....	31
1.7.1 จำแนกตามลักษณะของความเป็นรูพรุน (porosity).....	31
1.7.2 จำแนกตามความชอบน้ำ/ไม่ชอบน้ำ (hydrophilic/hydrophobic).....	32
1.7.3 จำแนกตามแรงขับเคลื่อน (driving forces).....	33

1.8 การพิจารณาการเลือกใช้ระบบ (system consideration) .....	36
1.9 พฤติกรรมการถ่ายเทมวลในเยื่อแผ่นของระบบเพอร์สแทรกชั่น .....	38
1.9.1 การวิเคราะห์การถ่ายเทมวลในระบบเพอร์สแทรกชั่น .....	40
1.10 ถึงปฏิบัติการชีวภาพเมมเบรนด้วยระบบเพอร์สแทรกชั่น .....	44
1.11 จุดประสงค์ของโครงการวิจัย .....	45
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย .....	46
2.1 อุปกรณ์และสารเคมี .....	46
2.2 การผลิตและวิเคราะห์เยื่อแผ่น .....	46
2.2.1 การผลิตเยื่อแผ่นและเยื่อแผ่นเชิงประกอบ .....	46
2.2.2 การพองตัว .....	47
2.2.3 การศึกษาค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวระหว่างเยื่อแผ่น/น้ำ .....	47
2.2.4 การศึกษาค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวระหว่างตัวทำละลายอินทรีย์/น้ำ .....	48
2.2.5 การศึกษาพฤติกรรมการแพร่ของเอทานอลในเยื่อแผ่นซิลิโคน .....	48
2.3 การศึกษาพฤติกรรมการถ่ายเทมวลของเอทานอลในระบบเพอร์สแทรกชั่น .....	49
2.3.1 การจัดการทดลอง .....	49
2.3.2 การคำนวณค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลโดยรวม ( $k_{ov}$ ) .....	51
2.4 การศึกษาจลศาสตร์การหมักเอทานอลของเชื้อยีสต์จากกากน้ำตาลอ้อย .....	52
2.4.1 จุลินทรีย์ .....	52
2.4.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ .....	52
2.4.3 การเลี้ยงเชื้อ .....	53
2.4.3 การศึกษาจลศาสตร์การหมัก .....	53
2.5 การศึกษาการหมักเอทานอลในถึงปฏิบัติการชีวภาพเมมเบรนด้วยระบบเพอร์สแทรกชั่น .....	54
2.6 การวิเคราะห์ .....	55
2.6.1 การวิเคราะห์เชิงปริมาณของเอทานอล .....	55
2.6.2 การวัดความเข้มข้นของเซลล์ .....	56
2.6.3 การวิเคราะห์น้ำตาล .....	56
2.6.4 การวิเคราะห์อัตราตายจำเพาะ .....	57
บทที่ 3 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล .....	58
3.1 การบ่งบอกคุณลักษณะของเยื่อแผ่น (membrane characterization) .....	58

3.1.1	เยื่อแผ่นยางซิลิโคน และ เยื่อแผ่นเชิงประกอบ .....	58
3.2	ค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัว.....	60
3.2.1	สัมประสิทธิ์การกระจายตัวระหว่างเยื่อแผ่น/น้ำ ( $P_{nq}^{mem}$ ).....	61
3.2.2	สัมประสิทธิ์การกระจายตัวระหว่างตัวทำละลายอินทรีย์/น้ำ ( $P_{nq}^{org}$ ) .....	62
3.3	การวิเคราะห์การถ่ายเทมวลในระบบเพอร์สแทรกซ์ชัน .....	63
3.3.1	การดูดซับและการแพร่ของเอทานอลในเยื่อแผ่นซิลิโคน .....	63
3.3.2	การวิเคราะห์ถ่ายเทมวล และ ค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลโดยรวม .....	66
3.3.3	ผลของความหนาของเยื่อแผ่น .....	68
3.3.4	ผลของอัตราการป้อน .....	70
3.4	จลศาสตร์การหมัก (fermentation kinetics).....	71
3.4.1	ผลของความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้น .....	71
3.4.2	การเลี้ยงเซลล์เพื่อให้ได้เซลล์เข้มข้น (high-cell-density cultivation).....	73
3.4.3	ผลของอัตราการป้อนกาน้ำตาลอ้อย .....	75
3.5	การหมักเอทานอลควบคู่ระบบเพอร์สแทรกซ์ชันในถังหมักปฏิกรณ์ชีวภาพแบบเบรน .....	77
3.6	การศึกษาความคงตัวของระบบ (system stability).....	81
บทที่ 4	บทสรุป.....	85
4.1	สรุปผลการทดลอง.....	85
4.2	ข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยในอนาคต.....	86
4.2.1	การเปลี่ยนแหล่งคาร์บอน .....	86
4.2.2	การพัฒนาโมดูลของเยื่อแผ่น .....	87
4.2.3	การลดความเป็นพิษของเอทานอลต่อเชื้อยีสต์ .....	89
บรรณานุกรม	.....	90
ภาคผนวก ก	.....	97
ภาคผนวก ข	.....	98
ภาคผนวก ค	.....	99
ภาคผนวก ง	.....	100
ประวัติผู้วิจัย	.....	101



## สารบัญตาราง

ตาราง 1: แสดงองค์ประกอบของกากน้ำตาลอ้อย (ประเสริฐสุรทรัพย์, ๒๕๔๒).....	16
ตาราง 2: สมบัติทางกายภาพและเคมีของเอทานอลบริสุทธิ์ .....	17
ตาราง 3: ตัวอย่างวิธีการแยกผลิตภัณฑ์โดยอาศัยสมบัติทางกายภาพและเคมีที่แตกต่างกัน (Lye and Woodley, 1999).....	24
ตาราง 4: การจำแนกเชื้อแผ่น โดยอาศัยแรงขับเคลื่อนเป็นตัวกำหนด (Huang, 1991).....	33
ตาราง 5: สัมประสิทธิ์การกระจายตัวระหว่างเชื้อแผ่น/น้ำ และ สัมประสิทธิ์การกระจายตัวระหว่างตัวทำละลายอินทรีย์ /น้ำ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส.....	63

## สารบัญภาพ

ภาพ 1: แสดงวิถี Embden-Meyerhof (Bailey and Ollis, 1986).....	18
ภาพ 2: แผนภาพแสดงถึงการกลั่นอะซีโอโทโรป (Doran, 1995).....	22
ภาพ 3: กระบวนการแยกโดยใช้เยื่อแผ่นซึ่งใช้ขนาดของโมเลกุลเป็นตัวกำหนด .....	26
ภาพ 4: เครื่องมือที่ใช้ในการผลิตเยื่อแผ่นโดยวิธี solution casting.....	27
ภาพ 5: กรรมวิธีการผลิตและภาพขยายของเยื่อแผ่นชนิด track-etch .....	28
ภาพ 6: ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของเยื่อแผ่นเซรามิก .....	28
ภาพ 7: รูปวาดแสดงกรรมวิธีการผลิต (a) และตัวอย่างเยื่อแผ่นชนิด film-stretch (b) .....	29
ภาพ 8: รูปวาดภาคตัดขวางจำลอง โครงสร้างของเยื่อแผ่นเชิงประกอบ.....	30
ภาพ 9: โครงสร้างทางเคมีของยางซิลิโคนชนิด polydimethyl siloxane (PDMS).....	32
ภาพ 10: การวัดมุมสัมผัสของน้ำและเยื่อแผ่นเพื่อบ่งบอกความชอบน้ำ/ไม่ชอบน้ำ (Huang, 1991) .....	33
ภาพ 11: รูปวาดจำลองเครื่องถ่ายเทมวลโดยระบบเพอร์สแทรกชั่น (Boontawan and Stuckey, 2005a). .....	35
ภาพ 12: การถ่ายเทมวลของสารอินทรีย์ผ่านเยื่อแผ่นด้วยกลไกการละลาย-การแพร่ (solution-diffusion) .....	38
ภาพ 13: แสดงพฤติกรรมการดูดซับของสารอินทรีย์ในเยื่อแผ่น (Huang, 1991).....	39
ภาพ 14: รูปจำลองแสดงความเข้มข้นของสารอินทรีย์ระหว่างน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ในระบบ เพอร์สแทรกชั่น (คัดแปลงจาก (Doig <i>et al.</i> , 1999)). .....	40
ภาพ 15: รูปวาดแสดงหลักการทำงานของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเมมเบรนด้วยระบบเพอร์สแทรกชั่น (Boontawan and Stuckey, 2005b).....	44
ภาพ 16: โครงสร้างทางเคมีของ Polyvinylidene fluoride (PVDF).....	46
ภาพ 17: ภาพวาดจำลองแสดงเครื่องแลกเปลี่ยนมวลสารแบบแผ่น.....	50
ภาพ 18: ภาพถ่ายแสดงการจัดการทดลองการแยกเอทานอลออกจากของผสม เอทานอล/น้ำ โดยใช้ ระบบเพอร์สแทรกชั่น .....	50
ภาพ 19: รูปถ่ายการจัดการทดลองการผลิตเอทานอลแบบต่อเนื่องโดยใช้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเมมเบรน.....	55
ภาพ 20: เยื่อแผ่นซิลิโคนภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ซึ่งถูกเตรียมโดยวิธี solution casting .....	58
ภาพ 21: เยื่อแผ่นเชิงประกอบ PDMS/PVDF ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ซึ่งถูก เตรียมโดยวิธีการเปลี่ยนเฟส (แสดงชั้นรองรับ PVDF ที่มีลักษณะคล้ายนิ้วมือ) .....	59

ภาพ 22: เยื่อแผ่นเชิงประกอบ PDMS/PVDF ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด กำลังขยาย 10,000 เท่า .....	60
ภาพ 23: แสดงการหาค่า $P_{aq}^{mem}$ โดยใช้กราฟของเยื่อแผ่นซิติโคนที่อิมมัตว์ด้วยเพนทานอลและ 1-เดคา นอล ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส .....	61
ภาพ 24: ลักษณะการดูดซับของสารละลายเอทานอลในเยื่อแผ่นซิติโคนที่อิมมัตว์ด้วย 1-เดคา นอล.....	64
ภาพ 25: ลักษณะการดูดซับของเยื่อแผ่นซิติโคนที่ไม่ผ่านการทำให้อิมมัตว์ด้วย 1-เดคา นอล (30 เซลเซียส).....	65
ภาพ 26: การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเอทานอลในด้านของตัวทำละลายอินทรีย์ (1-เดคา นอล) ในระหว่างการศึกษาการถ่ายเทมวลผ่านเยื่อแผ่นซิติโคนด้วยระบบเพอร์สแทรกชั่น ( $\delta = 300$ ไมครอน $V_{org} = 500$ มิลลิลิตร $V_{aq} = 2$ ลิตร $E^0 = 10\%$ และ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ตามลำดับ).....	67
ภาพ 27: การหาค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลโดยรวม ( $k_{ov}$ ) โดยใช้กราฟจากภาพ 26.....	67
ภาพ 28: ผลจากความหนาของเยื่อแผ่นที่มีต่อค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลโดยรวม ( $V_{org} = 500$ มิลลิลิตร $V_{aq} = 2$ ลิตร, $E^0 = 10\%$ $Re_{aq} = 4000$ $Re_{org} = 150$ และ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส).....	69
ภาพ 29: ผลของค่า Reynolds ของน้ำที่มีต่อสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลโดยรวม ( $Re_{org} = 250$ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และ ใช้เยื่อแผ่นเชิงประกอบในการทดลอง).....	70
ภาพ 30: การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเอทานอลในน้ำหมัก เมื่อมีการใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นเซลล์ ยีสต์ที่แตกต่างกัน (ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 125 กรัมต่อลิตร อุณหภูมิ = 30 องศาเซลเซียส และ ความเร็วรอบของการเขย่าเท่ากับ 250 รอบต่อนาที) .....	72
ภาพ 31: แสดงผลของความเข้มข้นเริ่มต้นเซลล์ยีสต์ต่อค่าผลิตผลของเอทานอล (คำนวณจากภาพ 30)	73
ภาพ 32: การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบต่าง ๆ ในน้ำหมัก ระหว่างการเลี้ยงเชื้อยีสต์เพื่อให้ได้เซลล์ เข้มข้น (pH = 5.5 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส) .....	74
ภาพ 33: ผลของอัตราการป้อนกาน้ำตาลอ้อยต่อการผลิตเอทานอลในระบบการหมักแบบกึ่งกะ (อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส pH = 5.5 ปริมาตรเริ่มต้น 0.75 ลิตร).....	76
ภาพ 34: ผลของอัตราการป้อนกาน้ำตาลอ้อยต่อผลผลิตของเอทานอล (คำนวณจากภาพ 33).....	77
ภาพ 35: ความเข้มข้นของเอทานอลในน้ำหมักและ 1-เดคา นอลในระหว่างการหมักแบบกึ่งกะควบคู่ไป กับระบบเพอร์สแทรกชั่น .....	79
ภาพ 36: แสดงค่าอัตราการตายจำเพาะ (deactivation constant) ของการหมักแบบกะที่อุณหภูมิ 30 องศา เซลเซียส ค่า pH 5.5 และความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้น 25 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ .....	82

ภาพ 37: แสดงอัตราการตายจำเพาะของเซลล์ยีสต์ ระหว่างการหมักแบบกึ่งกะ (อัตราป้อนกากน้ำตาล อ้อยเท่ากับ 0.006 กรัมต่อวินาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดต่าง 5.5 และ อัตราการกวน 250 รอบต่อนาที ตามลำดับ).....	83
ภาพ 38: แสดงอัตราการตายจำเพาะของเชื้อยีสต์ระหว่างการหมักเอทานอลแบบกึ่งกะควบคู่ไปกับการ แยกด้วยระบบเพอร์สแทรกชัน.....	83
ภาพ 39: ตัวอย่างการออกแบบโมดูลของเยื่อแผ่นให้มีพื้นที่ผิวเพิ่มมากขึ้นในรูปโมดูลของแผ่นและ กรอบ (plate-and-frame module).....	87
ภาพ 40: กระบวนการในการทดลองถึงหมักปฏิกรณ์ชีวภาพที่ใช้เยื่อแผ่นแบบแผ่นในการแยก เอทานอลขณะที่ระบบกำลังดำเนินการออกจากน้ำหมัก, A คือ โมดูลของเยื่อแผ่น.....	88
ภาพ 41: กราฟมาตรฐานความเข้มข้นของเอทานอลในตัวทำละลายอินทรีย์ เพนทานอล.....	98
ภาพ 42: กราฟมาตรฐานความเข้มข้นของเอทานอลในตัวทำละลายอินทรีย์ 1-เดคานอล.....	99
ภาพ 43: โครมาโตแกรมของเอทานอลและเดคานอลหลังจากทำการวิเคราะห์โดยใช้เครื่องแก๊ส โครมา โตรกราฟี.....	100

## คำอธิบายสัญลักษณ์

A	พื้นที่ผิวของเยื่อแผ่น	ตารางเมตร
$C_0$	ความเข้มข้นเริ่มต้นของสาร	กรัมต่อลิตร
$C_{aq}$	ความเข้มข้นของสารละลาย	กรัมต่อลิตร
$C_{aq}^i$	ความเข้มข้นของสารละลายที่ผิวสัมผัส	กรัมต่อลิตร
$C_{aq}^0$	ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารละลาย	กรัมต่อลิตร
$C_{mem}$	ความเข้มข้นของสารในเยื่อแผ่น	กรัมต่อลิตร
$C_{org}$	ความเข้มข้นของสารในตัวทำละลายอินทรีย์	กรัมต่อลิตร
$C_{org}^i$	ความเข้มข้นของสารในตัวทำละลายอินทรีย์ที่ผิวสัมผัส	กรัมต่อลิตร
D	อัตราการเจือจาง	ต่อชั่วโมง
$D_i$	ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของสาร $i$	ตารางเมตรต่อวินาที
$D_{mem}$	ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของสารในเยื่อแผ่น	ตารางเมตรต่อวินาที
$d^{HR}$	เส้นผ่าศูนย์กลางไฮโดรลิก	เมตร
$E_f$	ความเข้มข้นของเอทานอล ณ เวลาสุดท้ายของการหมัก	กรัมต่อลิตร
$E^0$	ความเข้มข้นเริ่มต้นของเอทานอล	กรัมต่อลิตร
F	อัตราการป้อนสาร	ลิตรต่อชั่วโมง
$F_0$	อัตราการป้อนสารเริ่มต้น	ลิตรต่อชั่วโมง
$J_i$	ฟลักซ์ของสาร $i$	กิโลกรัมต่อตารางเมตร ต่อชั่วโมง
$J_{aq}^i$	ฟลักซ์ของสาร $i$ ผ่านชั้นขอบเขตของน้ำ	กิโลกรัมต่อตารางเมตร ต่อชั่วโมง
$J_{mem}^i$	ฟลักซ์ของสาร $i$ ผ่านเยื่อแผ่น	กิโลกรัมต่อตารางเมตร ต่อชั่วโมง
$J_{org}^i$	ฟลักซ์ของสาร $i$ ผ่านชั้นขอบเขตของตัวทำละลายอินทรีย์	กิโลกรัมต่อตารางเมตร ต่อชั่วโมง
$k_{ov}$	สัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลโดยรวม	เมตรต่อวินาที
$k_{aq}$	สัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลในชั้นขอบเขตของน้ำ	เมตรต่อวินาที
$k_{mem}$	สัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลในชั้นของเยื่อแผ่น	เมตรต่อวินาที

$k_{org}$	สัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลในชั้นขอบเขตของตัวทำละลายอินทรีย์	เมตรต่อวินาที
$K_S$	ค่าคงที่ของ Michaelis-Menten	กรัมต่อลิตร
$M_t$	มวลของสารที่ถูกดูดซับในเยื่อแผ่น ณ เวลา $t$	กรัม
$M_\infty$	มวลของสารที่ถูกดูดซับในเยื่อแผ่นที่จุดสมดุล	กรัม
$N_i$	อัตราการถ่ายเทมวลของสาร $i$	กิโลกรัมต่อชั่วโมง
$P$	ความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์	กรัมต่อลิตร
$P_{aq}^{mem}$	สัมประสิทธิ์การกระจายตัวระหว่างเยื่อแผ่น/น้ำ	-
$P_{org}^{mem}$	สัมประสิทธิ์การกระจายตัวระหว่างเยื่อแผ่น/ตัวทำละลายอินทรีย์	-
$P_{aq}^{org}$	สัมประสิทธิ์การกระจายตัวระหว่างตัวทำละลายอินทรีย์/น้ำ	-
$r_E$	อัตราการผลิตของเอทานอล	กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง
$r_S$	อัตราการใช้สารตั้งต้น	กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง
$r_X$	ผลผลิตของชีวมวล	กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง
$S$	ความเข้มข้นของสารตั้งต้น	กรัมต่อลิตร
$S_0$	ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารตั้งต้น	กรัมต่อลิตร
$t$	เวลา	วินาที
$t_f$	เวลาสิ้นสุดของการหมักแบบกึ่งกะ	วินาที
$u$	ความเร็วของของไหล	เมตรต่อวินาที
$V_{aq}$	ปริมาตรของสารละลาย	ลูกบาศก์เมตร
$V_f$	ปริมาตรสุดท้ายของน้ำหมัก	ลูกบาศก์เมตร
$V_0$	ปริมาตรเริ่มต้นของน้ำหมัก	ลูกบาศก์เมตร
$V_{org}$	ปริมาตรของตัวทำละลายอินทรีย์	ลูกบาศก์เมตร
$V_{mem}$	ปริมาตรของเยื่อแผ่น	ลูกบาศก์เมตร
$X$	ความเข้มข้นของเซลล์	กรัมต่อลิตร
$X_0$	ความเข้มข้นเริ่มต้นของเซลล์	กรัมต่อลิตร
$X_f$	ความเข้มข้นสุดท้ายของเซลล์	กรัมต่อลิตร
$Y$	ค่าผลิตผล	

### Greek letters

$\alpha$	ความสามารถในการคัดแยก (Separation factor)	-
$\delta$	ความหนาของเยื่อแผ่น	ม
$\rho$	ความหนาแน่นของของเหลว	กิโลกรัมต่อลูกบาศก์ เมตร
$\chi$	สัมประสิทธิ์ทางเคมีของสาร	-
$\mu$	ความหนืดของสาร	ปาสคาล.วินาที
$\mu$	อัตราการเจริญจำเพาะ	ต่อชั่วโมง
$\mu_{\max}$	อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด	ต่อชั่วโมง

## บทที่ 1 บทนำ

### 1.1 การหมักเอทานอลจากกากน้ำตาลอ้อย

โมลาส หรือ กากน้ำตาลอ้อย เป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาลซูโครสจากอ้อย ซึ่งมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดมากกว่าร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก กากน้ำตาลอ้อยสามารถแบ่งกลุ่มได้เป็นหลายกลุ่มขึ้นอยู่กับวิธีการในการผลิตและปริมาณของน้ำตาลที่เหลืออยู่ โดยเกรดที่มีคุณภาพต่ำที่สุดจะถูกเรียกว่า Blackstrap ในปัจจุบัน กากน้ำตาลอ้อยเหล่านี้ได้ถูกนำไปใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น ใช้เป็นส่วนผสมของอาหารสัตว์และเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญในการผลิตเอทานอลที่ใช้ในอุตสาหกรรมเป็นต้น (Wee, 2004) ข้อได้เปรียบหลักของการใช้กากน้ำตาลอ้อยเพื่อเป็นสารตั้งต้นในการผลิตเอทานอลคือมีราคาถูก หาซื้อได้ง่ายและมีการใช้กันอย่างแพร่หลาย (Mubcccel and Mutlu, 2000) แสดงองค์ประกอบทางเคมีของกากน้ำตาลอ้อย

ตาราง 1: แสดงองค์ประกอบของกากน้ำตาลอ้อย (ประเสริฐสรรพ, ๒๕๔๒)

องค์ประกอบ	ปริมาณ (% by weight)
น้ำตาลซูโครส (sucrose)	35
น้ำ (water)	20
น้ำตาลรีดิวิซ (invert sugar)	16
เถ้า (ash)	12
สารประกอบไนโตรเจน (nitrogenous compound)	4.5
สารรีดิวิซอื่น ๆ (other reducing substances)	3
คาร์โบไฮเดรตอื่น ๆ (other carbohydrates)	4
กรดอื่น ๆ (non nitrogenous acids)	5
ขี้ผึ้ง สเตอโรลและไขมัน (wax, sterols and phospholipids)	0.4

เอทานอลบริสุทธิ์สามารถใช้เป็นแหล่งพลังงานทดแทนได้โดยการเติมผสมกับน้ำมันเบนซิน 91 ในอัตราส่วนเอทานอล 1 ส่วนต่อน้ำมัน 9 ส่วนเพื่อปรับเพิ่มค่าออกเทน จะได้ผลิตภัณฑ์เป็น แก๊ซโซฮอล์ 95 เป็นการลดปริมาณการใช้น้ำมันเบนซินลง สามารถลดการนำเข้าน้ำมันดิบจากต่างประเทศได้ การผลิตเอทานอลสามารถกระทำได้โดยการหมักน้ำตาลและเชื้อยีสต์ในสภาวะไร้อากาศซึ่งเป็นวิธี



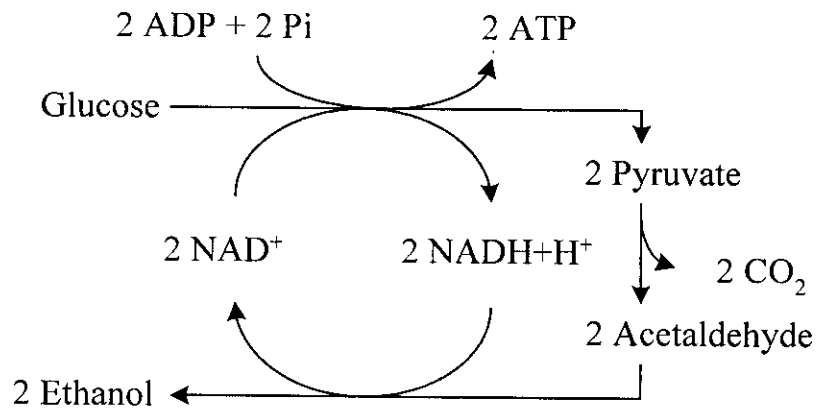
เดียวกันกับการหมักเครื่องคั่วแอลกอฮอล์ที่มีมาตั้งแต่สมัยโบราณ ในปัจจุบันพบว่าการผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรมกว่าครึ่งหนึ่งใช้การหมักด้วยวิธีแบบดั้งเดิมนี้ (Nielsen and Villadsen, 2003) ในทางเศรษฐศาสตร์พบว่าการลงทุนการผลิตเอทานอลลงจะทำให้ความต้องการเอทานอลในปริมาณที่มากขึ้น ดังนั้นในมุมมองทางด้านการพัฒนาเทคนิคการผลิตอีกทั้งการปรับปรุงกรรมวิธีการผลิตจากแบบดั้งเดิมไปสู่แบบต่อเนื่องมากขึ้นจะทำให้สามารถลดต้นทุนในการผลิตเอทานอลลงได้ ตาราง 2 แสดงสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของเอทานอล

ตาราง 2: สมบัติทางกายภาพและเคมีของเอทานอลบริสุทธิ์

สมบัติ	ค่า
สูตรโครงสร้าง	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$
มวลโมเลกุล	46
จุดเดือด ( $^{\circ}\text{C}$ )	78.32
อุณหภูมิวิกฤต ( $^{\circ}\text{C}$ )	243.1
ความหนาแน่นที่ $20^{\circ}\text{C}$	0.7893 กรัม.ซม <sup>3</sup>
ความร้อนของการสันดาป, จูล.กก <sup>-1</sup>	29676.69
อุณหภูมิที่ติดไฟได้เอง ( $^{\circ}\text{C}$ )	793.0

น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเป็นสารตั้งต้นสำหรับเอนไซม์จากเชื้อยีสต์โดยน้ำตาลดังกล่าวจะถูกเปลี่ยนให้เป็นเอทานอลโดยได้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ( $\text{CO}_2$ ) เป็นผลพลอยได้ (วิธี Embden-Meyerhof) นอกจากเชื้อยีสต์แล้วยังมีเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ที่น่าสนใจในการผลิตเอทานอลสำหรับอุตสาหกรรมอีกด้วยเช่นเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* และเชื้อยีสต์ *Kluyveromyces sp.* สำหรับปฏิกิริยาทางชีวเคมีในการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นเอทานอลนั้นจะอยู่ภายใต้สภาวะไร้อากาศซึ่งน้ำตาลจะถูกเปลี่ยนให้เป็นกรดไพรูวิกโดยผ่านทางวิถีไกลโคไลซิส ซึ่งกระบวนการหมักนี้จะผลิตพลังงานให้เชื้อยีสต์โดยมีการผลิตเอทานอลและ  $\text{CO}_2$  สำหรับวิถีไกลโคไลซิสนั้นจะมีการเติมฟอสเฟต 2 โมเลกุลเข้าไปในน้ำตาลก่อนที่จะแตกตัวกลายเป็น glyceraldehyde-3-phosphate ซึ่งเป็นสารที่มีคาร์บอน 3 อะตอมจำนวน 2 โมเลกุลก่อนที่จะถูกออกซิไดซ์เป็นไพรูเวตต่อไปดังแสดงในภาพ 1 โดยที่จะมีการผลิต ATP สุทธิ 2 โมเลกุลจากน้ำตาล 1 โมเลกุล (Hofmeyr, 1997) ในสภาวะที่มีออกซิเจน ไพรูเวตดังกล่าวจะถูกเปลี่ยนให้เป็น acetyl-CoA ก่อนที่จะเข้าสู่วงจรเครป โดยที่ acetyl-CoA จะถูกออกซิไดซ์อย่างสมบูรณ์และมีการผลิต ATP จากกระบวนการ oxidative phosphorylation. ในการเปรียบเทียบกันจะพบว่าการผลิตเอทานอลจะทำให้มีการผลิต ATP เป็นจำนวนน้อยกว่ากระบวนการ oxidative phosphorylation

โดยที่การหมักเอทานอลซึ่งผ่านวิถีไกลโคไลซิสจะมีการผลิต ATP เพียง 2 โมเลกุลในขณะที่กระบวนการ oxidative phosphorylation จะมีการผลิต ATP ถึง 36 โมเลกุลจากน้ำตาล 1 โมเลกุล



ภาพ 1: แสดงวิถี Embden-Meyerhof (Bailey and Ollis, 1986).

## 1.2 กระบวนการหมักเอทานอลในแบบต่าง ๆ

การหมักเอทานอลในปัจจุบันนั้นสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กระบวนการใหญ่ ๆ คือการหมักแบบกะ (batch fermentation) การหมักแบบกึ่งกะ (fed-batch fermentation) และการหมักแบบต่อเนื่อง (continuous fermentation)

### 1.2.1 การหมักแบบกะ (Batch fermentation)

การหมักแบบกะนั้น สารอาหารทั้งหมดจะถูกเตรียมไว้ก่อนที่จะมีการเติมเชื้อยีสต์ลงไปและจะไม่มี การเติมสารอาหารอื่น ๆ ลงไปในช่วงที่การหมักดำเนินไป เอทานอลที่ถูกผลิตขึ้นจะสะสมอยู่ ภายในน้ำหมัก ได้มีการศึกษาถึงผลของระดับเอทานอลที่เพิ่มขึ้นกับการเปลี่ยนแปลงของจุลศาสตร์การ หมักและได้พบว่าอัตราการผลิตเอทานอลจะลดลงเมื่อมีความเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มขึ้น ซึ่งสาเหตุ หลักนั้นพบว่าการเกิดขึ้นจากการที่เอทานอลได้ทำลายผนังเซลล์ของเชื้อยีสต์ทำให้สูญเสียความสามารถใน การคัดเลือกผ่านของสารเข้า-ออกเซลล์ ทำให้เชื้อยีสต์ตายไปในที่สุด โดยทั่ว ๆ ไปพบว่าการหมักแบบ กะนี้ ปริมาณของเอทานอลที่สะสมมักจะอยู่ในระดับที่ต่ำกว่าร้อยละ 12 โดยน้ำหนักและจะมีอัตราการ ผลิตเอทานอลอยู่ที่ประมาณ 1.73 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (Neelam and Amarjit, 1991) อย่างไรก็ตามการหมักแบบกะนี้มักจะได้ผลผลิตของเอทานอลที่ต่ำกว่าระบบการหมัก แบบอื่น ๆ ทำให้ไม่เป็นที่นิยมมากนักในการหมักระดับอุตสาหกรรม

### 1.2.2 การหมักแบบต่อเนื่อง (Continuous fermentation)

การหมักเอทานอลแบบกะเป็นวิธีการเดียวในการผลิตเอทานอลในอดีต แต่ร้อยละ 30 ได้ถูกเปลี่ยนมาเป็นกระบวนการหมักแบบต่อเนื่องในเวลาต่อมา (Wheals *et al.*, 1999) กระบวนการหมักแบบต่อเนื่องจะมีการเติมอาหารลงไปในระบบและจะมีการนำเอาน้ำหมักบางส่วนออกโดยที่อัตราการป้อนอาหารเข้าถังหมักต่อปริมาตรของน้ำหมักในถังหมักเรียกว่าอัตราการเจือจาง (Dilution rate,  $D$ ) ซึ่งจะมีหน่วยเป็น ชม<sup>-1</sup> มีหลายงานวิจัยที่ได้ศึกษาเกี่ยวกับการหมักแบบต่อเนื่องเช่นการหมักเอทานอลแบบต่อเนื่องโดยการตรึงเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* NRRL Y-2034 ใน calcium alginate (McGhe *et al.*, 1982) ซึ่งมีข้อดีหลายประการเช่นสามารถผลิตเอทานอลได้ความเข้มข้นร้อยละ 10 ในน้ำหมักด้วยอัตราการเจือจางที่ 0.2 ต่อชั่วโมง อีกทั้งสามารถผลิตเอทานอลได้อย่างต่อเนื่องเป็นเวลานาน ค่าผลิตผลเอทานอลต่อกลูโคสสูงถึง 0.31 กรัม<sub>เอทานอล</sub>ต่อ 1.0 กรัม<sub>กลูโคส</sub> (Ranulfo *et al.*, 2003)

อย่างไรก็ตามการหมักเอทานอลแบบต่อเนื่องนี้อาจจะก่อให้เกิดการสูญเสียเชื้อยีสต์ไปในระหว่างที่มีการถ่ายน้ำหมักออกจากระบบด้วยเช่นกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อมีอัตราการเจริญจำเพาะ ( $\mu$ ) ต่ำและมีอัตราการเจือจางที่สูง นอกเหนือจากปัญหาดังกล่าวแล้วการควบคุมปัจจัยต่าง ๆ ที่ทำให้เกิดสถานะคงตัว (steady state) ของทั้ง *chemostat* และ *turbidostat* ระหว่างกระบวนการหมักพบว่ามีความยุ่งยากมาก โดยที่ *chemostat* เป็นการควบคุมระบบให้เกิดสถานะคงตัว (steady state) ของปริมาตรน้ำหมักโดยการควบคุมอัตราการป้อนของสารอาหารและอัตราการถ่ายน้ำหมักออกจากระบบให้เท่ากัน ส่วน *turbidostat* เป็นการควบคุมปริมาตรของน้ำหมักให้คงที่โดยการควบคุมอัตราการป้อนสารอาหารและอัตราการถ่ายน้ำหมักออกซึ่งจะใช้ความเข้มข้นของเซลล์ในระบบเป็นตัวกำหนดซึ่งจะต้องอาศัยระบบการควบคุมที่ซับซ้อนและไม่เป็นที่นิยมในการหมักเอทานอลในระดับอุตสาหกรรม (Doran, 1995)

### 1.2.3 การหมักแบบกึ่งกะ (Fed-batch fermentation)

ในกระบวนการหมักเอทานอลแบบกึ่งกะนั้น สารอาหารจะถูกป้อนเข้าสู่ระบบเป็นครั้งคราวหรือต่อเนื่องก็ได้ แต่จะไม่มีการถ่ายเอาน้ำหมักออกจากระบบในระหว่างการหมัก ซึ่งจะเป็นการผสมผสานระหว่างการหมักแบบกะและแบบต่อเนื่อง ซึ่งกระบวนการหมักแบบนี้ได้รับความนิยมมากที่สุดในระดับอุตสาหกรรม (Caylak and Sukan, 1998) โดยที่สามารถประยุกต์ใช้ร่วมกับการหมักโดยใช้ความเข้มข้นของเซลล์ที่สูงได้ (high cell density) เพื่อเพิ่มความต้านทานความเป็นพิษของเอทานอลและลดต้นทุนที่เกี่ยวกับการเตรียมเชื้อเริ่มต้นลง นอกจากนี้ส่วนที่สำคัญที่สุดยังเป็นเพิ่มอัตราในการผลิตเอทานอลโดยอาจจะสูงถึง 3.8 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และได้ความเข้มข้นของเอทานอลสุดท้ายที่ประมาณ 70 กรัมต่อลิตร แต่อย่างไรก็ตามปัญหาสำคัญที่เกิดขึ้นกับกระบวนการหมักแบบนี้ก็คือการที่

ยังมีการสะสมของเอทานอลซึ่งมีความเป็นพิษต่อเซลล์สูงสะสมอยู่ในระบบทำให้ในท้ายที่สุดแล้วการหมักก็จะยุติลงจากการที่เชื้อยีสต์ไม่สามารถทนความเป็นพิษของเอทานอลได้ (Converti *et al.*, 2003)

ในระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลในแบบกึ่งกะนั้น ปริมาตรของน้ำหมัก ( $V$ ) จะเพิ่มขึ้นเมื่อเวลา ( $t$ ) ผ่านไปโดยที่อัตราการป้อนสารอาหารสามารถคำนวณได้โดยสมการ

$$F = \frac{dV}{dt} = F_0 e^{Kt} \quad (1)$$

โดยที่  $F_0$  คืออัตราการป้อนของสารอาหารเริ่มต้นและ  $K$  เป็นค่าคงที่ซึ่งขึ้นอยู่กับรูปแบบของการป้อนอาหาร ยกตัวอย่างเช่นค่า  $K = 0$  แสดงว่าอัตราการป้อนสารอาหารคงที่ตลอดช่วงเวลาการหมัก ส่วนค่า  $K > 0$  อัตราการป้อนสารอาหารจะเพิ่มขึ้นเวลาผ่านไป และค่า  $K < 0$  แสดงว่าอัตราการป้อนสารอาหารจะลดลงเมื่อเวลาผ่านไป การทำแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของระบบการหมักแบบกึ่งกะนี้ควรที่จะมีการพิจารณาถึงปัจจัยผันแปรต่าง ๆ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพของระบบด้วยเช่น การเปลี่ยนแปลงปริมาตร การถ่ายเทมวล สมดุลมวลของเซลล์ เอทานอล และสารอาหารเป็นต้น (Di Serio *et al.*, 2001) ส่วนการคำนวณค่าผลผลิตของเซลล์ยีสต์ ( $r_x$ ) และผลผลิตของเอทานอล ( $r_E$ ) นั้นพบว่า เป็นไปตามรูปแบบของ Monod ดังสมการ

$$r_x = \frac{X_f V_f - X_0 V_0}{V_f t_f} = \frac{r_x^{\max} F_0 S_0}{k_x + F_0 S_0} \quad (2)$$

$$r_E = \frac{E_f}{t_f} = \frac{r_E^{\max} F_0 S_0}{k_E + F_0 S_0} \quad (3)$$

โดย  $X_0$  และ  $S_0$  คือความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์และสารตั้งต้นเริ่มต้น  $X_f$  และ  $E_f$  เป็นความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์และเอทานอลในตอนสิ้นสุดการหมัก  $F_0$  คืออัตราการป้อนสารอาหารเริ่มต้น  $r_x^{\max}$  และ  $r_E^{\max}$  คือค่าผลผลิตของเซลล์ยีสต์และเอทานอลสูงสุด  $k_x$  และ  $k_E$  คือค่าคงที่อิ่มตัวของเซลล์ยีสต์และเอทานอลตามลำดับ นอกจากนี้แล้วอัตราการใช้กลูโคส ( $r_s$ ) สามารถกำหนดได้ดังนี้

$$r_s = \frac{S_0 (V_f - V_0)}{V_f t_f} \quad (4)$$

ดังนั้นค่าผลิตผลของเซลล์ต่อกลูโคส ( $Y_{X/S}$ ) ค่าผลิตผลของเอทานอลต่อกลูโคส ( $Y_{E/S}$ ) และค่าผลิตผลของเซลล์ต่อเอทานอล ( $Y_{X/E}$ ) สามารถคำนวณได้ดังนี้

$$Y_{X/S} = \frac{r_x}{r_s} = \frac{X_f V_f - X_0 V_0}{S_0 (V_f - V_0)} \quad (5)$$

$$Y_{E/S} = \frac{r_E}{r_s} = \frac{E_f V_f}{S_0 (V_f - V_0)} \quad (6)$$

$$Y_{X/E} = \frac{r_x}{r_E} = \frac{X_f V_f - X_0 V_0}{E_f V_f} \quad (7)$$

### 1.3 ปัญหาด้านเทคนิคในการผลิตเอทานอล

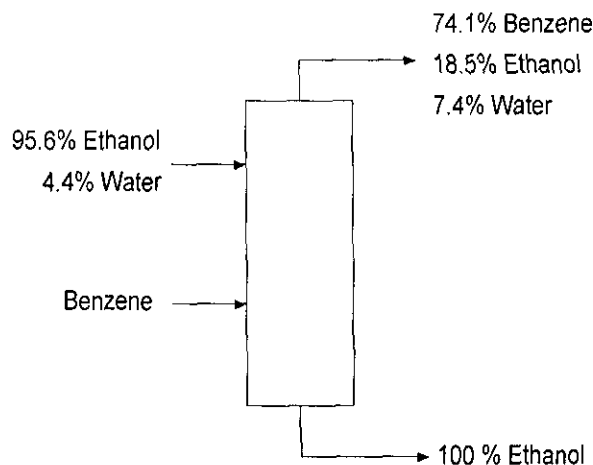
ในการผลิตเอทานอลจากกระบวนการหมักโดยใช้เชื้อยีสต์นั้น ได้มีข้อจำกัดในด้านต่าง ๆ ที่มีผลต่อวิถีไกลโคไลซิสและผลผลิตของเอทานอล (Casey and Ingledew, 1986) การพิจารณาและการจำแนกถึงข้อจำกัดต่าง ๆ เหล่านี้จะสามารถทำให้นักวิจัยเข้าใจปัญหาและนำความรู้เหล่านี้ไปพัฒนากระบวนการหมักให้สามารถผลิตเอทานอลได้ในปริมาณที่มากขึ้นและมีอัตราการผลิตที่เพิ่มขึ้นได้ (Dombek and Ingram, 1985).

