



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การปรับปรุงคุณสมบัติเยื่อเลือกผ่านไคโตซานสำหรับ
เซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ

โดย ดร. เมธี สายศรีหยุด

เดือน ปี ที่เสร็จโครงการ

กรกฎาคม 2559

สัญญาเลขที่ TRG5780276

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การปรับปรุงคุณสมบัติเยื่อเลือกผ่านไคโตซานสำหรับ
เซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ

ผู้วิจัย สังกัด

ดร. เมธี สายศรีหยุด

ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

บทคัดย่อ

เยื่อเลือกผ่านไคโตซานถูกสังเคราะห์ขึ้นเพื่อนำมาประยุกต์ใช้กับเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพแทนการใช้
นาฟิออนซึ่งเป็นวัสดุที่มีราคาแพง โดยกลูตาโรลดีไฮด์ (2 กรัมโดยน้ำหนัก) และกรดซัลโฟซัลโฟนิก
(0.1 0.2 0.4 0.6 และ 0.8 โมลต่อโมลแอมีน) ถูกนำมาใช้เป็นสารเชื่อมขวางระหว่างสายโซ่ไคโต
ซานเพื่อเพิ่มความแข็งแรงและเพิ่มความสามารถในการนำโปรตอน และควอด-188 ถูกนำมาใช้เป็น
สารควอเทอไนซ์เพื่อเพิ่มคุณสมบัติการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ให้กับเยื่อเลือกผ่านไคโตซาน โดยศึกษา
เวลาในการควอเทอไนซ์ที่ 2 4 และ 8 ชั่วโมง จากการศึกษพบว่าความสามารถในการนำโปรตอน
เพิ่มขึ้นตามปริมาณกรดซัลโฟซัลโฟนิก โดยที่สภาวะกรดซัลโฟซัลโฟนิก 0.6 โมลต่อโมลไคโตซาน
เยื่อเลือกผ่านไคโตซานจะมีค่าการนำโปรตอนสูงสุด คือ 7.84×10^{-6} S/cm และความสามารถในการ
ต้านแรงดึงสูงสุดที่ 6.698 MPa และเยื่อเลือกผ่านมีประจุบวกเพิ่มขึ้นตามเวลาในการควอเทอไนซ์
ซึ่งสามารถพิจารณาได้จากค่าศักย์ซีต้าที่เพิ่มขึ้น (12.2 32.3 และ 45.3 mV ตามลำดับ) เมื่อ
เปรียบเทียบกับเยื่อเลือกผ่านไคโตซานที่ไม่ได้ผ่านการควอเทอไนซ์ (9.2 mV) ซึ่งเมื่อพิจารณาลักษณะทางกายภาพของเชื้อจุลินทรีย์ที่เกาะอยู่บนเยื่อเลือกผ่าน ก็พบว่า โครงสร้างเยื่อหุ้มเซลล์ของ
เชื้อจุลินทรีย์เกิดการเปลี่ยนแปลง โดยเกิดความเสียหายมากขึ้นตามประจุบวกที่เพิ่มขึ้น อัน
เนื่องมาจากประจุบวกจะไปเกิดอันตรกิริยากับเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ แต่อย่างไรก็ตามการ
เพิ่มขึ้นของประจุบวกจะส่งผลทำให้เยื่อเลือกผ่านมีความแข็งแรงลดลง อันเนื่องมาจากความสามารถ
ในการดูดซับน้ำที่มากขึ้น โดยสภาวะที่มีความเหมาะสมที่สุด คือเยื่อเลือกผ่านที่ถูกควอเทอไนซ์เป็น
เวลา 4 ชั่วโมง ซึ่งเมื่อนำเยื่อเลือกผ่านหลังการปรับปรุงคุณสมบัติไปทดสอบกับเซลล์เชื้อเพลิง
ชีวภาพแบบห้องคู่ โดยใช้เส้นใยกราไฟต์เป็นขั้วอิเล็กโทรด พบว่าระบบมีค่าความต้านทานการไหล
ของประจุไฟฟ้าเท่ากับ 156 โอห์ม หลังทำการบ่มเชื้อเป็นเวลา 72 ชั่วโมง

Abstract

Proton exchange membrane (PEM) for microbial fuel cell (MFC) was synthesized from chitosan. Glutaraldehyde and sulfosuccinic acid were used as crosslinking agents in order to improve its ultimate tensile strength and proton conductivity. Quat-188 was also employed for quaternization to develop antimicrobial activity of chitosan. Results showed that proton conductivity of chitosan membrane was enhanced with the content of sulfosuccinic acid. The highest proton conductivity and ultimate tensile strength (7.84×10^{-6} S/cm and 6.698 MPa, respectively) were obtained when 0.6 mole ratio of sulfosuccinic acid was employed. The additional positive charge from quaternization was determined by zeta potential, it was found that the zeta potential value increased with the reaction time. The morphology change of microorganism that contact with the surface of quaternized chitosan membrane was verified by SEM, it was shown that the morphology of microorganism were damaged and the extent of damage increase with the positive charge density, this might imply that the interaction between positive charge on quaternized chitosan membrane and negative charge on the outer membrane of microorganism leads to changes in the cell membrane structure. However, the high positive charge density results in not only high antimicrobial property, but also significant swelling of the quaternized chitosan membrane and therefore the strength of membrane were lost. From those results, the optimum reaction time in quaternization process should not be more than 4 h. Finally, proposed chitosan membrane was tested with dual chamber microbial fuel cell which graphite felts used as electrodes yielding ohmic resistance equal to 156 ohm at 72 h of incubation time.

Keywords : Chitosan, Proton Exchange Membrane, Microbial Fuel Cell

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. เพ็ญจิตร ศรีนพคุณ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อนุสิทธิ์ ณะพิมพ์เมธาที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำตลอดเวลาในการวิจัย

ขอขอบนางสาวคุณ ศันสพร ปลั่งศรี สำหรับความทุ่มเทในการทำวิจัย

ขอขอบคุณ ศูนย์นาโนเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือวิเคราะห์ Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR)

ขอขอบคุณ บริษัท โรงเส้นหมีขอเฮง จำกัด ตำบลยายชา อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม ที่ให้ความอนุเคราะห์จุดอินทรีย์ผสมจากระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงาน

ขอขอบคุณ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่ให้การสนับสนุนทางการเงินในการทำวิจัยในครั้งนี้

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ บิดา-มารดา ญาติพี่น้องที่เป็นกำลังใจเสมอมา

เมธี สายศรีหยุด

กรกฎาคม 2559

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(i)
สารบัญตาราง	(ii)
สารบัญภาพ	(iii)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
ขอบเขตการวิจัย	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	68
อุปกรณ์	68
วิธีการ	70
ผลและวิจารณ์	78
สรุปและข้อเสนอแนะ	103
สรุป	103
ข้อเสนอแนะ	105
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	106
ภาคผนวก	117
ภาคผนวก ก สูตรและขั้นตอนการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ	118
ภาคผนวก ข การคำนวณปริมาณสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	120
ภาคผนวก ค ข้อมูลดิบจากการทดลอง	123
ภาคผนวก ง ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ	143

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ศักย์ไฟฟ้าโดยทั่วไปของขั้วแอโนดและขั้วแคโทดที่สภาวะมาตรฐาน	31
2	คุณสมบัติเชิงกลของเยื่อเลือกผ่านไคโตซานและไคโตซานเชื่อมขวางที่อัตราส่วนโดยโมลของ SSA แตกต่างกัน	90
3	ค่าศักย์ซีต้าของเยื่อเลือกผ่านไคโตซานก่อนและหลังควอเทอไนซ์ที่เวลาแตกต่างกัน	93
4	คุณสมบัติเชิงกลของเยื่อเลือกผ่านไคโตซานก่อนและหลังควอเทอไนซ์ที่เวลาแตกต่างกัน	95
ตารางผนวกที่		
ค1	ผลการทดสอบการดูดซับน้ำของเยื่อเลือกผ่านแต่ละชนิด	124
ค2	คุณสมบัติเชิงกลของเยื่อเลือกผ่านแต่ละชนิด	128
ค3	ค่าการนำโปรตอนของเยื่อเลือกผ่านแต่ละชนิด	136
ค4	ค่าส่วนจริง (Z') และส่วนจินตภาพ (Z'') ที่อ่านได้จากกราฟ	140
ค5	ค่าศักย์ซีต้าของเยื่อเลือกผ่านก่อนและหลังการควอเทอไนซ์	142