#### 1.3.1 ปัญหาที่เกิดขึ้นกับเชื้อยีสต์

ปัญหาในเชิงเทคนิคปัญหาแรกที่เกิดขึ้นนั้น เกิดมาจากเชื้อยีสต์เองซึ่งจะอ่อนไหวต่อความเป็นพิษของเอทานอลมากทำให้ค่าผลิตผลของเอทานอลต่อสารอาหาร ( $Y_{X/S}$ ) ในทางปฏิบัติแล้วจะมีค่าไม่เกิน 90 – 95% ของค่าผลิตผลในเชิงทฤษฎี (น้ำตาลกลูโคส 1 โมลจะถูกเปลี่ยนเป็นเอทานอล 2 โมล) โดยที่เอทานอลความเข้มข้นเพียงร้อยละ 1-2 โดยน้ำหนักก็จะเพียงพอที่จะยับยั้งอัตราการเจริญของเชื้อยีสต์ลง นอกจากนี้ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักที่ประมาณร้อยละ 10 โดยน้ำหนักก็จะเป็นการทำให้เชื้อยีสต์หยุดการเจริญ (Krauter *et al.*, 1987) ความเป็นพิษของเอทานอลต่อเซลล์ยีสต์นอกจากจะเกี่ยวข้องกับการเจริญแล้วยังส่งผลให้เชื้อยีสต์ตายอีกด้วย (Echegaray *et al.*, 2000) ซึ่งเป็นที่ทราบกันอยู่ทั่วไปว่าเอทานอลจะถูกดูดซับที่เยื่อหุ้มเซลล์ของยีสต์ก่อนที่จะทำให้ความสามารถในการควบคุมการเลือกผ่านของสารเคมีเข้าออกเซลล์สูญเสียไป โดยเฉพาะในเชื้อยีสต์ เอทานอลจะทำให้อัตราการเข้า-ออกของไฮโดรเจนไอออนมีค่าสูงซึ่งจะมีผลในการทำให้สมดุลของปฏิกิริยาต่าง ๆ ในเซลล์ของยีสต์สูญเสียไป (Cartwright *et al.*, 1986)

### 1.3.2 ปัญหาในด้านการทำให้บริสุทธิ์

ข้อจำกัดในด้านเทคนิคข้อที่สองคือข้อจำกัดทางด้านวิศวกรรมสำหรับกระบวนการผลิต การเก็บเกี่ยวผลิตภัณฑ์และการทำให้บริสุทธิ์ ซึ่งขั้นตอนการทำเอทานอลให้บริสุทธิ์จะเริ่มขึ้นหลังจากที่กระบวนการหมักยุติลง โดยความเข้มข้นเริ่มต้นของเอทานอลในน้ำหมักจะอยู่ที่ประมาณร้อยละ 5 – 10 โดยน้ำหนัก น้ำหมักดังกล่าวจะถูกกลั่น โดยการให้ความร้อนจนได้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุดอยู่ที่ร้อยละ 95.6 โดยน้ำหนักและไม่สามารถทำให้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงขึ้นกว่านี้อีกได้ด้วยวิธีการกลั่นแบบธรรมดา โดยที่ของผสมเอทานอล/น้ำ ที่ความเข้มข้นนี้จะถูกเรียกว่าของผสมอะซีโอโทรป หรือ azeotropic solution (Matsuura, 1994) การกำจัดน้ำปริมาณเล็กน้อยที่เหลืออยู่นี้ (ประมาณร้อยละ 4.4) มีความจำเป็นมากเนื่องจากเอทานอลที่สามารถนำไปผสมกับน้ำมันเบนซินเพื่อผลิตเป็นแก๊สโซฮอล์ 95 นั้น จะต้องมีความบริสุทธิ์ไม่น้อยกว่าร้อยละ 99.9 โดยน้ำหนัก ดังนั้นจึงต้องมีกระบวนการกลั่นแบบพิเศษเพิ่มขึ้นอีกขั้นตอนหนึ่งเรียกว่าการกลั่นอะซีโอโทรปซึ่งจะมีการเติมสารเคมีบางชนิดลงไปเช่น cyclohexane หรือ benzene เพื่อทำให้ความสามารถในการระเหยของเอทานอลลดลง ภายใต้สภาวะนี้ผลิตภัณฑ์ที่ออกจากหอกลั่นจะประกอบด้วย เบนซินร้อยละ 74.1 เอทานอลร้อยละ 18.5 และน้ำร้อยละ 7.4 โดยน้ำหนักตามลำดับ ส่วนเอทานอลบริสุทธิ์จะถูกแยกออกไปทางด้านล่างของหอกลั่น แผนภาพการกลั่นอะซีโอโทรปโดยใช้วิธีการกลั่นของ Keyes แสดงในภาพ 2



ภาพ 2: แผนภาพแสดงถึงการกลั่นอะซีโอโทรป (Doran, 1995).

โดยสรุปแล้วจะพบว่าการผลิตเอทานอลบริสุทธิ์เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมปิโตรเลียมมันมีข้อจำกัดมากมายอีกทั้งมีความยุ่งยาก ทำให้ต้นทุนการผลิตสูงซึ่งในบางครั้งอาจจะไม่คุ้มทุน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง

ในช่วงที่วัตถุดิบ (กากน้ำตาลอ้อย) มีราคาสูงทำให้ประเทศไทยยังต้องนำเข้าเอทานอลจากต่างประเทศอยู่ในปัจจุบัน

#### 1.4 การแยกผลิตภัณฑ์ในระหว่างที่การหมักกำลังดำเนินอยู่ (Extractive fermentation)

ดังที่ได้กล่าวมาแล้วว่าการสะสมของเอทานอลในน้ำหมักในปริมาณที่สูงได้ก่อให้เกิดปัญหาหลักคือการยับยั้งปฏิกิริยาของเชื้อยีสต์ ดังนั้นจึงมีการพัฒนาแนวความคิดที่จะทำการแยกเอทานอลออกจากระบบในขณะที่กระบวนการหมักกำลังดำเนินไป (extractive fermentation หรือ *in situ* product removal) ซึ่งจะเป็นการพัฒนากระบวนการหมักไปพร้อม ๆ กับการเก็บเกี่ยวผลิตภัณฑ์ ซึ่งจะมีผลในด้านต่าง ๆ ดังนี้ 1.) ลดความเป็นพิษของเอทานอลที่มีต่อเชื้อยีสต์ลง จะทำให้เชื้อยีสต์สามารถผลิตเอทานอลได้มากขึ้น 2.) สมดุลของสมการจะไปข้างหน้าเนื่องจากการแยกเอทานอลออกจากระบบอยู่ตลอดเวลา 3.) การสูญเสียผลิตภัณฑ์จะมีค่าลดลง และ 4.) เป็นการลดขั้นตอนของการผลิตลง (Mattiasson and Holst, 1991) ข้อได้เปรียบต่าง ๆ เหล่านี้จะนำไปสู่การลดขนาดของถังหมักลง (เมื่อเปรียบเทียบกับผลิตผลของเอทานอลที่เท่ากัน) ทำให้สามารถลดต้นทุนทั้งต้นทุนคงที่และต้นทุนผันแปรต่าง ๆ ลงได้

##### 1.4.1 การเลือกใช้วิธีการแยก

ได้มีการพัฒนาเทคนิคต่าง ๆ สำหรับการแยกผลิตภัณฑ์ออกจากน้ำหมักในระหว่างที่การหมักกำลังดำเนินไปอยู่มีหลายเทคนิคโดยอาศัยสมบัติทางกายภาพและเคมีของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการจะแยกเป็นพื้นฐานในการพิจารณาเช่น ขนาด รูปร่าง จุดหลอมเหลว จุดเดือด ค่าความดันไอ ความสามารถในการละลาย ความชอบหรือไม่ชอบน้ำ (hydrophilic/hydrophobic property) และความเป็นประจุ เป็นต้น ตัวอย่างเทคนิคต่าง ๆ สามารถดูได้จากตาราง 3 นอกจากนี้การเลือกใช้วิธีการแยกให้เหมาะสมยังต้องพิจารณาถึงศักย์ทางเคมี (chemical potential,  $\chi_i$ ) อีกด้วย โดยที่ศักย์ทางเคมีจะเป็นปัจจัยสำคัญในการกำหนดฟลักซ์หรืออัตราการถ่ายเทมวลสารต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่ (mass flux,  $J_i$ ) ซึ่งเป็นไปตามกฎข้อแรกของ Fick ดังสมการ

$$J_i = -D_i \frac{d\chi_i}{dy} \quad (8)$$

ตัวอย่างหนึ่งของ extractive fermentation ที่จะขอยกตัวอย่างในที่นี้คือการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัดผลิตภัณฑ์ออกจากระบบ (aqueous-organic two phase system, AOTP) โดยที่ตัวเร่งปฏิกิริยาทางชีวภาพ (biocatalysts) ซึ่งอาจเป็นเซลล์จุลินทรีย์หรือเอนไซม์เป็นต้นจะอยู่ในส่วนของน้ำหมัก ส่วน

ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตขึ้น (ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์) จะถูกสกัดแยกออกไปซึ่งเป็นการลดค่าความเป็นพิษของผลิตภัณฑ์ที่มีต่อเชื้อจุลินทรีย์ลง สามารถเพิ่มผลิตผลได้ การเลือกใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสม สามารถสกัดผลิตภัณฑ์ได้ในปริมาณมากและไม่เป็นพิษต่อเซลล์จุลินทรีย์หรือเอนไซม์เป็นปัจจัยสำคัญที่จะต้องนำมาพิจารณา (Leon *et al.*, 1998)

ตาราง 3: ตัวอย่างวิธีการแยกผลิตภัณฑ์โดยอาศัยสมบัติทางกายภาพและเคมีที่แตกต่างกัน (Lye and Woodley, 1999).

สมบัติทางกายภาพและเคมี (driving force)	ข้อสังเกต	ตัวอย่างระบบของการแยก
<b>สมบัติทางกายภาพ</b>		
ความสามารถในกลายเป็นไอ		การกลั่น การพาโดยก๊าซ (stripping)
ขนาดและรูปร่าง		การใช้เยื่อแผ่น การปั่นแยก เพอร์เมอพรูชัน เพอร์สแทรกชัน การกรอง
ความสามารถในการละลาย	มีการคัดเลือกต่ำ (low selectivity) แต่มีความจุสูง (high capacity)	การตกตะกอน AOTP การตกผลึก
<b>สมบัติทางเคมี</b>		
การแสดงประจุ		การแลกเปลี่ยนประจุ Electrodialysis
ความชอบน้ำ/ไม่ชอบน้ำ	มีการคัดเลือกสูง (High selectivity) แต่ความจุต่ำ (low capacity)	โครมาโตกราฟี การดูดซับ
อื่น ๆ		Affinity methods

สำหรับตัวอย่างการประยุกต์ใช้ระบบ AOTP สำหรับการหมักเอทานอลนั้นได้มีการใช้ 1-เดคานอล (1-decanol) เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ในถังหมักชนิดพิเศษและพบว่าผลผลิตของเอทานอลได้เพิ่มขึ้นอย่างมากกว่าการหมักแบบกะที่ใช้กันอยู่ทั่วไป (Mattiasson and Holst, 1991) แต่อย่างไรก็ตามใน

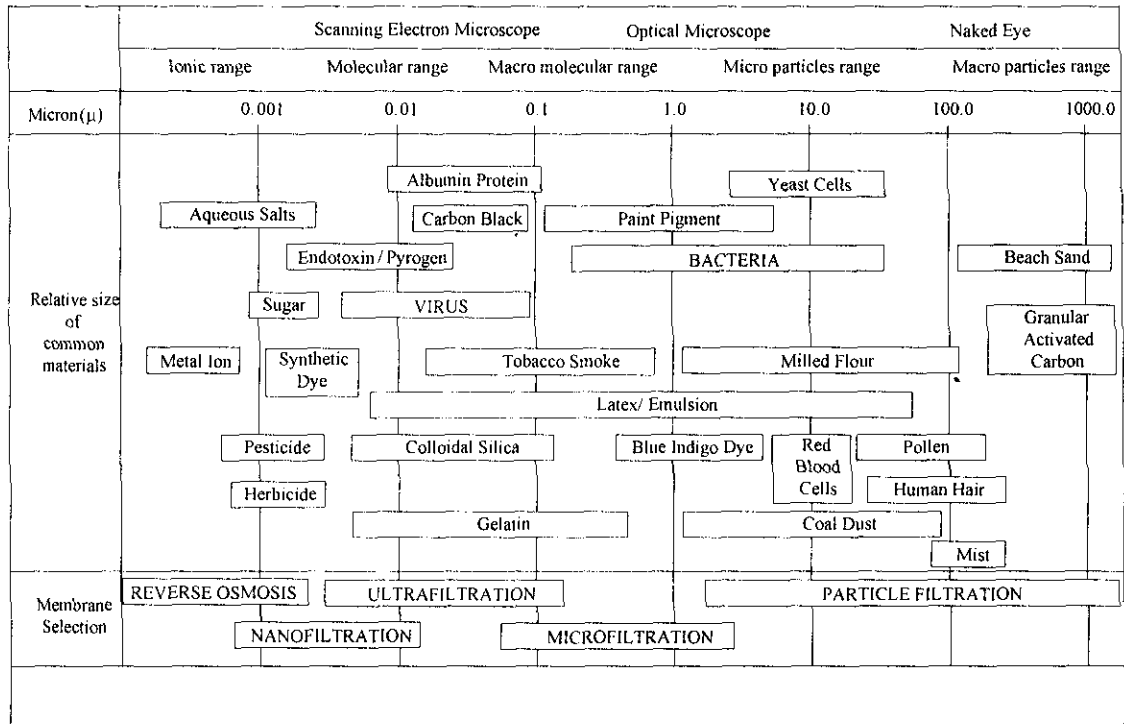


ตอนท้ายของการหมักพบว่ามีการเกิดอิมัลชันขึ้นระหว่างน้ำหมักและตัวทำละลายอินทรีย์เนื่องมาจากการผลิตสารลดความตึงผิว (surfactants) จากเชื้อยีสต์ทำให้การแยกสารทั้งสองสถานะมีความลำบากมากขึ้นและเป็นอุปสรรคต่อการพัฒนากระบวนการผลิตในระดับที่สูงขึ้น

### 1.5 กระบวนการแยกโดยใช้เยื่อแผ่นสังเคราะห์

การใช้เยื่อแผ่นสังเคราะห์ในการแยกผลิตภัณฑ์ได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในปัจจุบันเพื่อจุดประสงค์ในการเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการหมัก (Doig *et al.*, 1998) เยื่อแผ่นสังเคราะห์มีลักษณะเป็นแผ่นบาง ๆ ที่กั้นระหว่างของไหลสองชนิดโดยอาจจะเป็นของเหลวหรือก๊าซก็ได้และมีความสามารถในการคัดเลือกว่าสารเข้า-ออกหรือที่เรียกว่า semi-permeable property (Baker, 2004) การศึกษากระบวนการแยกโดยใช้เยื่อแผ่นนั้นได้มีการศึกษาครั้งแรกใน ค.ศ. 1748 ( พ.ศ. 2291) โดยนักวิทยาศาสตร์ชาวฝรั่งเศสชื่อ Abbé Nolet จากการสังเกตปรากฏการณ์ออสโมซิสของน้ำจากน้ำเกลือผ่านผนังเนื้อเยื่อของกระเพาะหมู จากนั้นมากระบวนการแยกโดยใช้เยื่อแผ่นก็ได้พัฒนามาเรื่อย ๆ ตามลำดับแต่ทำในห้องปฏิบัติการเท่านั้นเช่นกระบวนการ dialysis โดย Thomas Graham ในปี ค.ศ. 1861 กระบวนการเพอร์เมอเพอร์เรชัน โดย Kober ในปี ค.ศ. 1917 เป็นต้น ส่วนกระบวนการแยกโดยใช้เยื่อแผ่นสังเคราะห์ในระดับอุตสาหกรรมนั้นได้มีการพัฒนาเมื่อประมาณ 40 กว่าปีที่ผ่านมานี้เอง โดย Loeb และ Sourirajan ซึ่งเป็นผู้ผลิตเยื่อแผ่นออสโมซิสแบบผันกลับจากเซลลูโลสอะซีเตตสำหรับการผลิตน้ำดื่มจากน้ำทะเลและเยื่อแผ่นอัลตราฟิลเตรชันสำหรับการบำบัดน้ำเสีย ในปัจจุบันได้มีการประยุกต์ใช้เยื่อแผ่นสังเคราะห์กันอย่างกว้างขวางในหลายอุตสาหกรรมเช่น อาหาร ยา ปิโตรเลียม การบำบัดน้ำเสีย และเทคโนโลยีชีวภาพ เป็นต้น การแยกโดยใช้เยื่อแผ่นสังเคราะห์ในทางเทคโนโลยีชีวภาพนั้นได้มีการใช้แยกสารทุกประเภทตั้งแต่การแยกเซลล์ของจุลินทรีย์ด้วยการกรองไปจนถึงการผลิตก๊าซมีเทนให้บริสุทธิ์สูงเพื่อเพิ่มค่าความร้อนของการสันดาป การเลือกชนิดของเยื่อแผ่นให้เหมาะสมนั้นจะต้องพิจารณาถึงสมบัติทางกายภาพและเคมีของสารที่ต้องการแยกเป็นสำคัญ

ภาพ 3 แสดงการจำแนกกระบวนการแยกตามขนาดของโมเลกุลหรืออนุภาค โดยโมเลกุลหรืออนุภาคเล็กหรืออ็อนที่มีขนาดเล็กกว่า  $0.001 \mu\text{m}$  อาจจะแยกออกจากสารละลายได้โดยใช้ระบบออสโมซิสผันกลับ (reverse osmosis) นาโนฟิลเตรชัน (nanofiltration) หรือกระบวนการแยกอื่น ๆ ที่ใช้เยื่อแผ่นแบบแน่น ส่วนโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่ขึ้นเช่น โปรตีน เอ็นไซม์ และอิมัลชัน (emulsion) สามารถแยกออกจากสารละลายได้โดยใช้กระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน (ultrafiltration) ส่วนไมโครฟิลเตรชัน (microfiltration) จะมีการประยุกต์ใช้ในการแยกสารที่มีขนาดใหญ่เช่นการแยกเซลล์จุลินทรีย์ออกจากน้ำหมักหรือกำจัดตะกอนออกจากกระบวนการบำบัดน้ำเสีย เป็นต้น



ภาพ 3: กระบวนการแยกโดยใช้เยื่อแผ่นซึ่งใช้ขนาดของโมเลกุลเป็นตัวกำหนด

### 1.6 การผลิตเยื่อแผ่น

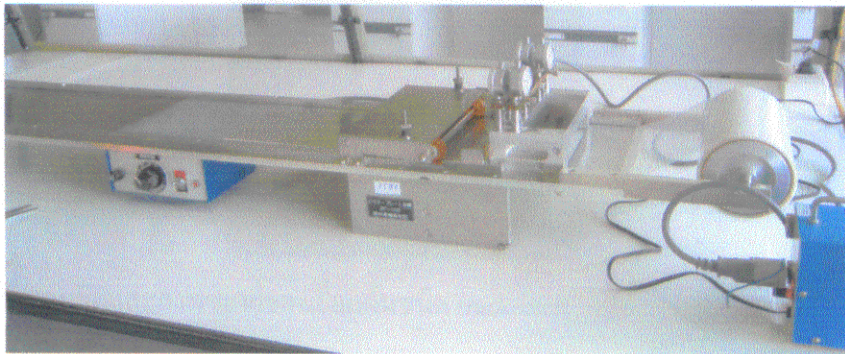
การผลิตเยื่อแผ่นสังเคราะห์สามารถผลิตได้หลายชนิดขึ้นอยู่กับวัสดุที่ใช้และเทคนิคในการผลิต โพลีเมอร์ เซรามิกและโลหะหลายชนิดสามารถนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตเยื่อแผ่นได้ ส่วนกรรมวิธีการผลิตเยื่อแผ่นสังเคราะห์นั้นสามารถผลิตได้หลายวิธีเช่นการระเหยตัวทำละลายอินทรีย์ ไปจนถึงการผลิตเยื่อแผ่นชนิดที่บางพิเศษโดยใช้วิธีการเคลือบด้วยสารละลายเป็นต้น การผลิตเยื่อแผ่นนี้สามารถแบ่งออกได้เป็นสองชนิดโดยการจำแนกจากลักษณะของ โครงสร้างภายในของเยื่อแผ่นภายใต้กล้องจุลทรรศน์

#### 1.6.1 เยื่อแผ่นสมมาตร (symmetric membranes)

เยื่อแผ่นสมมาตรเป็นเยื่อแผ่นสังเคราะห์ที่มีลักษณะ โครงสร้างทั้งทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีเหมือนกันทั่วทั้งแผ่นจากทางด้านบนจนถึงด้านล่างของเยื่อแผ่น เยื่อแผ่นสมมาตรอาจจะอยู่ในรูปของโพลีเมอร์ชนิดที่ไม่มีรูหรือมีรูพรุนก็ได้ เยื่อแผ่นชนิดที่ไม่มีรูพรุนนั้นจะมีลักษณะคล้ายยาง มีความยืดหยุ่นสูง เหมาะสำหรับการใช้แยกผลิตภัณฑ์ที่มีมวล โมเลกุลต่ำ (ต่ำกว่า 1,000 คาลตัน) โดยที่สารดังกล่าวจะถูกดูดซับที่ผิวของเยื่อแผ่นก่อน จากนั้นจะเกิดการแพร่ผ่านชั้นของเยื่อแผ่น ไปสู่อีกด้านหนึ่ง ส่วนเยื่อแผ่นที่เป็นรูพรุนจะถูกผลิตให้มีขนาดของรูพรุนต่าง ๆ กัน โดยจะทำหน้าที่กรองสารที่มีขนาด

โมเลกุลใหญ่เช่น โปรตีน ไปจนถึงเซลล์จุลินทรีย์ได้ แล้วแต่การประยุกต์ใช้งาน ในที่นี้จะขอยกตัวอย่างการผลิตเยื่อแผ่นสังเคราะห์แบบสมมาตรบางวิธีเช่น

**Solution casting:** กรรมวิธีการผลิตเยื่อแผ่นโดยวิธี solution casting นี้มักจะใช้ในการผลิตตัวอย่างเยื่อแผ่นชนิดที่ไม่มีรูพรุนชั้นเล็ก ๆ เพื่อใช้ทดสอบในห้องปฏิบัติการ โดยจะเริ่มจากผสมโพลิเมอร์กับตัวทำละลายที่เหมาะสม จากนั้นสารละลายดังกล่าวจะถูกเทลงบนแผ่นรองพลาสติกที่กำลังเคลื่อนที่และมีการใช้มีดเกลี่ย (doctor blade) เพื่อกำหนดขนาดของความหนาของเยื่อแผ่นโดยใช้เครื่องมือดังที่แสดงในภาพ จากนั้นสารละลายที่ถูกเกลี่ยนี้จะถูกทิ้งไว้ให้เกิดการระเหยตัวของตัวทำละลายอินทรีย์และจะเหลือไว้เฉพาะเยื่อแผ่นโพลิเมอร์บนแผ่นรองก่อนที่จะถูกแยกออกไป

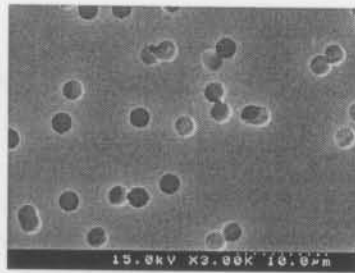
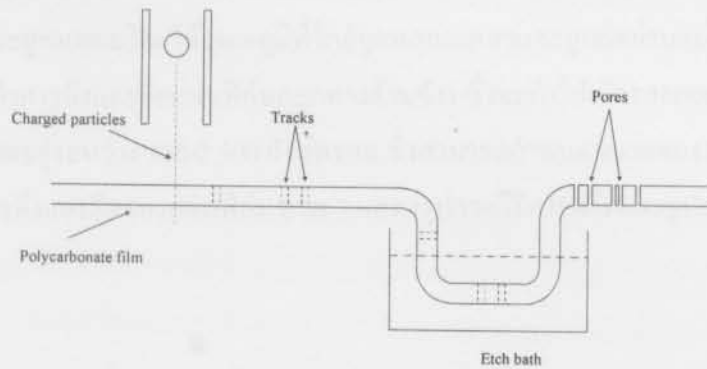


ภาพ 4: เครื่องมือที่ใช้ในการผลิตเยื่อแผ่นโดยวิธี solution casting

**Melt extrude film:** การผลิตเยื่อแผ่นโดยวิธีนี้เหมาะสำหรับโพลิเมอร์ชนิด polyethylene, polypropylene และ ไนลอน ซึ่งไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์แต่จะอ่อนตัวเมื่อถูกบีบอัดภายใต้ความร้อนและความดันสูงโดยใช้เครื่องบีบอัด (laboratory press) ซึ่งประกอบด้วยแผ่นโลหะที่ให้ความร้อนได้สองแผ่นประกบกันและจะมีไฮดรอลิกเป็นอุปกรณ์ที่ให้ความดันสูงประมาณ 2,000-5,000 psi โดยอุณหภูมิที่ใช้จะตั้งไว้ให้ต่ำกว่าจุดหลอมเหลวของโพลิเมอร์ชนิดนั้น ๆ ข้อดีของการผลิตเยื่อแผ่นด้วยวิธีนี้คือไม่สามารถควบคุมความหนาของเยื่อแผ่นให้บางมากได้ โดยทั่ว ๆ ไปจะมีความหนาประมาณ 0.1-0.5 มิลลิเมตร เท่านั้น

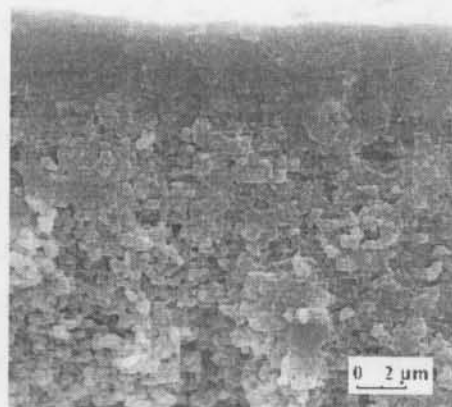
**Track-etched membranes:** เยื่อแผ่นชนิดนี้จะถูกผลิตโดยวิธีกัดรอยจากแผ่นฟิล์มของโพลีคาร์บอเนตหรือโพลีเอสเตอร์ซึ่งจะถูกยิงด้วยประจุจากเครื่องกำเนิดประจุเพื่อทำลายสายโซ่ของโพลิเมอร์ในบริเวณดังกล่าวทำให้เกิดรอย (track) ก่อนที่จะผ่านแผ่นฟิล์มดังกล่าวลงไปในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เพื่อล้างเอาโพลิเมอร์ที่ถูกทำลายออกไปเหลือไว้เป็นรูพรุนดังที่แสดงในภาพ 5 ข้อเสียของเยื่อแผ่นดังกล่าวคือมีการใช้เครื่องมือราคาแพงในการผลิตและจำเป็นต้องควบคุมปริมาณของประจุที่ยิงเข้าไปบนแผ่นฟิล์มไม่ให้มากเกินไปซึ่งอาจจะก่อให้เกิดรูที่มีขนาดใหญ่เนื่องมาจาก

ขนาดเล็กอยู่ชิดกันมากเกินไป ซึ่งมีผลต่อขนาดรูพรุนเฉลี่ย (pore size distribution) เปลี่ยนไป (Matsuura, 1994)



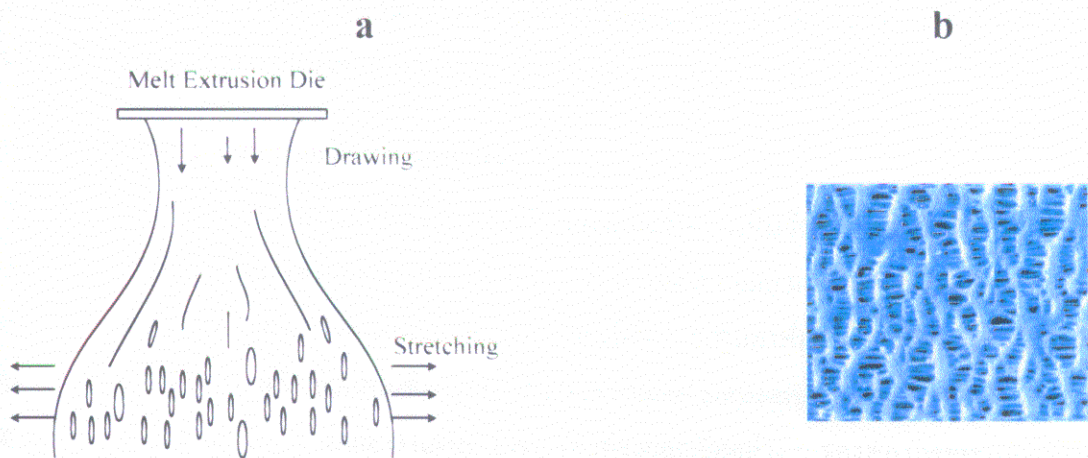
ภาพ 5: กรรมวิธีการผลิตและภาพขยายของเยื่อแผ่นชนิด track-etch

เยื่อแผ่นที่ทำมาจากเซรามิก: เยื่อแผ่นดังกล่าวจะถูกผลิตขึ้นมาจากผงอะลูมิเนียม ไทเทเนียม หรือซิลิกา ออกไซด์ นำมาทำการอัดขึ้นรูปและให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงเรียกว่าวิธี อบ-เชื่อม (sintering) ซึ่งผงของวัสดุเหล่านี้จะหลอมตัวเป็นบางส่วนและเชื่อมติดกัน ในส่วนที่ไม่ติดกันก็จะเกิดเป็นรูพรุนขนาดเล็ก ๆ ขึ้น ข้อดีของเยื่อแผ่นเซรามิกคือมีความทนทานต่อสภาวะต่าง ๆ ได้ดีเช่น ความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ ความดัน จึงเป็นที่นิยมในอุตสาหกรรมยาและอาหาร แต่มีข้อเสียคือมีราคาแพง



ภาพ 6: ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของเยื่อแผ่นเซรามิก

**Film-stretched membrane:** วิธีการผลิตเยื่อแผ่นชนิดนี้เริ่มแรกเป็นลิขสิทธิ์ของบริษัท Hoechst Celanese ภายใต้เครื่องหมายการค้า Celgard<sup>®</sup> โดยที่วัสดุที่นำมาผลิตซึ่งส่วนใหญ่จะเป็น polypropylene จะถูกหลอมโดยใช้อุณหภูมิที่ใกล้จุดหลอมเหลวและถูกอัดผ่านแม่พิมพ์ จากนั้นจะใช้เครื่องมือพิเศษทำการดึงและบิดแผ่นฟิล์มออกทางด้านข้าง ซึ่งจะทำให้เกิดรอยแยกเป็นช่อง ๆ บนแผ่นฟิล์ม มีขนาดอยู่ระหว่าง 200-2,500 อังสตรอม ซึ่งสามารถกำหนดขนาดของรอยแยกนี้โดยการควบคุมอัตราการดึงและบิดของแผ่นฟิล์ม ภาพ 7 แสดงรูปวาดวิธีการผลิตและรูปถ่ายของเยื่อแผ่นชนิด film-stretch



ภาพ 7: รูปวาดแสดงกรรมวิธีการผลิต (a) และตัวอย่างเยื่อแผ่นชนิด film-stretch (b)

### 1.6.2 เยื่อแผ่นไม่สมมาตร (asymmetric or anisotropic membranes)

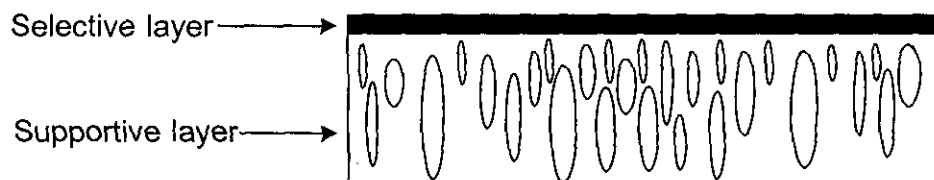
เยื่อแผ่นชนิดนี้จะมีโครงสร้างภายในที่แตกต่างจากผิวด้านบนลงไปด้านล่างของเยื่อแผ่นตลอดชั้นของความหนา โดยทั่วไปแล้วชั้นผิวด้านบนจะมีโครงสร้างที่แน่นกว่าด้านล่างและทำหน้าที่เป็นตัวเลือกผ่าน ในขณะที่ด้านล่างจะมีโครงสร้างที่เป็นโพรงและหนากว่าชั้นผิวมากโดยจะทำหน้าที่เสริมความแข็งแรงของเยื่อแผ่นและเพิ่มค่าฟลักซ์ให้กับเยื่อแผ่นนั้น เยื่อแผ่นไม่สมมาตรได้ถูกผลิตขึ้นเป็นครั้งแรกในช่วงต้นของทศวรรษที่ 1960 โดย Loeb และ Sourirajan สำหรับการกรองน้ำจืดจากน้ำทะเลด้วยวิธีออสโมซิสแบบผันกลับ (reverse osmosis) ซึ่งค่าฟลักซ์ของน้ำที่ผ่านเยื่อแผ่น (permeate) มีค่าสูงกว่าเยื่อแผ่นชนิดอื่นถึงกว่า 10 เท่า

เยื่อแผ่นแบบไม่สมมาตรสามารถผลิตได้จากหลายกรรมวิธี ซึ่งวิธีที่ได้รับความนิยมที่สุดจะเรียกว่าวิธี immersion precipitation หรือ dry-wet method โดยที่จะทำการละลายโพลิเมอร์ด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมก่อนที่จะเคลือบด้วยมีดเคลือบลงบนแผ่นรองรับที่เหมาะสม จากนั้นทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง

เพื่อให้ตัวทำละลายบางส่วนระเหยไป (dry process) จากนั้นจะทำให้เกิดการตกตะกอน (precipitation) ของสารละลายโพลีเมอร์ดังกล่าว โดยนำไปแช่ในน้ำ จากนั้นจะเกิดกระบวนการแลกเปลี่ยนตัวทำละลายโดยที่ในระหว่างนี้ตัวทำละลายอินทรีย์จะละลายตัวออกมาในน้ำและน้ำบางส่วนจะเข้าไปแทนที่ ทำให้ความเข้มข้นของสารละลายโพลีเมอร์มีความเข้มข้นสูงขึ้นจนกระทั่งเกิดเป็นเจลก่อนที่จะมีการตกตะกอนขึ้นกลายเป็นแผ่นบาง ๆ ทั้งนี้เนื่องจากการเปลี่ยนสถานะ (phase) จากสารละลายโพลีเมอร์ (dope หรือ casting dope) ซึ่งเป็นของเหลวชั้นหนืดไปเป็นเยื่อแผ่นซึ่งมีลักษณะเป็นของแข็ง จึงเรียกรวมวิธีการผลิตเยื่อแผ่นนี้อีกชื่อหนึ่งว่าวิธีเปลี่ยนสถานะ (phase inversion technique) เยื่อแผ่นที่ผลิตขึ้นมาโดยวิธีนี้จะมีความหนาประมาณ 100-200  $\mu\text{m}$  โดยที่โครงสร้างของชั้นผิวที่เกิดขึ้นจะมีโครงสร้างที่แน่นและมีความหนาประมาณ 0.1-1.0  $\mu\text{m}$  เท่านั้น

### 1.6.3 เยื่อแผ่นเชิงประกอบ (composite membrane)

เยื่อแผ่นเชิงประกอบสามารถผลิตขึ้นได้โดยที่ชั้นผิวและชั้นล่างเป็นวัสดุคนละชนิดกัน โดยที่ชั้นล่างจะทำหน้าที่รองรับชั้นผิวซึ่งจะมีความบางมาก (อาจจะบางถึง 0.1  $\mu\text{m}$ ) และให้ความแข็งแรงกับเยื่อแผ่น ซึ่งจุดประสงค์หลักของการผลิตเยื่อแผ่นเชิงประกอบนี้คือการเพิ่มค่าฟลักซ์ ของเพอร์มิเอท โดยที่มีหลายเทคนิคที่ใช้ในการผลิตเยื่อแผ่นเชิงประกอบเช่น interfacial polymerization, plasma polymerization และ solution coating (Mulder, 1991) โดยที่รายละเอียดต่าง ๆ ของสองกระบวนการแรกจะขอไม่พูดถึงเนื่องจากกรรมวิธียุ่งยากในการผลิตและใช้อุปกรณ์ซับซ้อน ในห้องปฏิบัติการส่วนใหญ่จะใช้วิธี solution casting ในการผลิตเยื่อแผ่นเชิงประกอบ โดยที่แผ่นล่างซึ่งทำหน้าที่เป็นแผ่นรองรับ (supportive layer) จะถูกผลิตขึ้นมาก่อนโดยวิธีการเปลี่ยนสถานะดังที่ได้กล่าวมาแล้วในหัวข้อ 1.6.2 จากนั้นชั้นผิว (selective layer) ซึ่งเป็นสารละลายโพลีเมอร์ (อาจจะชนิดเดียวกันกับ solution casting ก็ได้) จะถูกนำมาเทเคลือบลงบนแผ่นรองดังกล่าวก็จะได้เยื่อแผ่นเชิงประกอบเพื่อนำไปทดสอบต่อไป ภาพ 8 แสดงภาพจำลองโครงสร้างของเยื่อแผ่นเชิงประกอบที่ชั้นรองรับเป็นเยื่อแผ่นไม่สมมาตรและถูกผลิตขึ้นจากเทคนิค immersion precipitation



ภาพ 8: รูปวาดภาคตัดขวางจำลองโครงสร้างของเยื่อแผ่นเชิงประกอบ

## 1.7 การจำแนกชนิดของเยื่อแผ่น

เยื่อแผ่นสามารถจำแนกได้โดยอาศัยสมบัติทางกายภาพและเคมีเช่น ลักษณะความเป็นรูพรุน สัมประสิทธิ์ความชอบน้ำ/ไม่ชอบน้ำ และแรงขับเคลื่อน (driving forces) เป็นต้น

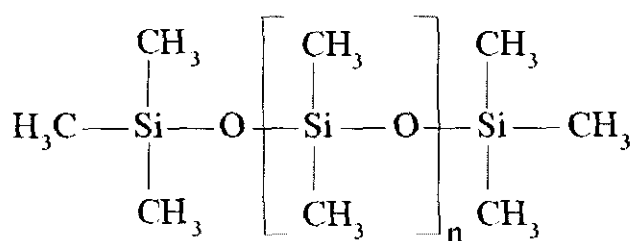
### 1.7.1 จำแนกตามลักษณะของความเป็นรูพรุน (porosity)

ความเป็นรูพรุนของเยื่อแผ่นสามารถแบ่งได้เป็นสองลักษณะใหญ่ ๆ คือเยื่อแผ่นแบบแน่น (dense membrane) และเยื่อแผ่นชนิดที่มีรูพรุนชัดเจน (porous membrane) ซึ่งสามารถจำแนกย่อยออกได้อีกตามขนาดมวลโมเลกุลของสารที่ถูกกักกัน (molecular weight cut-off) เช่นเยื่อแผ่นอัลตราฟิลเตรชัน (ultrafiltration) จะมีขนาดของรูพรุนประมาณ 0.02-0.2  $\mu\text{m}$  และสามารถแยกสาร โมเลกุลใหญ่เช่น โปรตีน เอ็นไซม์และแป้งออกจากน้ำได้ซึ่งจะมีขนาดของโมเลกุลอยู่ในช่วง 500-300,000 ดาลตัน ส่วนเยื่อแผ่นไมโครฟิลเตรชัน (microfiltration) จะมีขนาดของรูพรุนเฉลี่ยอยู่ที่ 0.1-10  $\mu\text{m}$  และเป็นกระบวนการหลักที่ใช้ในการแยกเซลล์จุลินทรีย์ออกจากน้ำหมัก แต่อย่างไรก็ตามเยื่อแผ่นบางชนิดไม่สามารถจำแนกได้อย่างชัดเจนว่าเป็นเยื่อแผ่นแบบใดเนื่องจากขนาดของรูพรุนมีขนาดเล็กมากจนไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์แต่สามารถใช้แยกสารที่มีขนาดโมเลกุลอยู่ในช่วง 200-1,000 ดาลตันได้ สำหรับการแยกสารที่มีขนาดของโมเลกุลเล็กกว่า 200 ดาลตัน จำเป็นต้องใช้เยื่อแผ่นแบบแน่นหรือเยื่อแผ่นไม่มีรูพรุน

การบ่งบอกคุณลักษณะของเยื่อแผ่นรูพรุนสามารถใช้สองวิธีคือวิธีที่เกี่ยวข้องกับ โครงสร้าง (structure-related) และวิธีที่เกี่ยวข้องกับลักษณะของการซึมผ่าน (permeation-related) โดยที่วิธีแรกจะใช้บ่งบอกคุณลักษณะรูพรุนของเยื่อแผ่น ในด้านขนาดของรูพรุน ขนาดของรูพรุนเฉลี่ยและความหนาของชั้นผิว ในขณะที่วิธีหลังจะบ่งบอกในด้านประสิทธิภาพของการแยก เช่น ปริมาณของสารละลายที่ผ่านเยื่อแผ่นได้ (permeate flux) และมวลโมเลกุลของสารที่ถูกกักกัน เนื่องจากในโครงการนี้มีผลิตภัณฑ์ที่ต้องการแยกคือเอทานอลซึ่งมีมวลโมเลกุลเท่ากับ 46 จึงจำเป็นต้องใช้กระบวนการแยกโดยใช้เยื่อแผ่นแบบแน่น ดังนั้นจึงไม่ขอกล่าวถึงรายละเอียดในการศึกษาและบ่งบอกคุณลักษณะของเยื่อแผ่นรูพรุน แต่รายละเอียดของเรื่องดังกล่าวสามารถอ่านได้จากหนังสืออ้างอิงเกี่ยวกับเยื่อแผ่นทั่วไป (จิระรัตนานนท์, ๒๕๔๓)

ส่วนเยื่อแผ่นแบบแน่นนั้นจะไม่มีโครงสร้างที่เป็นรูพรุนภายในแต่จะประกอบด้วยโพลีเมอร์ที่รวมเป็นเนื้อเดียวกัน (Ho and Sirka, 1992) ดังนั้นกระบวนการแยกสารเคมีจะเกิดขึ้นโดยการดูดซับ (adsorption) ที่ผิวของเยื่อแผ่นก่อนที่จะเกิดการแพร่ (diffusion) ภายในโพลีเมอร์เนื่องจากมีความต่างกันของความเข้มข้นหรือความดัน (concentration or pressure gradient) ซึ่งเมื่อพิจารณาถึงสมบัติทางกายภาพและเคมีของสารอินทรีย์ขนาดเล็ก (มวลโมเลกุล ไม่เกิน 700 ดาลตัน) แล้วจะพบว่าเยื่อแผ่น

แบบแน่นนี้จะมีความเหมาะสมมากในการแยกสารดังกล่าว การศึกษาการใช้เยื่อแผ่นแบบแน่นในการแยกสารอินทรีย์ได้มีการศึกษามานานเกือบ 100 ปีแล้วโดยศึกษาการแยกของผสมของ toluene/albumin ผ่านแผ่นยางสังเคราะห์ (Kober, 1917) จากนั้นได้มีการประยุกต์ใช้เยื่อแผ่นแบบแน่นดังกล่าวในหลายระบบเช่นการแยกก๊าซ เพอร์เวปเปอร์เรชั่นและเพอร์สแทรกชั่น เป็นต้น ภาพ 9 แสดงโครงสร้างทางเคมีของโพลิเมอร์ที่นิยมใช้กันอย่างมากที่สุดชนิดหนึ่งในการผลิตเยื่อแผ่นแบบแน่น Polydimethyl siloxane (PDMS) หรือ ยางซิลิโคน สาเหตุหลักในการใช้ยางซิลิโคนอย่างแพร่หลายคือ แสดงสมบัติที่ไม่ชอบน้ำ แต่จะยอมให้สารอินทรีย์ผ่านในอัตราสูง และมีราคาถูก หาซื้อได้ง่าย



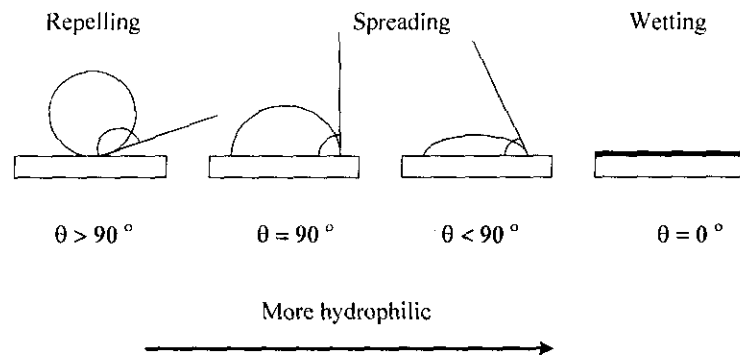
ภาพ 9: โครงสร้างทางเคมีของยางซิลิโคนชนิด polydimethyl siloxane (PDMS)

### 1.7.2 จำแนกตามความชอบน้ำ/ไม่ชอบน้ำ (hydrophilic/hydrophobic)

การจำแนกตามลักษณะนี้จะใช้สมบัติทางเคมีของวัสดุที่นำมาใช้ผลิตเยื่อแผ่นมาเป็นตัวจำแนก โดยที่เยื่อแผ่นเมื่อนำมาสัมผัสกับน้ำแล้วจะเกิดการผลัก (repulsive) หรือดึงดูด (attractive) ก็ได้ตามสมบัติทางเคมีของเยื่อแผ่น เยื่อแผ่นที่ชอบน้ำนั้นจะผลิตมาจากสารเคมีชนิดที่มีขั้วหรือมีหมู่ไฮดรอกซิลในสายโซ่โพลิเมอร์สูง เช่น สารประกอบจำพวกเซลลูโลสและสายโซ่โพลิเอไมด์ (aliphatic polyamide) ในอดีตถึงแม้ว่าจะมีการผลิตเยื่อแผ่นชนิดชอบน้ำ (hydrophilic membranes) ออกมามากมายแต่เยื่อแผ่นชนิดนี้จะมีข้อจำกัดทางด้านความทนทานต่อสารเคมี ความเป็นกรด-ด่างและอุณหภูมิ ซึ่งในปัจจุบันได้มีการพัฒนาปรับปรุงโครงสร้างโดยการเติมสารเคมีบางชนิดลงไปทำให้มีความต้านทานต่อสภาวะแวดล้อมดังกล่าวได้ดียิ่งขึ้น สำหรับเยื่อแผ่นชนิดไม่ชอบน้ำ (hydrophobic membranes) นั้นจะถูกผลิตขึ้นจากโพลิเมอร์ชนิดที่ไม่ชอบน้ำ ยกตัวอย่างเช่น PDMS เป็นต้น

การวัดคุณสมบัติดังกล่าวนี้สามารถทำได้โดยการวัดมุมสัมผัสในระบบ 3 สถานะของน้ำ-เยื่อแผ่น-อากาศ โดยที่จะทำการหยดน้ำลงบนเยื่อแผ่นจากนั้นจะทำการวัดมุมสัมผัสที่เกิดขึ้นระหว่างน้ำและเยื่อแผ่นดังแสดงในภาพ 10 สำหรับเยื่อแผ่นชนิดชอบน้ำจะทำมุมน้อยกว่า 90 องศา ส่วนเยื่อแผ่นชนิดที่ไม่ชอบน้ำจะมีมุมสัมผัสมากกว่า





ภาพ 10: การวัดมุมสัมผัสของน้ำและเยื่อแผ่นเพื่อบ่งบอกความชอบน้ำ/ไม่ชอบน้ำ (Huang, 1991)

### 1.7.3 จำแนกตามแรงขับเคลื่อน (driving forces)

การจำแนกเยื่อแผ่นแบบสุดท้ายจะเป็นการจำแนกโดยใช้แรงขับเคลื่อน (driving force) ที่ใช้ในการทำให้เกิด permeate ผ่านชั้นของเยื่อแผ่น แรงขับเคลื่อนนี้เกิดขึ้นมาจากผลต่างของค่าศักย์ทางเคมีของสารในด้านของ permeate กับในด้านของสารป้อน (feed) ซึ่งค่าศักย์ทางเคมีนั้นจะบ่งบอกถึงพลังงานภายในของสารเคมีนั้นเนื่องมาจากความต่างกันของความดัน อุณหภูมิ ศักย์ทางไฟฟ้าหรือความเข้มข้นที่อยู่ระหว่างด้านทั้งสองของเยื่อแผ่น ค่าอัตราการถ่ายเทมวลจำเพาะหรือฟลักซ์ของสาร  $i$  ( $J_i$ ) จะขึ้นอยู่กับกฎข้อแรกของฟิค ซึ่งว่าด้วยการแพร่ดังสมการ

$$J_i = -D_i \frac{dx_i}{dy} \quad (9)$$

ซึ่งค่า  $dx_i/dy$  หมายถึงค่าศักย์ทางเคมีของสารที่เปลี่ยนไปต่อเยื่อแผ่นที่มีความหนาเท่ากับ  $y$  ส่วน  $D_i$  นั้นจะหมายถึงค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของสาร  $i$  เครื่องหมายลบแสดงถึงทิศทางของการถ่ายเทมวลที่จะเคลื่อนที่จากด้านที่มีศักย์สูงไปยังด้านที่มีศักย์ต่ำกว่าเสมอ

ตาราง 4: การจำแนกเยื่อแผ่นโดยอาศัยแรงขับเคลื่อนเป็นตัวกำหนด (Huang, 1991).

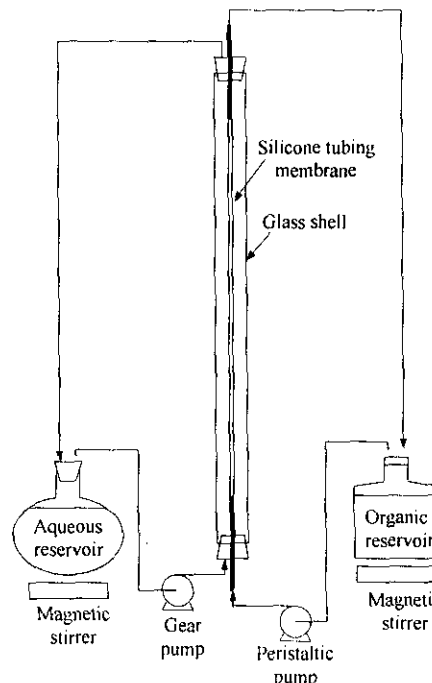
กระบวนการแยกด้วยเยื่อแผ่น	แรงขับเคลื่อน (Driving force)
เพอร์แวกเปอเรชัน (Pervaporation)	ผลต่างความดันไอ (Gradient of vapor pressure)
อัลตราฟิลเตรชัน (Ultrafiltration)	ผลต่างความดัน (Pressure gradient)
การแยกก๊าซ (Gas permeation)	ผลต่างความดัน (Pressure gradient)
ออสโมซิสแบบผันกลับ (Reverse osmosis)	ผลต่างความดัน (Pressure gradient)
ไดอะไลซิส (Dialysis)	ผลต่างความเข้มข้น (Concentration gradient)
เพอร์สแทรกชัน (Perstraction)	ผลต่างความเข้มข้น (Concentration gradient)
อิเล็กโตรไดอะไลซิส (Electrodialysis)	ผลต่างศักย์ไฟฟ้า (Gradient in electrical potential)

ตาราง 4 แสดงถึงการจำแนกชนิดของเยื่อแผ่นออกเป็นกระบวนการต่าง ๆ โดยใช้แรงขับเคลื่อนเป็นตัวกำหนดยกตัวอย่างเช่นกระบวนการเพอร์เวปเพอร์เรชันเป็นการใช้เยื่อแผ่นแบบแน่นในการแยกสารละลายออกจากกัน โดยใช้ผลของความต่างของความดันไอเป็นแรงขับเคลื่อน ด้านหนึ่งของเยื่อแผ่นจะสัมผัสกับสารป้อนซึ่งเป็นสารละลายส่วนอีกด้านหนึ่งของเยื่อแผ่นจะมีการใช้ปั๊มฟลูอิดอากาศหรือก๊าซเฉื่อยทำหน้าที่เป็นตัวพาซึ่งจะทำให้เกิดความดันที่แตกต่างกัน สารเพอมีเอท (ซึ่งประกอบด้วยน้ำและสาร i แต่จะมีความเข้มข้นที่แตกต่างออกไปจากความเข้มข้นในส่วนของสารป้อน) จะระเหยภายในเยื่อแผ่นและหลุดออกจากเยื่อแผ่นในสถานะที่เป็นไอ ซึ่งไอเหล่านี้สามารถทำให้ควบแน่นกลับมาได้โดยวิธีทำความเย็นเช่นใช้ใน โตรเจนเหลวเป็นต้น การประยุกต์ใช้เยื่อแผ่นเพอร์เวปเพอร์เรชัน ส่วนใหญ่จะใช้แยกของผสมระหว่างน้ำ/เอทานอล เพื่อหลีกเลี่ยงการเกิดปัญหาจากการกลั่นซึ่งเป็นผลมาจากการเกิดของผสมอะซีโอโทรป (Jiratananon *et al.*, 2002a; Jiratananon *et al.*, 2002b)

นอกจากนี้แล้ว ผลต่างของความเข้มข้นก็เป็นแรงขับเคลื่อนอีกชนิดหนึ่งที่ใช้ในการจำแนกชนิดของเยื่อแผ่น โดยอาศัยหลักทฤษฎีของการแพร่ของสารซึ่งจะเคลื่อนที่จากแหล่งที่มีความเข้มข้นสูงไปสู่แหล่งที่มีความเข้มข้นต่ำกว่าเสมอ และการถ่ายเทมวลจะหยุดลงเมื่อความเข้มข้นของสารในสองแหล่งนี้เท่ากัน การแพร่นี้เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นได้เอง ทำให้ไม่ต้องการพลังงานจากภายนอกมาขับเคลื่อนการประยุกต์ใช้เยื่อแผ่น โดยใช้ผลต่างของความเข้มข้นเป็นแรงขับเคลื่อนนั้นมีอยู่หลายอย่างด้วยกัน ตัวอย่างแรกที่จะขอกกล่าวในที่นี้คือไตเทียม ซึ่งมีการใช้เยื่อแผ่นไดอะไลซิสทำการแยกยูเรีย กรดยูริก และ ครีเอทีนีน (creatinine) ซึ่งเป็นของเสียจากกระบวนการเมตาบอลิซึมของโปรตีน ในร่างกายคนปกตินั้น สารเหล่านี้จะถูกกำจัดออกทางปัสสาวะโดยหน่วยกรองเล็ก ๆ ที่มีอยู่ภายในไต ถ้าหากไตไม่ทำงานแล้วจะเกิดภาวะเลือดเป็นพิษซึ่งจะเป็นอันตรายต่อผู้ป่วยได้ ในขั้นตอนการฟอกเลือดนั้น เยื่อแผ่นเซลโลเฟนจะถูกใช้ในการสัมผัสกับเลือดผู้ป่วย ส่วนอีกด้านหนึ่งของเยื่อแผ่นจะมีการใช้สารละลายอิเล็กโทรไลต์ ซึ่งได้มีการปรับแรงดันออสโมติกให้เท่ากับในเลือด ทำการสกัดเอาของเสียดังที่ได้กล่าวมาแล้วออกจากเลือด ส่วนอีกอย่างอื่น ๆ โดยเฉพาะโซเดียมและโปแตสเซียมจะไม่ผ่านเยื่อแผ่น เพราะว่าความเข้มข้นของสารดังกล่าวมีค่าเท่ากันทั้งสองด้านของเยื่อแผ่นเป็นผลมาการใช้สารละลายอิเล็กโทรไลต์นั่นเอง (Cussler, 1997)

ส่วนอีกตัวอย่างหนึ่งที่จะกล่าวถึงในที่นี้ คือ ระบบเพอร์สแทรกชัน ซึ่งเป็นการประยุกต์ใช้เยื่อแผ่นแบบแน่นและไม่ชอบน้ำ (dense hydrophobic membranes) ในการแยกสารประเภทไม่ชอบน้ำออกจากสารละลาย โดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์เป็นตัวรับ (receiving agent) ซึ่งระบบนี้ได้มีการพัฒนาจากการสกัดสารโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ (aqueous-organic two phase system) ซึ่งจะพบปัญหาที่สำคัญคือการเกิดอิมัลชัน ทำให้การแยกสถานะในขั้นตอนสุดท้ายมีความยากลำบาก การใช้ระบบ

เพอร์สแทรกชันจะเป็นการใช้เยื่อแผ่นแยกน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ออกจากกันตลอดเวลา แต่เยื่อแผ่นจะทำหน้าที่ในการคัดเลือกว่าสารเคมีที่ต้องการจะแยก ภาพ 11 แสดงการจัดการทดลองการแยกสารประเภทเทอร์ปีน (terpenes) และเทอร์ปีนอยด์ (terpenoids) ออกจากน้ำด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ โดยใช้เยื่อแผ่นซิลิโคนแบบหลอด (silicone tubing membrane) ทำหน้าที่แยกสารประกอบดังกล่าวซึ่งมีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมอาหารและยา ออกจากน้ำ (Boontawan and Stuckey, 2005a) สารประกอบประเภทดังกล่าวนี้เป็นสารที่พบอยู่มากมายตามธรรมชาติและมีหน่วยย่อยที่เล็กที่สุดเป็นสารประเภทไฮโดรคาร์บอน คือ ไอโซพรีน (isoprene unit) มาต่อกัน โดยที่ไอโซพรีนสองหน่วยมาต่อกันจะเรียกว่า โมโนเทอร์ปีน (monoterpene) จะมีคุณสมบัติทางกายภาพคือมีความดันไอสูง ทำให้ระเหยได้ง่าย โดยที่สารโมโนเทอร์ปีนบางชนิดจะมีกลุ่มฟังก์ชันต่าง ๆ มากๆ เช่น ไฮดรอกซิล อัลดีไฮด์ คีโตน และคาร์บอกซิลิก เรียกว่า เทอร์ปีนอยด์ ซึ่งจะทำให้สารเหล่านี้มีกลิ่นที่หอมและเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของน้ำมันหอมระเหยต่าง ๆ เช่น น้ำมันยูคาลิปตัส น้ำมันมะกรูด เป็นต้น (Pybus and Sell, 1999) ส่วนสารประกอบที่มีไอโซพรีน 6 หน่วยมาต่อกันจะเรียกว่าไตรเทอร์ปีน (triterpene) ซึ่งโมเลกุลของสารเหล่านี้จะไม่มีการเคลื่อนที่แต่จะมีความสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตเป็นอย่างมาก เนื่องจากเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์วิตามินที่ละลายในน้ำมัน (A, D, E และ K) คลอเลสเตอรอล และ สเตอรอยด์ต่าง ๆ เนื่องจากสารเทอร์ปีน และ เทอร์ปีนอยด์ เหล่านี้มีไฮโดรคาร์บอนเป็นส่วนประกอบพื้นฐาน จึงทำให้สารเหล่านี้แสดงสมบัติไม่ชอบน้ำ ทำให้สามารถแยกโดยใช้เยื่อแผ่นแบบไม่ชอบน้ำได้ดี



ภาพ 11: รูปวาดจำลองเครื่องถ่ายเทมวลโดยระบบเพอร์สแทรกชัน (Boontawan and Stuckey, 2005a).

## 1.8 การพิจารณาการเลือกใช้ระบบ (system consideration)

สำหรับการพิจารณาที่จะเลือกใช้ระบบใดในการพัฒนากระบวนการหมักเอทานอลนั้น จากการพัฒนาวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องทั้งหมดแล้ว พบว่าการหมักแบบกะหรือกึ่งกะนั้นจะมีข้อจำกัดเป็นอย่างมากเกี่ยวกับการขยับยั้งเชื้อยีสต์จากเอทานอล ทำให้งานวิจัยส่วนใหญ่ในปัจจุบันจะมุ่งเน้นการเพิ่มผลผลิตของเอทานอลโดยการลดความเป็นพิษของผลิตภัณฑ์ลง ซึ่งส่วนใหญ่จะทำโดยการพยายามแยกเอทานอลออกจากระบบในระหว่างที่ระบบกำลังดำเนินไป หรือ ที่เรียกว่า extractive fermentation นั้นเอง งานวิจัยที่เกี่ยวกับการทำ extractive fermentation ของเอทานอลนั้น พบว่าจะมีการใช้หลายเทคนิคเช่น การใช้ก๊าซช่วยในการระเหยเอทานอล (gas stripping) ออกจากน้ำหมัก (Taylor *et al.*, 1995) การใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ช่วยในการแยกเอทานอลออกจากน้ำหมัก (Kollerup and Daugulis, 1986) และการใช้เทคนิคเพอร์เวปเปอร์เรชั่นร่วมกับการหมัก (Giorno and Drioli, 2000) เป็นต้น โดยที่เทคนิคเพอร์เวปเปอร์เรชั่นนั้นได้รับความนิยมเป็นอย่างมากในปัจจุบันเนื่องจากการศึกษาเปรียบเทียบแล้วพบว่าการใช้เยื่อแผ่นจะมีประสิทธิภาพสูงสุด นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาระบบการแยกเอทานอลโดยใช้เยื่อแผ่นอยู่ตลอดเวลา ดังนั้นโครงการวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นในการใช้เยื่อแผ่นสำหรับการแยกเอทานอลออกจากน้ำหมักในระบบ extractive fermentation

ในระบบการแยกเอทานอลโดยใช้ระบบเพอร์เวปเปอร์เรชั่นนั้น จำเป็นต้องใช้เยื่อแผ่นแบบแน่นในการแยกเอทานอลออกเป็นผลสืบเนื่องมาจากขนาดของเอทานอลที่เล็กมาก (มวลโมเลกุล 46) ทำให้ไม่สามารถแยกได้ด้วยการใช้เยื่อแผ่นรูพรุน นอกจากนี้ การพิจารณาถึงการถ่ายเทมวลผ่านเยื่อแผ่นจะต้องคำนึงถึงสมบัติทางเคมีของสารที่ต้องการแยกอีกด้วย ซึ่งปัจจัยสำคัญที่ต้องคำนึงถึงคือการดูดซับของเอทานอลบนพื้นผิวและการแพร่ภายในเยื่อแผ่น (Li *et al.*, 2000) เนื่องจากกระบวนการเพอร์เวปเปอร์เรชั่นได้มีการใช้สุญญากาศในการทำให้เกิดผลต่างของความดันระหว่างทั้งสองด้านของเยื่อแผ่น การแยกจะเกิดขึ้นเนื่องจากความสามารถในการแพร่ผ่านเยื่อแผ่นในอัตราที่แตกต่างกันระหว่างเอทานอลและน้ำ ในทางปฏิบัติ เยื่อแผ่นควรจะมีคุณสมบัติในการคัดเลือกผ่าน ได้ดี โดยเฉพาะการยอมให้เอทานอลผ่านได้ดีและควรที่จะมีความต้านทานน้ำสูง นอกจากนี้ความหนาของเยื่อแผ่นจะมีผลต่ออัตราการแพร่ผ่านของเพอมีเอท โดยที่เยื่อแผ่นที่บางจะทำให้มีอัตราการแพร่ผ่านของเอทานอลที่สูงกว่าเยื่อแผ่นที่หนากว่า ซึ่งการใช้เยื่อแผ่นเชิงประกอบที่มีชั้นผิวที่บางจะทำให้ฟลักซ์ของเอทานอลมีค่าสูง (Huang, 1991)

ดังที่ได้กล่าวมาแล้วว่าจุดประสงค์หลักของการแยกเอทานอลในระหว่างการหมัก คือการเพิ่มผลผลิตของเอทานอลให้มากขึ้น ซึ่งจะเป็นการนำไปสู่การลดขนาดของถังหมักลง การหมักเอทานอลควบคู่ไปกับกระบวนการเพอร์เวปเปอร์เรชั่นอาจจะมีข้อดีในด้านของความไม่สลับซับซ้อนของระบบ

การลดความเป็นพิษของเอทานอลต่อเชื้อยีสต์ และการเก็บเกี่ยวเอทานอลที่มีความเข้มข้นในด้านเพอมีเอทซึ่งจะเป็นการลดขนาดของหมักและความต้องการพลังงานในการกลั่นลง (Groot *et al.*, 1992; O'Brien *et al.*, 2000; O'Brien *et al.*, 2004) แต่อย่างไรก็ตามกระบวนการเพอร์เวปเพอร์เรชันนี้ก็มีข้อจำกัดหลายด้าน เช่น ความต้องการอุปกรณ์สำหรับการทำความเย็นเพื่อทำการควบแน่นเพอมีเอทและมีความต้องการพลังงานสูง (Taylor *et al.*, 1995) อีกทั้งเอทานอลที่เก็บเกี่ยวได้ยังคงเกิดเป็นของผสมอะซีโอโทรปอีกด้วย การทำการวิเคราะห์และประเมินความเป็นไปได้ในการผลิตเอทานอลโดยการควบแน่นและการหมักและเพอร์เวปเพอร์เรชันนี้ เป็นสิ่งสำคัญที่จะต้องพิจารณา

ได้มีงานวิจัยการใช้ระบบเพอร์สแทรกชันควบคู่ไปกับกระบวนการผลิตสาร isonovalal ซึ่งเป็นสารประเภทเทอร์ปีนอยด์จากสารตั้งต้นคือ  $\alpha$ -pinene oxide โดยใช้เชื้อ *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 11671 (Boontawan and Stuckey, 2005b) พบว่าได้ผลเป็นที่น่าพอใจ โดยที่ความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์สูงสุดในตัวทำละลายอินทรีย์ (hexadecane) อยู่ที่ 108 กรัมต่อลิตร ในขณะที่การผลิตในระบบกึ่งกะจะได้อัตราผลผลิตที่มีความเข้มข้นสูงสุดอยู่ที่ประมาณ 25 กรัมต่อลิตร เท่านั้น ข้อได้เปรียบอีกอย่างหนึ่งของระบบเพอร์สแทรกชันที่มีต่อระบบเพอร์เวปเพอร์เรชันคือ มีการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ซึ่งเป็นสารประเภทไฮโดรคาร์บอนเป็นตัวเพิ่มความต่างของความเข้มข้น (isonovalal จะละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์แต่ละละลายได้น้อยในน้ำ) อีกทั้งน้ำจะไม่สามารถซึมผ่านเยื่อแผ่นเข้าไปในด้านของเพอมีเอท ทำให้ตัวทำละลายอินทรีย์จะมีเฉพาะผลิตภัณฑ์เท่านั้นและจะไม่มีน้ำปนอยู่ ทำให้ง่ายต่อการกลั่นให้บริสุทธิ์ซึ่งเป็นขั้นตอนต่อไป

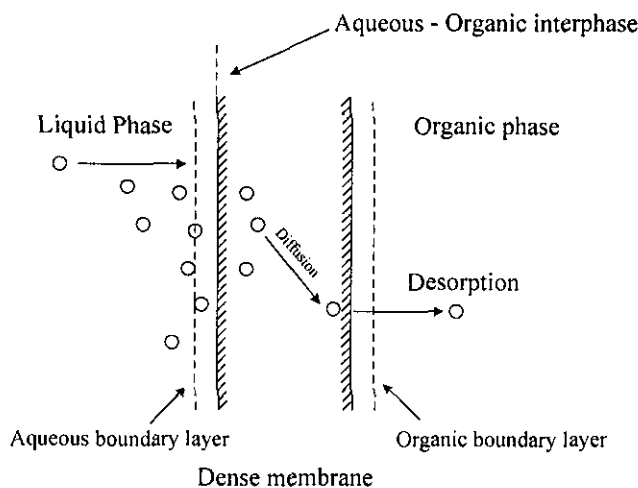
จากการเปรียบเทียบระบบการแยกทั้งสองระบบแล้ว (pervaporation และ perstraction) ทำให้ได้ข้อสรุปว่าในโครงการวิจัยนี้ จะมุ่งเน้นในการทำการแยกเอทานอลออกจากระบบโดยใช้ระบบเพอร์สแทรกชันควบคู่ไปกับระบบการหมักแบบกึ่งกะ เพื่อจุดประสงค์หลักคือ ข้อแรก ทำการแยกเอทานอลที่เกิดจากกระบวนการหมักออกจากระบบโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ ทำให้สามารถลดความเป็นพิษของเอทานอลที่มีต่อเชื้อยีสต์ลง ซึ่งคาดว่าจะได้ผลผลิตที่เพิ่มมากขึ้น ข้อที่สอง การใช้เยื่อแผ่นแบบแน่นในระบบนี้ จะป้องกันอิมัลชันที่อาจจะเกิดขึ้นได้หากใช้ระบบการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ (aqueous-organic two phase system) โดยหากเกิดอิมัลชันที่เสถียรแล้วจะทำให้การแยกสถานะ (phase) ระหว่างน้ำหมักและตัวทำละลายอินทรีย์ทำได้ลำบาก ทำให้ไม่สามารถพัฒนาการผลิตได้อย่างต่อเนื่อง นอกจากนี้แล้ว ในด้านเพอมีเอทของระบบเพอร์สแทรกชันนี้จะได้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นตัวทำละลายอินทรีย์กับเอทานอลเท่านั้น อีกทั้งยังปราศจากสารปนเปื้อนอื่น ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำซึ่งเป็นตัวการสำคัญในการทำให้เกิดของผสมอะซีโอโทรป อย่างไรก็ตามการเลือกใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมจะมีความสำคัญต่อการพัฒนาระบบมาก ซึ่งตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้นั้นควรที่จะมีค่าสัมประสิทธิ์การ

กระจายตัวของเอทานอลระหว่างน้ำ/ตัวทำละลายอินทรีย์ (organic-aqueous partition coefficient,  $P_{aq}^{org}$ ) ที่สูง อีกทั้งกรรมไม่ชอบน้ำ ไม่เป็นพิษต่อเซลล์จุลินทรีย์ และ ที่สำคัญคือ ไม่แพงจนเกินไป จากการ ทบทวนวรรณกรรมแล้วพบว่า 1-เดคานอล เป็นตัวทำละลายที่เหมาะสม (Mattiasson and Holst, 1991) และจะนำมาใช้เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ในโครงการวิจัยนี้

### 1.9 พฤติกรรมการถ่ายเทมวลในเยื่อแผ่นของระบบเพอร์สแทรกซ์

จากการที่ได้กล่าวไว้ก่อนหน้านี้แล้วว่า การถ่ายเทมวลในระบบเพอร์สแทรกซ์จะเกิดขึ้นผ่านเยื่อ แผ่น (ในที่นี้จะพิจารณาเยื่อแผ่นแบบแน่นเท่านั้น) โดยใช้ความต่างของความเข้มข้นเป็นแรงขับเคลื่อน (driving force) และสามารถที่จะอธิบายได้โดยใช้กลไกการละลาย-การแพร่ (solution-diffusion model) ซึ่งจะมีขั้นตอนต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องอยู่ 3 ขั้นตอนคือ

1. การละลายหรือการดูดซับที่ผิวของเยื่อแผ่น (adsorption)
2. การแพร่ผ่านเยื่อแผ่น (diffusion) และ
3. การคายออกจากเยื่อแผ่น (desorption) (Wijmans and Baker, 1995)



ภาพ 12: การถ่ายเทมวลของสารอินทรีย์ผ่านเยื่อแผ่นด้วยกลไกการละลาย-การแพร่ (solution-diffusion)

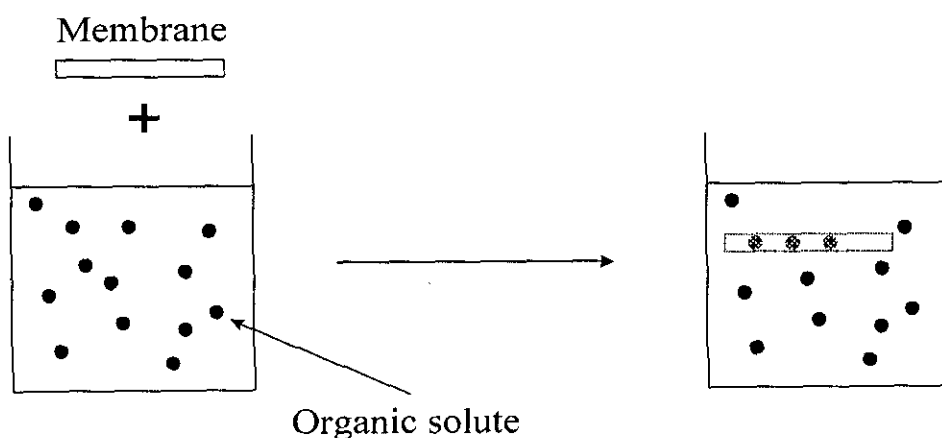
ภาพ 12 แสดงถึงพฤติกรรมการถ่ายเทมวลของสารอินทรีย์ผ่านเยื่อแผ่นในระบบเพอร์สแทรกซ์ โดยในขั้นตอนแรกของระบบเพอร์สแทรกซ์นั้น จะเป็นการดูดซับของตัวทำละลายอินทรีย์ในเยื่อแผ่น เนื่องจากโครงสร้างทางเคมีของเยื่อแผ่นเป็นสารประเภทไม่ชอบน้ำ จึงมีความสามารถในการดูดซับตัว ทำละลายอินทรีย์ได้ดี การดูดซับของสารอินทรีย์เข้าไปในเยื่อแผ่นไม่ชอบน้ำนี้จะเกิดเนื่องมาจาก ปฏิกริยาที่เรียกว่า hydrophobic interaction ซึ่งเป็นแรงกระทำระหว่าง โมเลกุลไม่มีขั้วเช่น แรง แวนเดอร์

วาลส์ เป็นต้น ตัวทำละลายอินทรีย์จะละลายตัวทั้งเยื่อแผ่นและจะเกิดผิวสัมผัสกับน้ำ (aqueous-organic interface) ในด้านของน้ำ จากที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้นว่า โครงสร้างภายในระดับ โมเลกุลของเยื่อแผ่นจะเป็นสายโซ่ของโพลิเมอร์ที่มีการเคลื่อนที่อยู่ตลอดเวลา (thermal motion) (Bitter, 1991) แรงกระทำระหว่างโมเลกุลของตัวทำละลายอินทรีย์และโพลิเมอร์จะทำให้คุณสมบัติทางกายภาพของเยื่อแผ่นเปลี่ยนแปลงไป กล่าวคือ จะเกิดการพองตัวของเยื่อแผ่น (swelling) ซึ่งจะมีผลสืบเนื่องทำให้ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของสารอินทรีย์ในเยื่อแผ่นเปลี่ยนไปด้วย

ในขั้นตอนต่อมา จะเป็นการดูดซับสารอินทรีย์ของเยื่อแผ่นจากน้ำ (adsorption) ซึ่งเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญในการพิจารณาถึงความเป็นไปได้ในการเลือกใช้เยื่อแผ่นหนึ่ง ๆ สำหรับระบบเพอร์สเตรกชั่น โดยเป็นการบ่งบอกถึงความสามารถในการละลายของสารที่ต้องการแยกใน โพลิเมอร์ และสามารถบ่งบอกได้ในรูปของค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวของสารอินทรีย์ระหว่าง เยื่อแผ่น/น้ำ (membrane-aqueous partition coefficient,  $P_{aq}^{mem}$ ) ซึ่งค่า  $P_{aq}^{mem}$  เป็นค่าเฉพาะของระบบหนึ่ง ๆ ระหว่างสารอินทรีย์และเยื่อแผ่น โดยที่แบบจำลองของพฤติกรรมดูดซับของสารอินทรีย์ในเยื่อแผ่นสามารถแสดงได้ในภาพ 13 จากภาพจะเห็นได้ว่าเมื่อนำชิ้นส่วนของเยื่อแผ่นมาจุ่มในสารละลายของสารอินทรีย์ จะพบว่าจะเกิดการดูดซับหรือการละลายของสารอินทรีย์ในเยื่อแผ่น เมื่อระบบเข้าสู่สมดุลจะพบว่าความเข้มข้นของสารละลายสารอินทรีย์จะลดลง เนื่องจากมีสารอินทรีย์บางส่วนถูกดูดซับในเยื่อแผ่น ดังนั้นค่า  $P_{aq}^{mem}$  สามารถค่าได้จากสัดส่วนของความเข้มข้นของสารอินทรีย์ในเยื่อแผ่น ( $C_{mem}$ ) ต่อความเข้มข้นในน้ำ ( $C_{aq}$ ) ดังสมการ

$$P_{aq}^{mem} = \frac{C_{mem}}{C_{aq}}$$

10



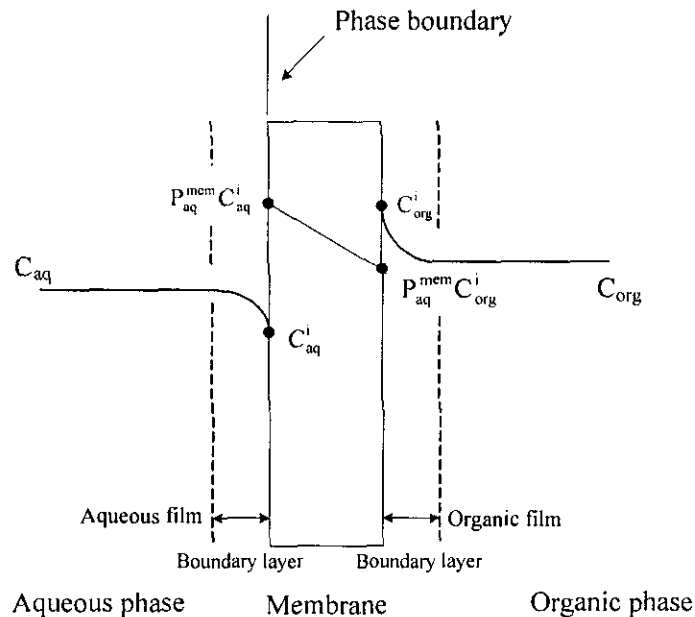
ภาพ 13: แสดงพฤติกรรมดูดซับของสารอินทรีย์ในเยื่อแผ่น (Huang, 1991)

ขั้นตอนต่อไปที่สำคัญในระบบเพอร์สแทรกซ์คือการแพร่ (diffusion) และการหลุดออก (desorption) หลังจากที่สารอินทรีย์ได้ถูกดูดซับที่ผิวของเยื่อแผ่นแล้ว (ดู ภาพ 12 ประกอบ) ความเข้มข้นของสารอินทรีย์ที่ผิวเยื่อแผ่นในด้านที่สัมผัสกับน้ำจะสูงขึ้นจน และจะเกิดการแพร่ของสารอินทรีย์ภายในเยื่อแผ่น เนื่องมาจากเกิดความต่างของความเข้มข้นระหว่างผิวของเยื่อแผ่นในด้านน้ำ และในด้านที่สัมผัสกับตัวทำละลายอินทรีย์ ส่วนในขั้นตอนสุดท้าย สารอินทรีย์จะคายออกจากเยื่อแผ่น (desorption) ไปสู่ตัวทำละลายอินทรีย์ เนื่องจากความเข้มข้นของสารในตัวทำละลายอินทรีย์มีค่าต่ำกว่าในเยื่อแผ่นนั่นเอง

### 1.9.1 การวิเคราะห์การถ่ายมวลในระบบเพอร์สแทรกซ์

ภาพ 14 แสดงรูปโครงสร้าง (profile) ความเข้มข้นของสารในด้านสารป้อน ในเยื่อแผ่น และในด้านเพอมีเอท (organic solvent) ในระบบเพอร์สแทรกซ์ ซึ่งการถ่ายเทมวลจากด้านสารป้อนไปยังด้านเพอมีเอทจะมีขั้นตอนดังนี้

1. การถ่ายเทมวลจากส่วนของน้ำผ่านชั้นขอบเขต (aqueous boundary layer) ไปยังผิวเยื่อแผ่น
2. การละลายหรือดูดซับของสารอินทรีย์ที่ผิวของเยื่อแผ่น (adsorption)
3. การแพร่ผ่านเยื่อแผ่น (diffusion)
4. การคายออก (desorption) ผ่านชั้นขอบเขตของตัวทำละลายอินทรีย์ (organic boundary layer)



ภาพ 14: รูปจำลองแสดงความเข้มข้นของสารอินทรีย์ระหว่างน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ในระบบเพอร์สแทรกซ์ (ดัดแปลงจาก (Doig *et al.*, 1999)).