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	การทำงานของเซลล์เชื้อเพลิงไฮโดรเจน-ออกซิเจน	4
2	หลักการทำงานของ MCFC	6
3	หลักการทำงานของ SOFC	7
4	หลักการทำงานของ AFC	8
5	หลักการทำงานของ PEMFC	9
6	หลักการทำงานของ PAFC	10
7	หลักการทำงานของ DMFC	11
8	การทำงานของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพทั่วไป	13
9	การถ่ายโอนอิเล็กตรอนโดยผ่านไซโตโครม	15
10	การถ่ายโอนอิเล็กตรอนโดยผ่านเส้นลวดนาโนของแบคทีเรีย	16
11	เส้นลวดนาโนของ <i>Shewanella Oneidensis MR-1</i>	16
12	ถ่ายโอนอิเล็กตรอนของแบคทีเรียด้วยสารนำพาอิเล็กตรอน	17
13	เซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพแบบห้องคู่ลักษณะต่างๆ	22
14	ลักษณะเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพแบบห้องคู่ชนิดไม่ใช่เยื่อเลือกผ่าน	23
15	เซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพแบบห้องเดี่ยวแบบใช้เยื่อเลือกผ่าน	24
16	เซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพแบบห้องเดี่ยวแบบไม่ใช่เยื่อเลือกผ่าน	25
17	การต่อวงจรของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพทั่วไป	26
18	การสูญเสียศักย์ไฟฟ้าที่เกิดขึ้นระหว่างการถ่ายโอนอิเล็กตรอนในเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ	32
19	ความต้านทานภายในของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ	33
20	โพลาริเซชันของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพโดยทั่วไป	35
21	ค่าความต้านทานภายในที่หาได้จากเทคนิคอิมพีแดนซ์สเปกโทรสโคปีเชิงเคมีไฟฟ้า	37
22	แผนภาพเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพและวงจรสมมูลย์ของระบบ	37

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
23	โครงสร้างพอลิเอทิลีน	39
24	โครงสร้างของเตตระฟลูออโรเอทิลีน และพอลิเตตระฟลูออโรเอทิลีน	39
25	โครงสร้างของซัลโฟเนตฟลูออโรเอทิลีน หรือกรดเปอร์ฟลูออโรซัลโฟนิค PTFE โคพอลิเมอร์	40
26	ช่องทางการเคลื่อนที่ของน้ำที่เกิดจากการดูดซึมน้ำของนาไฟออน	41
27	กลไกการเคลื่อนที่ของโปรตอน	42
28	โครงสร้างเซลลูโลส ไคติน และไคโตซาน	43
29	โครงสร้างไคโตซาน	44
30	กระบวนการซัลโฟเนชันไคโตซาน	47
31	กระบวนการเติมหมู่ฟอสเฟตให้กับสายโซ่ไคโตซาน	48
32	การสร้างชั้นฟิล์มระหว่างไคโตซานกับ SPAEK	50
33	การเชื่อมขวางแบบโควาเลนต์	51
34	การเชื่อมขวางสายโซ่ไคโตซานด้วยกลูตาโรลอัลดีไฮด์	52
35	การเชื่อมขวางสายโซ่ไคโตซานด้วยอีพิกลอโรไฮดริน	53
36	การเชื่อมขวางแบบไอออนิก	54
37	การเชื่อมขวางแบบไอออนิกด้วยกรดซัลฟิวริก	55
38	โครงสร้างของไคโตซานที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วย SSA และ GA	56
39	สมมติฐานในการเคลื่อนที่ของโปรตอน	57
40	โครงสร้างการเกิดอันตรกิริยาระหว่างไคโตซานกับ SSA	59
41	ปฏิกิริยาควอเทอไนเซชันโดยตรง	60
42	ปฏิกิริยาควอเทอไนเซชันโดยผ่านกระบวนการ Alkylation	61
43	ปฏิกิริยาควอเทอไนเซชันระหว่างไคโตซานกับ GTMAC	62
44	ปฏิกิริยาควอเทอไนเซชันระหว่างไคโตซานกับควอต-188	62

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
45	ปฏิกิริยาควอเทอโนเซชันระหว่างไคโตซานกับควอต-188 ที่สภาวะความเข้มข้นของเบสสูง	63
46	แผนภาพเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพแบบห้องคู่ที่ใช้ในการทดสอบ	74
47	เส้นใยกราฟไฟต์ที่ใช้เป็นขั้วอิเล็กโทรดในการทดลอง	75
48	เซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพแบบห้องคู่หลังจากประกอบเรียบร้อยแล้ว	76
49	ระบบของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพขณะทำการทดสอบ	77
50	ลักษณะเยื่อเลือกผ่านของ 8SSA ที่ทำการอบแห้งที่ 60 องศาเซลเซียส เมื่อเวลาผ่านไป 14 วัน	78
51	สารละลายไคโตซานในกรดอะซิติกก่อนและหลังหยด SSA ที่อัตราส่วนโดยโมลแตกต่างกัน	79
52	ลักษณะเยื่อเลือกผ่านไคโตซานและไคโตซานเชื่อมขวางที่อัตราส่วนโดยโมลของ SSA ที่แตกต่างกัน หลังอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส	80
53	สารละลายไคโตซานในกรดอะซิติกและกรดไฮโดรคลอริกก่อนและหลังหยด SSA ที่อัตราส่วนโดยโมลแตกต่างกัน	81
54	ลักษณะสารละลายไคโตซานหลังเติมสารละลาย GA	82
55	สารละลายไคโตซานที่อัตราส่วนโดยโมล SSA แตกต่างกันหลังเติมสารละลาย GA	82
56	ลักษณะเยื่อเลือกผ่านไคโตซานและไคโตซานเชื่อมขวางที่อัตราส่วนโดยโมลของ SSA ที่แตกต่างกัน หลังอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส	83
57	ลักษณะเยื่อเลือกผ่านไคโตซานและไคโตซานเชื่อมขวางที่อัตราส่วนโดยโมลของ SSA ที่แตกต่างกัน หลังอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสและไม่มีลมเป่า	84
58	โครงสร้างที่เป็นไปได้สำหรับการเชื่อมขวางระหว่างไคโตซานกับ SSA	85
59	โครงสร้างการเชื่อมขวางระหว่างไคโตซานกับ SSA ด้วยพันธะไอออนิกและเชื่อมขวางกับ GA	86

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
60	FT-IR สเปกตรัมของเยื่อเลือกผ่านไคโตซานและไคโตซานเชื่อมขวางที่อัตราส่วนโดยโมลของ SSA แตกต่างกัน	87
61	ร้อยละการดูดซับน้ำของเยื่อเลือกผ่านไคโตซานและไคโตซานเชื่อมขวางที่อัตราส่วนโดยโมลของ SSA แตกต่างกัน	89
62	ค่าการนำโปรตอนของเยื่อเลือกผ่านไคโตซานและไคโตซานเชื่อมขวางที่อัตราส่วนโดยโมลของ SSA แตกต่างกัน	91
63	ร้อยละการดูดซับน้ำของเยื่อเลือกผ่านไคโตซานก่อนและหลังควอเทอไนซ์ที่เวลาแตกต่างกัน	94
64	ค่าการนำโปรตอนของเยื่อเลือกผ่านไคโตซานที่ถูกควอเทอไนซ์ที่เวลาแตกต่างกัน	96
65	ภาพถ่ายแบบส่องกราดแสดงลักษณะทางกายภาพของเยื่อที่เกาะบนเยื่อเลือกผ่าน	97
66	กราฟอิมพีแดนซ์แสดงค่าความต้านทานภายในของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพที่ใช้ในการทดสอบ	101
ภาพผนวกที่		หน้า
ค	กราฟ Nyquist ของไคโตซานที่ทำการวัดครั้งที่ 1	140

คำนำ

เซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ (Microbial Fuel Cell, MFC) คืออุปกรณ์ที่สามารถเปลี่ยนพลังงานที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีไปเป็นกระแสไฟฟ้า โดยไม่ผ่านกระบวนการเผาไหม้ แต่อาศัยกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยจุลินทรีย์ และสามารถทำงานภายใต้สภาวะไม่รุนแรง คือที่อุณหภูมิห้องและความดันบรรยากาศ นอกจากนี้ยังสามารถใช้สารตั้งต้นได้หลากหลายชนิด นับตั้งแต่น้ำตาลโมล็ดกลูโคส เช่น กลูโคส จนถึงสารประกอบจำพวกของเสียที่มีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบ เป็นต้น เป็นสาเหตุให้เซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพได้รับความสนใจมากในปัจจุบัน

เซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพประกอบด้วยขั้วอิเล็กโทรดสองขั้วคือขั้วแอโนดและขั้วแคโทด โดยมีเยื่อเลือกผ่านโปรตอน (Proton Exchange Membrane หรือ PEM) ที่จะทำหน้าที่แยกส่วนของแอโนดและแคโทดออกจากกัน และยังมีบทบาทในการยอมให้เฉพาะโปรตอนเคลื่อนที่จากฝั่งแอโนดผ่านไปยังฝั่งแคโทดพร้อมกับป้องกันการแพร่ของออกซิเจนจากฝั่งแคโทดมายังฝั่งแอโนด วัสดุที่นิยมนำมาทำเป็นเยื่อเลือกผ่านโปรตอนทำมาจากพอลิเมอร์ชนิดกรดเปอร์ฟลูออโรซัลโฟนิก (Perfluorosulfonic acid) ที่มีชื่อทางการค้าว่านาฟิออน (Nafion) โดยโครงสร้างของเยื่อเลือกผ่านชนิดนี้มีหมู่ซัลโฟนิก (SO_3H^+) ที่ปลายสายโซ่ ทำหน้าที่เป็นตัวส่งผ่านโปรตอนที่ดี แต่เนื่องจากนาฟิออนเป็นวัสดุมีราคาสูง ซึ่งเป็นข้อจำกัดในการพัฒนาเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ เป็นสาเหตุทำให้เกิดแนวความคิดในการใช้วัสดุชนิดอื่นมาเป็นที่เลือกในการทำเยื่อเลือกผ่านโปรตอนแทนการใช้นาฟิออน ซึ่งคุณสมบัติของวัสดุในการนำมาทำเยื่อเลือกผ่านโปรตอนนั้นจะต้องนำโปรตอนได้ดี มีคุณสมบัติเชิงกลสูง เสถียรต่อความร้อนและสารเคมี ไม่นำไฟฟ้า และมีราคาถูก (Mokuma *et al.*, 2004)

ไคโตซานซึ่งเป็นไบโอพอลิเมอร์ที่ได้รับความสนใจในการนำไปประยุกต์ใช้กับเชื้อเพลิง อย่างเช่นเซลล์เชื้อเพลิงเยื่อเลือกผ่านโปรตอน (Hydrogen-polymer electrolyte fuel cell, PEFC) (Mokuma *et al.*, 2004) เซลล์เชื้อเพลิงชนิดเมทานอลโดยตรง (Direct Methanol Fuel Cell, DMFC) (Danwanichakul and Sirikhajornnam, 2012) เป็นต้น เนื่องจากไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ที่มาจากธรรมชาติ สามารถย่อยสลายทางชีวภาพ ไม่มีพิษ ไม่นำไฟฟ้า ราคาถูก มีคุณสมบัติที่ยังเชื้อจุลินทรีย์ และสายโซ่ของไคโตซานมีหมู่ฟังก์ชันที่จะสามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีได้ง่าย ทำให้สามารถปรับปรุงคุณสมบัติได้ โดยวิธีการปรับปรุงคุณสมบัติเยื่อเลือกผ่านไคโตซานเพื่อให้มีคุณสมบัติเหมาะสมสำหรับนำมาใช้เป็นเยื่อเลือกผ่านโปรตอนสำหรับเซลล์เชื้อเพลิง มีอยู่หลายวิธีด้วยกัน (Ma and Sahai, 2013) ได้แก่ การผสมไคโตซานกับพอลิเมอร์ชนิดอื่น (chitosan based

polymer blend) การคอมโพสิตกับวัสดุอื่น (chitosan based composite membrane) การต่อสายโซ่ (graft copolymerization) และการเชื่อมขวางระหว่างสายโซ่พอลิเมอร์ (crosslinking) เป็นต้น

เนื่องจากไคโตซานมีคุณสมบัติชอบน้ำสูง (hydrophilic) ซึ่งจำทำให้ไคโตซานมีความสามารถในการดูดซับน้ำได้ดี ซึ่งจะส่งผลให้เยื่อเลือกผ่านไคโตซานมีคุณสมบัติเชิงกลต่ำ เกิดการสลายตัวได้ง่าย การปรับปรุงด้วยการเชื่อมขวางระหว่างสายโซ่จะทำให้สายโซ่ไคโตซานมีความอัดแน่นมากยิ่งขึ้น ซึ่งจะเป็นการช่วยลดการบวมน้ำได้ แต่ในขณะเดียวกัน ถ้าการเชื่อมขวางมีปริมาณที่มากเกินไปก็จะไปส่งผลต่อการดูดซับน้ำลดลง ซึ่งจะส่งผลต่อความสามารถในการนำโปรตอนที่ลดลงด้วย ดังนั้นในการเชื่อมขวางระหว่างสายโซ่ สารที่ใช้ในการเชื่อมขวางจึงต้องมีหมู่ฟังก์ชันที่จะทำหน้าที่เป็นตัวส่งผ่านโปรตอนได้ดี ซึ่งจะช่วยให้ความสามารถในการนำโปรตอนของเยื่อเลือกผ่านไคโตซานนั้นลดลงมานัก

ในระบบของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพนั้น เยื่อเลือกผ่านโปรตอนจะต้องมีการสัมผัสกับเชื้อจุลินทรีย์อยู่ตลอดเวลาซึ่งอาจจะทำให้เกิดการย่อยสลายของเยื่อเลือกผ่านไคโตซานเร็วยิ่งขึ้น เป็นเหตุให้อายุการใช้งานเยื่อเลือกผ่านไคโตซานมีระยะเวลาอันสั้น เพื่อเป็นการป้องกันปัญหาดังกล่าว การปรับปรุงคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง โดยการเพิ่มคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์สามารถทำได้โดยการเพิ่มประจุบวกด้วยวิธีการทำปฏิกิริยาควอเทอไนซ์ (quaternization) ซึ่งประจุบวกที่เกิดขึ้นจะไปเกิดแรงดึงดูดกับประจุลบที่ผนังเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้เกิดความเสียหายต่อผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ได้

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาผลของการเชื่อมขวางสายโซ่ไคโตซานและทำปฏิกิริยาควอเทอไนซ์ในเซชันของเยื่อเลือกผ่านไคโตซาน และหาสภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์ที่จะทำให้เยื่อเลือกผ่านไคโตซานมีคุณสมบัติในการนำโปรตอนและยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดี

วัตถุประสงค์

1. สังเคราะห์เยื่อเลือกผ่านโปรตอนจากไคโตซานเพื่อนำไปใช้งานกับเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ โดยมีการปรับปรุงคุณสมบัติการนำโปรตอนและคุณสมบัติการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ให้กับเยื่อเลือกผ่านไคโตซาน
2. ทดสอบประสิทธิภาพเยื่อเลือกผ่านที่สังเคราะห์ได้กับเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ

ขอบเขตการวิจัย

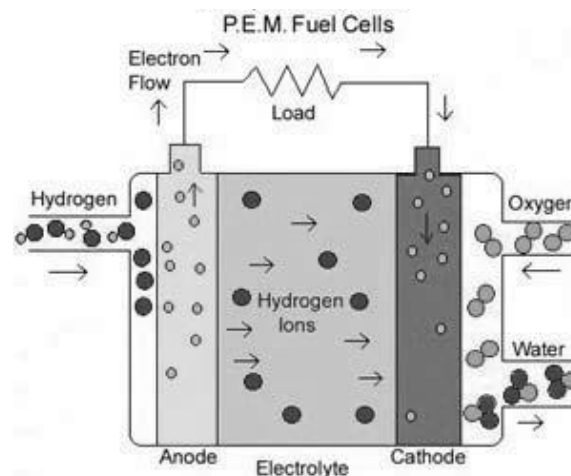
สังเคราะห์เยื่อเลือกผ่านโปรตอนจากไคลโตซานเพื่อนำไปใช้งานกับเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ โดยในกระบวนการสังเคราะห์จะทำการเชื่อมขวางสายโซ่ไคลโตซานด้วยกรดซัลโฟซักซินิก (sulfosuccinic acid, SSA) และกลูตารอลดีไฮด์ (Glutaraldehyde, GA) เพื่อเพิ่มคุณสมบัติในการนำโปรตอนและความแข็งแรงให้กับเยื่อเลือกผ่านไคลโตซาน และทำปฏิกิริยาควอเทอไนซ์ (quaternization) ของเยื่อเลือกผ่านโดยใช้ 3-คลอโร-2-ไฮดรอกซีโพรพิลไตรเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ (ควอต-188) เป็นสารควอเทอไนซ์เพื่อเพิ่มคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพของเยื่อเลือกผ่านกับเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพเป็นเชื้อผสม (mixed culture) จากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศของบริษัทเส้นไหมีชองเฮง จำกัด โดยตัวแปรต่างๆที่ทำการศึกษาได้แก่ ความสามารถในการดูดซับน้ำ ความสามารถในการนำโปรตอน คุณสมบัติเชิงกล และลักษณะทางกายภาพของเยื่อที่เกาะบนเยื่อเลือกผ่านก่อนและหลังการปรับปรุงคุณสมบัติ