อัตราการถ่ายเทมวลโดยรวมผ่านเยื่อแผ่นต่อพื้นที่ผิวของเยื่อแผ่นหรือที่เรียกว่า ฟลักซ์ สามารถกำหนดได้โดยกฎข้อแรกของ ฟิค (Fick's first law of diffusion) ซึ่งเป็นกฎที่ว่าด้วยการแพร่ของสาร ดังสมการ

$$-N_i = k_{ov} A \Delta C \quad 11$$

โดยที่  $N_i$  หมายถึงอัตราการถ่ายเทมวลของสาร  $k_{ov}$  หมายถึงค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลโดยรวม  $A$  คือพื้นที่ผิวของการถ่ายเทมวล และ  $\Delta C$  หมายถึงความต่างของความเข้มข้นระหว่างทั้งสองด้านของเยื่อแผ่น ตามลำดับ

ในความเป็นจริงแล้วการถ่ายเทมวลโดยรวมจะเกิดขึ้นเป็นขั้นตอนตามลำดับจากข้อ 1 ถึง 4 และประกอบด้วยค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลผ่านชั้นต่าง ๆ คือสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลในชั้นขอบเขตของน้ำ (aqueous film mass transfer coefficient,  $k_{aq}$ ) สัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลในชั้นของเยื่อแผ่น (membrane phase mass transfer coefficient,  $k_{mem}$ ) และ สัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลในชั้นขอบเขตของตัวทำละลายอินทรีย์ (organic film mass transfer coefficient,  $k_{org}$ ) ตามลำดับ จากทฤษฎีฟิล์ม 2 ด้านของวิทแมน (two-film theory of Whitman) การไหลแบบปั่นป่วน (turbulent) จะสิ้นสุดลงที่ผิวของเยื่อแผ่นทั้งสองด้านทำให้เกิดชั้นขอบเขตในด้านของน้ำ (aqueous boundary layer) และ ตัวทำละลายอินทรีย์ (organic boundary layer) ซึ่งเป็นชั้นของเหลวที่ไม่มีการเคลื่อนที่ (stagnant film) ทำให้การถ่ายเทมวลภายในชั้นขอบเขตนี้จะเกิดขึ้น โดยการแพร่เท่านั้น ส่วนการถ่ายเทมวลนอกชั้นขอบเขต (แสดงโดยเส้นประ) จะเกิดขึ้นจากการแพร่และการพา (convective flow) ด้วย ซึ่งการถ่ายเทมวลโดยการพานี้ จะเกิดขึ้นเนื่องจากการเกิดน้ำวนหรือที่เรียกว่า eddies และมีความสามารถในการถ่ายเทมวลมากกว่าการแพร่เป็นอย่างมาก (Cussler, 1997) ภายใต้สภาวะที่สมดุล ความเข้มข้นของสารอินทรีย์ในสถานะทั้งสาม (น้ำ เยื่อแผ่น และ ตัวทำละลายอินทรีย์) สามารถแสดงได้ดังนี้

$$\text{สัมประสิทธิ์การกระจายตัวระหว่างน้ำ/ตัวทำละลายอินทรีย์} \left( P_{aq}^{org} = \frac{C_{org}}{C_{aq}} \right)$$

$$\text{สัมประสิทธิ์การกระจายตัวระหว่างเยื่อแผ่น/น้ำ} \left( p_{aq}^{mem} = \frac{C_{mem}}{C_{aq}} \right) \text{ และ}$$

$$\text{สัมประสิทธิ์การกระจายตัวระหว่างเยื่อแผ่น/ตัวทำละลายอินทรีย์} \left( p_{org}^{mem} = \frac{C_{mem}}{C_{org}} \right)$$

ในระบบเพอร์สแทรกชัน ค่าฟลักซ์ของสารอินทรีย์ที่ผ่านเยื่อแผ่นจะมีค่าเท่ากับค่าฟลักซ์จากด้านของน้ำ ( $C_{aq}$ ) ไปยังด้านตัวทำละลายอินทรีย์ ( $C_{org}$ ) ซึ่งจะมีค่าเท่ากับค่าฟลักซ์ที่แพร่ผ่านชั้นขอบเขตของ

น้ำ ( $J_{aq}^i$ ) แพร่ผ่านชั้นของเยื่อแผ่น ( $J_{mem}^i$ ) และแพร่ผ่านชั้นขอบเขตของตัวทำละลายอินทรีย์จากการคายออก ( $J_{org}^i$ ) ซึ่งค่าฟลักซ์ต่าง ๆ สามารถแสดงเป็นสมการทางคณิตศาสตร์ได้ดังนี้

$$-J_{aq}^i = k_{aq} (C_{aq} - C_{aq}^i) \quad 12$$

$$-J_{mem}^i = k_{mem} (P_{aq}^{mem} C_{aq}^i - C_{org}^i) \quad 13$$

$$-J_{org}^i = k_{org} (C_{org}^i - C_{org}) \quad 14$$

ในสถานะคงตัว (steady state) จะพบว่าค่าฟลักซ์ของมวลโดยรวมจะมีค่าเท่ากับค่าฟลักซ์ที่ผ่านชั้นขอบเขตของน้ำ ชั้นเยื่อแผ่น และ ชั้นขอบเขตของตัวทำละลายอินทรีย์ตามลำดับดังนี้

$$J_{aq}^i = J_{mem}^i = J_{org}^i = J_i \quad 15$$

ดังนั้นเราสามารถรวมสมการ 12 13 และ 14 เพื่อทำการกำจัดพจน์ที่อยู่ระหว่างกลาง ซึ่งเป็นความเข้มข้นของสาร ณ จุดสัมผัส (interfacial concentration) ได้ดังสมการ

$$-J_i \left( \frac{1}{k_{aq}} + \frac{1}{k_{mem} P_{aq}^{org}} + \frac{1}{k_{org} P_{aq}^{org}} \right) = C_{aq} - \frac{C_{org}}{P_{aq}^{org}} \quad 16$$

โดยสรุปแล้วจะพบว่า ค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลโดยรวม ( $k_{ov}$ ) นั้นจะประกอบขึ้นด้วยค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลย่อยต่าง ๆ มารวมกัน โดยที่จะมีการรวมกันในรูปของแบบจำลองอนุกรมความต้านทาน (resistances in-series model) ดังนี้

ความต้านทานรวม = ผลรวมของความต้านทานย่อย

$$R_{total} = R_{aq} + R_{mem} + R_{org}$$

โดยที่  $R_{total}$  คือความต้านทานรวมต่อการถ่ายเทมวล ซึ่งจะมีค่าเท่ากับ  $1/k_{ov}$  และ  $R_{aq}$   $R_{mem}$   $R_{org}$  คือความต้านทานย่อยในชั้นขอบเขตของน้ำ ชั้นเยื่อแผ่น และ ชั้นขอบเขตของตัวทำละลายอินทรีย์ ซึ่งจะมีค่าเท่ากับ  $1/k_{aq}$   $1/k_{mem}$  และ  $1/k_{org}$  ตามลำดับ ดังนั้นค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลโดยรวม ( $k_{ov}$ ) สามารถแสดงเป็นสมการทางคณิตศาสตร์ได้ดังนี้

$$\frac{1}{k_{ov}} = \frac{1}{k_{aq}} + \frac{1}{k_{mem} P_{aq}^{org}} + \frac{1}{k_{org} P_{aq}^{org}} \quad 17$$

สำหรับค่าความสามารถในการแพร่ผ่านของสารอินทรีย์ที่มีต่อชั้นเยื่อแผ่น (permeability) นั้น จะถูกกำหนดด้วยตัวแปรย่อยต่าง ๆ คือ ความหนาของเยื่อแผ่น ( $\delta$ ) ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของสารอินทรีย์ในชั้นเยื่อแผ่น ( $D_{mem}$ ) และ สัมประสิทธิ์การกระจายตัวระหว่างเยื่อแผ่น/น้ำ ( $P_{aq}^{mem}$ ) ดังนั้น สมการ 17 สามารถจัดรูปใหม่ได้เป็น

$$\frac{1}{k_{ov}} = \frac{1}{k_{aq}} + \frac{\delta}{D_{mem} P_{aq}^{mem} P_{aq}^{org}} + \frac{1}{k_{org} P_{aq}^{org}} \quad 18$$

ในการที่จะเพิ่มค่า  $k_{ov}$  นั้น จำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาถึงตัวแปรของทั้งสามสถานะ โดยที่ค่า  $k_{aq}$  และค่า  $k_{org}$  นั้นจะถูกควบคุมโดยความหนาของชั้นขอบเขตและค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของสารอินทรีย์ในชั้นขอบเขตนั้น ๆ ซึ่งการเพิ่มหรือลดค่า  $k_{aq}$  และ  $k_{org}$  ดังกล่าวสามารถทำได้โดยควบคุมสภาวะการไหลผ่านชั้นเยื่อแผ่น (hydrodynamic control) การเพิ่มความเร็วของของเหลว จะมีผลทำให้ความหนาของชั้นขอบเขตมีค่าลดลง เป็นการเพิ่มค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลผ่านชั้นขอบเขตเหล่านี้ อย่างไรก็ตาม ค่าสัมประสิทธิ์ของการแพร่ของสารอินทรีย์ในตัวทำละลายอินทรีย์มักจะมีค่าที่สูง ทำให้  $k_{org}$  มีค่าสูงตามไปด้วย ดังนั้นความหนาของชั้นขอบเขตในด้านตัวทำละลายอินทรีย์จึง ไม่มีผลต่อค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลโดยรวม (Doig *et al.*, 1999; Pierre *et al.*, 2001; Boontawan and Stuckey, 2005a) สมการที่ 18 จึงสามารถเขียนใหม่ได้เป็น

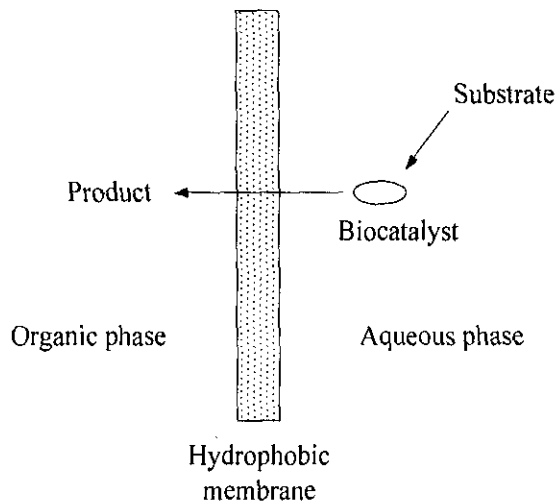
$$\frac{1}{k_{ov}} = \frac{1}{k_{aq}} + \frac{\delta}{D_{mem} P_{aq}^{mem} P_{aq}^{org}} \quad 19$$

โดยสรุปแล้ว การศึกษาการถ่ายเทมวลในระบบเพอร์สแทรกชันนี้ มีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องทำการวิเคราะห์ตัวแปรต่าง ๆ ที่มีผลต่อความสามารถในการแพร่ผ่านของสารอินทรีย์ กล่าวคือ ศึกษาความหนาของชั้นขอบเขตในด้านของสารป้อน และ ศึกษาตัวแปรที่เกิดจากเยื่อแผ่น เช่น ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของสารอินทรีย์ในชั้นเยื่อแผ่น ( $D_{mem}$ ) ความหนาของเยื่อแผ่น ( $\delta$ ) และ ค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวระหว่างเยื่อแผ่น/น้ำ ( $P_{aq}^{mem}$ ) เป็นต้น ดังนั้นจุดประสงค์หลักของการวิเคราะห์การถ่ายเทมวลก็คือ การลดความต้านทานการถ่ายเทมวลในด้านต่าง ๆ ลง มีผลในการเพิ่มค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลโดยรวมให้มีค่าสูงสุด

### 1.10 ดั่งปฏิกิริยาชีวภาพเมมเบรนด้วยระบบเพอร์สแทรกชัน

การใช้เยื่อแผ่นสังเคราะห์ในการแยกผลิตภัณฑ์ทางชีวภาพออกจากระบบการหมัก ได้มีการนำมาประยุกต์ร่วมกับการหมักในถังหมักเพื่อจุดประสงค์หลักในการเพิ่มผลผลิตให้กับการหมักแบบกะหรือกึ่งกะที่ทำกันอยู่โดยทั่วไป โดยการใช้ดังปฏิกิริยาชีวภาพเมมเบรนนี้จะเป็นการประสานระหว่างการคัดแยกสารผลิตภัณฑ์ออกจากระบบและเพิ่มปฏิกิริยาทางชีวเคมีที่เกิดขึ้น (Giomo and Drioli, 2000) การแยกผลิตภัณฑ์ออกตลอดเวลาจะทำให้ความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ในน้ำหมักต่ำอยู่เสมอ ซึ่งจะมีประโยชน์มากในกรณีที่ผลิตภัณฑ์มีผลในการก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อตัวเร่งปฏิกิริยาทางชีวเคมี (biocatalyst) เช่น เอทานอล เป็นต้น นอกจากนี้แล้ว ผลิตภัณฑ์ที่ถูกแยกจะมีความบริสุทธิ์สูง ทำให้สามารถนำไปเข้ากระบวนการทำให้บริสุทธิ์ในขั้นต่อไปได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Lye and Woodley, 1999)

ภาพ 15 แสดงหลักการการทำงานของการผลิตสารอินทรีย์ด้วยดังปฏิกิริยาชีวภาพเมมเบรนด้วยระบบเพอร์สแทรกชัน สำหรับกระบวนการหมักเอทานอลด้วยกากน้ำตาลโดยใช้ระบบเพอร์สแทรกชันนี้ กากน้ำตาลจะถูกป้อนเข้าสู่ระบบโดยใช้ปั๊ม ก่อนที่จะถูกเชื้อยีสต์เปลี่ยนเป็นเอทานอล ซึ่งเอทานอลที่ถูกผลิตขึ้นในน้ำหมักจะถูกดูดซับที่เยื่อแผ่นและถูกแยกผ่านเยื่อแผ่นออกไปยังด้านตัวทำละลายอินทรีย์ ซึ่งจะประกอบด้วยตัวทำละลายอินทรีย์และเอทานอลเท่านั้น นอกจากนี้แล้วยังมีข้อดีต่าง ๆ ที่คาดว่าจะตามมาคือเพิ่มค่าผลิตผลของเอทานอล ลดความเป็นพิษลง เป็นการหมุนเวียนเซลล์ และทำระบบให้มีความต่อเนื่องมากขึ้น



ภาพ 15: รูปวาดแสดงหลักการทำงานของดังปฏิกิริยาชีวภาพเมมเบรนด้วยระบบเพอร์สแทรกชัน (Boontawan and Stuckey, 2005b)

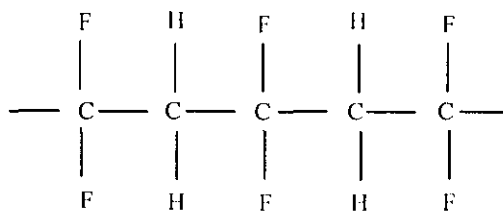
### 1.11 จุดประสงค์ของโครงการวิจัย

1. ทำการผลิตเยื่อแผ่นซีลิกอนที่สามารถแยกเอทานอลออกจากของผสมน้ำ/เอทานอลได้โดยใช้ระบบเพอร์สแทรกซ์
2. ศึกษาถึงตัวแปรต่าง ๆ ที่มีผลต่อค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลโดยรวมของเอทานอล เช่น สภาวะการไหลในด้านของสารป้อน ความหนาของเยื่อแผ่น เป็นต้น
3. ทำการเลี้ยงเชื้อยีสต์ให้ได้ความเข้มข้นของเซลล์ที่สูงและศึกษาจลศาสตร์การหมักโดยใช้กากน้ำตาลอ้อยเป็นแหล่งคาร์บอน
4. ศึกษากระบวนการหมักควบคู่ไปกับการแยกเอทานอลออกจากน้ำหมักโดยใช้ระบบเพอร์สแทรกซ์ และ เปรียบเทียบประสิทธิภาพของระบบดังกล่าวกับการหมักทั้งแบบกะและกึ่งกะ

## บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย

### 2.1 อุปกรณ์และสารเคมี

โพลิเมอร์ชนิด Polyvinylidene fluoride (PVDF) ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท Arkema (ประเทศไทย) จำกัด ส่วนยางซิลิโคนสองชนิดได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท Rhodia (ประเทศไทย) จำกัดและบริษัท Dow coming (Thailand) จำกัด ซิลิโคนที่ได้รับความอนุเคราะห์นี้มีชื่อดีกว่าซิลิโคนทั่วไปคือ จะสามารถเกิดเป็นร่างแหได้ ณ อุณหภูมิห้อง โดยที่ไม่ต้องผ่านการอบด้วยความร้อน ทำให้ประหยัดเวลาและค่าใช้จ่ายในการผลิต ตัวทำละลายอินทรีย์ 1-เดคานอล และ 1-เมทิล-2-ไพโรลิโดน ซึ่งมาจากบริษัท Fluka (สหราชอาณาจักร) กากน้ำตาลและเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งมาจากร้านค้าในท้องถิ่น ส่วนสารเคมีอื่น ๆ เป็นชนิดที่ใช้ในการวิเคราะห์ (reagent grade) ภาพ 16 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ PVDF



ภาพ 16: โครงสร้างทางเคมีของ Polyvinylidene fluoride (PVDF)

### 2.2 การผลิตและวิเคราะห์เยื่อแผ่น

#### 2.2.1 การผลิตเยื่อแผ่นและเยื่อแผ่นเชิงประกอบ

เยื่อแผ่นซิลิโคน PDMS ได้ถูกเตรียมขึ้นโดยใช้เทคนิค solution casting ให้มีความหนาต่าง ๆ กัน (100 และ 300 ไมครอน) โดยทำการชั่งซิลิโคนซึ่งมีลักษณะเป็นของเหลวข้นหนืดสูง ตามน้ำหนักที่ได้คำนวณไว้แล้ว จากนั้นนำมาละลายในเฮกเซน (hexane) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก ก่อนที่จะทำการเติมตัวเร่งปฏิกิริยา (catalyst) ซึ่งเป็นสารประเภท platinum divinyl-tetramethylsiloxane complex และจะหน้าที่ในการทำให้เกิดร่างแห (crosslinker) ระหว่างสายโซ่ของ PDMS (Yeow *et al.*, 2002) จากนั้นสารละลายดังกล่าวจะถูกนำไปเทลงบนแผ่นรองที่เคลือบด้วย Teflon<sup>®</sup> เพื่อช่วยในการลอกให้เป็นแผ่นภายหลังจากที่เฮกเซนระเหยออกไปจนหมดและเกิดเป็นโครงสร้างของเยื่อแผ่นที่ต้องการแล้ว

สำหรับการผลิตเยื่อแผ่นเชิงประกอบ จะเริ่มจากการผลิตเยื่อแผ่นรอง ซึ่งทำจาก polyvinylidene fluoride (PVDF) ก่อนโดยการผสม PVDF ในตัวทำละลายอินทรีย์ N-methyl pyrrolidone (NMP) ในความเข้มข้นร้อยละ 15 โดยน้ำหนักและเติมลิเทียม คลอไรด์ (LiCl) ร้อยละ 4 โดยน้ำหนักของสารละลายเพื่อเป็นตัวปรับปรุงโครงสร้าง (Kong and Li, 2001) จากนั้นทำการคาสท์ (cast) สารละลายดังกล่าวลงบนแผ่นแก้วที่มีความหนาประมาณ 1.5 มิลลิเมตรและใช้กระบวนการเปลี่ยนสถานะแบบแห้ง-เปียก (dry-wet phase inversion method) ในการขึ้นรูปเยื่อแผ่นรองดังกล่าว ในขั้นตอนสุดท้าย สารละลาย PDMS ความเข้มข้นร้อยละ 10 ที่ได้เตรียมไว้ข้างต้นจะถูกนำมาเคลือบบนเยื่อแผ่นรอง PVDF เมื่อเฮกเซนระเหยออกไปจนหมด ก็จะเหลือเป็นชั้นผิวของ PDMS ซึ่งมีความบางมากเคลือบบนเยื่อแผ่นรอง PVDF จากนั้นเยื่อแผ่นที่ผลิตขึ้นจะถูกผลิตขึ้นจะถูกนำมาตัดให้เป็นชิ้นบาง ๆ และนำมาวิเคราะห์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope หรือ SEM) ณ ฝ่ายวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือ อาคารปฏิบัติการ 1 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

### 2.2.2 การพองตัว

เมื่อมีการสัมผัสตัวทำละลายอินทรีย์ เยื่อแผ่นซิลิโคนจะดูดซับสารดังกล่าวไว้และจะเกิดการพองตัวขึ้น เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาร่วมของสารที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic interaction) ทั้งสองชนิดคือ โพลีเมอร์และตัวทำละลายอินทรีย์ ซึ่งดัชนีของการพองตัวนั้นจะขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์ และชนิดของโพลีเมอร์ที่ใช้ โดยดัชนีของการพองตัว ((%) Swelling) สามารถคำนวณได้จากสมการ

$$(\%)Swelling = \frac{V_{mem}^{final} - V_{mem}^{initial}}{V_{mem}^{final}} \times 100(\%) \quad 20$$

โดยที่  $V_{mem}^{initial}$  และ  $V_{mem}^{final}$  จะหมายถึงปริมาตรของเยื่อแผ่นเริ่มต้นและปริมาตรของเยื่อแผ่นหลังการพองตัวสิ้นสุดตามลำดับ ซึ่งดัชนีของการพองตัวนี้จะเกี่ยวเนื่องกับสมบัติทางกายภาพของเยื่อแผ่นซิลิโคนกล่าวคือความสามารถในการดูดซับของสารอินทรีย์จะเปลี่ยนไป

### 2.2.3 การศึกษาค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวระหว่างเยื่อแผ่น/น้ำ

นำเยื่อแผ่นซิลิโคนทั้งที่ไม่ได้แช่และถูกแช่ให้อิ่มตัวในตัวทำละลายอินทรีย์ (1-decanol) มาตัดให้มีมวลต่าง ๆ กัน จากนั้นนำเยื่อแผ่นเหล่านี้มาใส่ไว้ในหลอดแก้วขนาด 25 มิลลิลิตรที่เรียงกัน นำสารละลายเอทานอลที่ทราบความเข้มข้นแล้วใส่หลอดเป็นปริมาตร 25 มิลลิลิตร จากนั้นปิดฝาให้แน่นและนำไปป้อนที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้ถึงจุดสมดุล จากนั้นทำการ

วิเคราะห์ปริมาณของเอทานอลที่เหลือในสารละลาย สมดุลมวลสารของเอทานอลสามารถแสดงเป็นสมการทางคณิตศาสตร์ได้ดังนี้

$$V_{aq} C_0 = V_{aq} C_{aq} + V_{mem} C_{mem} \quad 21$$

โดยที่  $V_{aq}$  คือปริมาตรของสารละลาย  $V_{mem}$  คือปริมาตรของเยื่อแผ่น  $C_0$  คือความเข้มข้นของเอทานอลในสารละลายเริ่มต้น  $C_{aq}$  คือความเข้มข้นของสารละลายเอทานอล ณ จุดสมดุล และ  $C_{mem}$  คือความเข้มข้นเอทานอลในชั้นเยื่อแผ่นตามลำดับ

นอกจากนี้แล้วค่า  $P_{aq}^{mem}$  ซึ่งเท่ากับ  $C_{mem}/C_{aq}$  จะถูกนำมาคูณเข้าทั้งสองด้านของสมการ จากนั้นจะถูกจัดเรียงสมการใหม่ได้ดังนี้

$$\frac{C_0}{C_{aq}} - 1 = P_{aq}^{mem} \times \frac{V_{mem}}{V_{aq}} \quad 22$$

พล็อตของ  $V_{mem}/V_{aq}$  และ  $C_0/C_{aq} - 1$  จะได้เส้นตรง ซึ่งค่าความชันจะแสดงถึงค่า  $P_{aq}^{mem}$  (Livingston, 1994)

#### 2.2.4 การศึกษาค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวระหว่างตัวทำละลายอินทรีย์/น้ำ

ตัวทำละลายอินทรีย์ (1-เดคานอล) และ สารละลายเอทานอลที่ทราบความเข้มข้นในปริมาตรที่เท่ากัน จะถูกนำมาผสมรวมกันในหลอดทดลอง จากนั้นทำการเขย่าอย่างแรงเป็นเวลา 5 นาที ก่อนที่จะนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวระหว่างตัวทำละลายอินทรีย์/น้ำ สามารถคำนวณได้จากอัตราส่วนของความเข้มข้นเอทานอลในชั้นของตัวทำละลายอินทรีย์และในชั้นของน้ำ

#### 2.2.5 การศึกษาพฤติกรรมการแพร่ของเอทานอลในเยื่อแผ่นซิลิโคน

ตัดเยื่อแผ่นซิลิโคนและทำการชั่งให้ได้น้ำหนัก 2.0 กรัม จากนั้นใส่ลงในหลอดทดลองขนาดเล็กและเติมสารละลายเอทานอลที่ทราบความเข้มข้นแล้วลงไป 15 มิลลิลิตร ปิดฝาให้แน่นแล้วนำไปบ่มในเครื่องเขย่า (rotary shaker) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เพื่อให้ระบบมีความเป็นเนื้อเดียวกันทั้งหมด ระหว่างนี้ จะทำการวัดความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลที่ลดลง จนกระทั่งความเข้มข้นของเอทานอลมีค่าคงที่ ในที่นี้จะทำการสมมุติว่าปริมาณของเอทานอลที่ลดลงนี้ เกิดขึ้นเนื่องจากการดูดซับเข้าไปในเยื่อแผ่นอย่างเดียว ไม่มีการสูญเสียไปในทางอื่น และ เยื่อแผ่นซิลิโคนจะ ไม่มีการดูดซับน้ำเข้าไป



เนื่องจากมีสมบัติที่ไม่ชอบน้ำนั่นเอง สมดุลมวลของเอทานอลที่ถูกดูดซับเข้าไปในเยื่อแผ่นซิลิโคนสามารถคำนวณได้ดังสมการ

$$M_t = (C_0 - C_t)V \quad 23$$

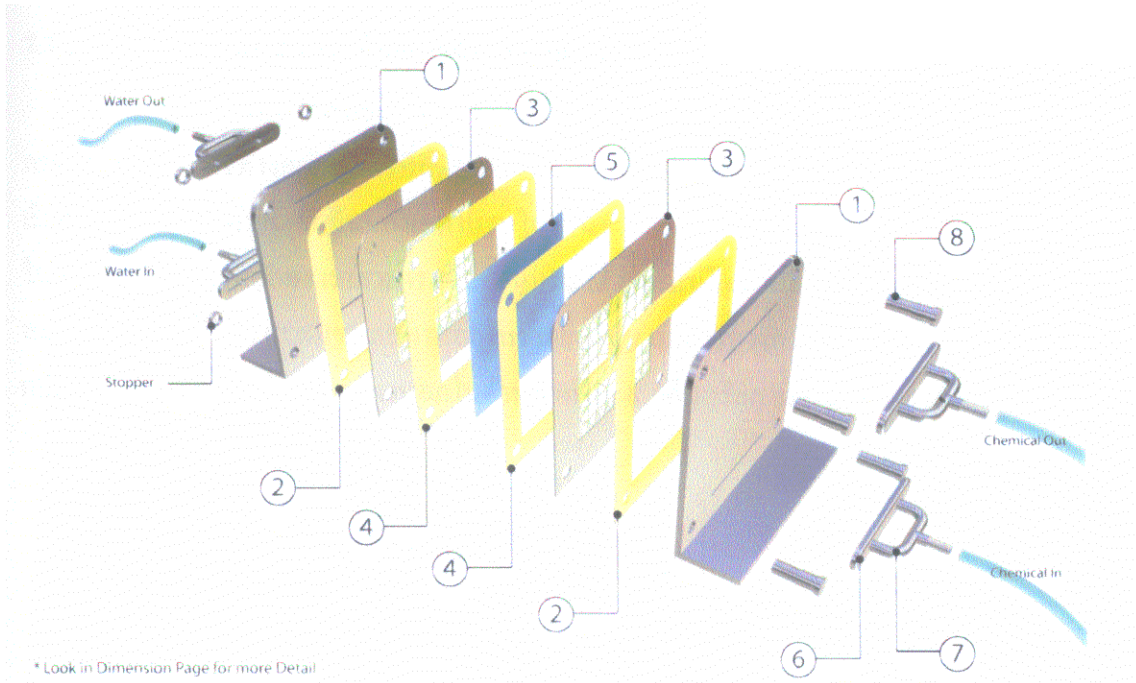
โดยที่  $M_t$  คือมวลของเอทานอลที่ถูกดูดซับเข้าไปในเยื่อแผ่นซิลิโคน  $C_0$  คือความเข้มข้นเริ่มต้นของสารละลายเอทานอล  $C_t$  คือความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลที่เวลา  $t$  และ  $V$  คือปริมาตรของสารละลายเอทานอลตามลำดับ ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองนี้อยู่ที่  $\pm$  ร้อยละ 3 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

## 2.3 การศึกษาพฤติกรรมการถ่ายเทมวลของเอทานอลในระบบเพอร์สแทรกชัน

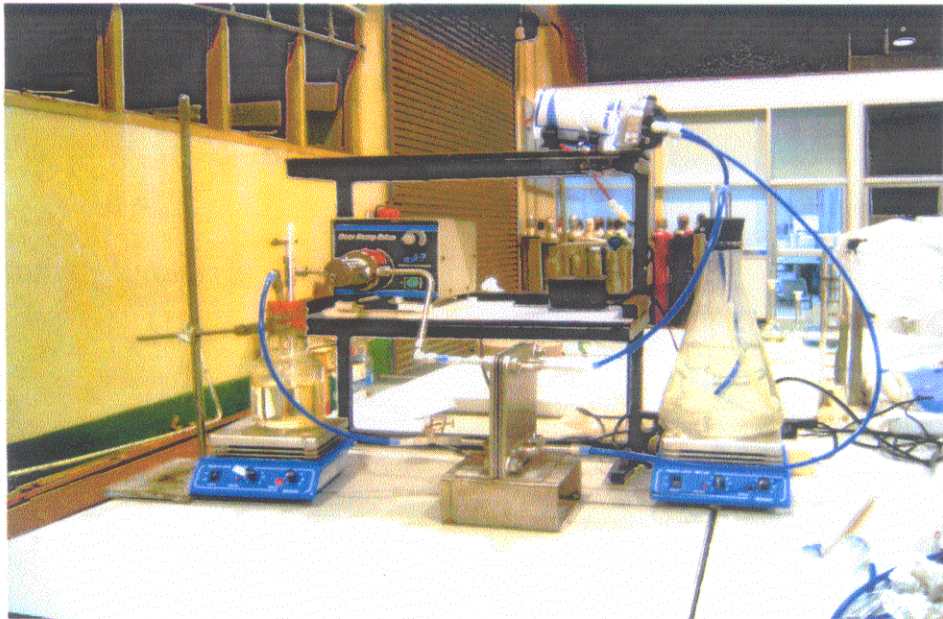
### 2.3.1 การจัดการทดลอง

ภาพ 17 แสดงรูปร่างของเครื่องแลกเปลี่ยนมวลสารแบบแผ่น หรือ plate-and-frame mass exchanger ซึ่งจะประกอบด้วยเยื่อแผ่นซิลิโคน (หมายเลข 5) อยู่ตรงกลางและทำหน้าที่กั้นของเหลวสองส่วนไม่ให้สัมผัสกัน โดยมีประเก็นยาง (หมายเลข 2 และ 4) ทำหน้าที่จัดช่องให้เกิดการไหล ส่วนตะแกรงสแตนเลส (หมายเลข 3) ทำหน้าที่เสริมความแข็งแรงให้กับเยื่อแผ่น ด้านนอกสุดจะเป็นแผ่นสแตนเลสสองแผ่นประกบกัน เพื่อห่อหุ้มส่วนประกอบภายในไว้ (หมายเลข 3) ส่วนหมายเลข 7 คือส่วนของท่อรับของเหลวที่จะถูกปั๊มเข้ามา และ หมายเลข 8 คือสลักเกลียวทำหน้าที่ยึดส่วนประกอบทั้งหมดไว้เข้าด้วยกัน

ภาพ 18 แสดงรูปถ่ายของการจัดการทดลองระบบเพอร์สแทรกชัน สำหรับการแยกเอทานอลออกจากของผสม เอทานอล/น้ำ ซึ่งเป็นส่วนของสารป้อน (feeding solution) และใช้ 1-เดคานอล เป็นตัวรับ (receiving solution) โดยที่สารป้อนจะถูกเก็บไว้ในขวดรูปชมพู่ขนาด 2 ลิตรและจะถูกปั๊มโดยปั๊มชนิดไดอะแฟรม (diaphragm pump) ทำการปั๊มสารป้อนเข้าสู่เครื่องแลกเปลี่ยนมวลสารและไหลกลับ ส่วนตัวทำละลายอินทรีย์จะถูกปั๊มด้วยปั๊มเฟือง (Cole Palmer, USA) ให้ไหลเข้าสู่เครื่องแลกเปลี่ยนมวลสารและไหลกลับเช่นเดียวกันกับในด้านของสารป้อน โดยปั๊มทั้งสองชนิดสามารถปรับอัตราการไหลได้เพื่อควบคุม Reynolds number ที่ไหลผ่านผิวหน้าของเยื่อแผ่น อุณหภูมิของของเหลวทั้งสองด้านจะถูกควบคุมโดยเครื่องควบคุมความร้อนแบบแผ่น (Biosan, MSH 30) การศึกษาการถ่ายเทมวลจะทำการวิเคราะห์ตัวอย่างในด้านของตัวทำละลายอินทรีย์โดยใช้เครื่องก๊าซโครมาโตกราฟี



ภาพ 17: ภาพวาดจำลองแสดงเครื่องแลกเปลี่ยนมวลสารแบบแผ่น



ภาพ 18: ภาพถ่ายแสดงการจัดการทดลองการแยกเอทานอลออกจากของผสม เอทานอล/น้ำ โดยใช้ระบบเพอร์สแทรกชัน

### 2.3.2 การคำนวณค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลโดยรวม ( $k_{ov}$ )

การคำนวณค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลโดยรวมในทางปฏิบัตินั้น สามารถคำนวณค่าได้จากกราฟโดยใช้สมการทางคณิตศาสตร์ที่มีพื้นฐานมาจากกฎข้อที่ 1 ของฟิค (Boontawan, 2005) ในขณะที่เริ่มต้นการทดลอง ความเข้มข้นของเอทานอลในด้านตัวทำละลายอินทรีย์จะเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาเปลี่ยนไป ในช่วงแรกของการทดลอง เราสามารถที่จะอนุมานได้ว่าระบบมีสถานะคงตัว (steady stage) ทำได้ข้อสมมุติฐานว่า ไม่มีการสะสมของเอทานอลในชั้นเยื่อแผ่น สมการทางคณิตศาสตร์ที่แสดงถึงอัตราการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเอทานอลในด้านตัวทำละลายอินทรีย์สามารถอธิบายได้ดังนี้

$$V_{org} \frac{dC_{org}}{dt} = k_{ov} A \left[ C_{aq} - \frac{C_{org}}{P_{aq}^{org}} \right] \quad 24$$

เนื่องจาก

$$V_{org} C_{org} = V_{aq} (C_{aq}^0 - C_{aq}) \quad 25$$

ดังนั้น

$$C_{aq} = C_{aq}^0 - \frac{V_{org} C_{org}}{V_{aq}} \quad 26$$

แทนค่า  $C_{aq}$  ในสมการ 24 จะได้ว่า

$$V_{org} \frac{dC_{org}}{dt} = k_{ov} A \left[ \left( C_{aq}^0 - \frac{V_{org} C_{org}}{V_{aq}} \right) - \frac{C_{org}}{P_{aq}^{org}} \right] \quad 27$$

จากนั้นทำการจัดเรียงสมการใหม่จะได้

$$V_{org} \frac{dC_{org}}{dt} = k_{ov} A \left[ C_{aq}^0 - C_{org} \left( \frac{V_{org}}{V_{aq}} + \frac{1}{P_{aq}^{org}} \right) \right] \quad 28$$

กำหนดให้

$$\xi = \frac{V_{\text{org}}}{V_{\text{aq}}} + \frac{l}{P_{\text{aq}}^{\text{org}}} \quad 29$$

ดังนั้น

$$V_{\text{org}} \frac{dC_{\text{org}}}{dt} = k_{\text{ov}} A [C_{\text{aq}}^{\text{li}} - C_{\text{org}} \xi] \quad 30$$

ทำการเรียงสมการใหม่และทำการอินทิเกรตสมการข้างต้นจะได้

$$\int_0^{C_{\text{org}}^{\text{f}}} \frac{l}{(C_{\text{aq}}^{\text{li}} - C_{\text{org}} \xi)} dC_{\text{org}} = \int_0^{k_{\text{ov}} A dt} \quad 31$$

ดังนั้น

$$k_{\text{ov}} t = \frac{-V_{\text{org}}}{\xi A} \ln \left[ 1 - \frac{\xi C_{\text{org}}^{\text{f}}}{C_{\text{aq}}^{\text{li}}} \right] \quad 32$$

การพล็อตกราฟระหว่างเวลาและค่าทางด้านขวาของสมการ 32 จะได้เส้นตรง โดยที่ค่า  $k_{\text{ov}}$  สามารถหาได้จากความชันของกราฟ

## 2.4 การศึกษาจลศาสตร์การหมักเอทานอลของเชื้อยีสต์จากกากน้ำตาลอ้อย

### 2.4.1 จุลินทรีย์

เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ได้จากที่เก็บรักษาไว้ในห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

### 2.4.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Yeast extract-Malt extract (YM medium) ประกอบไปด้วย yeast extract ความเข้มข้นร้อยละ 0.3 malt extract ความเข้มข้นร้อยละ 0.3 peptone ความเข้มข้นร้อยละ 0.3 และ

ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 ตามลำดับ (pH 5.5) ส่วนอาหารวุ้น YM จะมีการเติม agar agar ลงไปร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในขณะที่ YM medium ที่ปรับแปลงสูตรอาหารเพื่อทำการเลี้ยงเชื้อให้ได้ความเข้มข้นของเซลล์ที่สูง (high cell density cultivation) นั้น จะมีองค์ประกอบดังนี้คือ yeast extract ความเข้มข้นร้อยละ 0.9 malt extract ความเข้มข้นร้อยละ 0.9 peptone ความเข้มข้นร้อยละ 0.9 และ น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นร้อยละ 5 ตามลำดับ อาหารเหลวทั้งสองชนิดดังกล่าวจะถูกปรับให้มีค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 5.5 ก่อนที่จะนำไปนึ่งฆ่าเชื้อต่อไป

### 2.4.3 การเลี้ยงเชื้อ

1. เชื้อเชื้อจากอาหารแข็งที่เก็บไว้ ลงในอาหารเหลวปริมาณ 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสและเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2. ทำการเชยเชื้อจากอาหารเหลวจากข้างต้น มาเลี้ยงบนจานอาหารวุ้น YM โดยการขีดเชื้อ (streak plate) ก่อนที่จะนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อทดสอบว่าเป็นเชื้อบริสุทธิ์หรือไม่ จากนั้นทำการขีดเชื้อจากจานอาหารวุ้นดังกล่าวมาใส่ในหลอดอาหารวุ้น และ บ่มที่สถานะเดียวกัน จากนั้นเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพื่อเก็บไว้ใช้งานต่อไป

3. ในขั้นตอนการเลี้ยงเชื้อ จะทำการเชยเชื้อมาจากหลอดอาหารวุ้นลงไป ในอาหารเหลวปริมาณ 10 มิลลิลิตร จากนั้นทำการบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสและเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนที่จะทำการถ่ายเชื้อลงในอาหารเหลว YM จำนวน 90 มิลลิลิตร และ ทำการบ่มภายใต้สถานะเดียวกัน

4. เตรียมอาหารเหลว YM ที่ปรับแปลงสูตรอาหารแล้ว จำนวน 900 มิลลิลิตร ในถังหมักขนาด 2 ลิตร (B. Bruan, Germany) และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นทำการถ่ายเชื้อที่ได้จากข้อ 3 ลงไป โดยทำการควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส และความเร็วรอบของใบกวนที่ 250 รอบต่อนาที เครื่องควบคุมการทำงานอัตโนมัติจะทำการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้คงที่เท่ากับ 5.5 โดยการเติมกรดซัลฟูริก หรือ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.0 โมลต่อความเข้มข้นของออกซิเจนในน้ำหมักจะถูกวัดโดย polarographic  $dO_2$  probe (Ingold, Switzerland) โดยหลังจากที่เซลล์ยีสต์ได้เจริญเติบโตจนเต็มที่แล้วและอยู่ในระยะคงจำนวนเซลล์แล้ว จะถูกนำไปศึกษาค่าจลศาสตร์การหมักต่อไป

### 2.4.3 การศึกษาจลศาสตร์การหมัก

การศึกษาจลศาสตร์การหมักเอทานอลในการทดลองนี้ จะใช้การหมักแบบกึ่งกะ โดยจะเริ่มทำการป้อนกากน้ำตาลอ้อยที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ลงไปในถังหมักโดยตรงในขณะที่เชื้อยีสต์อยู่ในช่วง

เริ่มต้นของระยะคงจำนวนเซลล์ (stationary phase) และจะทำการยุติการให้อากาศเพื่อให้ระบบเข้าสู่สภาวะไร้อากาศ (anaerobic condition) กากน้ำตาลอ้อยจะมีอัตราการป้อนที่แตกต่างกันระหว่าง 0.004-0.02 กรัม/กกน้ำตาลต่อวินาทีต่อกรัม<sub>เซลล์</sub> จากนั้นจะทำการศึกษาสมรรถนะการผลิตเอทานอลเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักต่อไป จุดประสงค์หลักในการใช้น้ำตาลอ้อยในการศึกษาจุลศาสตร์การหมักนั้น เพื่อเป็นการวางพื้นฐานสำหรับการพัฒนากระบวนการผลิตในระดับที่ใหญ่ขึ้นต่อไป เนื่องจากมีราคาถูกและสามารถหาซื้อได้ง่าย

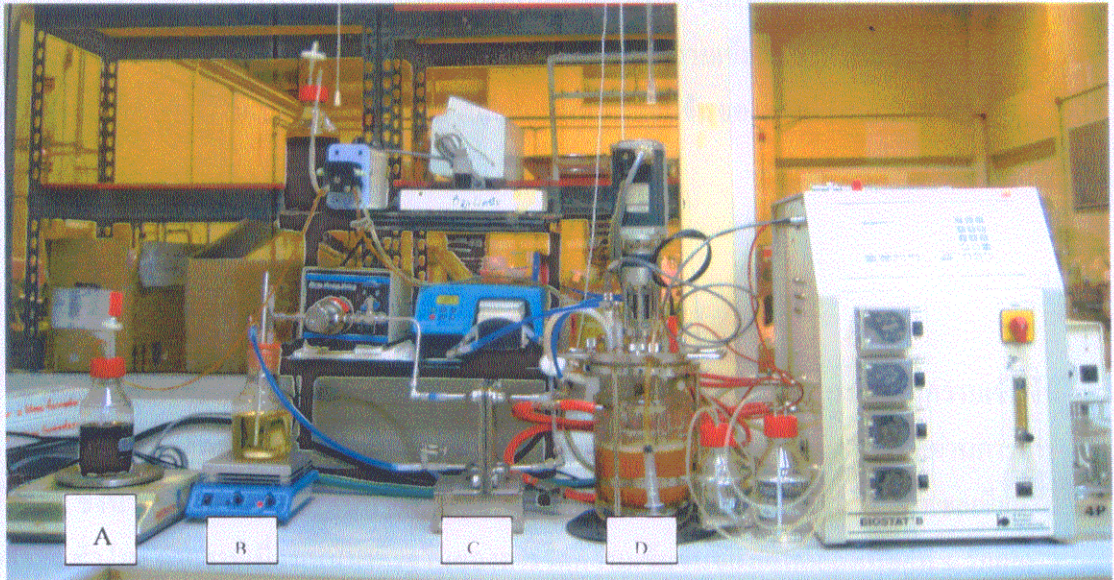
## 2.5 การศึกษาการหมักเอทานอลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบหมุนด้วยระบบเพอร์สแตกซ์