การตรวจเอกสาร

เซลล์เชื้อเพลิง

1. เซลล์เชื้อเพลิงและหลักการทำงาน

เซลล์เชื้อเพลิง (Fuel Cell) คือ อุปกรณ์ที่สามารถเปลี่ยนพลังงานเคมีของเชื้อเพลิงไปเป็นพลังงานไฟฟ้าได้โดยตรงโดยปราศจากการเผาไหม้ ทำให้ไม่ก่อให้เกิดมลภาวะทางอากาศ เซลล์เชื้อเพลิงประกอบด้วยขั้วแอโนด (Anode) และขั้วแคโทด (Cathode) วางประกบติดกันกับอิเล็กโทรไลต์ ซึ่งเป็นส่วนที่มีความสำคัญเพราะเป็นส่วนที่ทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของไอออนชนิดต่างๆ และเป็นส่วนที่ทำให้เซลล์เชื้อเพลิงแต่ละประเภทแตกต่างกันไป อิเล็กโทรไลต์ดังกล่าวอาจเป็นของเหลวหรือของแข็งในรูปโครงสร้างของเยื่อเลือกผ่าน เซลล์เชื้อเพลิงชนิดต่างๆจะมีหลักการทำงานเบื้องต้นเช่นเดียวกันแสดงดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 การทำงานของเซลล์เชื้อเพลิงไฮโดรเจน-ออกซิเจน

ที่มา: ประเวศ (2553)

เชื้อเพลิงจะถูกป้อนเข้าไปที่ส่วนแอโนด ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ขั้วแอโนดจะเปลี่ยนเชื้อเพลิงกลายเป็นอิเล็กตรอนและไอออนดังสมการที่ (1)



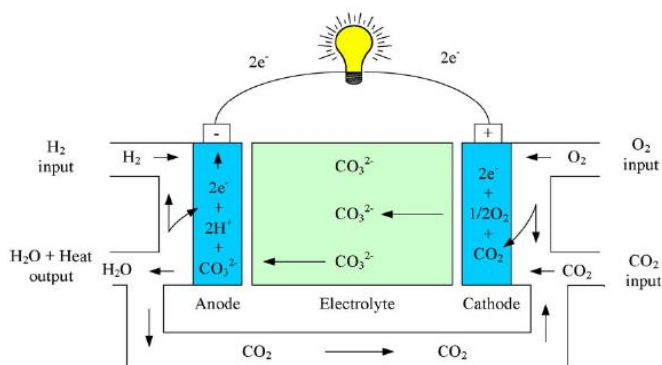
ซึ่งอิเล็กตรอนจะเคลื่อนที่ผ่านวงจรภายนอกไปยังขั้วแคโทดเกิดเป็นกระแสไฟฟ้า ส่วนไอออนจะเคลื่อนที่ผ่านอิเล็กโทรไลต์ไปยังขั้วแคโทด เพื่อไปเกิดปฏิกิริยารีดักชันกับอิเล็กตรอนและสารออกซิเจน โดยสารออกซิเจนที่นิยมใช้ก็คือออกซิเจน ซึ่งจะทำได้น้ำออกมาเป็นผลิตภัณฑ์ ดังสมการที่ (2)



2. ประเภทของเซลล์เชื้อเพลิง

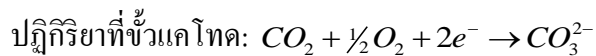
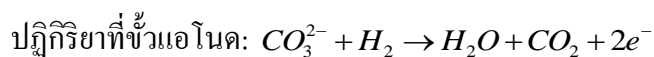
โดยทั่วไปเซลล์เชื้อเพลิงจะถูกจำแนกตามชนิดอิเล็กโทรไลต์ที่ใช้ เซลล์เชื้อเพลิงทั้งหมดประกอบด้วยเซลล์เชื้อเพลิงชนิดคาร์บอนเนตหลอมเหลว (Molten Carbonate Fuel Cell, MCFC) เซลล์เชื้อเพลิงชนิดออกไซด์แข็ง (Solid Oxide Fuel Cell, SOFC) เซลล์เชื้อเพลิงชนิดอัลคาไลน์ (Alkaline Fuel Cell, AFC) เซลล์เชื้อเพลิงเยื่อเลือกผ่านโปรตอน (Proton Exchange Membrane Fuel Cell, PEMFC) เซลล์เชื้อเพลิงชนิดกรดฟอสฟอริก (Phosphoric Acid Fuel Cell, PAFC) เซลล์เชื้อเพลิงชนิดใช้เมทานอลโดยตรง (Direct Methanol Fuel Cell, DMFC) และเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ (biofuel cell)

2.1 เซลล์เชื้อเพลิงชนิดคาร์บอนเนตหลอมเหลว (Molten Carbonate Fuel Cell, MCFC) จะใช้อิเล็กโทรไลต์เป็นส่วนผสมของลิเทียมคาร์บอนเนตและโพแทสเซียม หลักการทำงานของ MCFC แสดงดังภาพที่ 2 โดยอุณหภูมิใช้งานอยู่ที่ประมาณ 650 องศาเซลเซียสและความดันระหว่าง 1-10 ความดันบรรยากาศ ที่อุณหภูมินี้เกลือคาร์บอนเนตจะหลอมเหลวและจะเป็นตัวนำไอออนคาร์บอนเนต (CO_3^{2-}) ไอออนนี้เคลื่อนที่จากขั้วแคโทดไปยังขั้วแอโนดซึ่งจะรวมกับไฮโดรเจนเกิดเป็นน้ำคาร์บอนไดออกไซด์และปลดปล่อยอิเล็กตรอนออกมา โดยอิเล็กตรอนจะเคลื่อนที่ผ่านวงจรภายนอกไปด้านแคโทดสร้างกระแสไฟฟ้าและความร้อนเป็นผลิตภัณฑ์ข้างเคียง

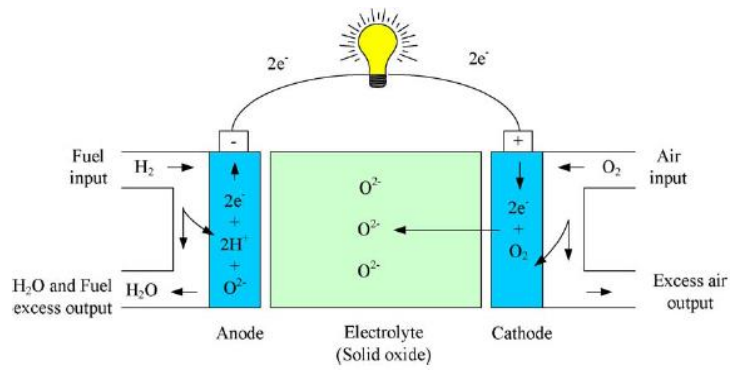


ภาพที่ 2 หลักการทำงานของ MCFC

ที่มา: Andujar and Segura (2009)

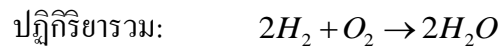
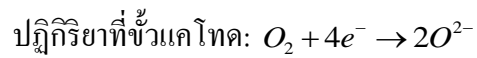
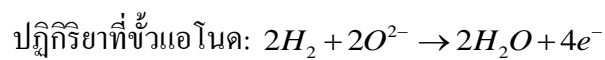