ภาพ 18 แสดงการจัดการทดลองการหมักเอทานอลด้วยกากน้ำตาลอ้อยในถังปฏิกรณ์ชีวภาพควบคุมไปกับการแยกเอทานอลออกจากน้ำหมักด้วยระบบเพอร์สแตกซ์ ในขั้นตอนแรก เซลล์จะถูกนำมาเลี้ยงในอาหารเหลวชนิด YM เหมือนกับที่ได้กล่าวมาแล้วในหัวข้อ 2.4.3 จนเซลล์เริ่มเข้าสู่ระยะคงจำนวนเซลล์ จากนั้นจะทำการปั๊มกากน้ำตาลอ้อย (A) ลงไปในถังหมัก (D) โดยใช้ peristaltic pump ซึ่งสามารถปรับอัตราการไหลได้และอัตราการป้อนโดยน้ำหนักสามารถคำนวณได้จากน้ำหนักของกากน้ำตาลอ้อยที่ลดลงต่อเวลาที่ใช้ไป น้ำหมักจะถูกปั๊มเวียน (re-circulation) ออกจากถังหมักโดยใช้ peristaltic pump (Watson Marlow, United Kingdom) ผ่านเครื่องแลกเปลี่ยนมวลสารแบบแผ่น (C) ซึ่งเป็นแบบติดตั้งภายนอก (external module) ซึ่งจะมีข้อดีในการออกแบบ โมดูลของเยื่อแผ่นให้มีพื้นที่ผิวตามที่ต้องการได้ จากนั้นจะมีการปั๊มเวียนตัวทำละลายอินทรีย์ซึ่งจะใช้ 1-เดคานอล (B) ในการแยกเอทานอลออกจากน้ำหมัก ค่า Reynolds number ในด้านน้ำหมักจะถูกควบคุมให้คงที่ที่ 4000 ซึ่งเป็นการไหลในช่วงการไหลแบบปั่นป่วน (turbulent regime) เพื่อลดผลกระทบที่อาจจะเกิดขึ้นจากชั้นขอบเขต และค่า Reynolds number ในด้านของตัวทำละลายอินทรีย์จะถูกควบคุมให้อยู่ที่ 150 เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของเอทานอลในตัวทำละลายอินทรีย์มีค่าสูงอยู่แล้ว ทำให้ชั้นขอบเขตของด้านตัวทำละลายอินทรีย์ไม่มีผลต่อค่า  $k_{Lc}$  ทำให้สามารถใช้อัตราการไหลที่ต่ำได้ จะเป็นการประหยัดค่าใช้จ่าย เนื่องจากในการพัฒนาระบบ จะสามารถใช้ปั๊มที่มีขนาดเล็กและความดันไม่สูงได้ ในขั้นตอนสุดท้ายของการทดลอง ตัวทำละลายอินทรีย์จะถูกนำไปต้มกลั่นเพื่อแยกเอทานอลออก ก่อนที่จะนำตัวทำละลายอินทรีย์ดังกล่าวมาทำการหมุนเวียนใช้ใหม่ต่อไป

เนื่องจากของไหลในการทดลองนี้จะไหลผ่านช่องที่เป็นรูปสี่เหลี่ยม ค่า Reynolds number สามารถคำนวณได้ดังนี้

$$Re = \frac{\rho d^{HK} u}{\mu}$$

โดยที่  $d^{HR}$  จะหมายถึงเส้นผ่าศูนย์กลางไฮดรอลิก ซึ่งจะมีค่าเท่ากับ  $4 \times \frac{\text{hydraulic surface area}}{\text{wetted perimeter}}$  ซึ่ง hydraulic surface area และ wetted perimeter คือพื้นที่หน้าตัด และ เส้นรอบวงของการไหล ตามลำดับ โดยในการทดลองนี้จะสมมุติให้น้ำหมักมีคุณสมบัติทางกายภาพเช่นเดียวกันกับน้ำบริสุทธิ์ตลอดการทดลอง กล่าวคือมีค่าความหนืดเท่ากับ 0.1 เซนติพอยซ์ และความหนาแน่นเท่ากับ 1,000 กิโลกรัมต่อลูกบาศก์ ตามลำดับ



ภาพ 19: รูปถ่ายการจัดการทดลองการผลิตเอทานอลแบบต่อเนื่อง โดยใช้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบหมุน

## 2.6 การวิเคราะห์

### 2.6.1 การวิเคราะห์เชิงปริมาณของเอทานอล

ตัวอย่างน้ำหมักจะถูกกรองผ่านแผ่นกรองขนาด 0.2 ไมครอนเพื่อกำจัดเซลล์ยีสต์ออกก่อน และทำการสกัดด้วย 1-เดคานอล ก่อนที่จะทำการวิเคราะห์ ส่วนตัวอย่างในด้านตัวทำละลายอินทรีย์จะถูกฉีดเข้าเครื่องวิเคราะห์โดยตรง ซึ่งการวิเคราะห์เชิงปริมาณของเอทานอลในน้ำหมักและในตัวทำละลายอินทรีย์นี้ จะทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ก๊าซโครมาโตกราฟี (PerkinElmer, USA) และ ใช้คอลัมน์ชนิด PE-Wax ซึ่งเป็นคอลัมน์ชนิด capillary ขนาดความยาว 30 เมตร โดยใช้เข็มฉีดสารตัวอย่าง ปริมาตร 3 ไมโครลิตร ( $\mu\text{L}$ ) เข้าสู่ injection port ที่ตั้งอุณหภูมิไว้ 250 องศาเซลเซียส โปรแกรมของ อุณหภูมิจะถูกตั้งไว้เริ่มต้นที่ 70 องศาเซลเซียส คงไว้ 1 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสต่อ นาที จนมีอุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส และ คงไว้ 3 นาที ตัวอย่างจะถูกทำให้เป็นไอก่อนที่จะถูก

วิเคราะห์ด้วย Frame Ionization Detector (FID) การคำนวณปริมาณของเอทานอลในตัวอย่างจะทำการเปรียบเทียบกับพื้นที่ใต้กราฟของสารละลายตัวอย่างมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

### 2.6.2 การวัดความเข้มข้นของเซลล์

ความเข้มข้นของเซลล์ในน้ำหมักได้ถูกวัดโดยใช้เครื่องวัดความเข้มของการดูดกลืนแสง หรือ spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร โดยตัวอย่างน้ำหมักจะถูกนำไปปั่นที่ความเร็วรอบ 12000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นนำส่วนที่เป็นอาหารเหลว (Supernatants) ทิ้งไป ก่อนที่จะเติมฟอสเฟตบัพเฟอร์ให้มีปริมาตรเท่าเดิม และทำการเจือจางให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสม นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ( $OD_{600}$ ) และ เปลี่ยนเป็นความเข้มข้นของเซลล์ (Dry Cell Weight, DCW) ตามสมการ

$$C_x = 0.42 \times OD_{600}$$

34

กราฟมาตรฐาน (standard calibration curve) สามารถสร้างได้โดยทำการกรองยีสต์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ผ่านกระดาษกรองขนาดรูพรุน 0.2 ไมครอน (Whatman, UK) ที่ผ่านการอบให้แห้ง และ ชั่งน้ำหนักมาแล้ว จากนั้นนำกระดาษกรองดังกล่าวไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของการวัดความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์นี้อยู่ที่  $\pm$  ร้อยละ 5 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

### 2.6.3 การวิเคราะห์น้ำตาล

การวิเคราะห์ความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดในตัวอย่างน้ำหมัก ได้ถูกวิเคราะห์โดยใช้วิธี ฟีนอล-ซัลฟูริก (phenol-sulfuric method) โดยการนำตัวอย่างน้ำหมักปริมาตร 1 มิลลิลิตรมาผสมสารละลายฟีนอลความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก ในปริมาตรที่เท่ากัน จากนั้นเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นปริมาตร 5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที เขย่าแรง ๆ ให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ทิ้งไว้อีก 20 นาที แล้วจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร ความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดจะถูกนำมาเปรียบเทียบกับกราฟความเข้มข้นน้ำตาลมาตรฐาน (ในที่นี้ใช้น้ำตาลกลูโคส) ที่ทราบความเข้มข้นแล้ว (Dubios *et al.*, 1956).



#### 2.6.4 การวิเคราะห์อัตราการตายจำเพาะ

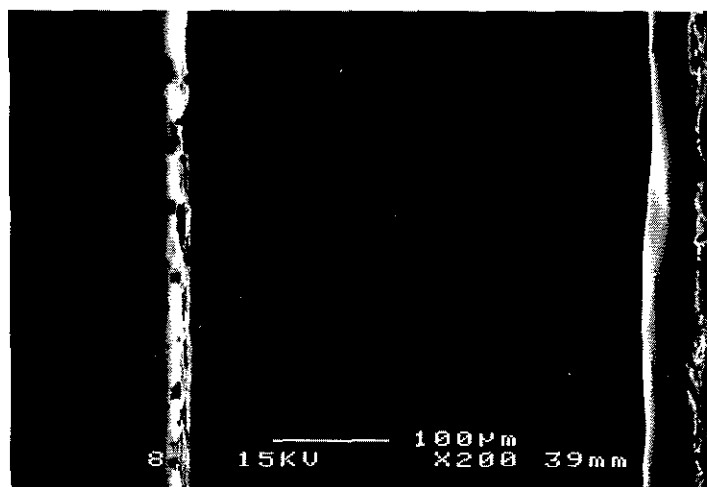
อัตราการตายจำเพาะได้วิเคราะห์โดยการนับจำนวนเซลล์โดยวิธีนับโดยตรงด้วยกล้องจุลทรรศน์ เพื่อที่จะสามารถนับเซลล์มีชีวิตและเซลล์ตายได้ เริ่มด้วยเก็บตัวอย่างน้ำหมักจากถังปฏิกรณ์ชีวภาพเพื่อนำมานับจำนวนเซลล์ โดยนำ haemocytometer เป็นอุปกรณ์ช่วยนับ โดยดูคูน้าหมักปริมาตร 1 มิลลิลิตร และหยดสีย้อม เมเทลิบรูปปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อย้อมติดสีเซลล์ตาย ทำให้สามารถนับเซลล์ยีสต์ที่เป็นและตายได้ง่าย จากนั้นปิดทับบริเวณด้วยกระจกสไลด์ และปรับกล้องจุลทรรศน์ให้มีความชัด 400 เท่า (เลนส์ขยายวัตถุกำลังขยาย 40 เท่า) การนับจำนวนเซลล์จะนับในช่องในช่องขนาดกลาง 5 ช่อง โดยให้กระจายตำแหน่งของช่องที่จะนับ ให้ทั่วสี่เหลี่ยมจัตุรัสใหญ่ เมื่อนับครบทั้ง 5 ช่อง จากนั้นนำจำนวนเซลล์มานับรวมกันแล้วเปรียบเทียบจำนวนเซลล์เป็นและเซลล์ตาย (Gary, 2005).

## บทที่ 3 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

### 3.1 การบ่งบอกคุณลักษณะของเยื่อแผ่น (membrane characterization)

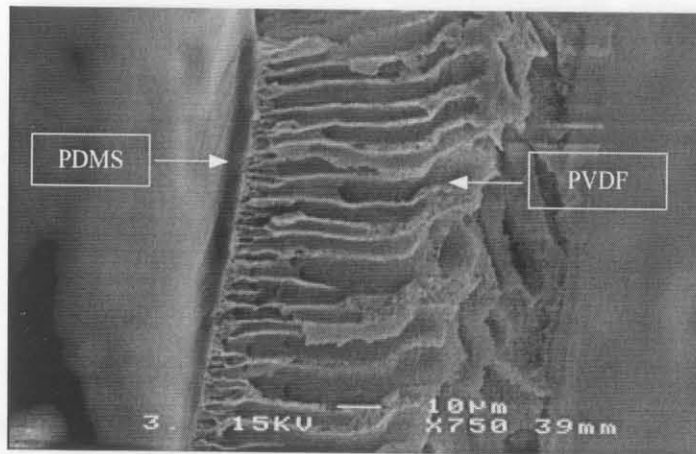
#### 3.1.1 เยื่อแผ่นยางซิลิโคน และ เยื่อแผ่นเชิงประกอบ

ขั้นตอนแรกของการบ่งบอกคุณลักษณะของเยื่อแผ่นที่ผลิตขึ้นสำหรับงานวิจัยนี้ ได้ใช้การส่องกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด หรือ scanning electron microscope (SEM) ซึ่งจะทำให้ทราบข้อมูลถึงลักษณะโครงสร้างภายในของชั้นซิลิโคนและชั้นรองรับซึ่งผลิตจาก PVDF โดยเฉพาะอย่างยิ่งลักษณะของรูพรุนที่เกิดขึ้นในชั้น ภาพ 20 แสดงภาพถ่ายภาคตัดขวางของเยื่อแผ่นซิลิโคนภายใต้กล้อง SEM ซึ่งแสดงให้เห็นถึงโครงสร้างเป็นแผ่นที่แน่นของ PDMS หลังจากที่เกิดการระเหยตัวของเฮกเซนซึ่งถูกใช้เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ ความหนาของเยื่อแผ่นในภาพนี้ อยู่ที่ประมาณ 300 ไมครอน และจากข้อมูลทางเทคนิคที่ได้รับจากบริษัท Dow Corning (ประเทศไทย) จำกัด PDMS ชนิดที่ได้รับนี้ (ภายใต้รหัส T4) จะมีสมบัติพิเศษคือสามารถที่จะเกิดร่างแห (crosslink) ได้ภายใต้สภาวะแวดล้อมปกติในห้องปฏิบัติการ ในขณะที่ PDMS แบบอื่น ๆ ที่มีขายกันอยู่โดยทั่วไป จะต้องการการให้ความร้อนในการเกิดร่างแห (Yeow *et al.*, 2002) ทำให้ PDMS ชนิดนี้มีข้อได้เปรียบคือสามารถผลิตเป็นเยื่อแผ่นได้ง่ายและไม่ต้องใช้ตู้อบแต่อย่างใด



ภาพ 20: เยื่อแผ่นซิลิโคนภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ซึ่งถูกเตรียมโดยวิธี solution casting

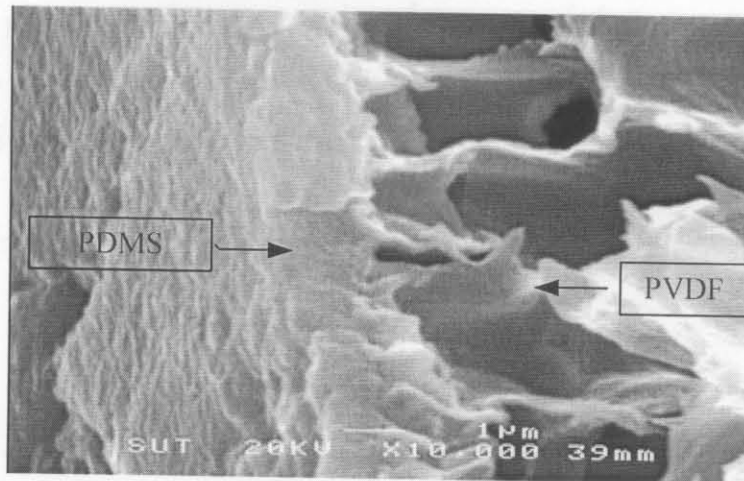
สำหรับเยื่อแผ่นเชิงประกอบ PDMS/PVDF โดยชั้นรองรับมีลักษณะไม่สมมาตร(asymmetric) ซึ่งถูกเตรียมขึ้น โดยวิธี immersion-precipitation นั้น เมื่อทำการผลิตเยื่อแผ่นชั้นรองรับที่มีองค์ประกอบของปริมาณ PVDF ระหว่าง 10 – 20% ไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (SEM) พบว่าจะแสดงให้เห็นโครงสร้างที่เป็นช่องว่างที่แตกต่างกัน (ข้อมูลไม่ถูกแสดง) โดยทั่วไปแล้ว เยื่อแผ่นไม่สมมาตร จะมีโครงสร้างตามแนวความหนาของเยื่อแผ่นต่างกัน โดยผิวด้านบนมีโครงสร้างแน่น ส่วนโครงสร้างชั้นล่างหรือชั้นรองรับจะมีลักษณะของความเป็นรูพรุนสูง (Baker, 2004) และจากการทดลองที่แปรผันปริมาณ PVDF พบว่า ชั้นรองรับที่มีองค์ประกอบปริมาณร้อยละ 15 PVDF ในสารละลาย n-methyl pyrrolidone และ ร้อยละ 4 ของลิเทียมคลอไรด์ (ทำหน้าที่เป็นตัวไม่ละลาย หรือ non-solvent additive) ที่องค์ประกอบนี้จะมีโครงสร้างภายในที่ดีที่สุด โดยที่มีผิวชั้นบนที่บางมากและเป็นโครงสร้างที่มีรูพรุนสูง ทำให้สามารถรองรับชั้นของ ขณะที่ชั้นล่างที่เป็นชั้นรองรับนั้นมีลักษณะเป็นช่องว่างคล้ายนิ้วมือที่ขยายออกจากใต้โครงสร้างชั้นบนแน่นไปยังชั้นผิวล่าง ชั้นรองรับนี้ถือเป็นโครงสร้างที่ดีและเหมาะสม และเลือกที่จะนำไปประกอบเป็นเยื่อแผ่นเชิงประกอบเพื่อใช้ในงานต่อไป



ภาพ 21: เยื่อแผ่นเชิงประกอบ PDMS/PVDF ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ซึ่งถูกเตรียมโดยวิธีการเปลี่ยนเฟส (แสดงชั้นรองรับ PVDF ที่มีลักษณะคล้ายนิ้วมือ)

ภาพ 21 แสดงลักษณะโครงสร้างภายในของเยื่อแผ่นเชิงประกอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด โดยมีกำลังขยายขนาด 750 เท่า จากภาพจะเห็นได้ว่าชั้น PDMS จะอยู่ทางด้านบนและชั้นรองรับ PVDF จะอยู่ด้านล่างถัดลงไป ชั้นเยื่อแผ่น PDMS นั้นมีโครงสร้างแน่นและถูกคาส์บนชั้นรองรับ PVDF เพื่อให้เป็นชั้นผิว ทำหน้าที่ในการกักกั้นน้ำและสารแขวนลอยอื่น ๆ ไม่ให้ผ่านเยื่อแผ่น

โดยที่ความหนาของชั้น PDMS สามารถที่จะกำหนดได้โดยปริมาณของสารละลาย PDMS ที่ใช้ในระหว่างการคาสต์ลงบนเยื่อแผ่นรองรับนั่นเอง สำหรับเยื่อแผ่นเชิงประกอบ PDMS/PVDF ที่เตรียมขึ้นในการทดลองนี้ ได้ถูกเตรียมขึ้นให้มีความบางเป็นพิเศษ เนื่องจากมีหลักฐานอ้างอิงว่าเยื่อแผ่นเชิงประกอบที่มี ฟลักซ์ของเพอร์มีเอทสูง นั้นจะต้องมีความบางมาก (Jiratananon *et al.*, 2000; Daisley *et al.*, 2006) และพบว่าความบางของเยื่อแผ่นนี้จะไม่กักกัน โมเลกุล การที่มีชั้นผิวบางทำให้มีความต้านทานต่อการไหลของสารต่ำหรือค่าฟลักซ์สูง เมื่อเปรียบเทียบกับเยื่อแผ่นที่มีความหนา ดังนั้นในงานวิจัยนี้ได้ทำการผลิตเยื่อแผ่นที่มีความบางดังที่ต้องการมีลักษณะเป็นช่องคล้ายนิ้วมือนี้ เพื่อนำไปใช้ในการเก็บเกี่ยวผลิตภัณฑ์ด้วยระบบเพอร์สแทรกซ์ต่อไป ภาพ 22 แสดงภาพขยายของเยื่อแผ่นเชิงประกอบของภาพ 21 ภายใต้กำลังขยาย 10,000 เท่า และแสดงให้เห็นถึงโครงสร้างของชั้นผิว (PDMS) ซึ่งมีขนาดบางมากโดยพบว่าจะมีประมาณ 1 ถึง 3 ไมครอน เท่านั้น



ภาพ 22: เยื่อแผ่นเชิงประกอบ PDMS/PVDF ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด กำลังขยาย 10,000 เท่า

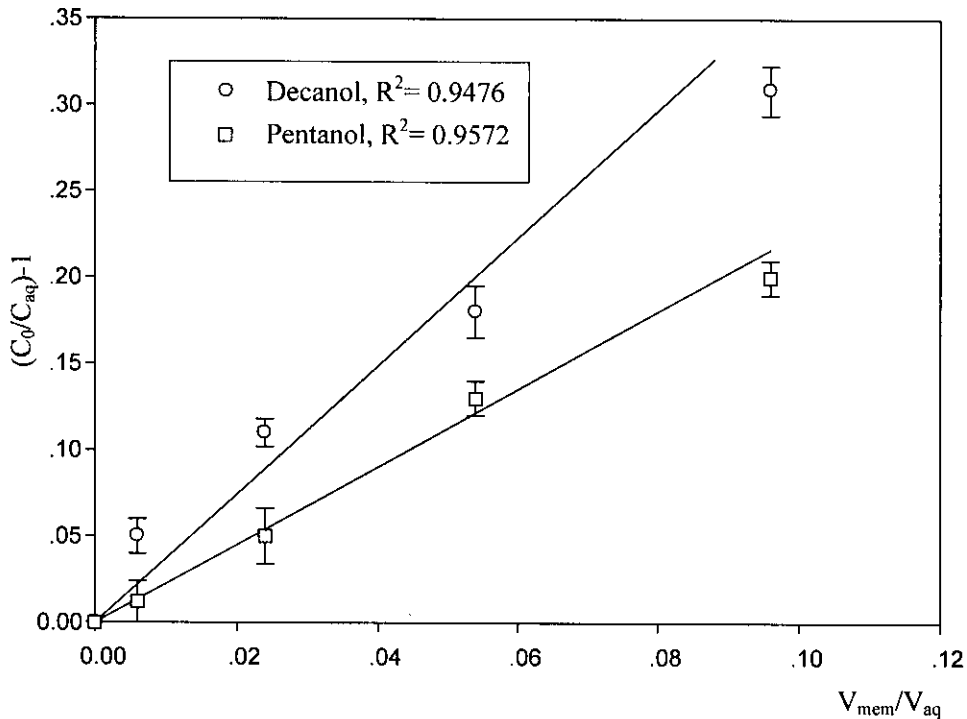
### 3.2 ค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัว

ในการศึกษากลไกการถ่ายเทมวลผ่านเยื่อแผ่นในระบบ liquid-liquid contacting system (เพอร์สแทรกซ์) นั้นจะมีความเกี่ยวข้องกับค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวอยู่สองชนิดคือ ค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวระหว่างตัวทำละลายอินทรีย์/น้ำ ( $P_{aq}^{org}$ ) และ ค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวระหว่างเยื่อแผ่น/น้ำ ( $P_{aq}^{mem}$ ) ในงานวิจัยที่ได้ศึกษามาก่อนหน้านี้พบว่า ลำดับความสามารถของตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัดเอทานอล โดยแบ่งตามประเภทของหมู่ฟังก์ชัน (functional group) โดยเรียง

จากน้อยไปหามาก ดังนี้ ไฮโดรคาร์บอน < อีเทอร์ < คีโตน < เอมีน < เอสเทอร์ < แอลกอฮอล์ (Roddy, 1981) อีกทั้งพบว่าแอลกอฮอล์สายโซ่ยาวจะเป็นตัวสกัดสารได้ดีมีประสิทธิภาพมากที่สุดสำหรับระบบ organic-aqueous two phase (Mattiasson and Holst, 1991) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จะเลือกใช้แอลกอฮอล์สายโซ่ยาว 2 ชนิด คือ เพนทานอล ที่มีสายโซ่ปานกลางและ 1-เดคานอล ที่มีสายโซ่ยาวเพื่อใช้ศึกษาเปรียบเทียบผลที่เกิดขึ้น

### 3.2.1 สัมประสิทธิ์การกระจายตัวระหว่างเยื่อแผ่น/น้ำ ( $P_{aq}^{mem}$ )

เมื่อมีการสัมผัสกันของเยื่อแผ่นซิลิโคนกับตัวทำละลายอินทรีย์ จะพบว่าเยื่อแผ่นซิลิโคนได้ดูดซับตัวทำละลายอินทรีย์ดังกล่าวไว้ จะเป็นผลทำให้เกิดการพองตัวของเยื่อแผ่นขึ้น เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาร่วมของสารที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic interaction) ทั้งสองชนิดคือ โพลีเมอร์และตัวทำละลายอินทรีย์ ซึ่งคิกรของการพองตัวนั้นจะขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์ และชนิดของโพลิเมอร์ที่ใช้ (Bitter, 1991) สำหรับเยื่อแผ่นซิลิโคนที่ผลิตขึ้นในงานวิจัยนี้ เมื่อทำการวัดคิกรของการพองตัว ((%) Swelling) พบว่าไม่มีการพองตัวของเยื่อแผ่นแต่อย่างใด ดังนั้นการทดลองหาค่า  $P_{aq}^{mem}$  ในงานวิจัยนี้จะไม่เปรียบเทียบค่าดังกล่าวระหว่างเยื่อแผ่นที่ไม่ผ่านและผ่านการทำให้อิมมัลชันด้วยตัวทำละลายอินทรีย์



ภาพ 23: แสดงการหาค่า  $P_{aq}^{mem}$  โดยใช้กราฟของเยื่อแผ่นซิลิโคนที่อิมมัลชันด้วยเพนทานอลและ 1-เดคานอล ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

ภาพ 23 แสดงการหาค่า  $P_{aq}^{mem}$  จากกราฟ โดยหาจากความชันของสมการ 22 โดยแกน Y นั้นแสดงถึงค่า  $(C_0/C_{aq})-1$  ในขณะที่แกน X จะแสดงด้วย  $V_{mem}/V_{aq}$  ความชันของกราฟ จะแสดงถึงค่า  $P_{aq}^{mem}$  นั่นเอง กราฟดังกล่าวแสดงค่า  $P_{aq}^{mem}$  ของเยื่อแผ่นซิไลโคนซึ่งผ่านการทำให้อิมมัลชันด้วยตัวทำละลายอินทรีย์สองชนิดคือ เพนทานอลและ 1-เดคานอล จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าความสัมพันธ์ระหว่างมวลของเยื่อแผ่นที่เพิ่มขึ้น (แกน X) จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้น ณ จุดสมดุลของเอทานอลที่ลดลง (แกน Y) และค่า  $P_{aq}^{mem}$  ที่คำนวณได้จากความชันของกราฟมีค่า 2.25 และ 3.25 สำหรับ เพนทานอลและ 1-เดคานอล ตามลำดับ ค่า  $P_{aq}^{mem}$  ที่คำนวณได้นี้จะมีประโยชน์เป็นอย่างมากในการใช้ประกอบการอธิบายลักษณะการถ่ายเทมวลของเอทานอล ผ่านเยื่อแผ่นซิไลโคนในระบบเพอร์สแทรกชันนี้ ซึ่งงานวิจัยก่อนหน้านี้ (Doig *et al.*, 1999) ได้จำแนกค่า  $P_{aq}^{mem}$  ออกเป็นสองช่วงคือ 1. กลุ่มของสารอินทรีย์ที่มีค่า  $P_{aq}^{mem}$  สูงกว่า 25 และ 2. กลุ่มของสารอินทรีย์ที่มีค่า  $P_{aq}^{mem}$  ต่ำกว่า 5 โดยที่สาระสำคัญของ การแบ่งกลุ่มของสารอินทรีย์เหล่านี้คือ ในแบบจำลองอนุกรมความต้านทาน (resistances in-series model) ดังแสดงในสมการ 18 ถ้าหากสารใดที่มีค่า  $P_{aq}^{mem}$  สูงกว่า 25 จะทำให้ความหนาของเยื่อแผ่นจะไม่กระทบต่อค่าสัมประสิทธิ์ความต้านทานโดยรวมของเยื่อแผ่นนั้น ( $k_{ov}$ ) และแบบจำลองอนุกรมความต้านทาน ดังแสดงในสมการ 19 จะสามารถเขียนได้ใหม่เป็น

$$\frac{1}{k_{ov}} = \frac{1}{k_{aq}} + \frac{1}{D_{mem} P_{aq}^{mem} P_{aq}^{org}} \quad 35$$

จากสมการดังกล่าว จะเห็นได้ว่าตัวแปรที่ควบคุมกระบวนการสำคัญจะมีเพียงแค่ความต้านทานที่เกิดจากในด้านของสารป้อนเท่านั้น ( $k_{aq}$ ) ในขณะที่ตัวแปรอื่น ๆ นั้นจะเป็นค่าคงที่ทั้งหมด ส่วนผลการทดลองค่า  $P_{aq}^{mem}$  ในการทดลองนี้ พบว่าต่ำกว่า 5 สำหรับตัวทำละลายอินทรีย์ทั้งสองชนิด ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่า ตัวแปรที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งที่จะควบคุมพฤติกรรมของการถ่ายเทมวลของเอทานอลผ่านเยื่อแผ่นซิไลโคนในระบบนี้คือ ความหนาของเยื่อแผ่นนั่นเอง ดังนั้นแบบจำลองอนุกรมความต้านทานจึงยังเหมือนกับสมการ 19

### 3.2.2 สัมประสิทธิ์การกระจายตัวระหว่างตัวทำละลายอินทรีย์/น้ำ ( $P_{aq}^{org}$ )

ค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวระหว่างตัวทำละลายอินทรีย์/น้ำ ( $P_{aq}^{org}$ ) ในการทดลองนี้ได้ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ 2 ชนิด คือ เพนทานอล และ 1-เดคานอล ค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวของตัวทำละลายอินทรีย์/น้ำ เป็นอัตราส่วนของความเข้มข้นเอทานอลในชั้นของตัวทำละลายอินทรีย์และในชั้น

ของน้ำเมื่อระบบเข้าสู่สมดุล ตาราง 5 สรุปค่า  $P_{aq}^{mem}$  และ  $P_{aq}^{org}$  ของเอทานอลโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์สองชนิดคือ เพนทานอล และ 1-เดคานอล ตามลำดับ

ตาราง 5: สัมประสิทธิ์การกระจายตัวระหว่างเยื่อแผ่น/น้ำ และ สัมประสิทธิ์การกระจายตัวระหว่างตัวทำละลายอินทรีย์/น้ำ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

ตัวทำละลายอินทรีย์	$P_{aq}^{mem}$	$P_{aq}^{org}$
เพนทานอล	2.20	1.0
1-เดคานอล	3.47	105

จากการพิจารณาค่า  $P_{aq}^{org}$  ระหว่างตัวทำละลายอินทรีย์ทั้งสองชนิดพบว่า 1-เดคานอลมีค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวของเอทานอลมากกว่าในเพนทานอลถึง 100 เท่า ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า 1-เดคานอล มีความเหมาะสมมากกว่าเพนทานอล และจะเลือกใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดนี้ในการทดลองต่อไป นอกจากนี้แล้ว พบว่าค่าการละลายของ 1-เดคานอล ในน้ำที่อุณหภูมิ 20 °C คือ 0.37 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตรเท่านั้น ซึ่งเป็นค่าที่ต่ำมากเมื่อเทียบกับ เพนทานอล (2.7 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร) ทั้งนี้เนื่องจาก 1-เดคานอล ประกอบไปด้วยสายโซ่ไฮโดรคาร์บอนที่มีจำนวนคาร์บอนถึง 10 อะตอมในโมเลกุลทำให้แสดงสมบัติของความไม่ชอบน้ำมากกว่า ซึ่งความสามารถในการละลายเอทานอลได้มาก อีกทั้งมีสมบัติของความไม่ชอบน้ำสูง ดังนั้น 1-เดคานอล จึงมีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในงานวิจัยนี้

### 3.3 การวิเคราะห์การถ่ายเทมวลในระบบเพอร์สแทรกชัน

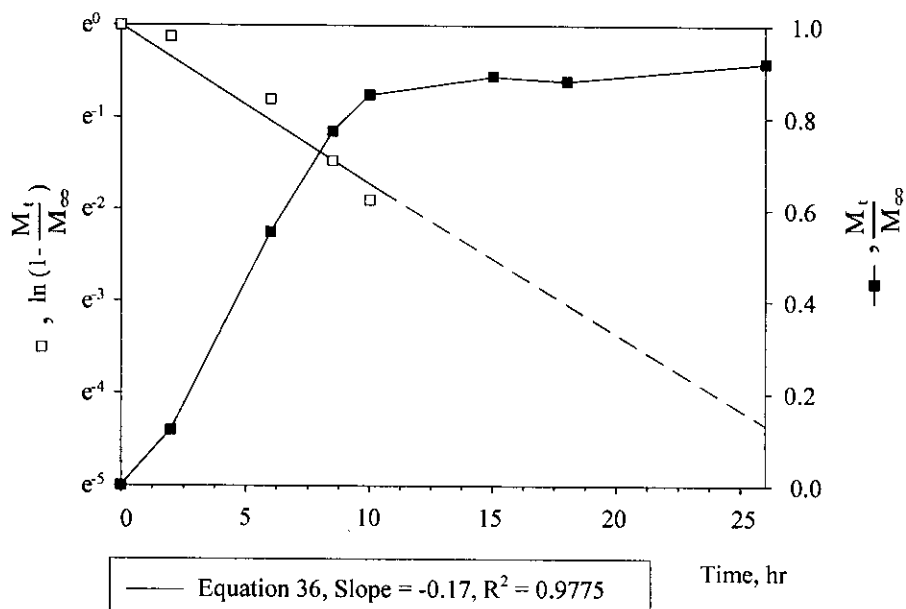
#### 3.3.1 การดูดซับและการแพร่ของเอทานอลในเยื่อแผ่นซิลิโคน

การทดลองนี้ได้มีการใช้เยื่อแผ่นซิลิโคนที่มีความหนา 100 ไมครอนมาทำการทดลอง โดยทำการศึกษาพฤติกรรมการดูดซับและการแพร่ของเอทานอลผ่านชั้นเยื่อแผ่น ซึ่งเป็นขั้นตอนเบื้องต้นที่สำคัญที่สุดในการทดสอบประสิทธิภาพของระบบ ในขณะที่การศึกษาดังกล่าวคือการคายออก (desorption) ของเอทานอลออกจากเยื่อแผ่นนั้น โดยทั่วไปแล้ว จะไม่มีผลต่อค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลโดยรวม (Doig *et al.*, 1999; Jiratananon *et al.*, 2002a; Boontawan and Stuckey, 2005a) ดังนั้นความต้านทานที่เกิดขึ้นจากด้านของสารป้อน ( $k_{aq}$ ) และจากเยื่อแผ่น ( $k_{mem}$ ) จึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งในการศึกษา ความต้านทานที่เกิดจากด้านของสารป้อนสามารถทำการศึกษาได้โดยการเปลี่ยนค่า Reynolds ส่วนความต้านทานที่เกิดขึ้นจากเยื่อแผ่นซิลิโคนนั้น นอกเหนือจากความต่างศักย์ทางเคมีระหว่างทั้งสองด้านของเยื่อแผ่นแล้ว ยังเกี่ยวข้องกับ permeability หรือค่าความสามารถในการแพร่ผ่าน

ของสารเคมี ซึ่งเป็นผลคูณของค่า  $P_{aq}^{mem}$  และสัมประสิทธิ์การแพร่ของสารในเยื่อแผ่นซิลิโคน ( $D_{mem}$ ) ดังที่แสดงในสมการที่ 18 จากการทดลอง เมื่อทำการใส่ชิ้นส่วนของเยื่อแผ่นซิลิโคนที่ทราบน้ำหนัก แล้วลงในสารละลายเอทานอลเจือจาง การดูดซับของเอทานอลโดยเยื่อแผ่นซิลิโคนจะเกิดขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยารวมของสารที่ไม่ชอบน้ำ หรือ hydrophobic interaction ดังที่ได้กล่าวมาแล้วในช่วงต้น เมื่อทำการวิเคราะห์ความเข้มข้นของเอทานอลในสารละลาย จะพบว่าเมื่อเวลาผ่านไป ความเข้มข้นของเอทานอลในสารละลายจะมีค่าลดลงจนกระทั่งความเข้มข้นมีค่าคงที่ เนื่องจากระบบเกิดสมดุล ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของเอทานอลในเยื่อแผ่นซิลิโคนสามารถคำนวณได้จากพล็อตกราฟลักษณะการดูดซับของเอทานอลในเยื่อแผ่นเทียบกับเวลาที่ผ่านไป (Crank, 1979) ดังสมการ

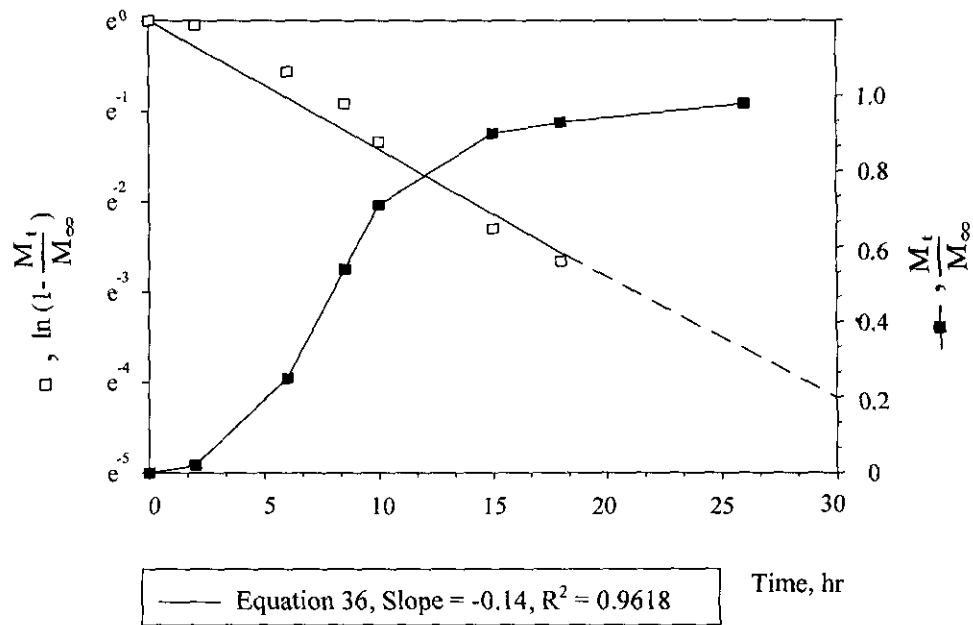
$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \frac{8}{\pi} \exp\left[-\frac{\pi^2 D_{mem} t}{\delta^2}\right] \quad 36$$

แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของระบบที่ไม่สมดุล (non-steady state model) ได้ถูกนำมาใช้ในการคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การแพร่โดยการพล็อตค่า  $\ln(1 - M_t/M_\infty)$  โดยเทียบกับเวลา  $t$  และค่าสัมประสิทธิ์การแพร่  $D_{mem}$  สามารถคำนวณได้จากค่าความชันของกราฟ



ภาพ 24: ลักษณะการดูดซับของสารละลายเอทานอลในเยื่อแผ่นซิลิโคนที่อิมมัลชันด้วย 1-เดคานอล





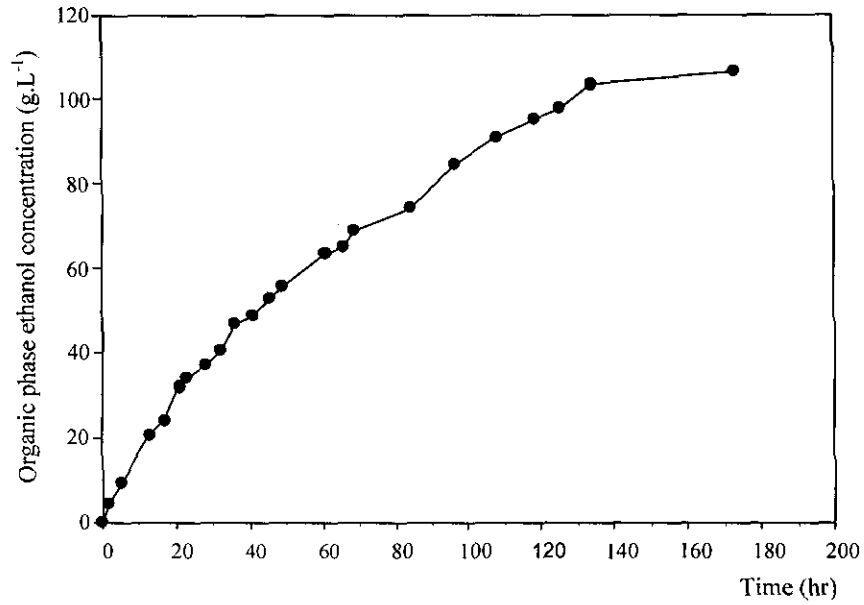
ภาพ 25: ลักษณะการดูดซับของเยื่อแผ่นซิลิโคนที่ไม่ผ่านการทำให้อิ่มตัวด้วย 1-เดคานอล (30 เซลเซียส)

ภาพ 24 และ ภาพ 25 แสดงการดูดซับของเอทานอลของเยื่อแผ่นซิลิโคนสองชนิดคือที่อิ่มตัวด้วย 1-เดคานอลและไม่ผ่านการทำให้อิ่มตัว ทั้งสองกราฟแสดงลักษณะการดูดซับของเอทานอลในเยื่อแผ่นอย่างต่อเนื่องตั้งแต่เริ่มการทดลองจนถึงประมาณชั่วโมงที่ 10 จากนั้นอัตราการดูดซับจะลดลงเนื่องจากระบบเริ่มเข้าสู่สมดุล การดูดซับของเอทานอลในเยื่อแผ่นทั้งสองจะหยุดหลังจากชั่วโมงที่ 20 และ 25 ตามลำดับ ซึ่ง ณ จุดที่ระบบสมดุลนี้ อัตราการดูดซับและอัตราการคายออกจะมีค่าเท่ากัน ข้อมูลการดูดซับในช่วงก่อนระบบเข้าสู่สมดุล ได้ถูกนำมาใช้เพื่อประกอบการคำนวณค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของเอทานอลในเยื่อแผ่นซิลิโคน ( $D_{mem}$ ) ซึ่งความชันของกราฟที่ได้ของทั้งสองการทดลองพบว่าเป็นเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของเอทานอลในเยื่อแผ่นซิลิโคนที่ผ่านการทำให้อิ่มตัวด้วย 1-เดคานอล มีค่าเท่ากับ  $2.07 \times 10^{-10}$  ตารางเมตรต่อวินาที ในขณะที่เยื่อแผ่นซิลิโคนที่ไม่ผ่านการทำให้อิ่มตัวจะมีค่า  $D_{mem}$  เท่ากับ  $1.70 \times 10^{-10}$  ตารางเมตรต่อวินาที ซึ่งพบว่ามีค่าใกล้เคียงกันกับค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของงานวิจัยที่ได้ทำมาก่อนหน้านี้แล้ว (Watson and Payne, 1990) โดยมีค่าเท่ากับ  $1.50 \times 10^{-10}$  ตารางเมตรต่อวินาที

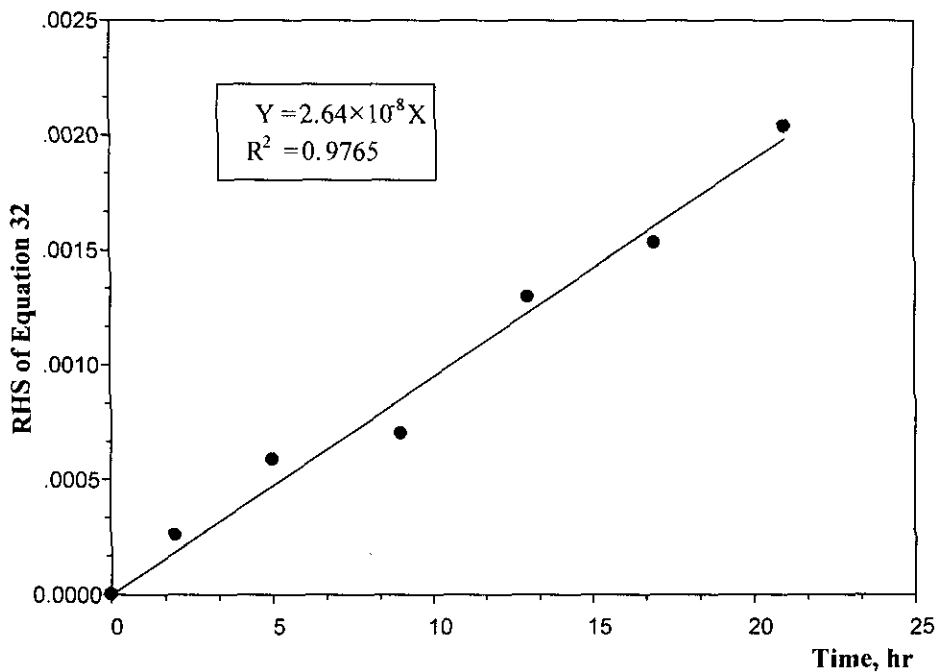
### 3.3.2 การวิเคราะห์ถ่ายเทมวล และ ค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลโดยรวม

จากที่ได้กล่าว ไปแล้วว่า การถ่ายเทมวลของเอทานอลจากด้านของน้ำผ่านชั้นของเยื่อแผ่นซิลิโคน ไปสู่ด้านของตัวทำละลายอินทรีย์ในระบบเพอร์สแทรกซ์นั้น เกิดขึ้นจากความต่างของความเข้มข้นระหว่างทั้งสองด้านของเยื่อแผ่นและความสามารถในการละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ที่สูง ในการทดลองนี้ การศึกษาถึงค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลโดยรวม ( $k_{ov}$ ) สามารถที่จะหาค่าได้จากข้อมูลการทดลองการถ่ายเทมวลของเอทานอล โดยพิจารณาจากความเข้มข้นของเอทานอลในด้านของตัวทำละลายอินทรีย์ โดยทั่วไปแล้วความเข้มข้นของเอทานอลในตัวทำละลายอินทรีย์ ( $C_{org}$ ) จะมีค่าเริ่มจากศูนย์และจะสูงขึ้นเรื่อย ๆ ดังแสดงในภาพ 26 เพื่อที่จะทำให้ความเข้มข้นเริ่มต้นของเอทานอลในสารละลายให้คงที่ เป็นการรักษาแรงขับเคลื่อน (driving force) ในขั้นตอนเริ่มแรกของระบบ ( $\Delta C$  คงที่) จึงมีความจำเป็นที่จะต้องใช้ปริมาตรของสารป้อนที่มากกว่าปริมาตรของตัวทำละลายอินทรีย์ (ปริมาตรของสารป้อนและตัวทำละลายอินทรีย์คือ 2 ลิตร และ 500 มิลลิลิตร ตามลำดับ) ในตอนเริ่มแรกของการทดลองจะพบว่า จะเกิดการดูดซับของเอทานอลเข้าไปในชั้นของเยื่อแผ่นก่อน ทำให้ต้องใช้เวลาร่วมต้นเล็กน้อยประมาณ 1 ชั่วโมง ในการทำให้ความเข้มข้นของเอทานอลในด้านตัวทำละลายอินทรีย์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง อย่างไรก็ตามในช่วงท้ายของการทดลอง จะพบว่าอัตราการถ่ายเทมวลของเอทานอลผ่านเยื่อแผ่นจะลดลงจนกระทั่งความเข้มข้นของเอทานอลมีค่าคงที่ ทั้งนี้เนื่องจากความเข้มข้นของเอทานอลในด้านของสารป้อนลดลง ในขณะที่ความเข้มข้นในด้านตัวทำละลายอินทรีย์เพิ่มขึ้น ทำให้แรงขับเคลื่อนมีค่าลดลง ดังแสดงในภาพ 26

ภาพ 27 แสดงการหาค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลโดยรวม ( $k_{ov}$ ) สำหรับการทดลองการแยกเอทานอลโดยใช้ระบบเพอร์สแทรกซ์ผ่านเยื่อแผ่นซิลิโคน โดยใช้ข้อมูลที่ได้จากการทดลองดังที่ได้แสดงในภาพ 26 ซึ่งจะใช้ข้อมูลในช่วงเริ่มการทดลองที่การเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นเอทานอลอยู่ในช่วงที่มีลักษณะเป็นเส้นตรงเท่านั้น เนื่องจากอยู่ในช่วงของสภาวะคงตัวเทียม (pseudo-steady state) ทำให้การคำนวณค่าความชันมีความถูกต้องมากกว่าการเลือกใช้ข้อมูลทั้งหมดของการทดลอง ในการทดลองนี้จะพบว่าในช่วงเวลาเริ่มต้นจนถึงประมาณชั่วโมงที่ 20 จะได้ความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรง จึงใช้ข้อมูลช่วงนี้ในการคำนวณหาความชัน จากสมการที่ 32 การพล็อตกราฟระหว่างเวลาและค่าทางด้านขวาของสมการ จะได้ความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรง โดยที่ค่า  $k_{ov}$  สามารถหาได้จากความชันของกราฟ ซึ่งมีค่าเท่ากับ  $2.64 \times 10^{-6}$  เมตรต่อวินาที และมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ( $R^2$ ) เท่ากับ 0.9765 วิธีการหาค่า  $k_{ov}$  จากการทำทดลองนี้ จะถูกใช้ในการศึกษาตัวแปรต่าง ๆ ที่ส่งผลต่อค่า  $k_{ov}$  เช่น ผลจาก Reynolds number และความหนาของชั้นเยื่อแผ่น เป็นต้น



ภาพ 26: การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเอทานอลในด้านของตัวทำละลายอินทรีย์ (1-เดคานอล) ในระหว่างการศึกษการถ่ายเทมวลผ่านเยื่อแผ่นซิลิโคนด้วยระบบเพอร์สแทรกชั่น ( $\delta = 300$  ไมครอน  $V_{org} = 500$  มิลลิลิตร  $V_{aq} = 2$  ลิตร  $E^0 = 10\%$  และ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ตามลำดับ)



ภาพ 27: การหาค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลโดยรวม ( $k_{ov}$ ) โดยใช้กราฟจากภาพ 26

### 3.3.3 ผลของความหนาของเยื่อแผ่น

จากการที่ได้กล่าวมาแล้วก่อนหน้านี้แล้วว่า เยื่อแผ่นซีลิกอนจะพองตัวออกในองศาที่ต่างกัน เมื่อสัมผัสกับตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ โดยที่จะส่งผลต่อค่าปัจจัยต่าง ๆ ด้วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวของเอทานอลในชั้นของเยื่อแผ่น  $P_{aq}^{mem}$  ถ้าหากค่า  $P_{aq}^{mem}$  สูง จะมีผลทำให้เอทานอลสามารถที่จะแพร่ผ่านชั้นของเยื่อแผ่นได้ดี เนื่องมาจากความต้านทานที่เกิดจากด้านชั้นของเยื่อแผ่นมีน้อย ทำให้ความหนาของเยื่อแผ่นจะไม่มีผลต่อค่า  $k_{ov}$  ดังนั้นขั้นตอนที่ควบคุมปฏิกิริยา (rate limiting step) จะอยู่ที่ความต้านทานที่เกิดขึ้นในด้านของสารป้อนเท่านั้น นอกจากนี้ค่า  $P_{aq}^{org}$  ที่สูงก็จะมีส่วนเสริมให้  $P_{aq}^{mem}$  มีค่าที่สูงตามไปด้วย แต่ในการทดลองนี้ พบว่าดีกรีการพองตัวของเยื่อแผ่นซีลิกอนเมื่อทำให้อิมตัวด้วยตัวทำละลายอินทรีย์มีค่าน้อยมาก อีกทั้งจากการศึกษา  $P_{aq}^{mem}$  ของเยื่อแผ่นซีลิกอนที่ผ่านการทำให้อิมตัวด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ (1-เดคานอล และ เพนทานอล) พบว่าทั้งสองชนิดมีค่า  $P_{aq}^{mem}$  ที่ต่ำ (น้อยกว่า 5) ถึงแม้ว่าค่า  $P_{aq}^{org}$  ของ 1-เดคานอล จะมีค่าสูงก็ตาม (105)

ดังนั้นเยื่อแผ่นซีลิกอนที่ใช้ในการทดลองนี้ ความต้านทานที่เกิดขึ้นจากเยื่อแผ่น (membrane resistance,  $k_{mem}$ ) จะมีความสำคัญต่อค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลเป็นอย่างมาก ซึ่งค่า  $k_{mem}$  นั้นจะถูกควบคุมจากปัจจัยต่าง ๆ 3 ปัจจัยคือ  $P_{aq}^{mem}$  ความหนาของเยื่อแผ่น ( $\delta$ ) และค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของเอทานอลในเยื่อแผ่นซีลิกอน ( $D_{mem}$ ) ดังสมการ

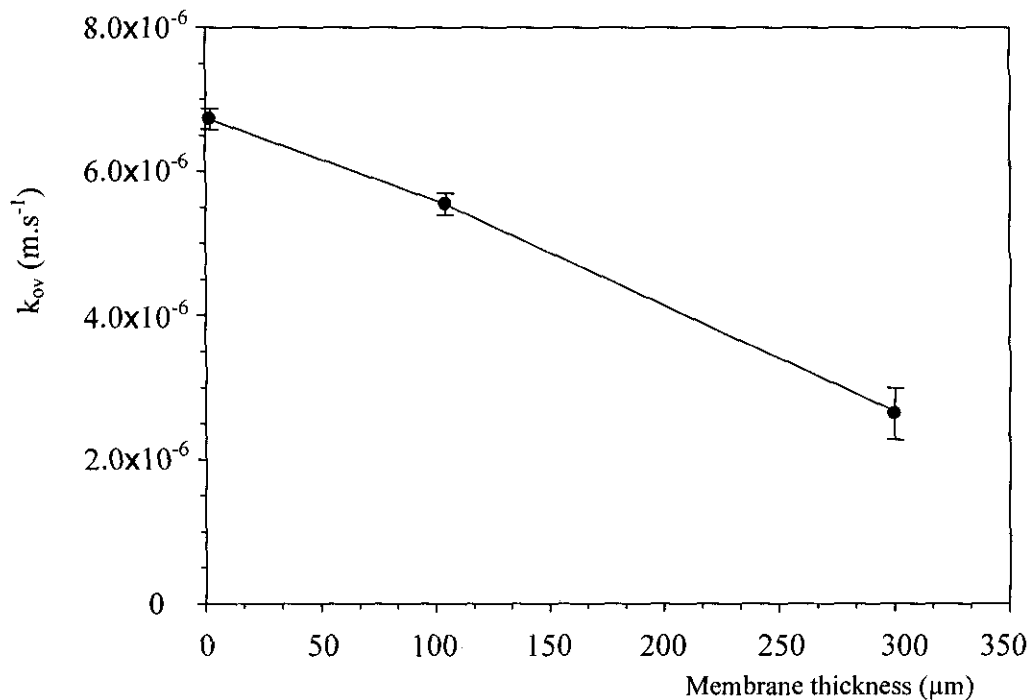
$$\frac{1}{k_{mem}} = \frac{\delta}{D_{mem} P_{aq}^{mem} P_{aq}^{org}} \quad 37$$

จากการวิเคราะห์แบบจำลองอนุกรมความต้านทาน (resistances in-series model) ของการถ่ายเทมวลผ่านเยื่อแผ่นซีลิกอนในระบบเพอร์สแทรกชัน จะพบว่าค่าความสามารถในการแพร่ผ่านของเอทานอลที่มีต่อชั้นเยื่อแผ่น (permeability) ที่สูง จะส่งผลให้อัตราการถ่ายเทมวลของเอทานอลมีค่าสูงขึ้นตามไปด้วย ในสภาวะการทดลองหนึ่ง ๆ ค่า  $D_{mem}$ ,  $P_{aq}^{mem}$  และ  $P_{aq}^{org}$  จะมีค่าคงที่ ดังนั้นความหนาของเยื่อแผ่นจะมีผลโดยตรงต่อความสามารถในการแพร่ผ่านของเอทานอลที่มีต่อชั้นเยื่อแผ่น โดยสรุปแล้วการใช้เยื่อแผ่นในการทดลองนี้ จึงจำเป็นต้องใช้เยื่อแผ่นที่มีความบางมาก เพื่อทำให้ความต้านทานที่มีจากด้านของเยื่อแผ่น มีค่าน้อยที่สุด

การทดลองนี้ได้มีการทดสอบเยื่อแผ่นซีลิกอนที่มีความหนา 3 ระดับ คือ 300 ไมครอน 100 ไมครอน และ ประมาณ 2 ไมครอน (เยื่อแผ่นเชิงประกอบ) ภาพ 28 แสดงผลของความหนาของเยื่อแผ่นซีลิกอน ( $\delta$ ) ที่มีต่อค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลโดยรวม ซึ่งสภาวะการทดลองได้มีการจำกัดค่า Reynolds number ของด้านสารป้อนและด้านตัวทำละลายอินทรีย์ไว้ที่ 4000 และ 250 ตามลำดับ ทั้งนี้

เพื่อให้แน่ใจว่าในขณะที่ทำการทดลองได้เกิดสภาวะการไหลแบบปั่นป่วน (turbulent) ในด้านของสารป้อน ส่วนในด้านของตัวทำละลายอินทรีย์ เนื่องจากการแพร่ของเอทานอลใน 1-เดคานอล มีค่าสูงอยู่แล้ว จึงไม่จำเป็นต้องใช้อัตราป้อน (flow rate) ที่สูง ทำให้ในด้านของตัวทำละลายอินทรีย์สามารถใช้ปั๊มที่มีขนาดเล็กได้ เป็นการประหยัดงบในการลงทุนอีกด้วย ในด้านผลของการทดลอง พบว่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลโดยรวม ( $k_{ov}$ ) ของเยื่อแผ่นเชิงประกอบจะมีค่าสูงสุด ( $6.8 \times 10^{-6}$  เมตรต่อวินาที) ในขณะที่เยื่อแผ่นซิลิโคนที่มีความหนา 100 และ 300 ไมครอน พบว่ามีค่า  $k_{ov}$  เท่ากับ  $5.5 \times 10^{-6}$  และ  $2.6 \times 10^{-6}$  เมตรต่อวินาที ตามลำดับ

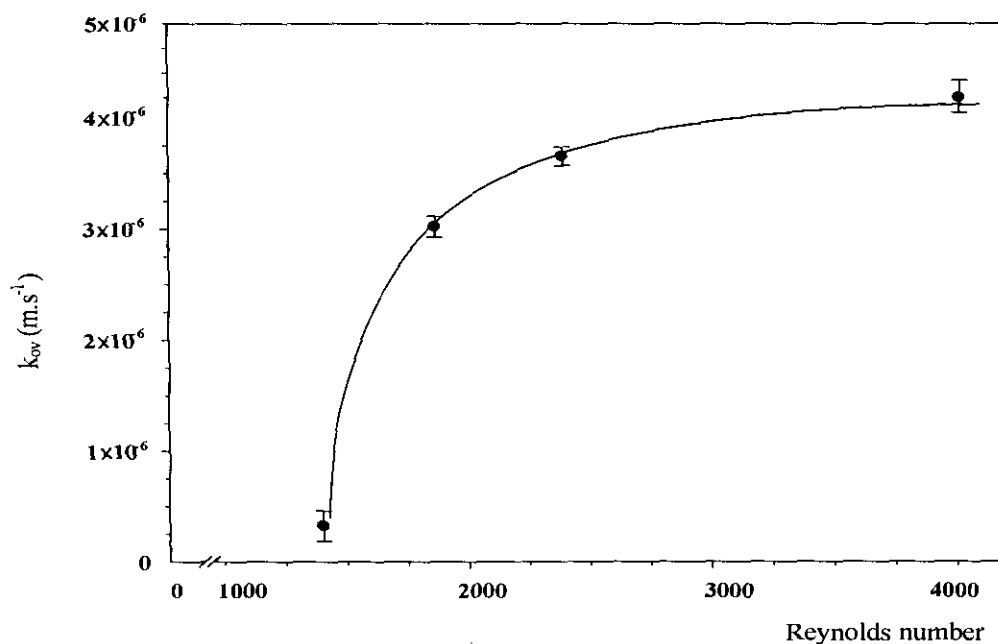
ในการทดลองนี้ สามารถสรุปได้ว่าความหนาของเยื่อแผ่นมีผลต่ออัตราการถ่ายเทมวลโดยรวมของเอทานอล เยื่อแผ่นที่หนาจะทำให้อัตราการถ่ายเทมวลช้ากว่าการใช้เยื่อแผ่นที่มีขนาดบางกว่า ดังนั้นการผลิตเยื่อแผ่นเชิงประกอบซึ่งมีความหนาของชั้นซิลิโคนที่บางมากขึ้น จะทำให้ค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลโดยรวมมีค่าสูงสุด ดังนั้นการทดลองนี้จะใช้เยื่อแผ่นเชิงประกอบที่ผลิตขึ้นเพื่อศึกษาการแยกเอทานอลออกจากน้ำหมักควบคู่ไปกับกระบวนการหมักในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ



ภาพ 28: ผลจากความหนาของเยื่อแผ่นที่มีต่อค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลโดยรวม ( $V_{org} = 500$  มิลลิลิตร  $V_{aq} = 2$  ลิตร,  $E^0 = 10\%$   $Re_{aq} = 4000$   $Re_{org} = 150$  และ อุณหภูมิ 30 เซลเซียส)

### 3.3.4 ผลของอัตราการป้อน

ผลของอัตราการไหลของสารป้อน (ซึ่งสามารถคำนวณกลับให้เป็น Reynolds number ได้) สามารถส่งผลกระทบต่อสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลโดยรวมของเอทานอลผ่านเยื่อแผ่นในระบบเพอร์สแทรกซ์ชัน ภาพ 29 แสดงผลของ Reynolds number ที่มีต่อค่า  $k_{ov}$  ในทางทฤษฎีแล้ว ชั้นขอบเขตจะเกิดขึ้นเสมอจากด้านผิวสัมผัสของเยื่อแผ่นกับด้านของสารป้อน (aqueous-membrane interface) เมื่ออัตราการไหลของสารป้อนสูง จะเกิดการไหลแบบปั่นป่วน (turbulent) ขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม ลักษณะการไหลแบบปั่นป่วนนี้จะสิ้นสุดลงที่บริเวณผิวของเยื่อแผ่นในด้านของน้ำ (aqueous boundary layer) ซึ่งเป็นชั้นของเหลวที่จะไม่มีการเคลื่อนที่เลย (stagnant film) ทำให้การถ่ายเทมวลของเอทานอลในสารละลายที่ผ่านชั้นขอบเขตนี้จะเกิดขึ้น โดยการแพร่ (diffusion) เท่านั้น ในขณะที่การถ่ายเทมวลภายนอกชั้นขอบเขต (ภาพ 14) จะเกิดขึ้นทั้งจากการแพร่และการพา (convective flow) ซึ่งการถ่ายเทมวลโดยการพานี้ จะเกิดขึ้นเนื่องจากการเกิดน้ำวนหรือที่เรียกว่า eddies โดยที่น้ำวนที่เกิดขึ้น จะมีความสามารถในการถ่ายเทมวลมากกว่าการแพร่เป็นอย่างมาก



ภาพ 29: ผลของค่า Reynolds ของน้ำที่มีต่อสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลโดยรวม ( $Re_{org} = 250$  อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และใช้เยื่อแผ่นเชิงประกอบในการทดลอง)

ในการทดลองนี้ได้มีการควบคุมอัตราการไหลของสารป้อนอยู่ที่ 0.42-1.20 ลิตรต่อนาที ซึ่งจะเทียบได้กับค่า Reynolds number ในช่วง 1400-4000 ดังนั้นลักษณะการไหลของสารป้อนจะอยู่ในช่วงการไหลแบบทรานซิชัน และแบบปั่นป่วน (turbulent) ค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลโดยรวมที่ได้ มีค่าแปรผันอยู่ในช่วง  $3.46 \times 10^{-7}$  ถึง  $4.21 \times 10^{-6}$  เมตรต่อวินาที ซึ่งเป็นการยืนยันทฤษฎีที่เกี่ยวกับผลของอัตราการไหลของสารป้อนต่อการเกิดชั้นขอบเขตในด้านที่สัมผัสกับเชื้อแผ่น ได้เป็นอย่างดี เมื่อค่า Reynolds number สูงขึ้น จะพบว่า  $k_{ov}$  เพิ่มขึ้นตามไปด้วย ( $k_{mem}$  คงที่) โดยที่การเพิ่มขึ้นของ Re ในช่วงการไหลแบบปั่นป่วนจะมีผลทำให้ค่า  $k_{ov}$  เพิ่มขึ้นในอัตราที่น้อยกว่าการเพิ่ม Re ในช่วงทรานซิชัน ทั้งนี้เนื่องจากความหนาของชั้นขอบเขตจะถูกควบคุมโดยลักษณะการไหลของสารป้อน เมื่ออัตราการไหลของสารป้อนมีค่าสูง จะทำให้ชั้นขอบเขตมีความบางมากกว่าการเกิดชั้นขอบเขตที่เกิดขึ้นจากอัตราการไหลที่ต่ำกว่า ดังนั้น ขั้นตอนการแพร่ผ่านชั้นขอบเขตในด้านน้ำนี้ จะเป็นขั้นตอนที่กำหนดลักษณะการถ่ายเทมวลของเอทานอลผ่านเชื้อแผ่น โดยรวม (rate limiting step)

### 3.4 จลศาสตร์การหมัก (fermentation kinetics)

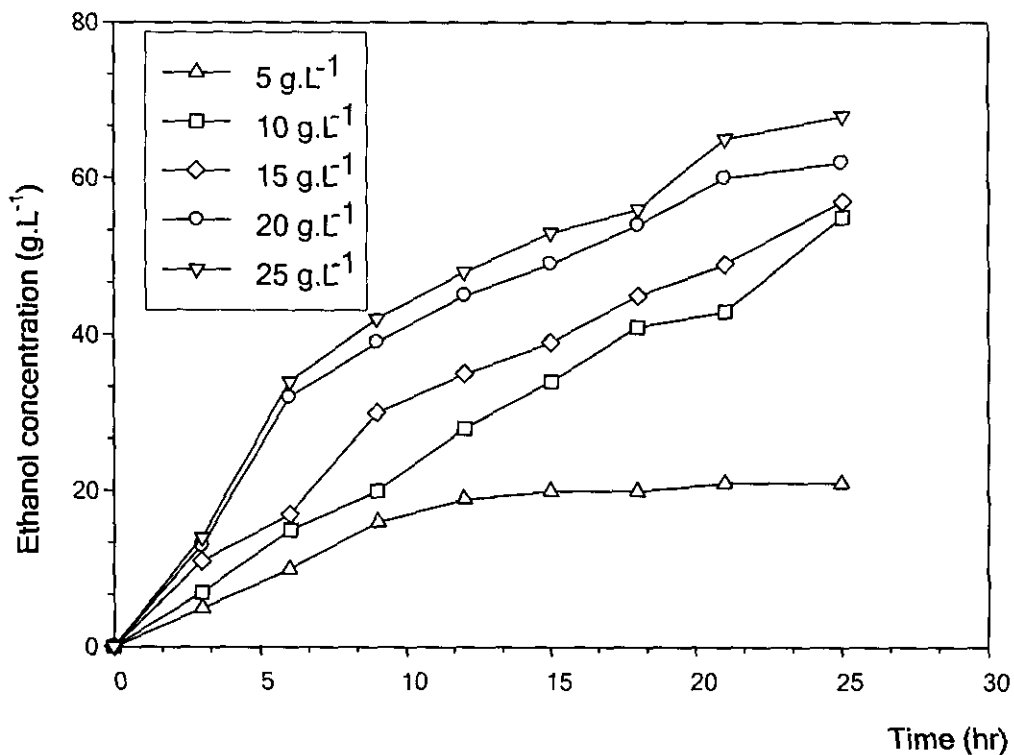
จุดประสงค์ของงานวิจัยในส่วนนี้ คือ เพื่อที่ศึกษาความเข้มข้นชีวมวลหรือ เซลล์ยีสต์ ที่มีผลต่ออัตราการผลิตเอทานอลและอัตราผลผลิต (Yield) ในกระบวนการหมักแบบกะ โดยทำการทดลองแปรผันปริมาณชีวมวลเพื่อใช้ในกระบวนการหมักแบบกะ ซึ่งทำการปั่นเหวี่ยงเซลล์ เก็บเกี่ยวเซลล์ และเติมน้ำเพื่อทำเป็นของเหลวให้ได้ความเข้มข้นตามต้องการ (5-25 กรัมต่อลิตร) ก่อนที่จะเติมกากน้ำตาล จากนั้นทำการทดลองหมักในเครื่องปั่นเหวี่ยงเพื่อช่วยให้เซลล์มีการกระจายตัว โดยมีการควบคุมความเร็วรอบให้มีความคงที่

#### 3.4.1 ผลของความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้น

จากการทดลองที่ได้ พบว่าที่ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์ 5, 10, 15, 20 และ 25 กรัมต่อลิตร มีอัตราการผลิตเอทานอล คือ 1.90, 2.46, 3.35, 5.32 และ 6.14 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ดังภาพ 31 จากผลการทดลองที่ได้สรุปได้ว่าที่ความเข้มข้นของชีวมวลสูงจะมีอัตราการผลิตเอทานอลสูง โดยมีความเข้มข้นเอทานอลในขั้นตอนสุดท้ายของการหมักได้ประมาณ 50-60 กรัมต่อลิตร ยกเว้นที่ความเข้มข้นของยีสต์ที่ 5 กรัมต่อลิตร สามารถผลิตเอทานอลได้ประมาณ 20 กรัมต่อลิตร สำหรับการยับยั้งโดยเอทานอลนั้นเป็นปัญหาสำคัญในกระบวนการหมัก ซึ่งถือได้ว่าเป็นแบบแผนการผลิตเอทานอลในการประยุกต์กระบวนการต่างๆ ต่อไป (Wu and Lee, 1997)

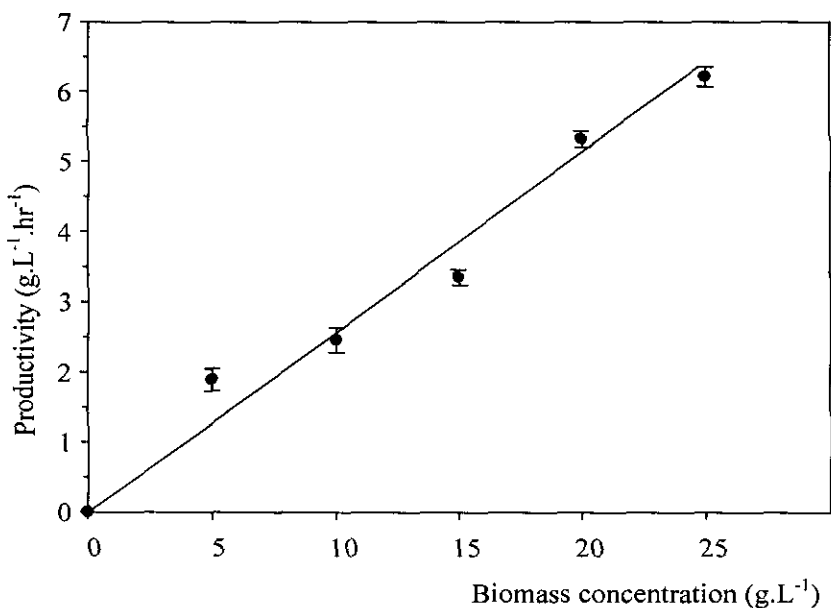
การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเอทานอลจากกากน้ำตาลย่อยโดย *S. cerevisiae* ในกระบวนการหมักแบบกะดังแสดงในภาพ 30 จากผลการทดลองพบว่าในทุกการทดลอง (ความเข้มข้น

เซลล์ 5-25 กรัมต่อลิตร) มีความสัมพันธ์ที่แปรผันตรงนั่นคือ อัตราการผลิตเอทานอลจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์ ในขณะที่ระยะสุดท้ายของกระบวนการหมักจะมีอัตราการผลิตเอทานอลที่ลดลง และ ปฏิกริยาการหมักจะสิ้นสุดลงในที่สุด ซึ่งสาเหตุที่สำคัญของปัญหานี้ เกิดขึ้นเนื่องจากเกิดการยับยั้งเชื้อยีสต์โดยเอทานอลที่ถูกผลิตขึ้น ในปริมาณที่เป็นพิษต่อเซลล์นั่นเอง นอกจากนี้ ความเข้มข้นของเซลล์ที่สูงกว่าจะมีความสามารถในการทดพิษของเอทานอลได้ดีกว่าอีกด้วย ดังจะเห็นได้ว่าความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์ที่ 5 กรัมต่อลิตรจะผลิตเอทานอลได้น้อยที่สุด และ ปฏิกริยาการหมักจะยุติลงก่อนความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์อื่น ๆ



ภาพ 30: การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเอทานอลในน้ำหมัก เมื่อมีการใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นเซลล์ยีสต์ที่แตกต่างกัน (ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 125 กรัมต่อลิตร อุณหภูมิ = 30 องศาเซลเซียส และ ความเร็วรอบของการเขย่าเท่ากับ 250 รอบต่อนาที)





ภาพ 31: แสดงผลของความเข้มข้นเริ่มต้นเซลล์ยีสต์ต่อค่าผลิตผลของเอทานอล (คำนวณจากภาพ 30)

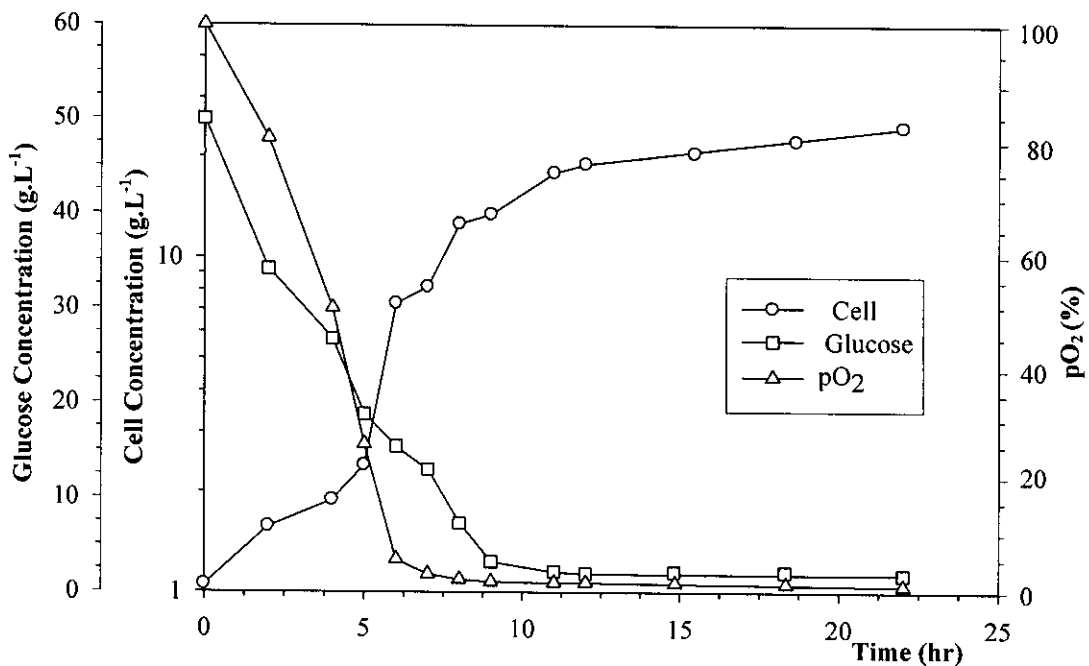
สำหรับข้อ ได้เปรียบในกระบวนการใช้เซลล์ความเข้มข้นสูงนั้นพบว่า จะสามารถลดการปนเปื้อนจากแบคทีเรียหรือจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้ ดังนั้นในระหว่างกระบวนการหมักจึงมีการควบคุมระบบให้ระดับความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์ที่สูง ผลการทดลองพบว่าในกระบวนการดังกล่าวนี้มีอัตราการเจริญของเซลล์ยีสต์สูงภายใต้สภาวะไม่มีออกซิเจน สภาวะนี้เป็นสภาวะที่ยีสต์ *S. cerevisiae* สามารถเจริญได้และมีการผลิตเอทานอลได้ (Banat *et al.*, 1998) ด้วยสาเหตุนี้จึงมีการใช้เซลล์ที่มีความเข้มข้นสูงควบคู่กับกระบวนการหมักแบบกึ่งกะเพื่อช่วยเพิ่มทั้งอัตราการผลิตเอทานอลและผลผลิตเอทานอลที่ได้ ในการศึกษาต่อไปมีการเลี้ยงเซลล์เพื่อให้ได้ความเข้มข้นสูงเพื่อนำไปใช้ในกระบวนการหมักแบบกึ่งกะต่อไป

### 3.4.2 การเลี้ยงเซลล์เพื่อให้ได้เซลล์เข้มข้น (high-cell-density cultivation)

ในกระบวนการหมักนี้จะได้รับประโยชน์ที่ควรจะเป็นไปได้ 2 แนวทางคือ เพื่อเพิ่มอัตราการผลิตเอทานอลและประการที่สองคือสามารถลดการปนเปื้อนโดยใช้การหมักหรือการเลี้ยงเซลล์เพื่อให้ได้ความเข้มข้นสูง ดังนั้นในการวิจัยนี้จึงมีการพัฒนากระบวนการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาลโดยใช้เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* เพื่อที่จะเพิ่มอัตราการผลิตเอทานอล นอกจากนั้นมีการประยุกต์เซลล์ความเข้มข้นสูงเพื่อที่จะป้องกันหรือลดผลการยับยั้งจากทั้งน้ำหมักและเอทานอลที่มีต่อเซลล์ยีสต์ (Converti

et al., 2003) ซึ่งจะเริ่มด้วยการลงเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ในอาหาร YM และเลี้ยงเซลล์ข้ามคืนให้เจริญ เพื่อใช้เก็บไว้เป็นกล้าเชื้อสำหรับกระบวนการหมักในถังปฏิกรณ์ชีวภาพต่อไป

ภาพ 32 แสดงผลการทดลองในการเลี้ยงเซลล์ยีสต์เพื่อให้ได้ความเข้มข้นสูงในอาหาร YM พบว่า หลังจากมีการถ่ายเชื้อความเข้มข้นของเซลล์เพิ่มขึ้น โดยมีระยะปรับตัว (lag phase) สั้น ประมาณ 5 ชั่วโมง ระยะการเจริญทวีคูณ (exponential phase) เป็นระยะที่เซลล์มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยใช้เวลาประมาณ 7 ชั่วโมง อัตราการเจริญจำเพาะของเซลล์ยีสต์ ( $\mu$ ) มีค่าประมาณ 0.42 ต่อชั่วโมง และความเข้มข้นของเซลล์จะเริ่มคงที่หลังจากมีการใช้น้ำตาลกลูโคสผ่าน ไป 22 ชั่วโมง โดยมีความเข้มข้นของเซลล์ประมาณ 25 กรัมต่อลิตร และถึงแม้ว่ามีวิธีอื่นที่สามารถเลี้ยงเซลล์ให้ได้ความเข้มข้นสูง แต่พบว่าวิธีที่ใช้ทดลองในการวิจัยนี้สามารถทำได้ง่ายและให้ผลเป็นที่น่าพอใจ ระบบสามารถที่จะควบคุมได้ง่ายไม่สลับซับซ้อน และได้เซลล์ยีสต์ที่มีความเข้มข้นสูงจากการทดลองนี้เพื่อเก็บไว้ใช้ในการทดลองส่วนต่อไป

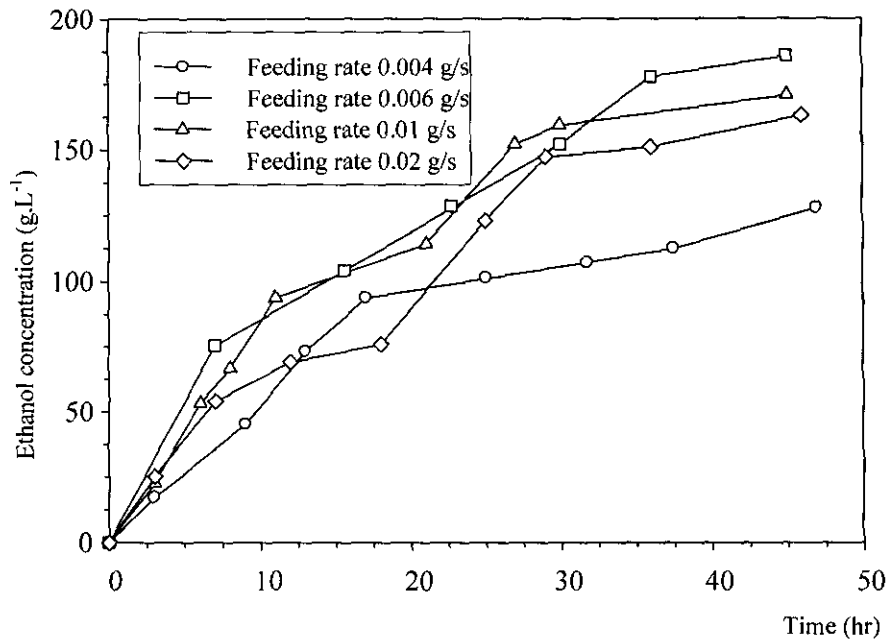


ภาพ 32: การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบต่างๆ ในน้ำหมัก ระหว่างการเลี้ยงเชื้อยีสต์เพื่อให้ได้เซลล์เข้มข้น (pH = 5.5 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส)

### 3.4.3 ผลของอัตราการป้อนกากน้ำตาลอ้อย

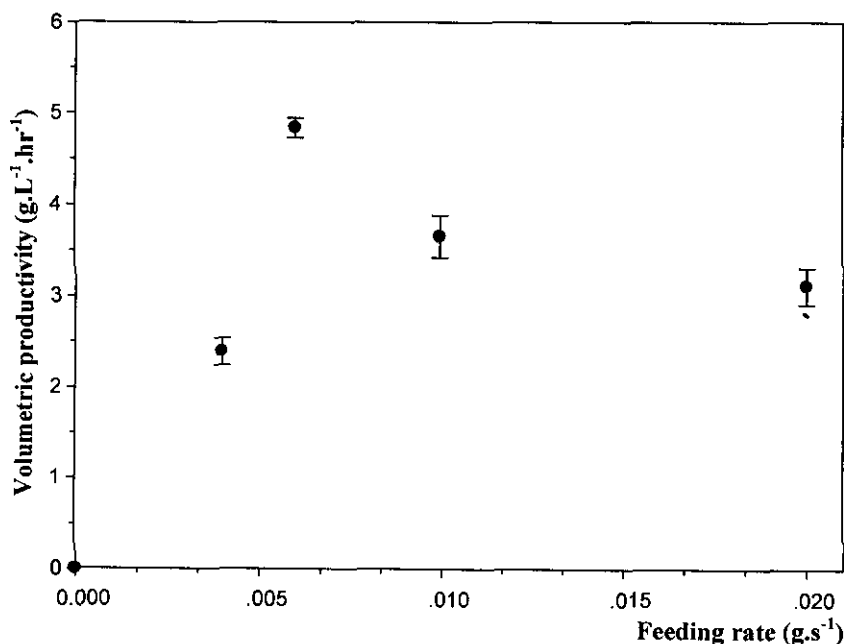
กระบวนการหมักเอทานอลแบบกะนั้นผลการทดลองพบว่าเมื่อผลผลิตเอทานอลต่ำ อาจเนื่องมาจากสาเหตุที่เกิดการยับยั้งจากสารตั้งต้นที่มีความเข้มข้นสูงและผลผลิตที่ได้มีผลยับยั้งต่อเซลล์ยีสต์ ดังนั้นเพื่อที่จะสามารถแก้ไขปัญหาดังกล่าวในการทดลองนี้จึงมีการใช้กระบวนการหมักแบบกึ่งกะร่วมกับการใช้ความเข้มข้นเซลล์ยีสต์ที่สูง ในกระบวนการมีการใช้ peristaltic pump เพื่อเพิ่มปริมาณกากน้ำตาลน้ำหมักอย่างต่อเนื่องหลังจากที่เซลล์ยีสต์หยุดเจริญเติบโต ในการให้อากาศนั้นจะหยุดลงเพื่อที่จะปรับให้สภาวะในกระบวนการหมักอยู่ในสภาพไม่มีออกซิเจน ค่าคงที่ของอัตราการป้อนกากน้ำตาล(ค่าคงที่ของอัตราการป้อนเทียบกับที่เวลาเริ่มต้น,  $K = 0$ ) ใช้เพื่อที่แปรเปลี่ยนเพิ่มหรือลดอัตราการป้อน ( $K < 0$  or  $> 0$ ) ผลพบว่าอัตราการผลิตเอทานอลที่ได้ไม่แปรผันตรง (ไม่เป็นเส้นตรง) ตามสมการที่ 1 สำหรับกากน้ำตาลที่ถูกบีบเข้าสู่ถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่อัตราการป้อนคงที่นั้นมีค่าอยู่ระหว่าง 0.004 กรัมต่อวินาที 0.02 กรัมต่อวินาที และมีการควบคุมระบบการทำงานให้คงที่ ภาพ 33 ได้มีการแสดงผลของอัตราการป้อนกากน้ำตาลเข้าสู่ระบบในกระบวนการหมักแบบกึ่งกะ ในระหว่างการทดลองนี้ปริมาณของน้ำหมักเพิ่มขึ้นแต่ในระยะสุดท้ายของการหมักจะมีปริมาณที่ใกล้เคียงจากเริ่มต้นนั้นหมายความว่ามีการเปลี่ยนแปลงปริมาณเพียงเล็กน้อยในกระบวนการนี้ ปริมาณเริ่มต้นของน้ำหมักจะเกี่ยวข้องกับปริมาณ (มวล) ของกากน้ำตาลเพื่อใช้ในการป้อนกากน้ำตาลเข้าสู่ถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (ความหนาแน่นของกากน้ำตาล คือ 1.45 กรัมต่อมิลลิกรัม) จากการศึกษาในอัตราการป้อนที่ 0.004 กรัมต่อวินาที, 0.006 กรัมต่อวินาที, 0.01 กรัมต่อวินาที และ 0.02 กรัมต่อวินาที มีอัตราการผลิตเอทานอลเป็น 2.39, 4.83, 3.65 และ 3.31 กรัมต่อวินาทีต่อชั่วโมง ตามลำดับ