2.2 เซลล์เชื้อเพลิงชนิดออกไซด์แข็ง (Solid Oxide Fuel Cell, SOFC) อิเล็กโทรไลต์ที่นิยมใช้มากคือแคลเซียมออกไซด์หรือเซอร์โคเนียมออกไซด์ โดยเซลล์เชื้อเพลิงทำงานที่อุณหภูมิสูงประมาณ 1,000 องศาเซลเซียสและความดัน 1 ความดันบรรยากาศ แสดงดังภาพที่ 3 หลักการทำงานของ SOFC คือ ที่ขั้วแคโทดโมเลกุลออกซิเจนจากอากาศจะถูกแยกออกเป็นไอออนออกซิเจน (O^{2-}) ซึ่งจะเคลื่อนผ่านอิเล็กโทรไลต์จากด้านแคโทดไปด้านแอโนด และรวมตัวกับไฮโดรเจนที่แอโนดจะเกิดเป็นน้ำและปลดปล่อยอิเล็กตรอน ซึ่งจะเคลื่อนผ่านวงจรภายนอกไปด้านแคโทดสร้างกระแสไฟฟ้าและความร้อนเป็นผลิตภัณฑ์ข้างเคียง

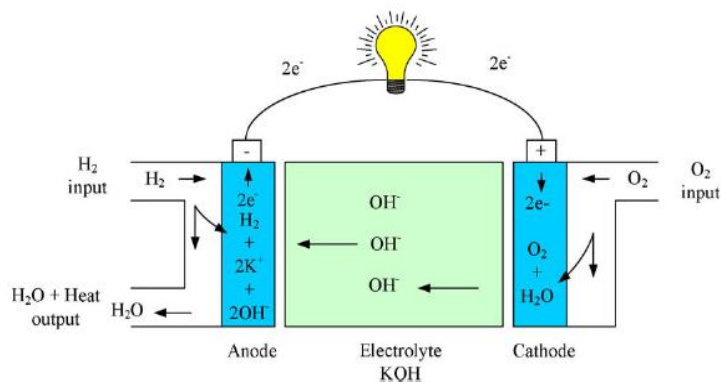


ภาพที่ 3 หลักการทำงานของ SOFC

ที่มา: Andujar and Segura (2009)

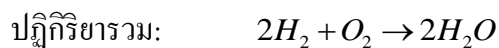
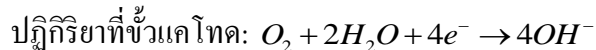
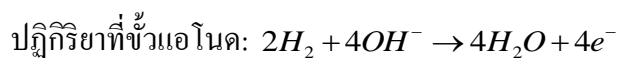


2.3 เซลล์เชื้อเพลิงชนิดอัลคาไลน์ (Alkaline Fuel Cell, AFC) ใช้โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เหลว (KOH) เป็นอิเล็กโทรไลต์ อุณหภูมิในการทำงานประมาณ 65 – 220 องศาเซลเซียส และความดัน 1 ความดันบรรยากาศ หลักการทำงานแสดงดังภาพที่ 4 ไฟฟ้าเคมีเกิดขึ้น โดยที่ไฮดรอกซิลไอออน (OH⁻) จะเคลื่อนจากแคโทดไปยังแอโนดที่ซึ่งไฮโดรเจนจะทำปฏิกิริยากับ OH⁻ ได้น้ำและปล่อยอิเล็กตรอนไปกับวงจรภายนอกไปที่แคโทด โดยอิเล็กตรอนนี้จะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนและน้ำทำให้ได้ OH⁻ แปรกลับเข้าไปในอิเล็กโทรไลต์

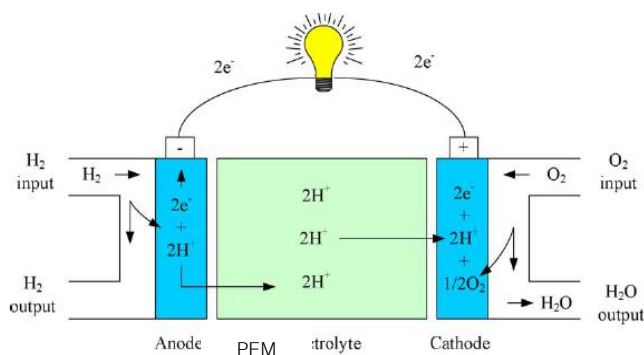


ภาพที่ 4 หลักการทำงานของ AFC

ที่มา: Andujar and Segura (2009)

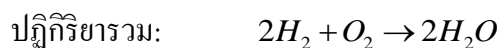
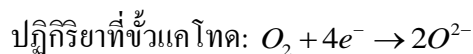
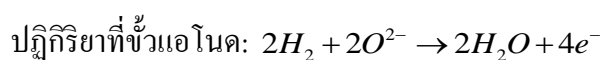


2.4 เซลล์เชื้อเพลิงเชื้อเลือกผ่านโปรตอน (Proton Exchange Membrane Fuel Cell, PEMFC) ใช้แผ่นเมมเบรนพอลิเมอร์ที่สามารถนำไอออนได้เป็นอิเล็กโตรไลต์ ซึ่งจะนำโปรตอนแต่ไม่นำอิเล็กตรอน โดยอุณหภูมิในการทำงานค่อนข้างต่ำ ประมาณ 60-80 องศาเซลเซียสหลักการทำงานแสดงดังภาพที่ 5 ใช้ก๊าซไฮโดรเจนและออกซิเจนในการทำปฏิกิริยาไฮโดรเจนที่ป้อนมายังขั้วแอโนดจะแตกตัวให้โปรตอน จะเคลื่อนผ่านอิเล็กโตรไลต์จากด้านแอโนดไปด้านแคโทด และอิเล็กตรอนจะเคลื่อนผ่านวงจรภายนอกไปด้านแคโทด เมื่ออิเล็กตรอนรวมตัวกับโปรตอนและออกซิเจนจะเกิดเป็นน้ำที่ขั้วแคโทด

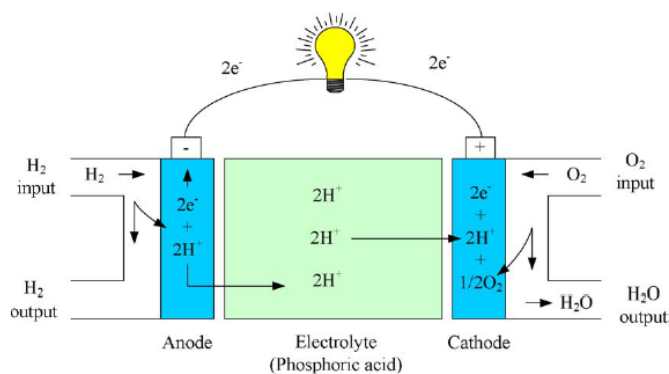


ภาพที่ 5 หลักการทำงานของ PEMFC

ที่มา: Andujar and Segura (2009)

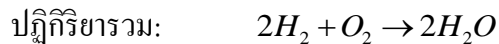
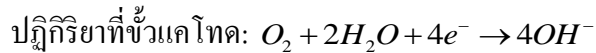
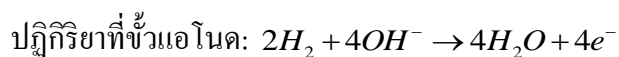


2.5 เซลล์เชื้อเพลิงชนิดกรดฟอสฟอริก (Phosphoric Acid Fuel Cell, PAFC) ใช้กรดฟอสฟอริกในซิลิโคนคาร์ไบด์เป็นอิเล็กโทรไลต์ สามารถทนต่อก๊าซเจือปนได้มากกว่าแบบ AFC แต่ก็ยังใช้เชื้อเพลิงและออกซิเจนชนิดเดียวกัน อุณหภูมิการใช้งานอยู่ที่ประมาณ 100-200 องศาเซลเซียส ความดัน 1 ความดันบรรยากาศ หลักการทำงานของ PAFC แสดงดังภาพที่ 6 คือ โปรตอนจะเคลื่อนผ่านอิเล็กโทรไลต์จากด้านแอโนดไปด้านแคโทด อิเล็กตรอนด้านแอโนดจะเคลื่อนผ่านวงจรภายนอกไปด้านแคโทด เมื่ออิเล็กตรอนรวมตัวกับโปรตอนและออกซิเจนจะเกิดเป็นน้ำที่ขั้วแคโทด และมีแพลทินัมเป็นตัวช่วยเร่งปฏิกิริยารีดักชัน ปัญหาของเซลล์เชื้อเพลิงชนิดนี้คือ การกัดกร่อนของกรดที่อุณหภูมิใช้งาน