ความเข้มข้นของเอทานอลที่มีค่าต่ำที่สุด 130 กรัมต่อลิตร จากอัตราการป้อนกากน้ำตาลที่ 0.004 กรัมต่อวินาที อัตราการผลิตเอทานอลในการป้อนนี้มีค่าต่ำเมื่อเทียบกับที่อัตราการป้อนกากน้ำตาลอื่นๆ เป็นที่ชัดเจนแล้วว่าเนื่องจากอัตราการป้อนกากน้ำตาลต่ำจะทำให้อัตราการผลิตเอทานอลต่ำด้วย ดังนั้นจึงมีการใช้อัตราการป้อนที่สูงในการทดลองต่อไป ความเข้มข้นของเอทานอลที่สูงที่สุด คือ 171 กรัมต่อลิตร ซึ่งได้จากอัตราการป้อนกากน้ำตาลที่ 0.006 กรัมต่อวินาที และปริมาณสุดท้ายอยู่ที่ ประมาณ 1.40 ลิตร ปริมาณของเอทานอลทั้งหมดที่ได้จากการทดลองนี้ คือความเข้มข้นของเอทานอลที่ได้เทียบกับปริมาณสุดท้าย (171 กรัมต่อลิตร  $\times$  1.4 ลิตร) ผลคือ 240 กรัม



ภาพ 33: ผลของอัตราการป้อนกากน้ำตาลต่อการผลิตเอทานอลในระบบการหมักแบบกึ่งกะ (อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส pH = 5.5 ปริมาตรเริ่มต้น 0.75 ลิตร)

เมื่อเปรียบเทียบในการทดลองแบบกะ (หัวข้อ 3.4.1 ที่มีความเข้มข้นชีวมวลเท่ากับ 20 กรัมต่อลิตร) สามารถผลิตเอทานอลมีค่าสูงกว่า 4 เท่าของความเข้มข้นเอทานอลสูงสุดที่ได้รับ ผลสำเร็จที่ได้รับนี้เนื่องมาจากปริมาณกากน้ำตาลที่มากในกระบวนการทดลอง นอกจากนั้นการยับยั้งจากความเข้มข้นของกากน้ำตาลที่สูงมีน้อย การผลิตเอทานอลโดยเชื้อยีสต์จะเริ่มหยุดลงในระยะสุดท้ายของกระบวนการหมักเหตุผลมาจากการสะสมปริมาณเอทานอลในน้ำหมักที่มากส่งผลให้เกิดการยับยั้งการผลิตและรบกวนเซลล์ยีสต์ อัตราการป้อนกากน้ำตาลที่ 0.01 กรัมต่อวินาที และ 0.02 กรัมต่อวินาที นั้นพบว่าอัตราการผลิตเอทานอลและความเข้มข้นของเอทานอลสุดท้ายต่ำกว่าอัตราการป้อนที่ 0.006 กรัมต่อวินาที (ดังภาพ 34) จากผลดังกล่าวไม่มีเหตุผลที่ชัดเจนแต่อาจเนื่องจากได้รับปริมาณกากน้ำตาลจากการป้อนเข้ามาเกินไป ดังนั้นอัตราการป้อนกากน้ำตาลที่ 0.006 กรัมต่อวินาทีที่มีความเหมาะสมที่สุดที่จะนำไปใช้ในการทดลองการแยกเอทานอลออกจากน้ำหมักในขณะที่กระบวนการหมักกำลังดำเนินต่อไป (*in situ* ethanol removal in a membrane bioreactor)



ภาพ 34: ผลของอัตราการป้อนกากน้ำตาลอ้อยต่อผลผลิตของเอทานอล (คำนวณจากภาพ 33)

### 3.5 การหมักเอทานอลควบคู่ระบบเพอร์สแทรกชันในถังหมักปฏิกรณ์ชีวภาพเมมเบรน

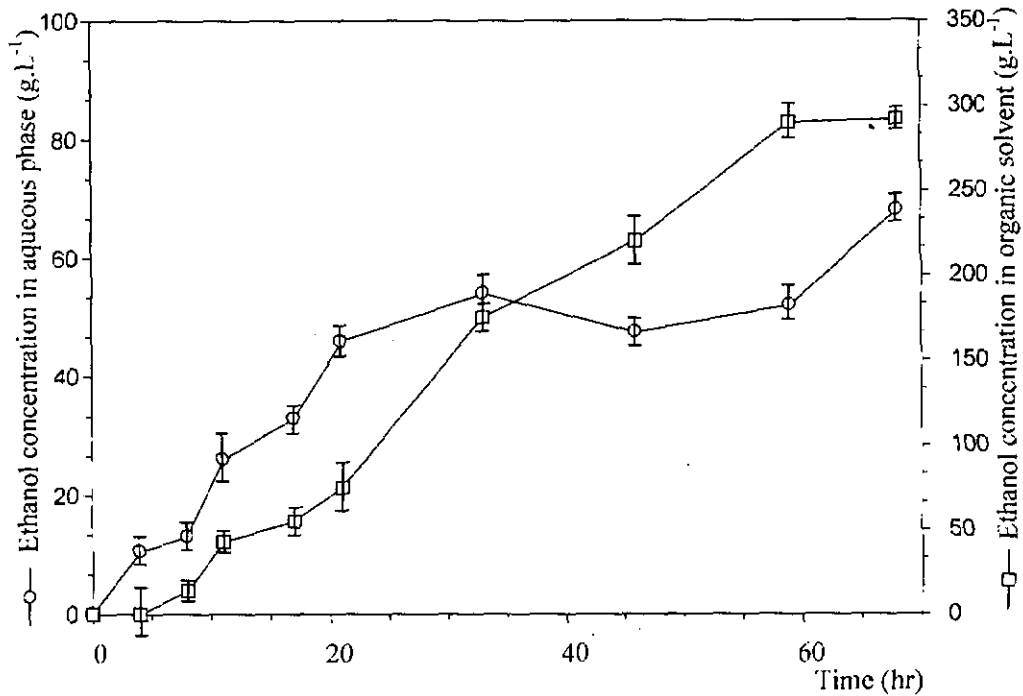
ถังหมักปฏิกรณ์ชีวภาพเมมเบรนเริ่มมีการใช้อย่างกว้างขวางเมื่อกว่า 7 ปีที่ผ่านมา โดยที่ระบบนี้จะเป็นการประสานระหว่างการคัดแยกสารผลิตภัณฑ์ออกจากระบบและเพิ่มปฏิกิริยาทางชีวเคมีที่เกิดขึ้น (Giomo and Drioli, 2000) การแยกผลิตภัณฑ์ออกตลอดเวลาจะทำให้ความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ในน้ำหมักต่ำอยู่เสมอ ซึ่งจะมีประโยชน์มากในกรณีที่ผลิตภัณฑ์มีผลในการก่อให้เกิดความเป็นพิษของเอทานอล สำหรับเทคนิคการแยกผลิตภัณฑ์ขณะกระบวนการกำลังดำเนินการ (*in situ* product removal technique) นั้นถูกนำมาศึกษาเนื่องจากสามารถควบคุมระบบได้ง่ายและผลผลิตจะไม่ยับยั้งกระบวนการหรือปฏิกิริยา ซึ่งจากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่ากระบวนการหมักแบบกึ่งกะมีปัญหาจากการยับยั้งโดยเอทานอลที่เป็นผลผลิตที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมัก การแยกหรือเก็บเกี่ยวเอทานอลออกจากระบบจะสามารถช่วยลดการยับยั้งต่างๆที่ยังช่วยเพิ่มอัตราการผลิตและผลผลิตเอทานอลที่เกิดขึ้น ซึ่งจะมีการคำนวณพื้นที่ผิวของเยื่อแผ่นที่ต้องการเพื่อให้เหมาะสมกับกระบวนการที่จะเกิดขึ้น อัตราการถ่ายเทมวลเอทานอลไปยังสารละลายอินทรีย์สามารถจะหาได้จากสมการดังนี้

$$-N_i = k_{ov} A \Delta C$$

เพื่อที่จะทำให้ระบบการผลิตเอทานอลโดยใช้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพนี้ เกิดประสิทธิภาพสูงสุด ระบบควรที่จะไม่ถูกจำกัดด้วยการถ่ายเทมวล (mass transfer limited) กล่าวคืออัตราการผลิตของเอทานอลควรที่จะต่ำกว่าอัตราการถ่ายเทมวลผ่านเยื่อแผ่นซิลิโคน หากอัตราการผลิตของเอทานอลสูงกว่าอัตราการถ่ายเทมวล จะทำให้เกิดการสะสมตัวของเอทานอลในด้านของน้ำหมัก ซึ่งอาจจะส่งในการยับยั้งเชื้อยีสต์ได้ ดังนั้นการคำนวณหาค่าพื้นที่ของเยื่อแผ่นที่ต้องการ จึงเป็นสิ่งที่สำคัญ จากสมการที่ 38 อัตราการถ่ายเทมวลของเอทานอลผ่านเยื่อแผ่นซิลิโคน ( $N_i$ ) สามารถที่จะประมาณค่าได้จากอัตราการผลิตของเอทานอลที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมัก จากหัวข้อ 3.4.3. ในระบบการหมักแบบกึ่งกะที่อัตราการป้อนกากน้ำตาลอ้อยที่ 0.06 กรัมต่อวินาที อัตราการผลิตของเอทานอลจะอยู่ที่ 4.83 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งปริมาตรเริ่มต้นของน้ำหมักอยู่ที่ 0.75 ลิตร ดังนั้น อัตราการผลิตเชิงปริมาตร หรือ volumetric productivity ในกรณีนี้คือ 3.62 กรัมต่อชั่วโมง หรือ  $1.01 \times 10^{-3}$  กรัมต่อวินาที ซึ่งในกรณีนี้จะถูกใช้เป็นตัวคูณค่าอัตราการถ่ายเทมวลของเอทานอลผ่านเยื่อแผ่น ( $N_i$ ) ส่วนค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลโดยรวม ( $k_{ov}$ ) นั้น ได้ถูกเลือกจากการใช้เยื่อแผ่นเชิงประกอบที่มีค่าเท่ากับ  $6.8 \times 10^6$  เมตรต่อวินาทีจากหัวข้อ 3.3.3 ซึ่งมีค่า Reynolds number ของด้านสารป้อนอยู่ที่ 4000 และด้านตัวทำละลายอินทรีย์ที่ 250 นอกจากนี้แรงขับเคลื่อนที่เกิดขึ้นเนื่องจากความต่างของความเข้มข้นระหว่างทั้งสองด้านของเยื่อแผ่น ( $\Delta C$ ) ถูกเลือกที่ 3 กรัมต่อลิตร ค่า  $\Delta C$  นี้ เป็นค่าที่ตั้งขึ้นโดยการพิจารณาจากความเข้มข้นของเอทานอลในน้ำหมักที่ไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเซลล์ จากการประมาณพื้นที่ผิวของเยื่อแผ่นที่ต้องการ โดยทำการแทนค่าต่าง ๆ ที่ได้กล่าวมาแล้วในสมการที่ 38 พบว่าพื้นที่ผิวที่ต้องการคือ 49.5 ตารางเซนติเมตร และใช้ปริมาตรของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ 1.0 ลิตร ดังนั้นเยื่อแผ่นที่ถูกผลิตขึ้นในการทดลองนี้ (พื้นที่ผิวสัมผัส 100 ตารางเซนติเมตร) ก็เพียงพอแล้วที่จะใช้ในการทดลองนี้

ภาพ 35 แสดงผลการทดลองการแยกเอทานอลออกจากน้ำหมัก ในขณะที่การหมักกำลังดำเนินไปด้วยระบบเพอร์สแทรกชัน โดยจุดประสงค์หลักของการทดลองนี้คือการประยุกต์ใช้เทคนิคดังกล่าวเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการหมักของเชื้อยีสต์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ทั้งอัตราการผลิตและผลผลิตของเอทานอล การทดลองนี้ได้ใช้ปริมาตรของน้ำหมักเริ่มต้นที่ 0.75 ลิตรและปริมาตรของ 1-เดคานอลที่ 1.0 ลิตรตามลำดับ เนื่องจากปริมาณของเซลล์ยีสต์ในตอนเริ่มต้นของการหมัก จะมีผลอย่างมากต่อประสิทธิภาพของระบบทั้งอัตราการผลิต และ ปริมาณของเอทานอลที่ผลิตได้ (Alexander *et al.*, 1989) ดังนั้นในการทดลองนี้ จึงได้ทำการเลี้ยงเชื้อเพื่อให้ได้ความเข้มข้นของเซลล์ที่สูง (ประมาณ 25 กรัมต่อลิตร) ก่อนที่จะเริ่มป้อนกากน้ำตาลอ้อย ในขณะเดียวกันได้มีการบีมน้ำหมักและตัวทำละลายอินทรีย์

ผ่านในแต่ละด้านของเยื่อแผ่น เอทานอลที่ถูกเขี่ยสกัดผลึกขึ้น ก็จะถูกดูดซับและแพร่ผ่านเยื่อแผ่น ก่อนที่จะคายออกจากเยื่อแผ่นในด้านของตัวทำละลายอินทรีย์ต่อไป



ภาพ 35: ความเข้มข้นของเอทานอลในน้ำหมักและ 1-เดคานอลในระหว่างการหมักแบบกึ่งควบคู่ไปกับระบบเพอร์สแทรกชั่น

ในภาพ 35 จะเห็นได้ว่าความเข้มข้นของเอทานอลในตัวทำละลายอินทรีย์นั้นจะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นหลังจากที่เริ่มการทดลองไปแล้วประมาณ 5 ชั่วโมงเนื่องจากก่อนหน้านี้ เป็นช่วงเวลาที่เอทานอลได้ถูกดูดซับและอยู่ระหว่างการแพร่ผ่านชั้นของเยื่อแผ่นซิลิโคน อีกทั้งในระยะแรกของการหมักจะมีเอทานอลเกิดขึ้นในปริมาณที่ยังไม่มากนัก ทำให้แรงขับเคลื่อนที่เกิดขึ้นเนื่องจากความต่างของความเข้มข้นระหว่างทั้งสองด้านของเยื่อแผ่น ( $\Delta C$ ) มีค่าต่ำ หลังจากที่ผ่านมาชั่วโมงที่ 5 ไปแล้ว พบว่าความเข้มข้นของเอทานอลใน 1-เดคานอลจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ และมีความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงกับเวลาที่ผ่านไป ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความสำเร็จในการประยุกต์ใช้ระบบเพอร์สแทรกชั่นควบคู่ไปกับการหมัก โดยใช้ความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้นที่สูง นอกจากนี้ความเข้มข้นสูงสุดของเอทานอลที่ได้ในด้านของตัวทำละลายอินทรีย์คือประมาณ 300 กรัมต่อลิตรหลังจากที่เวลาผ่านไป 60 ชั่วโมง สำหรับในด้านของน้ำหมักนั้นพบว่าเอ

ทานอลได้ถูกผลิตขึ้นตั้งแต่ระยะแรกของการทดลอง (อัตราการป้อนกากน้ำตาลที่ 0.006 กรัมต่อวินาที) โดยที่ความเข้มข้นของเอทานอลมีค่าคงที่อยู่ที่ประมาณ 50 กรัมต่อลิตรก่อนที่จะเพิ่มขึ้นเป็น 75 กรัมต่อลิตรในช่วงสุดท้ายของการทดลอง หากนำผลการทดลองที่ได้นี้ ทำการเปรียบเทียบกับกรณีหมักแบบกึ่งกะ จะพบว่าการใช้ระบบเพอร์สแทรกซ์ร่วมกับกรณีหมักนี้ได้ผลการทดลองที่ดีกว่าอย่างชัดเจน ทั้งในด้านการลดค่าความเป็นพิษของเอทานอลที่มีต่อเซลล์ยีสต์และอัตราการผลิตเอทานอล ซึ่งจะเห็นได้จากการที่ระบบสามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพและเวลาที่ยาวนาน อัตราการถ่ายเทมวลของเอทานอลที่ผ่านเยื่อแผ่น โดยเฉลี่ยอยู่ที่ 4.73 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตลอดช่วง 60 ชั่วโมงของการทดลอง ในขณะที่ปฏิริยาการหมักในแบบกึ่งกะจะหยุดอยู่ที่ประมาณ 40 ชั่วโมงเท่านั้น ผลผลิตของเอทานอลเทียบกับความเข้มข้นของเซลล์ ( $Y_{p,x}$ ) ในระบบเพอร์สแทรกซ์และการหมักแบบกึ่งกะ อยู่ที่ 12.0 และ 9.6 กรัมเอทานอลต่อกรัมเซลล์ ตามลำดับ การแยกเอาเอทานอลออกจากน้ำหมักในระหว่างที่ปฏิริยากำลังดำเนินไปอยู่นั้นจะส่งผลในการลดการสะสมของเอทานอลในน้ำหมัก ทำให้เชื้อยีสต์ไม่ถูกยับยั้ง และสามารถผลิตเอทานอลได้เพิ่มมากขึ้น ตลอดการทดลอง เชื้อยีสต์ทั้งหมดได้ถูกกักกันไว้ภายในถังหมัก เป็นการให้ตัวเร่งปฏิริยาที่มีอยู่ให้เกิดประโยชน์สูงสุด ในการทดลองนี้ได้มีการสังเกตว่ามีตัวทำละลายอินทรีย์ (Decanol) ในปริมาณที่เล็กน้อยได้ออสโมซิสผ่านเมมเบรนเข้าไปในถังหมัก โดยมีรายงานว่าพลาซซ์ของตัวทำละลายอินทรีย์จะขึ้นอยู่กับค่า  $Re_{o,s}$  ที่เพิ่มขึ้น (Doig *et al.*, 1999) ซึ่งในการทดลองนี้ได้มีการปั๊มตัวทำละลายอินทรีย์ในอัตราที่ต่ำมากจึงทำให้มีตัวทำละลายอินทรีย์ปริมาณดังกล่าวผ่านเข้าไปในถังหมัก อย่างไรก็ตาม decanol เป็นตัวทำละลายที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ยีสต์ (Van Keulen *et al.*, 1998) จึงไม่มีผลในการยับยั้งการทำงานของเซลล์ยีสต์ในการทดลองนี้

แต่อย่างไรก็ตาม พบว่าระบบปฏิริยาชีวภาพเมมเบรนดังกล่าว ทำงานได้เพียงแค่ 60 ชั่วโมงเท่านั้น ซึ่งสั้นกว่าที่ได้คาดการณ์ไว้ โดยที่สาเหตุที่แท้จริงนั้นยังไม่สามารถระบุได้ แต่อาจจะเกิดจากสาเหตุอื่น ๆ เช่นความเข้มข้นของน้ำตาลที่สูงมากเกินไปในระหว่างการหมักอาจจะส่งผลกระทบต่อแรงดันออสโมติกในเซลล์ได้ (Kazuhiko and Kozo, 1995) นอกจากนี้กากน้ำตาลย่อยยังอาจประกอบไปด้วยสิ่งเจือปนอื่น ๆ ที่อาจมีพิษและส่งผลกระทบต่อเซลล์ยีสต์ ตัวอย่างสารดังกล่าว เช่น อีออนเหล็ก, คาราเมล (caramel) และโดยเฉพาะอย่างยิ่งสารประกอบด้านเชื้อราที่ถูกเติมเข้าไปในกระบวนการผลิตกากน้ำตาลให้มีความสามารถเก็บรักษาไว้ได้นาน การศึกษาลักษณะความเป็นพิษของกากน้ำตาลย่อยต่อจุลศาสตร์การหมัก หรือ ต่อเซลล์ยีสต์โดยตรงนั้นอยู่นอกเหนือขอบเขตการศึกษาในโครงการวิจัยนี้ จึงไม่ได้ศึกษาในรายละเอียด



### 3.6 การศึกษาความคงตัวของระบบ (system stability)

โดยทั่วไปนั้นปัญหาที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักเอทานอลคือ จากการยับยั้งของการสะสมเอทานอลในน้ำหมักเป็นผลให้เซลล์ตาย (มีผลรบกวนต่อเชื้อหุ้มเซลล์ของยีสต์) ในหัวข้อก่อนนี้มีการศึกษากระบวนการแยกเอทานอลออกจากระบบขณะที่ระบบกำลังดำเนินการอยู่ (*in situ ethanol removal*) เพื่อที่จะเปรียบเทียบในด้านผลผลิตเอทานอลที่เกิดขึ้น พบว่ามีค่าสูงกว่าในระบบกระบวนการหมักแบบกึ่งกะ ดังนั้นเพื่อที่จะเป็นการยืนยันการทดลองจึงมีการศึกษาอัตราการตายจำเพาะของเซลล์ยีสต์ขึ้นโดยใช้วิธีการนับเซลล์โดยตรงผ่านกล้องจุลทรรศน์ (direct microscopic counting method) ซึ่งวิธีนี้เป็นที่นิยมและสามารถทำได้ง่ายและได้ผลถูกต้อง สำหรับหลักการของวิธีนี้นั้นเป็นการแบ่งแยกระหว่างเซลล์มีชีวิตและไม่มีชีวิตที่มีการย้อมสีเซลล์ยีสต์ด้วยสีเมทิลีนบลู (methylene blue) ก่อนที่จะส่องดูได้กล้องจุลทรรศน์ และพบว่ามีเพียงเซลล์ตายที่สามารถติดสีย้อมได้ สามารถบ่งบอกชนิดของเซลล์ได้อย่างชัดเจน ในการเก็บตัวอย่างเพื่อนำมาวิเคราะห์จะเก็บตัวอย่างอย่างต่อเนื่องเพื่อนำมาประเมินผลเซลล์ที่มีชีวิตและเซลล์ที่ไม่มีชีวิต เพื่อได้รับข้อมูลจึงมีการประมวลผลโดยใช้อัตราส่วนระหว่างจำนวนเซลล์มีชีวิต ( $c_x$ ) เปรียบเทียบกับเซลล์ตาย (ไม่มีชีวิต) ที่เวลาเริ่มต้นในการหมัก ( $C_x^0$ ) และสามารถคำนวณหาค่าค่าที่การตายของเซลล์จำเพาะได้โดยใช้สมการดังกล่าว

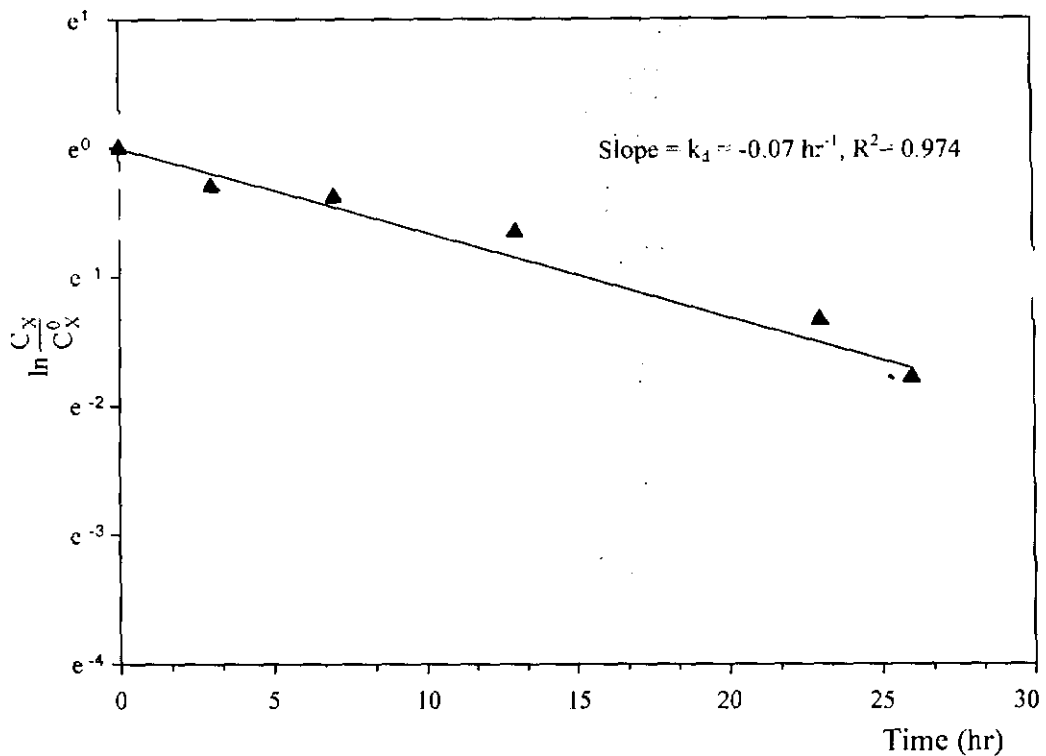
$$\frac{C_x}{C_x^0} = e^{-k_d t}$$

คำนวณโดยใช้ค่าลอการิทึม (logarithmic) ในสมการทั้งสองด้าน ได้เป็น

$$\ln \frac{C_x}{C_x^0} = -k_d t$$

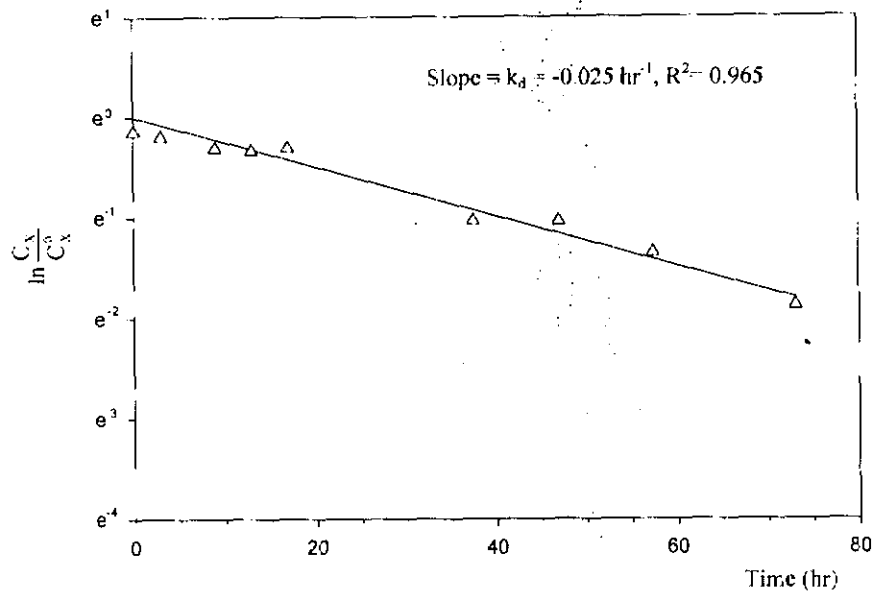
ทำการลงจุดในกราฟที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง  $\ln C_x / C_x^0$  กับเวลา (ชั่วโมง) ซึ่งจะแสดงกราฟออกมาเป็นเส้นตรง และจากความชันในกราฟนี้สามารถคำนวณค่าคงที่การตายจำเพาะของเซลล์ ( $k_d$ ) ออกมาได้ อีกทั้งสามารถหาค่าครึ่งชีวิตของตัวเร่งปฏิกิริยา (เซลล์ยีสต์) โดยสมการนี้

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k_d}$$

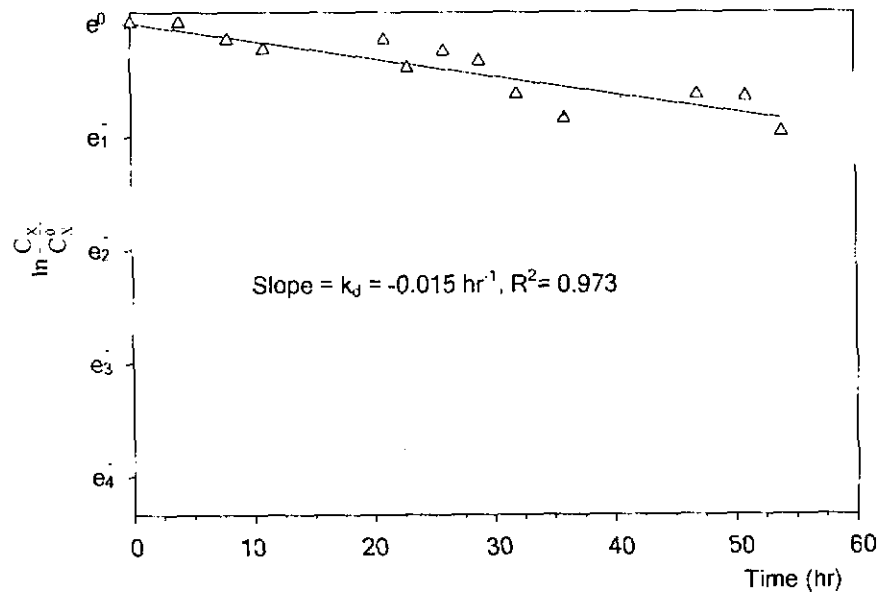


ภาพ 36: แสดงค่าอัตราการตายจำเพาะ (deactivation constant) ของการหมักแบบกะที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่า pH 5.5 และความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้น 25 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ภาพ 36 อธิบายความสัมพันธ์ของการมีชีวิต ( $\ln C_x / C_x^0$ ) ของเซลล์ยีสต์ระหว่างกระบวนการหมัก ที่มีความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้นเท่ากับ 25 กรัมต่อลิตร ผลการทดลองสามารถนำไปลงจุดในกราฟที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการมีชีวิตกับเวลา ผลสรุปได้ว่ามีค่าคงที่การตายจำเพาะ 0.07 ต่อชั่วโมง ในกระบวนการหมักแบบกะที่ใช้กากน้ำตาลเป็นสารตั้งต้นมีการเปรียบระหว่างก่อนการถ่ายเชื้อยีสต์ลงในถังหมักกับขณะที่มีการถ่ายเชื้อลง ทั้งนี้เพื่อที่จะศึกษาผลของสารพิษที่อยู่ในกากน้ำตาลว่ามีผลต่อเซลล์ยีสต์หรือไม่ เนื่องจากอาจด้วยปัญหาที่กากน้ำตาลมีสารพิษเจือปนอยู่ทำให้เซลล์ยีสต์ตายได้ จึงทำการศึกษาปัญหาทั้งเกิดจากตัวเร่งปฏิกิริยา (เซลล์ยีสต์) และจากสารตั้งต้นเป็นพิษ เนื่องจากผลของสิ่งที่กล่าวมาจะมีผลทำให้มีแรงดันออกซิเจนสูง (ผลจากเอทานอลและปริมาณน้ำตาลในกากน้ำตาลสูง) ทำให้เซลล์ยีสต์มีครึ่งชีวิตที่สั้นและตายในที่สุด สำหรับในกระบวนการทดลองนี้พบว่าเซลล์ยีสต์มีครึ่งชีวิตเท่ากับ 9.90 ชั่วโมง



ภาพ 37: แสดงอัตราการตายจำเพาะของเซลล์ยีสต์ ระหว่างการหมักแบบกึ่งกะ (อัตราป้อนกากน้ำตาล 0.006 กรัมต่อวินาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดต่าง 5.5 และ อัตราการกวน 250 รอบต่อนาที ตามลำดับ)



ภาพ 38: แสดงอัตราการตายจำเพาะของเชื้อยีสต์ระหว่างการหมักเอทานอลแบบกึ่งกะควบคู่ไปกับการแยกด้วยระบบเพอร์สแทรกชัน

ภาพ 37 แสดงการศึกษาค่าคงที่การตายจำเพาะของเซลล์ยีสต์ในกระบวนการหมักแบบกึ่งกะ สำหรับสภาวะศึกษานั้นมีการควบคุมให้เหมือนกับในระบบการหมักแบบกะเพื่อให้สามารถเปรียบเทียบกันได้ชัดเจนยกเว้นสภาวะที่มีการป้อนกากน้ำตาลที่ 0.006 กรัมต่อวินาที จากผลการทดลองพบว่า เซลล์ยีสต์ในกระบวนการหมักแบบกึ่งกะมีการตายน้อยและสามารถทนต่อสิ่งแวดล้อมได้ดีกว่าการหมักแบบกะ โดยมีค่าคงที่การตายจำเพาะ ( $k_d$ ) เท่ากับ 0.025 ต่อชั่วโมง ตัวเร่งปฏิกิริยา (เซลล์ยีสต์) มีครึ่งชีวิตประมาณ 28 ชั่วโมง จากผลนี้สามารถอธิบายได้เนื่องจากเป็นเพราะในการหมักแบบกึ่งกะจะมีผลกระทบจากกากน้ำตาลน้อยกว่าแบบกะ แต่อย่างไรก็ตามในระบบยังคงมีผลกระทบของเอทานอลในน้ำหมักในระบบที่มีผลต่อเซลล์ยีสต์เช่นกัน

ภาพ 38 สามารถแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการมีชีวิตของยีสต์ *S. cerevisiae* กับเวลา ในระหว่างกระบวนการหมักแบบกึ่งกะควบคู่กับการเกี่ยวกับเอทานอลขณะที่ระบบกำลังดำเนินการ (fed-batch fermentation with *in situ* ethanol removal) ในเทคนิคนี้ได้ประสบผลสำเร็จในการที่จะลดผลกระทบจากผลการยับยั้งของผลิตภัณฑ์ ซึ่งสามารถลดค่าคงที่การตายจำเพาะเป็น 0.015 ต่อชั่วโมง และครึ่งชีวิตประมาณ 46 ชั่วโมง ระหว่างกระบวนการหมักนั้นยีสต์มีการเจริญอย่างรวดเร็ว แต่หยุดลงเมื่อเอทานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับกิจกรรมการหมักซึ่งจะดำเนินต่อไป จะหยุดเมื่อความเข้มข้นเอทานอลสูงมากขึ้น อัตราการสะสมเอทานอลภายในเซลล์และปัจจัยจลนศาสตร์การหมักจะใช้เซลล์ยีสต์เพื่อที่จะเป็นตัวแสดงให้เห็นกิจกรรมต่างๆ ชัดเจนมากยิ่งขึ้น (Navarro and Durand, 1978) ในกระบวนการนี้มีการศึกษาและแก้ไขปัญหาพบว่าปัญหาจากการยับยั้งของผลิตภัณฑ์ (เอทานอล) ลดลง เป็นผลให้อัตราการตายจำเพาะของเซลล์ยีสต์ลดลงด้วย ทั้งนี้เพราะว่าความเข้มข้นของเอทานอลในน้ำหมักมีค่าต่ำจึงไม่ส่งผลยับยั้งต่อเซลล์ยีสต์ ทำให้เซลล์ยีสต์ผลิตเอทานอลได้อย่างต่อเนื่อง ได้รับความเข้มข้นเอทานอลสุดท้ายและผลผลิตเอทานอลที่สูง ซึ่งมีประโยชน์มากทางเศรษฐกิจและถูกกว่ากระบวนการนี้ไปใช้เพื่อประยุกต์ใช้ในทางการค้าเพื่อผลิตผลิตภัณฑ์ให้มีความหลากหลาย แต่อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่ามีการพัฒนาการลดการยับยั้งจากสารตั้งต้นและจากผลิตภัณฑ์แล้วนั้นผลการทดลองที่ได้ยังคงมีเซลล์ยีสต์ที่ตาย คือมีเพียงประมาณ 40% ของค่าคงที่การตายของเซลล์โดยที่มีค่าต่ำกว่ากระบวนการหมักแบบกึ่งกะแบบทั่วไป โดยภาพรวมของผลการทดลองพบว่าการพัฒนาจากกระบวนการแบบทั่วไป แต่ไม่เป็นไปตามที่คาดหวังไว้เนื่องจากยังคงมีเซลล์ยีสต์ที่ตายภายในกระบวนการผลิตเอทานอล ซึ่งเหตุผลสนับสนุนยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด ดังนั้นจึงมีการศึกษาผลยับยั้งที่มีต่อเซลล์ยีสต์ เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าว ในงานวิจัยต่อไปในอนาคต

## บทที่ 4 บทสรุป

### 4.1 สรุปผลการทดลอง

การวิจัยทั้งหมดได้แบ่งออกเป็น 5 ส่วน คือ ลักษณะของเยื่อแผ่น, สัมประสิทธิ์การกระจาย, การศึกษาการถ่ายเทมวล, การศึกษาจลนศาสตร์การหมัก และ การหมักเอทานอลควบคู่ระบบเพอร์สแทรกชัน ในถังหมักปฏิกรณ์ชีวภาพเมมเบรน ในกระบวนการหมักเพื่อผลิตเอทานอลนั้นสายพันธุ์ของเชื้อยีสต์ที่ใช้ คือ *S. cerevisiae* ถือว่าเป็นเชื้อที่ผลิตเอทานอลได้ดี อีกนัยหนึ่งในการผลิตระดับใหญ่จำเป็นต้องคำนึงถึงด้านการลงทุนที่ต่ำ ซึ่งสายพันธุ์นี้มีราคาถูกอีกทั้งต้องการแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนที่มีราคาถูก โดยใช้กากน้ำตาลที่เป็นผลพลอยได้ในโรงงานอุตสาหกรรมน้ำตาล แต่อย่างไรก็ตามกระบวนการผลิตเอทานอลแบบดั้งเดิมจะมีปัญหาเกี่ยวกับการยับยั้งจากผลิตภัณฑ์จากการสะสมของเอทานอลในระบบการผลิต ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีการพัฒนาประยุกต์ใช้เยื่อแผ่นเพื่อใช้ในระบบ (liquid-liquid contacting system) เพื่อที่จะแยกเอทานอลออกจากน้ำหมัก อัตราการถ่ายเทมวลที่สูงโดยผ่านเยื่อแผ่นประสบความสำเร็จ โดยเยื่อแผ่นดังกล่าวมีคุณลักษณะที่มีพื้นที่ผิวมากและมีความบาง อีกทั้งในงานวิจัยนี้มีการผลิตเยื่อแผ่นที่ความบางมากหรือเรียกว่า เยื่อแผ่นเชิงประกอบ PDMS/PVDF ที่มีความบางมาก เพื่อใช้ในระบบเพอร์สแทรกชัน เยื่อแผ่นนี้มีลักษณะที่ประกอบด้วย 2 ชั้น ชั้นแรกเป็นชั้นเลือกผ่านที่มี PDMS เป็นส่วนประกอบ มีความหนาประมาณ 1-5 ไมโครเมตร อีกชั้นหนึ่งจะทำการเคลือบบนเยื่อแผ่น PDMS ที่เป็นสารพวก PVDF เกิดเป็นเยื่อแผ่นเชิงประกอบ PDMS/PVDF ระดับความหนาของเยื่อแผ่นชนิดนี้จะมีผลต่อค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลโดยรวม ( $k_{ov}$ ) คือ ความบางมากจะมีค่ามากตามไปด้วย เยื่อแผ่นเชิงประกอบนี้มีความบางมากกว่าเยื่อแผ่นเลือกผ่านอื่นๆ จึงถูกเลือกนำมาใช้ในเทคนิคเพอร์สแทรกชัน อีกทั้งมีการศึกษาผลของการเคลื่อนที่ของของเหลว (aqueous hydrodynamics) เพื่อทดสอบทฤษฎีของชั้นขอบเขตของเหลว (boundary layer) นอกจากนั้นเทคนิคเพอร์สแทรกชันมีข้อได้เปรียบในการเก็บเกี่ยวผลิตภัณฑ์มากกว่าวิธีดั้งเดิม ทั้งนี้เนื่องจากป้องกันการเกิดอิมัลชัน (emulsion) ในระบบที่มี 2 เฟสของสารละลายอินทรีย์-ของเหลว (organic-aqueous two phase system) ผลิตภัณฑ์ (เอทานอล) ที่อยู่ในสารละลายอินทรีย์สามารถที่จะทำให้บริสุทธิ์โดยการแยกแบบพื้นฐานง่ายๆ ได้ ทั้งยังสามารถนำสารละลายอินทรีย์กลับมาใช้ในการทดลองครั้งต่อไปได้จากเหตุผลดังกล่าวงานวิจัยนี้จึงประสบความสำเร็จในการศึกษาคุณลักษณะการถ่ายเทมวลเอทานอลที่เกิดการดูดซึม (absorption) และการแพร่ (diffusion) ผ่านเยื่อแผ่นที่ไม่มีรูชนิด PDMS

จากกลศาสตร์การหมักในกระบวนการหมักแบบกึ่งกะพบว่ามีผลกระทบของความเข้มข้นเอทานอลที่สูงในน้ำหมักก่อให้เกิดการยับยั้ง ดังนั้นจึงมีการใช้การแยกเอทานอลออกขณะที่ระบบกำลังดำเนินงานควบคู่กับใช้เยื่อแผ่นเชิงประกอบ PDMS/PVDF เป็นสารตัวกลางในการแยกเอทานอล หลักการทำงานของระบบดังกล่าวนี้คือ เอทานอลจะถูกแยกออกจากระบบผ่านเยื่อแผ่นอย่างต่อเนื่องทำให้ผลจากการยับยั้งโดยเอทานอลลดลง การทดลองนี้สามารถจะประยุกต์ใช้ได้จนถึงหมักปฏิกรณ์ชีวภาพหลากหลายเพื่อที่จะใช้ในกระบวนการถ่ายเทชีวโมเลกุล/กระบวนการหมัก (biotransformation/fermentation) จากผลการทดลองแสดงการพัฒนากระบวนการหมักเอทานอลเพื่อเพิ่มอัตราการผลิตเอทานอลและผลผลิตเอทานอลที่ได้ อีกทั้งมีการศึกษาเทคนิคที่ใช้ในการเก็บเกี่ยวเอทานอลจากระบบวิธีอื่นๆเพื่อให้มีประสิทธิภาพสูงสุด นอกจากนี้แล้วเทคนิคการแยกผลิตภัณฑ์ในขณะที่ยังมีเอทานอลในน้ำหมัก (*in situ* product removal technique) ในระดับขนาดใหญ่ (pilot-scale) ได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ อย่างไรก็ตามเพื่อให้กระบวนการขนาดใหญ่มีประสิทธิภาพสูงสุด โมดูลของเยื่อแผ่นจะมีการพัฒนาให้เยื่อแผ่นที่ใช้ในระบบมีค่าพื้นที่ผิวเยื่อแผ่นอยู่ระหว่าง 100 ถึง 1,000 ตารางเมตร ทั้งนี้เพื่อให้อัตราการถ่ายเทมวลสูงขึ้นและเซลล์ยีสต์สามารถผลิตเอทานอลได้เพิ่มขึ้น เนื่องจากเอทานอลแยกออกจากน้ำหมักทำให้ไม่มีเอทานอลสะสมในระบบส่งผลให้เกิดการดำเนินการต่อไปได้ ผลปรากฏว่าปัญหาที่ทำให้เกิดการยับยั้งและมีผลกระทบต่อเซลล์ยีสต์มาจากความเข้มข้นของกากน้ำตาลและเอทานอล ด้วยเหตุนี้จึงต้องมีการแก้ไขปัญหาดังกล่าว คือ เพิ่มพื้นที่ผิวของเยื่อแผ่นเพื่อใช้ร่วมกับเทคนิคเพอร์สแทรกซ์น็อกให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุด

## 4.2 ข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยในอนาคต

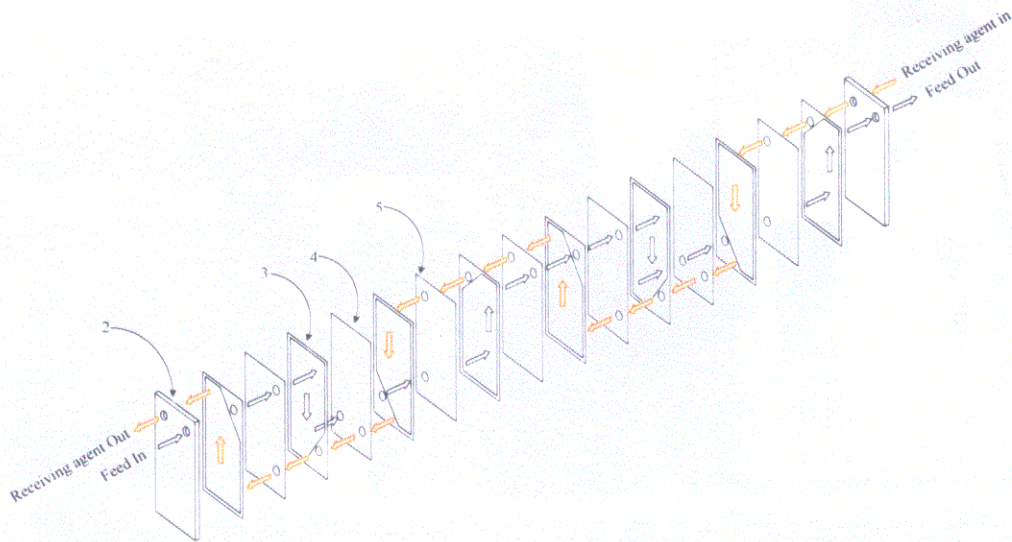
### 4.2.1 การเปลี่ยนแหล่งคาร์บอน

ในงานวิจัยครั้งนี้ใช้กากน้ำตาลเป็นสารตั้งต้นในกระบวนการหมักเอทานอลซึ่งกากน้ำตาลถือเป็นวัตถุดิบที่ดีเนื่องจากมีราคาถูกและสามารถหาซื้อได้ง่าย แต่อย่างไรก็ตามกากน้ำตาลยังคงมีสารยับยั้งที่มีพิษและส่งผลกระทบต่อจุลินทรีย์ (Roukas, 1996) ตัวอย่างสารดังกล่าว เช่น อีออน โลหะ, ความเข้มข้นน้ำตาลที่สูงและโดยเฉพาะอย่างยิ่งสารประกอบด้านเชื้อราที่ถูกเติมเข้าไปในกระบวนการผลิตกากน้ำตาลให้มีความสามารถเก็บรักษาไว้ได้นาน จากผลที่ได้จากการกำจัดสารต่างๆในกากน้ำตาล เช่น การใช้การแลกเปลี่ยนไอออน (ion-exchange) เพื่อที่จะกำจัด โลหะหนักออกจึงมีการพัฒนาขึ้น นอกจากนั้นในงานวิจัยต่อไปสามารถเปลี่ยนวัตถุดิบที่ใช้จากกากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบที่เหมาะสมมากกว่าคือ แป้งมันสำปะหลัง เหตุผลที่เลือกใช้แป้งมันสำปะหลังเนื่องจากไม่มีส่วนประกอบที่เป็นสารยับยั้ง,

ราคาถูก (ประมาณ 2 บาทต่อหนึ่งกิโลกรัม) และสามารถหาได้ง่ายในจังหวัดนครราชสีมาซึ่งถือว่าเป็นจังหวัดที่มีการผลิตสูงที่สุด

#### 4.2.2 การพัฒนาโมดูลของเยื่อแผ่น

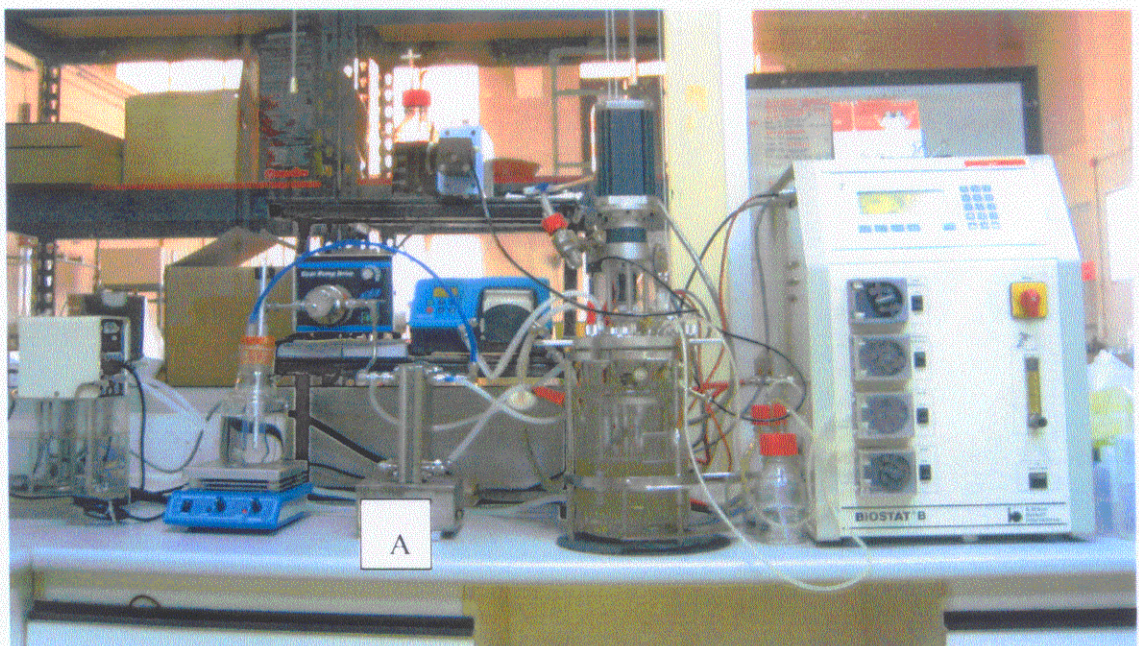
เยื่อแผ่นที่ใช้ในงานวิจัยนี้มีความจำกัดเนื่องจากมีพื้นที่ผิวของเยื่อแผ่นน้อยซึ่งไม่เหมาะสำหรับการแยกเอทานอลในอัตราที่สูงได้ ทั้งนี้เพราะพื้นที่ผิวเยื่อแผ่นต่อหน่วยปริมาตรของถังหมักปฏิกรณ์ชีวภาพมีค่าน้อย ดังนั้นการที่จะขยายกระบวนการผลิตให้มีขนาดใหญ่จึงควรมุ่งถึงปัญหาดังกล่าวด้วยเหตุนี้จึงมีการออกแบบโมดูลของเยื่อแผ่นขึ้น แต่อย่างไรก็ตามจุดประสงค์หลักในการที่จะออกแบบ โมดูลใหม่นั้นก็เพื่อให้มีพื้นที่ผิวเยื่อแผ่นเพิ่มขึ้นและมีความต้านทานเยื่อแผ่นที่น้อยลง นอกจากนี้การประดิษฐ์เยื่อแผ่นที่มีความบางสูงก่อให้เกิดการผลิตเยื่อแผ่นชนิดใหม่เกิดขึ้น อีกทั้งช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการแยกเอทานอลออกจากถังหมักปฏิกรณ์ชีวภาพในกระบวนการหมักแบบกึ่งกะเพื่อให้เกิดค่าทางเศรษฐกิจมากขึ้น



ภาพ 39: ตัวอย่างการออกแบบ โมดูลของเยื่อแผ่น ให้มีพื้นที่ผิวเพิ่มมากขึ้นในรูปโมดูลของแผ่นและกรอบ (plate-and-frame module)

ภาพ 39 แสดงรายละเอียดของหลักการทำงานของ การออกแบบ โมดูลของเยื่อแผ่นใหม่ โดยมีลักษณะเป็นคล้ายเครื่องแลกเปลี่ยนความร้อนแบบแผ่นและกรอบ (plate-and-frame heat exchanger) ที่มีหลักการที่แผ่นถูกแทนที่โดยใช้เยื่อแผ่นแบบแผ่น (flat sheet) (หมายเลข 4 และ 5) เยื่อแผ่นจะถูกแทรกอยู่ระหว่างแผ่นปะเก็น (หมายเลข 3) ซึ่งจะทำให้เกิดช่องไหลที่อยู่ระหว่างแผ่นสแตนเลส

(หมายเลข 2) ของเหลวจะถูกปล่อยให้ไหลในกรอบขณะที่มีการไหลเวียนกลับใหม่มาตลอดเวลาในแต่ละด้านของเหลว (ทั้งด้านน้ำหมักและด้านสารละลายอินทรีย์) ของเหลวทั้งสองเฟส (เฟสน้ำหมักและเฟสสารละลายอินทรีย์) มีการไหลเวียนด้านตรงข้ามกันภายในโมดูล สำหรับข้อใดเปรียบของโมดูลนี้คือพื้นที่การถ่ายเทมวลจะเพิ่มขึ้นทั้งนี้เนื่องจากการเพิ่มจำนวนเยื่อแผ่นแบบแผ่น ภาพ 40 แสดงกระบวนการการทดลองถึงหมักปฏิกรณ์ชีวภาพที่ใช้เยื่อแผ่นแบบแผ่นในการแยกเอทานอลขณะที่ระบบกำลังดำเนินการออกจากน้ำหมัก, โมดูลของเยื่อแผ่น A จะแสดงอยู่ตรงกลางเยื้องทางด้านซ้ายของรูป แต่อย่างไรก็ตามโมดูลของเยื่อแผ่นนี้ไม่เหมาะสมเท่าที่ควรเนื่องจากเกิดการรั่วของน้ำระหว่างแผ่นปะเก็นในขณะที่ทำงานทดสอบ ดังนั้นจึงไม่มีผลในการทดลองนี้ สาเหตุอาจเป็นเพราะว่ามีช่องว่างระหว่างแผ่น อาจแก้ไขได้โดยขันน็อตที่ยึดระหว่างแผ่นเหล็กป้องกันการรั่ว และอาจมีการศึกษาปัญหาที่เกิดขึ้นต่อไป



ภาพ 40: กระบวนการในการทดลองถึงหมักปฏิกรณ์ชีวภาพที่ใช้เยื่อแผ่นแบบแผ่นในการแยกเอทานอลขณะที่ระบบกำลังดำเนินการออกจากน้ำหมัก, A คือ โมดูลของเยื่อแผ่น



#### 4.2.3 การลดความเป็นพิษของเอทานอลต่อเชื้อยีสต์

ถึงแม้ว่าความเข้มข้นของเอทานอลในน้ำหมักจะมีค่าต่ำ (ประมาณ 50 กรัมต่อลิตร) แต่อย่างไรก็ตามตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพ (เซลล์ยีสต์) ยังคงที่จะถูกยับยั้งจากผลิตภัณฑ์ที่เกิดในปฏิกิริยา (กรณีนี้คือจากเอทานอล) ดังนั้นจึงมีการพัฒนาวิธีป้องกันการยับยั้งของเอทานอลโดยแยกเอทานอลจากกระบวนการหมักด้วยวิธีที่มีประสิทธิภาพ (Matsumura and Kmarkl, 1984) อีกทั้งมีการใช้การตรึงเซลล์ยีสต์โดยใช้สารตัวตรึง (adsorbents) ที่เป็นสารจำพวก โซเดียมแอลจิเนต (sodium alginate) เพื่อให้เซลล์ยีสต์ถูกตรึงหรือเคลือบไว้ทำให้สามารถทนกับสารละลายอินทรีย์ได้สูงขึ้น หรือใช้วิธีที่สารตัวตรึงจะเคลือบ โมเลกุลที่เป็นพิษไว้เกิดเป็นเม็ดเจลเพื่อลดความเข้มข้นของสารละลายอินทรีย์ให้น้อยในน้ำหมัก ทั้งนี้เพื่อลดความเป็นพิษจากสารละลายอินทรีย์ที่อาจมีผลต่อเซลล์ยีสต์ได้ การที่สาร โมเลกุลที่มีผลเป็นพิษต่อเซลล์ถูกตรึงไว้ในเม็ดเจลจะทำให้เซลล์ยีสต์ที่ยังคงมีชีวิตอยู่มีการผลิตเอทานอลได้อีก ทำให้ความเข้มข้นของเอทานอลสุดท้ายเพิ่มขึ้นมากกว่ากระบวนการที่มีการใช้กันทั่วไป

## บรรณานุกรม

- M.A. Alexander, T.W. Chapman, and T.W. Jeffries (1989). Continuous-Culture Responses of *Candida shehatae* to shifts in Temperature and Aeration: Implications of Ethanol Inhibition. Appl Environ Microbiol. 55:(9), 2152-2154.
- J. Bailey, and O. Ollis (1986). Biochemcial Engineering Fundamentals, McGraw-Hill, New York.
- R.W. Baker (2004). Membrane technology and applications, John Wiley & Sons, England.
- I.M. Banat, P. Nigam, D. Singh, R. Marchant, and A.P. McHale (1998). Ethanol production at elevated temperatures and alcohol concentrations: Part I - Yeasts in general. World J Microb Biot. 14, 809-821.
- J.G.A. Bitter (1991). Transport mechanisms in membrane separation processes, Plenum press, London.
- A. Boontawan (2005). A membrane bioreactor for biotransformation of terpenes, Ph.D. Thesis, Imperial College London.
- A. Boontawan, and D. C. Stuckey (2005a). Mass Transfer of Terpenes through a Silicone Rubber Membrane in a Liquid-Liquid Contacting System. Biotechnol Prog. 21:(6), 1680-1687.
- A. Boontawan, and D. C. Stuckey (2005b). A membrane bioreactor for the biotransformation of  $\alpha$ -pinene oxide to isovalal by *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 11671. Appl Microbiol Biotechnol. 69:(6), 643-649.
- C.P. Cartwright, J.R. Juroszek, M.J. Beavan, M.S. Ruby, S.M.F. Morais, and A.H. Rose (1986). Ethanol dissipates the proton-motive force across the plasma membrane of *Saccharomyces cerevisiae*. Gen Microbiol. 132, 369-377.

- G.P. Casey, and W.M. Ingledew (1986). Ethanol tolerance in yeasts. Crit Rev Microbiol. 13, 219-290.
- B Caylak, and F.V. Sukan (1998). Comparison of Different Production Processes for Bioethanol. Chemistry. 22, 351-359.
- A. Converti, S. Arni, S. Sato, J.C.M. de Carvalho, and E. Aquarone (2003). Simplified modeling of fed-batch alcohol fermentation of sugarcane blackstrap molasses. Biotechnol Bioeng. 84:(1), 88-95.
- J Crank (1979). The Mathematics of Diffusion, Clarendon Press, Oxford, UK.
- E.L. Cussler (1997). Diffusion: Mass Transfer in fluid systems, Cambridge University press, United Kingdom.
- G.R. Daisley, M.G. Dastgir, F.C. Ferreira, L.G. Peeva, and A. G. Livingston (2006). Application of thin film composite membranes to the membrane aromatic recovery system. J Membr Sci. 268, 20-36.
- M. Di Serio, R. Tesser, and E. Santacesaria (2001). A kinetic and mass transfer model to simulate the growth of baker's yeast in industrial bioreactors. Chem Eng J. 82, 347-354.
- S.D. Doig, A.T. Boam, D.I. Leak, A.G. Livingston, and D.C. Stuckey (1998). A Membrane Bioreactor for Biotransformation of Hydrophobic Molecules. Biotechnol Bioeng. 58:(6), 587-594.
- S.D. Doig, A.T. Boam, A.G. Livingston, and D.C. Stuckey (1999). Mass transfer of hydrophobic solutes in solvent swollen silicone rubber membranes. J Membr Sci. 154, 127-140.
- K.M. Dombek, and L.O. Ingram (1985). Determination of intracellular concentration of ethanol in *Saccharomyces cerevisiae* during fermentation. Appl Environ Microbiol. 51, 197-200.

- P.M. Doran (1995). Bioprocess Engineering Principles, Academic Press, London.
- M. Dubios, K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers, and F. Smith (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. Anal Chem. 28, 350-356.
- O.F. Echegaray, J.C.M. Carvalho, A.N.R. Fernandes, S. Sato, E. Aquarone, and M. Vitolo (2000). Fed-batch culture of *Saccharomyces cerevisiae* in sugar-cane blackstrap molasses: invertase activity of intact cells in ethanol fermentation. Biomass Bioenerg. 19, 39-50.
- E.K. Gary (2005). Factor effecting the enumeration of microorganisms. Appl microbiol. 98:(6), 1354-1380.
- L. Giorno, and E. Drioli (2000). Biocatalytic membrane reactors: applications and perspectives. Trends Biotechnol. 18, 339-349.
- W.J. Groot, R.H. Kraayenbrink, R.H. Waldram, R.G.J.M. van der Lans, and K.Ch.A.M. Luyben (1992). Ethanol production in an integrated process of fermentation and ethanol recovery by pervaporation. Bioprocess Eng. 8, 99-111.
- W. Ho, and K.K. Sirka (1992). Membrane handbook, Vannostrand Reinhold, New York.
- J.H.S. Hofmeyr (1997). Anaerobic energy metabolism in yeast as a supply-demand system, in A. C. Bowden, New Beer In an Old Bottle: Eduard Buchner and the Growth of Biochemical Knowledge, Volume. 1, page. 225-242, Universitat de Valencia, Spain.
- R.Y.M. Huang (1991). editor, Pervaporation Membrane Separation Process, Elsevier, USA.
- R. Jiratananon, P. Sampranpiboon, D. Uttapap, X. Feng, and R.Y.M. Huang (2000). Separation of aroma compounds from aqueous solutions by pervaporation using polyoctylmethyl siloxane (POMS) and polydimethyl siloxane (PDMS) membranes. J Membr Sci. 174, 55-65.

- R. Jiraratananon, A. Chanachai, and R.Y.M. Huang (2002a). Pervaporation dehydration of ethanol-water mixtures with chitosan/hydroxyethylcellulose (CS/HEC) composite membranes II. Analysis of mass transport. *J Membr Sci.* 199, 211-222.
- R. Jiraratananon, A. Chanachai, R.Y.M. Huang, and D. Uttapap (2002b). Pervaporation dehydration of ethanol-water mixtures with chitosan/hydroxyethylcellulose (CS/HEC) composite membranes I. Effect of operating conditions. *J Membr Sci.* 195, 143-151.
- T Kazuhiko, and O Kozo (1995). Factors Affecting the Ethanol Productivity of yeast in molasses. *J Ferment Bioeng.* 79, 449-452.
- P.A. Kober (1917). Pervaporation, perstillation, and percrystallization. *L Am Chem Soc.* 39, 944-948.
- F. Kollerup, and A.J. Daugulis (1986). Ethanol production by extractive fermentation-solvent identification and prototype development. *Can J Chem Eng.* 64, 598-606.
- J.F. Kong, and K. Li (2001). Preparation of microporous PVDF hollow fibre membranes via immersion precipitation. *J Appl Polym Sci.* 81, 1643-1653.
- M. Krauter, E., E. Aquarone, S. Sato, . L Jr. Perego, and W. Borzani (1987). Influence of linearly decreasing feeding rates on fed-batch ethanol fermentation of sugar cane blackstrap molasses. *Biotechnol lett.* 9, 747-650.
- R. Leon, P. Fernandes, H. M. Pinheiro, and J. M. S. Cabral (1998). Whole-cell biocatalysis in organic media. *Enzyme Microb Technol.* 23:(7-8), 483-500.
- J. Li, C. Chen, W. Jiang, and S. Zhu (2000). A study on removal of low concentration of water from C<sub>6</sub> solvent by pervaporation. *J membr Sci Technol.* 20:(2), 15-18.
- A.G. Livingston (1994). Extractive Membrane Bioreactor: A new process technology for detoxifying chemical industry wastewater. *J Chem Tech Biotech.* 60, 117-124.

- G.J. Lye, and J.M. Woodley (1999). Application of *in situ* product-removal techniques to biocatalytic process. Trends Biotechnol. 17, 395-402.
- M. Matsumura, and H. Kmarkl (1984). Application of solvent extraction to ethanol fermentation. Appl. Microbiol. Biotechnol. 20, 371-377.
- T. Matsuura (1994). Synthetic Membrane and Membrane Separation processes, CRC Press, Florida.
- B. Mattiasson, and O. Holst (1991). Extractive Bioconversions, Marcel Dekker, New York.
- J.E. McGhe, G.S. Julian, and R.W. Detroy (1982). Continuous and static fermentation of glucose to ethanol by immobilized *Saccharomyces cerevisiae* cells of different ages. Appl Environ Microbiol. 44:(1), 19-22.
- E. Mubeccel, and S.F. Mutlu (2000). Application of a statistical technique to the production of ethanol from sugar beet molasses by *Saccharomyces cerevisiae*. Bioresour Technol. 73, 251-255.
- M. Mulder (1991). Basic Principles of Membrane Technology, Kluwer academic, Dordrecht.
- J.M. Navarro, and G. Durand (1978). Alcohol fermentation: effect of temperature on ethanol accumulation within yeast cells. Ann Microbiol (Paris). 2, 215-224.
- A. Neelam, and S. Amarjit (1991). Ethanol production by thermotolerant yeast and its UV resistant mutants. Acta Microbiol Pol. 40, 171-175.
- J. Nielsen, and J Villadsen (2003). Bioreaction Engineering Principles, Kluwer Academic, New York.
- D.J. O'Brien, L.H. Roth, and A.J. McAloon (2000). Ethanol production by continuous fermentation-pervaporation: a preliminary economic analysis. J Membr Sci. 166, 105-111.

- D.J. O'Brien, G.E. Senske, M.J. Kurantz, and J. J. Craig (2004). Ethanol recovery from corn fiber hydrolysate fermentations by pervaporation. Bioresour Technol. 92:(1), 15-19.
- F. X. Pierre, I. Souchon, and M. Marin (2001). Recovery of sulfur aroma compounds using membrane-based solvent extraction. J Membr Sci. 187:(1-2), 239-253.
- D.H. Pybus, and C.S. Sell (1999). The chemistry of fragrances, The Royal Society of Chemistry, London.
- M.A. Ranulfo, R. Mauricio, and J. Ins (2003). Ethanol fermentation of a diluted molasses medium by *Saccharomyces cerevisiae* immobilized on chrysotile. Braz Arch Biol Technol. 46:(4), 751-757.
- J.W. Roddy (1981). Distribution of ethanol-water mixtures to organic liquid. Ind Eng Chem. 20, 104-108.
- T. Roukas (1996). Ethanol Production from Non-sterilized Beet Molasses by Free and Immobilized *Saccharomyces cerevisiae* Cells Using Fed-batch Culture. J Food Eng. 27, 87-96.
- F. Taylor, M.J. Kurantz, N. Goldberg, and J.C.Jr. Craig (1995). Continuous fermentation and stripping of ethanol. Biotechnol Prog. 11:(6), 693-698.
- J.M. Watson, and P.A.P. Payne (1990). A study of organic compound pervaporation through silicone rubber. J Membr Sci. 49, 171-205.
- Y.J. Wee (2004). Utilization of sugar molasses for economical L(+)-lactic acid production by batch fermentation for *Enterococcus faecalis*. Enzyme Microb Technol. 35, 568-573.
- A.E. Wheals, L.C. Basso, D.M.G. Alvesand, and H.V. Amorim (1999). Fuel ethanol after 25 years. Trends Biotechnol. 17, 482-487.

J.G. Wijmans, and R.W. Baker (1995). The solution-diffusion model: a review. *J Membr Sci.* 107, 1-21.

Z. Wu, and Y.Y. Lee (1997). Inhibition of the enzymatic hydrolysis of cellulose by ethanol. *Biotechnol lett.* 19, 977-979.

M.L. Yeow, R.W. Field, K. Li, and W.K. Teo (2002). Preparation of divinyl-*PDMS/PVDF* composite hollow fibre membranes for *BTX* removal. *J Membr Sci.* 203, 137-143.

รัตนา จิระรัตนานนท์ (๒๕๕๓). กระบวนการแยกด้วยเยื่อแผ่นสังเคราะห์, ภาควิชาวิศวกรรมเคมี, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

พูนสุข ประเสริฐสรรพ (๒๕๕๒). การใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือเศษ, ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, คณะอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.



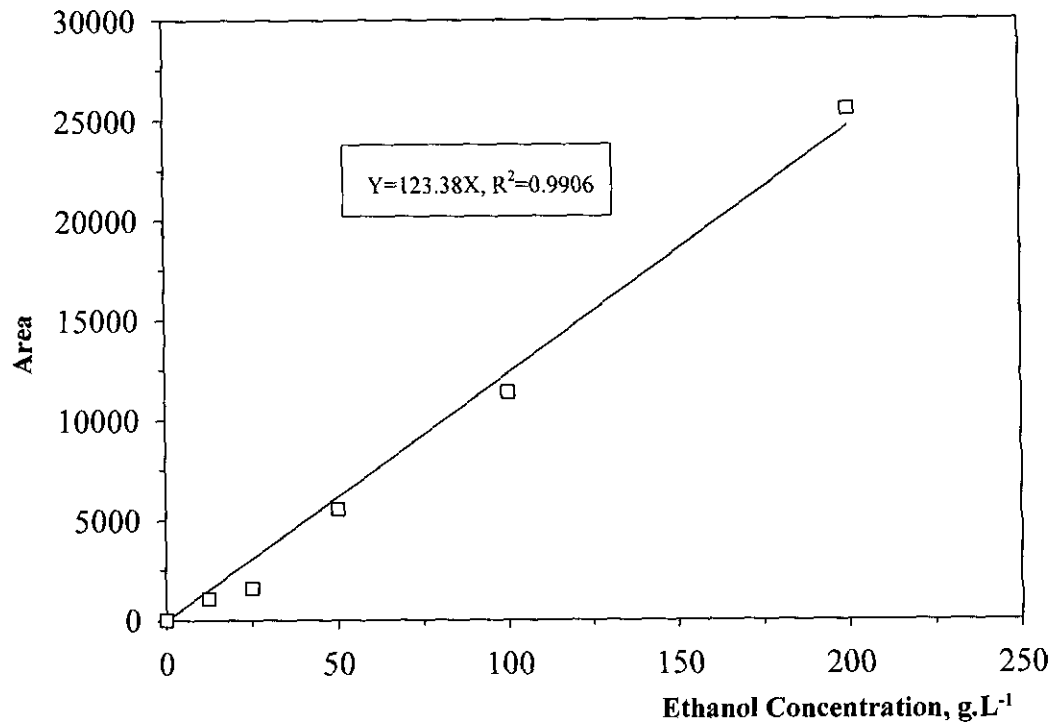
## ภาคผนวก ก

## การเตรียมน้ำหมัก YM:

น้ำตาลกลูโคส	10 กรัมต่อลิตร
เพปโตน	5 กรัมต่อลิตร
สารสกัดจากมอลต์	3 กรัมต่อลิตร
สารสกัดจากยีสต์	3 กรัมต่อลิตร
*วุ้น	10 กรัมต่อลิตร

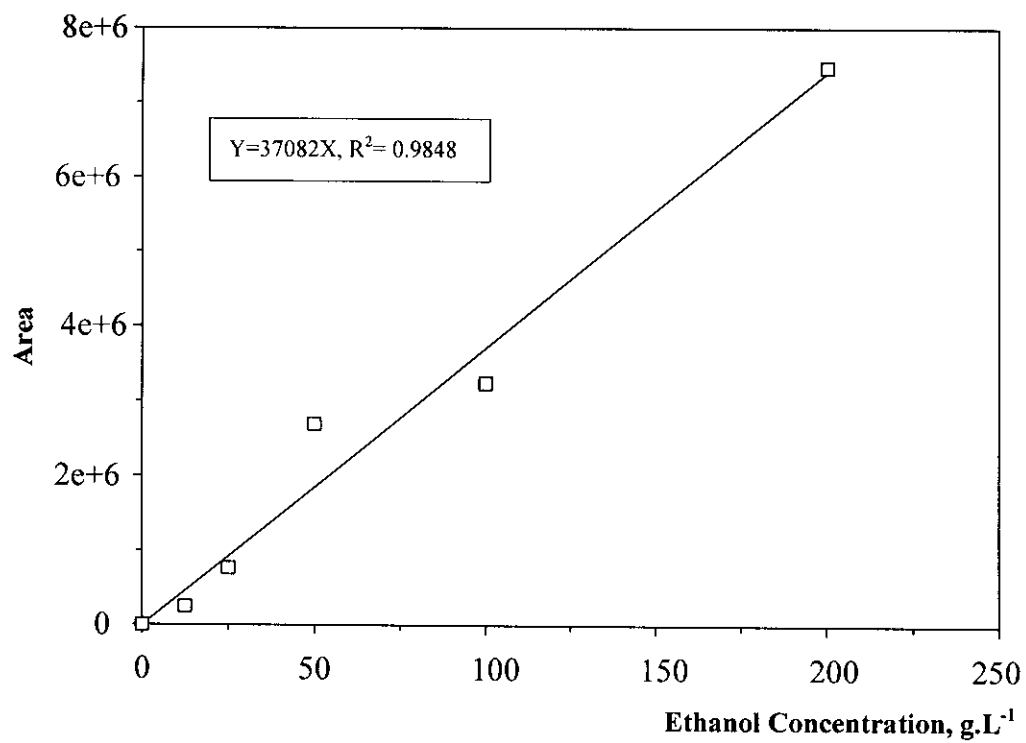
สำหรับการเตรียมน้ำหมัก วุ้นจะถูกเติมไปในน้ำหมักก่อนที่จะทำการนึ่งฆ่าเชื้อ

## ภาคผนวก ข



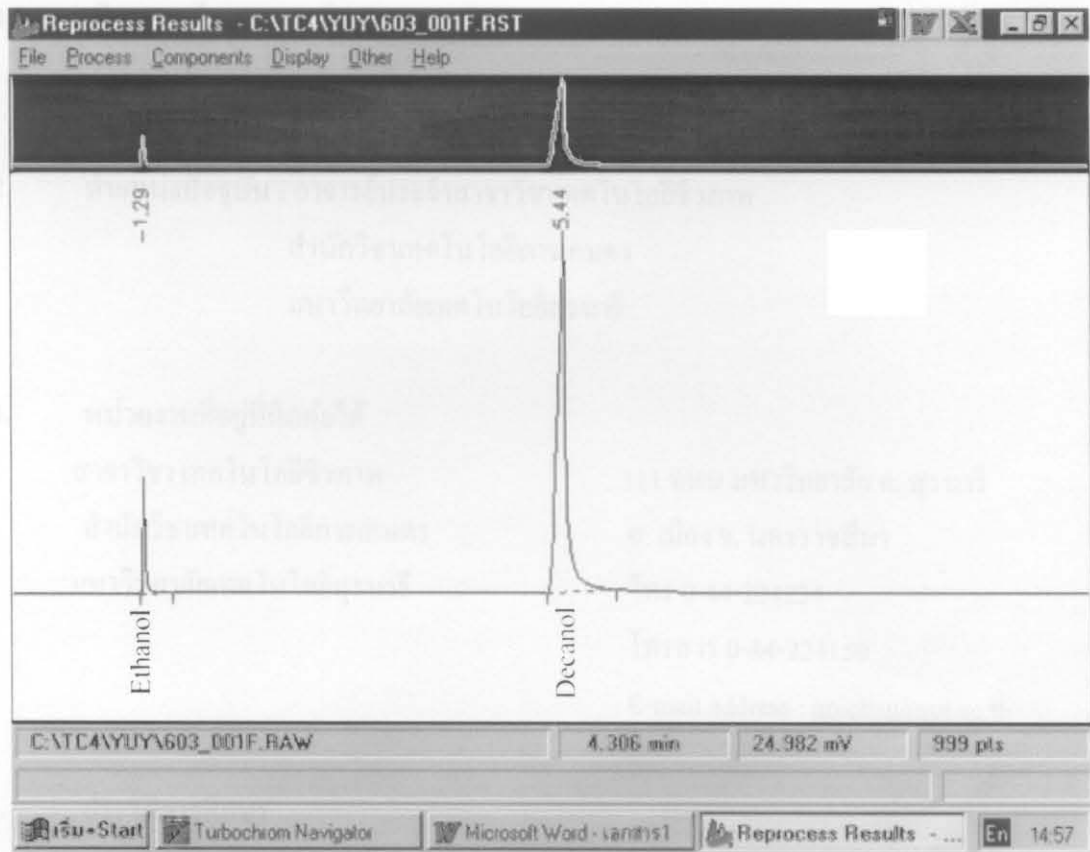
ภาพ 41: กราฟมาตรฐานความเข้มข้นของเอทานอลในตัวทำละลายอินทรีย์เพนทานอล

## ภาคผนวก ค



ภาพ 42: กราฟมาตรฐานความเข้มข้นของเอทานอลในตัวทำละลายอินทรีย์ 1-เดคานอล

## ภาคผนวก ง



ภาพ 43: โครมาโตแกรมของเอทานอลและเดคานอลหลังจากทำการวิเคราะห์โดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี

## ประวัติผู้วิจัย

1. ชื่อ(ภาษาไทย) ดร. อภิชาติ บุญทาวน  
(ภาษาอังกฤษ) Apichat Boontawan, Ph.D.
2. ตำแหน่งปัจจุบัน : อาจารย์ประจำสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ  
สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร  
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
3. หน่วยงานที่อยู่ติดต่อได้  
สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ  
สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร  
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี  
111 ถนน มหาวิทยาลัย ต. สุรนารี  
อ. เมือง จ. นครราชสีมา  
โทร 0-44-224234  
โทรสาร 0-44-224150  
E-mail address : [apichat@sut.ac.th](mailto:apichat@sut.ac.th)
4. ประวัติการศึกษา

ปีจบการศึกษา	ระดับปริญญา	ชื่อปริญญา	สาขาวิชา	วิชาเอก	ชื่อสถาบันศึกษา	ประเทศ
2548	ปริญญาเอก	Ph.D.	Chemical Engineering	Biochemical Engineering	Imperial college London	อังกฤษ
2543	ปริญญาโท	M.Sc.	Biochemical Engineering	Biochemical Engineering	University of Birmingham	อังกฤษ
2538	ปริญญาตรี	วท.บ.	อุตสาหกรรมเกษตร	วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	ไทย
2534	มัธยมศึกษาตอนปลาย	-	-	-	โรงเรียนปริญศรี ร้อยลวิทย์เชียงใหม่	ไทย

## 5. สาขาวิชาการที่มีความสนใจและชำนาญพิเศษ

Biochemical Engineering, Membrane separation processes, Biochemistry, Petroleum biotechnology, Biocatalysis and Biotransformation.

## 6. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย: ชื่อโครงการวิจัยและแหล่งทุน

1. การศึกษาการพัฒนาการผลิตเอทานอลแบบต่อเนื่องจากกากน้ำตาลอ้อย โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในถังหมักแบบใช้เยื่อแผ่น  
แหล่งทุน: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (เสร็จสมบูรณ์)  
เงินสนับสนุน: 100,000.- (1 ปี; กรกฎาคม 2548- มิถุนายน 2549)
2. การสังเคราะห์เอทานอลแบบต่อเนื่องด้วยเชื้อ *Methylosinus trichosporium* OB3b ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบหมุนโดยใช้เทคนิคเพอร์สแทรกชัน  
แหล่งทุน: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (กำลังอยู่ในระหว่างการดำเนินการ)  
เงินสนับสนุน: 305,000.- (2 ปี; ตุลาคม 2549- กันยายน 2551)
3. การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายกรดไขมันจากสบู่ดำในสภาวะไร้ออกซิเจน  
แหล่งทุน: สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (กำลังอยู่ในระหว่างการดำเนินการ)  
เงินสนับสนุน: 200,000.- (1 ปี; กันยายน 2549- สิงหาคม 2550)

## ผลงานตีพิมพ์ทางวิชาการ

- 1 **Boontawan, A., Stuckey D.C. (2005), Mass Transfer of Terpenes through a Silicone Rubber Membrane in a Liquid-Liquid Contacting System, *Biotechnol Prog*, 21:1680-1687. Impact factor 1.635**
- 2 **Boontawan, A., Stuckey D.C. (2005), A Membrane Bioreactor for the Biotransformation of  $\alpha$ -Pinene Oxide to Isonovalal by Resting Cells of *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 11671, *Appl Microbiol biotechnol*, 69:643-649. Impact factor 2.358**

- 3 **Boontawan, A.**, Stuckey D.C. (2006), Biotransformation of  $\alpha$ -pinene oxide to isovalal using fed-batch cultivation of *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 11671, *Submitted*.
- 4 Panvichit, P., Kanchanatawee, S. and **Boontawan, A.** (2006), Application of composite PDMS/PVDF membrane in fed-batch fermentation of ethanol from sugar cane molasses by *Saccharomyces cerevisiae* using perstraction technique, *Submitted*.
- 5 Panvichit, P., Kanchanatawee, S. and **Boontawan, A.** (2006), Mass transfer characteristic of ethanol from diluted aqueous solution through silicone membranes in a liquid-liquid contacting system, *Submitted*.

### 6.3 ผลงานวิจัยที่เผยแพร่ในที่ประชุมวิชาการ

#### 6.3.1 ระดับนานาชาติ

1. Panvichit, P., Kanchanatawee, S. and **Boontawan, A.** Application of composite PDMS/PVDF membrane in fed-batch fermentation of ethanol from sugar cane molasses by *Saccharomyces cerevisiae* using perstraction technique. 6<sup>th</sup> *European Symposium on Biochemical Engineering Science*, 27<sup>th</sup>-30<sup>th</sup> August 2006 Salzburg, Austria. (Poster presentation)
2. Panvichit, P., Kanchanatawee, S. and **Boontawan, A.** Mass transfer characteristic of ethanol from diluted aqueous solution through silicone membranes in a liquid-liquid contacting system. *Membrane Science & Technology 2006*, 26<sup>th</sup>-29<sup>th</sup> April 2006, Nanyang Technological University, Singapore. (Poster presentation)
3. **Boontawan, A.** and Stuckey, D.C. A Membrane Bioreactor for Biotransformation of Monoterpene. 3<sup>rd</sup> *Regional Symposium on Membrane Science & Technology 2005*, 27<sup>th</sup>-28<sup>th</sup> April 2005, Institut Teknologi Bandung, Indonesia. (Oral presentation)