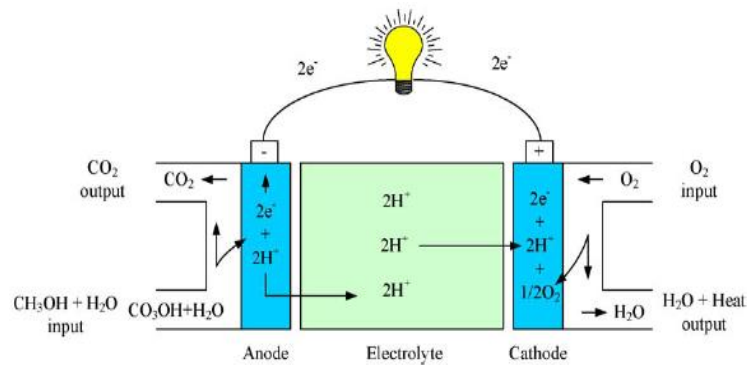


ภาพที่ 6 หลักการทำงานของ PAFC

ที่มา: Andujar and Segura (2009)



2.6 เซลล์เชื้อเพลิงชนิดใช้เมทานอลโดยตรง (Direct Methanol Fuel Cell, DMFC)
 เซลล์เชื้อเพลิงชนิดใช้เมทานอลโดยตรงมีลักษณะคล้ายเซลล์เชื้อเพลิงชนิดเชื้อเพลิงเปลี่ยนโปรตอน กล่าวคือ ใช้แผ่นเชื้อเพลิงเปลี่ยนโปรตอนเป็นสารอิเล็กโทรไลต์เช่นกัน โดยฝั่งแอโนดจะทำการผ่านสารละลายหรือก๊าซผสมระหว่างเมทานอลกับน้ำเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ให้อิเล็กตรอนออกมาซึ่งจะไหลจากแอโนดผ่านวงจรโหลดภายนอกไปสู่แคโทด และโปรตอนจะเคลื่อนที่ผ่านเยื่อเลือกผ่านไปยังฝั่งแคโทดเพื่อไปรวมตัวกับอิเล็กตรอนและออกซิเจนได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำ แสดงดังภาพที่ 7 โปรตอน และให้อิเล็กตรอนออกมา อิเล็กตรอนนี้จะไหลจากแอโนดผ่านวง



ปฏิกิริยาที่ขั้วแอโนด: $CH_3OH + H_2O \rightarrow 6H^+ + 6e^- + CO_2$

ปฏิกิริยาที่ขั้วแคโทด: $\frac{3}{2}O_2 + 6H^+ + 6e^- \rightarrow 3H_2O$

ปฏิกิริยารวม: $CH_3OH + \frac{3}{2}O_2 \rightarrow 2H_2O + CO_2$

ภาพที่ 7 หลักการทำงานของ DMFC

ที่มา: Andujar and Segura (2009)

2.7 เซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ (Biofuel Cell) เป็นส่วนหนึ่งของเซลล์เชื้อเพลิง ซึ่งใช้ตัวเร่งชีวภาพ (biocatalyst) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ประเภทของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพสามารถแบ่งได้ตามชนิดของตัวเร่งชีวภาพ กล่าวคือสามารถแบ่งได้เป็นเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพโดยใช้เอนไซม์ (Enzymatic Fuel Cell, EFC) โดยเอนไซม์ที่นิยมใช้ คือ กลูโคสออกซิเดส แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส กลูโคสดีไฮโดรจีเนส เป็นต้น และเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพอีกประเภทหนึ่งคือ เซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพที่ใช้จุลินทรีย์ (Microbial Fuel Cell, MFC)

เซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ (Microbial Fuel Cell)

1. ประวัติความเป็นมาของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ

เซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ (Microbial Fuel Cell) ถือกำเนิดมาจากแนวคิดในการนำเอา อิเล็กตรอนในสารละลายอินทรีย์ที่ได้จากกระบวนการย่อยของแบคทีเรียมาผลิตกระแสไฟฟ้า ในราวปี ค.ศ. 1910 Michael. C. Potter ศาสตราจารย์ทางพฤกษศาสตร์ มหาวิทยาลัยเคอแฮม สหราชอาณาจักร เป็นคนแรกที่มีแนวคิดในการผลิตกระแสไฟฟ้าจาก *Escherichia coil* และ *Saccharomyces* โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ทำจากแพลทินัม แต่งานวิจัยนั้นไม่ได้รับความสนใจมากนัก จนกระทั่งปี ค.ศ. 1931 นักวิทยาศาสตร์ชื่อ Barnett Cohen สามารถผลิตแรงดันไฟฟ้าได้มากกว่า 35 โวลต์จากการนำเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพหลายๆเซลล์มาต่อกัน และเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพกลับมา ได้รับความนิยมนในปี ค.ศ. 1960 เมื่อองค์การนาซา (National Aeronautics and Space Administration, NASA) ที่ประเทศสหรัฐอเมริกาได้ทำการวิจัยและนำเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพไป ประยุกต์ใช้ในกระสวยอวกาศจนกระทั่งถึงปี ค.ศ. 1980 Allen และ Bennetto เป็นผู้ค้นพบว่า ความหนาแน่นของกระแสไฟฟ้าและกำลังไฟฟ้าที่ผลิตได้นั้นสามารถผลิตเพิ่มได้มากขึ้นเมื่อมีการเติม สารนำพาอิเล็กตรอนซึ่งจะเป็นตัวเร่งทำให้กระบวนการถ่ายโอนอิเล็กตรอนจากเชื้อจุลินทรีย์ไปยัง ขั้วแอโนดเกิดเร็วยิ่งขึ้น แต่กลับพบว่า สารนำพาอิเล็กตรอนที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นมานั้นมีความเป็นพิษ และไม่มีความเสถียร จึงทำให้เป็นตัวขัดขวางต่อการนำไปประยุกต์ใช้ของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ ซึ่ง ต่อมานักวิทยาศาสตร์หลายท่านก็ได้มีการค้นพบว่าจุลินทรีย์บางชนิดสามารถสร้างสารนำพา อิเล็กตรอนได้ด้วยตัวเองจนกระทั่งเกิดการพัฒนามากเมื่อจุลินทรีย์บางชนิดถูกค้นพบว่า สามารถถ่ายโอนอิเล็กตรอนได้โดยตรงไปยังขั้วแอโนด จึงทำให้เกิดการพัฒนาเซลล์เชื้อเพลิง ชีวภาพเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตกระแสไฟฟ้าจนถึงปัจจุบันนี้

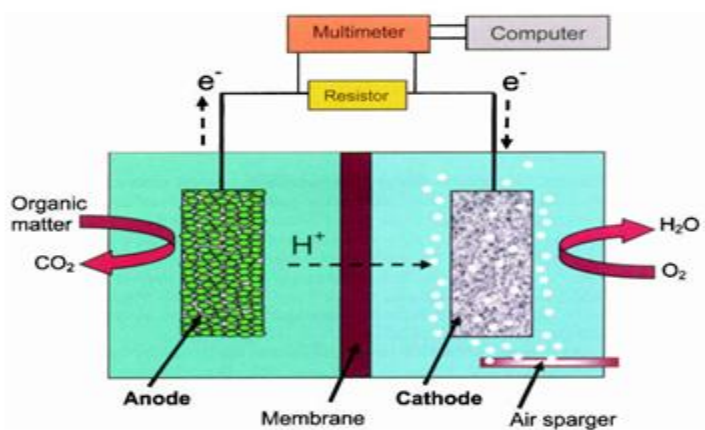
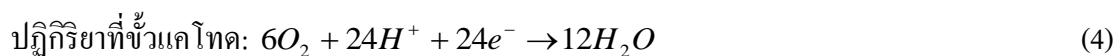
2. หลักการทำงาน

เซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ เป็นอุปกรณ์ที่เปลี่ยนพลังงานเคมีที่มีอยู่ในสารตั้งต้นทางชีวภาพไป เป็นกระแสไฟฟ้า ผ่านกระบวนการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุของจุลินทรีย์ภายใต้สภาวะไร้อากาศ ประกอบด้วยขั้วไฟฟ้า 2 ขั้ว ได้แก่ ขั้วแอโนด (anode) ซึ่งทำหน้าที่เป็นขั้วลบ และขั้วแคโทด (cathode) ซึ่งทำหน้าที่เป็นขั้วบวก โดยจะมีเยื่อเลือกผ่านโปรตอนเป็นตัวกั้นกลางระหว่างขั้วไฟฟ้า สองขั้ว

ในฝั่งของขั้วแอโนด เมื่อทำการป้อนสารอินทรีย์ตั้งต้น เช่น กลูโคส เข้าไปในเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ สารอินทรีย์เหล่านี้ จะถูกจุลินทรีย์ที่อยู่รอบๆ ขั้วแอโนดย่อยสลาย ได้ผลิตภัณฑ์เป็นคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) โปรตอน (H^+) และอิเล็กตรอน (e^-) ดังสมการที่ (3) เรียก ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation reaction) อิเล็กตรอนที่เกิดขึ้นจะเคลื่อนที่จากขั้วแอโนดตามวงจรไฟฟ้าด้านนอกไปยังขั้วแคโทด ส่วน โปรตอนก็จะเคลื่อนที่ผ่านเยื่อเลือกผ่านโปรตอนไปยังขั้วแคโทดเช่นกัน



ในฝั่งของขั้วแคโทด ออกซิเจนจะทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอน และรวมตัวกับโปรตอนที่เคลื่อนที่มาจากฝั่งแอโนด ได้ผลิตภัณฑ์คือ น้ำ ดังสมการที่ (4) เรียก ปฏิกิริยารีดักชัน (reduction reaction) เกิดเป็นกระแสไฟฟ้า ดังภาพที่ 8



ภาพที่ 8 การทำงานของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพทั่วไป

ที่มา: Logan (2008)

นอกจากนั้นแล้ว ในส่วนของขั้วแอโนดยังเกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ขึ้น อย่างไรก็ตาม สารชีวมวลก็จะนำก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในบรรยากาศไปใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึม จึงทำให้เมื่อพิจารณาโดยสุทธิแล้วจะไม่เกิดการปลดปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์นั่นเอง (Du *et al.*, 2007)

3. กระบวนการถ่ายโอนอิเล็กตรอน

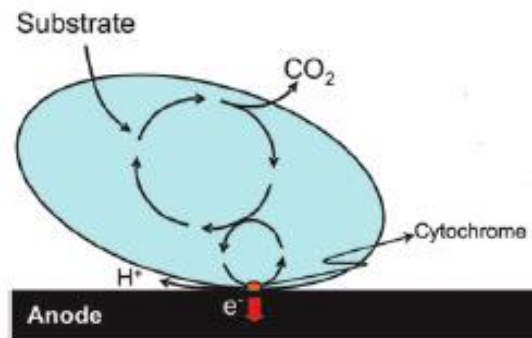
การถ่ายโอนอิเล็กตรอนจากจุลินทรีย์ไปยังขั้วแอโนดสามารถเกิดผ่าน 2 วิธีหลักๆด้วยกัน คือ เกิดการถ่ายโอนโดยตรง (Direct electron transfer) หรืออาศัยตัวนำพาอิเล็กตรอน (indirect electron transfer) (Rinaldi *et al.*, 2008)

3.1 การถ่ายโอนอิเล็กตรอนโดยตรง (Direct electron transfer)

การถ่ายโอนอิเล็กตรอนโดยตรงเกิดขึ้น โดยผ่านการสัมผัสทางกายภาพของผนังเซลล์ของจุลินทรีย์กับขั้วแอโนดโดยไม่มีสารนำพาอิเล็กตรอนจากเซลล์ไปยังขั้วไฟฟ้า การถ่ายโอนอิเล็กตรอนโดยตรงจะเกิดขึ้นกับจุลินทรีย์ที่เชื่อมเซลล์ประกอบด้วยโปรตีนที่สามารถถ่ายโอนอิเล็กตรอนจากภายในเซลล์ไปยังภายนอกเซลล์ได้ การถ่ายโอนอิเล็กตรอนโดยตรงได้แก่ การถ่ายโอนผ่านไซโตโครม และการถ่ายโอนผ่านเส้นลวดนาโนของแบคทีเรีย (nanowires)

3.1.1 การถ่ายโอนอิเล็กตรอนผ่านไซโตโครม (Cytochrome)

จุลินทรีย์ส่วนใหญ่ไม่เป็นที่นำไฟฟ้า (Non-conductive) เนื่องจากเยื่อหุ้มผนังเซลล์ชั้นนอกของจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ประกอบไปด้วยไขมัน ได้แก่ เปปทิโดไกลแคน (Peptididoglycan) และไลโปพอลิแซ็กคาไรด์ (Lipopolysaccharide) ซึ่งจะขัดขวางไม่ให้จุลินทรีย์ถ่ายโอนอิเล็กตรอนไปยังขั้วแอโนดได้โดยตรง แต่มีจุลินทรีย์บางชนิด เช่น *Geobacter Sulfurreducens* และ *Shewanella Putrefaciens* สามารถถ่ายโอนอิเล็กตรอนได้ด้วยตัวเอง ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้จะมีไซโตโครมซึ่งเป็นสารประกอบโปรตีนชนิดหนึ่ง แทรกอยู่ที่ผนังเซลล์ชั้นนอกเป็นจำนวนมาก ซึ่งจะเป็นส่วนที่ยอมให้อิเล็กตรอนเคลื่อนที่ผ่านได้ ทำหน้าที่ช่วยให้เกิดการถ่ายโอนอิเล็กตรอนจากเซลล์จุลินทรีย์ไปยังขั้วแอโนด ดังแสดงในภาพที่ 9 ซึ่งจุลินทรีย์ที่สัมผัสกับพื้นผิวของขั้วแอโนดเท่านั้นที่จะว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมีไฟฟ้า จึงทำให้ประสิทธิภาพของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพถูกจำกัดที่ความหนาแน่นของจุลินทรีย์ที่เกาะที่พื้นผิวของขั้วแอโนด

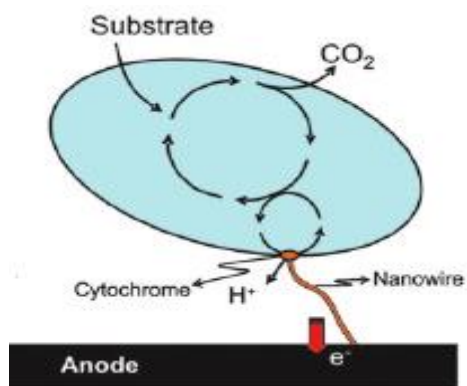


ภาพที่ 9 การถ่ายโอนอิเล็กตรอนโดยผ่านไซโตโครม

ที่มา : Schroder (2007)

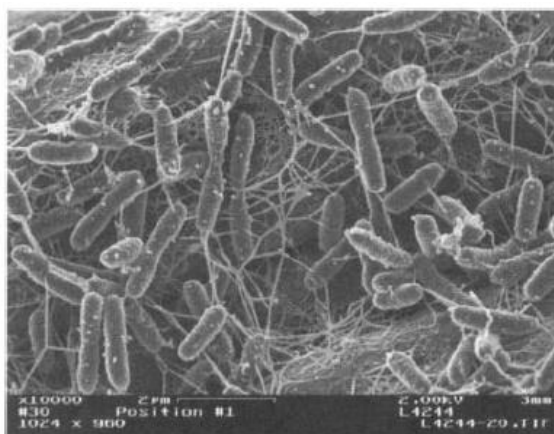
3.1.2 การถ่ายโอนอิเล็กตรอนผ่านเส้นลวดนาโนของแบคทีเรีย

การถ่ายโอนอิเล็กตรอนผ่านเส้นลวดนาโนของแบคทีเรียที่มีโครงสร้างคล้ายเส้นผม (Pilus-like) หรือหนวด ซึ่งพบอยู่ที่ผนังเซลล์ชั้นนอกของจุลินทรีย์บางชนิด มีคุณสมบัตินำไฟฟ้า อิเล็กตรอนจะถูกถ่ายโอนจากเซลล์ของแบคทีเรียไปสู่ขั้วแอโนดโดยผ่านเส้นลวดนาโน โดยเส้นลวดนาโนของแบคทีเรียพบได้ใน *Geobacter sulfurreducens* PCA รวมทั้ง *Shewanella oneidensis* MR-1 และ *Pelotomaculum thermopropionicum* ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้ค่อนข้างมีลักษณะเฉพาะและหายาก ดังแสดงในภาพที่ 10 และ 11 โดยการถ่ายโอนอิเล็กตรอนผ่านเส้นลวดนาโนนั้นอาจจะทำให้ความหนาของชั้นไบโอฟิล์มที่เกาะอยู่บนขั้วแอโนดมีความว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมีไฟฟ้า ซึ่งทำให้เกิดประสิทธิภาพในการถ่ายโอนไปยังขั้วแอโนดได้ดีกว่า ซึ่งต่างจากการถ่ายโอนโดยผ่านไซโครมที่ผนังเซลล์สัมผัสกับขั้วแอโนดเท่านั้นที่จะมีความว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยา



ภาพที่ 10 การถ่ายโอนอิเล็กตรอนโดยผ่านเส้นลวดนาโนของแบคทีเรีย

ที่มา : Schroder (2007)

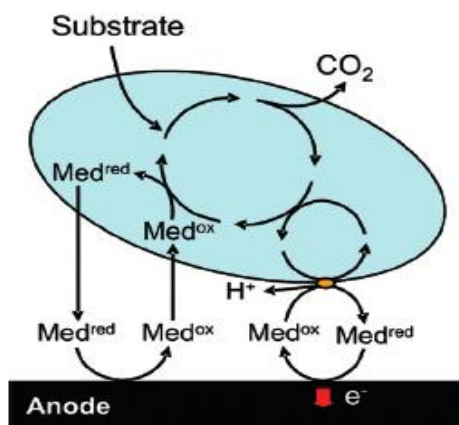


ภาพที่ 11 เส้นลวดนาโนของ *Shewanella Oneidensis MR-1*

ที่มา: Logan (2008)

3.1 การถ่ายโอนอิเล็กตรอนด้วยสารนำพาอิเล็กตรอน (Mediator)

อิเล็กตรอนที่ถูกผลิตขึ้นโดยจุลินทรีย์ในการกระบวนการย่อยสลายอินทรีย์นั้นจะถูกส่งไปยังขั้วไฟฟ้าแอโนดโดยผ่านสารนำพาอิเล็กตรอน (Mediator) หรือตัวรับส่งอิเล็กตรอน ซึ่งมีหน้าที่ในการขนถ่ายอิเล็กตรอนจากภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ไปยังขั้วแอโนด สารนำพาอิเล็กตรอนจะถูกออกซิไดซ์เพื่อให้ง่ายต่อการรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นภายในเยื่อหุ้มเซลล์ จากนั้นสารนำพาอิเล็กตรอนจะเคลื่อนที่ข้ามผ่านเยื่อหุ้มเซลล์และเพื่อปลดปล่อยอิเล็กตรอนไปยังส่วนแอโนด โดยสารนำพาอิเล็กตรอนนี้จะช่วยเร่งการขนส่งอิเล็กตรอนและเพิ่มการผลิตกระแสไฟฟ้าให้มากขึ้น ซึ่งจุลินทรีย์บางชนิดสามารถผลิตสารนำพาอิเล็กตรอนได้ เช่น phenazine, 2-amino-3 carboxy- 1, 4-naphthoquinone, 1,2-dihydroxynaphthalene and 2,6-di-tertbutyl- p-benzoquinone แต่หากจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตอิเล็กตรอนนั้นไม่สามารถผลิตสารนำพาอิเล็กตรอนได้ด้วยตนเองแล้ว ก็มักจะมีการเติมสารนำพาอิเล็กตรอนให้แก่เซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพทางฝั่งที่มีขั้วแอโนดเช่น นิวทรอลเรด (Neutrol red) และเมธิลีนบลู เป็นต้น โดยสารที่นำพาอิเล็กตรอนจะแทรกผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าไปภายในเซลล์จุลินทรีย์ จากนั้นนำเอาอิเล็กตรอนออกมานอกเซลล์ในรูปของรีดิวซ์สารที่นำพาอิเล็กตรอน (Reduced Mediator คือ สารที่นำพาอิเล็กตรอนที่รับอิเล็กตรอนมาจากภายในเซลล์ของจุลินทรีย์) และปลดปล่อยอิเล็กตรอนไปยังขั้วแอโนด แสดงดังภาพที่ 12



ภาพที่ 12 ถ่ายโอนอิเล็กตรอนของแบคทีเรียด้วยสารนำพาอิเล็กตรอน

ที่มา : Schroder (2007)

ลักษณะสารนำพาอิเล็กตรอนที่ดี (Ieropoulos *et al.*, 2005) มีดังนี้

- 1) ในกระบวนการออกซิไดซ์ของสารนำพาอิเล็กตรอนนั้น สารนำพาอิเล็กตรอนที่ถูกออกซิไดซ์แล้วจะต้องสามารถผ่านแทรกซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์เข้าไปได้ และในขั้นตอนการรีดักชัน สารนำพาอิเล็กตรอนที่ถูกรีดิวซ์แล้วก็ควรสามารถแทรกซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ออกได้ง่ายเช่นกัน
- 2) สามารถแยกอิเล็กตรอนจากตัวนำอิเล็กตรอนในกระบวนการถ่ายโอนอิเล็กตรอนที่เกิดขึ้นภายในเซลล์จุลินทรีย์ได้ดี
- 3) เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ผิวขั้วแอโนดได้ดี
- 4) ไม่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ
- 5) ต้นทุนต่ำ

อย่างไรก็ตามสารนำพาอิเล็กตรอน มีข้อเสีย คือ มีความเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ ทำให้จุลินทรีย์บางชนิดตาย และเพิ่มต้นทุนในกระบวนการผลิตกระแสไฟฟ้า

4. วัสดุที่ใช้ในการสร้างเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ (Material of construction)

วัสดุที่ใช้ในการสร้างเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพนั้นมีความสำคัญมากเพราะมีผลต่อกำลังไฟฟ้าที่จะผลิตได้ ดังนั้นแล้วจึงควรเลือกวัสดุส่งผลดีต่อประสิทธิภาพการทำงานของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ อีกทั้งควรเป็นวัสดุที่มีราคาถูก โดยคุณสมบัติและชนิดของวัสดุในการนำมาใช้เป็นขั้วแอโนดและแคโทด มีดังต่อไปนี้

4.1 ขั้วแอโนด

ขั้วแอโนดเป็นส่วนประกอบหนึ่งของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพที่มีความสำคัญต่อประสิทธิภาพในการผลิตกำลังไฟฟ้าของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ วัสดุและโครงสร้างของขั้วแอโนดเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการยึดติดของเชื้อจุลินทรีย์ การถ่ายโอนอิเล็กตรอนและการออกซิไดซ์สารอินทรีย์ วัสดุหลายชนิดที่ได้รับความนิยมนำมาทำเป็นขั้วแอโนด ได้แก่ เหล็กกล้าไร้สนิม (non-corrosive stainless steel) แผ่นกราไฟต์ กระจกคาร์บอน ผ้าคาร์บอน เส้นใยคาร์บอน เป็นต้น เนื่องจากวัสดุเหล่านี้มีความคงทนต่อเชื้อจุลินทรีย์ มีความสามารถในการนำไฟฟ้าสูง และมีพื้นที่ผิวสูง

การปรับปรุงขั้วแอโนดเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการทำงานก็มีด้วยกันหลายวิธี เช่น การใช้แพลทินัม เคลือบบนขั้วแอโนดเพื่อเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันสารอินทรีย์ แต่อย่างไรก็ตาม แพลทินัมเป็นวัสดุที่มีราคาสูง ซึ่งส่งผลเสียข้อเสียต่อการดำเนินการในระดับอุตสาหกรรมของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ แต่ก็ได้มีการศึกษาหาวัสดุชนิดอื่นมาแทนแพลทินัม เช่น ใช้นิกเทลเลนคาร์ไบด์ ซึ่งมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับแพลทินัม (Rosenbaum *et al.*, 2006) เป็นต้น

นอกจากนี้ การเพิ่มพื้นที่ผิวขั้วแอโนดก็เป็นอีกหนึ่งวิธีที่เพิ่มประสิทธิภาพขั้วแอโนด เช่น ทำการปรับปรุงเส้นใยกราฟไฟต์ด้วยการนำไปทำเป็นคาร์บอนนาโนไฟเบอร์หรือใช้กรดไนตริกในการปรับสภาพ โดยจากการศึกษาพบว่า เส้นใยกราฟไฟต์ที่ได้รับการปรับปรุงคุณสมบัติสามารถให้ความหนาแน่นกำลังไฟฟ้าสูงกว่า (26.1 และ 28.4 มิลลิวัตต์ต่อตารางเมตร ตามลำดับ) เส้นใยกราฟไฟต์ที่ไม่ได้รับการปรับปรุง (9.5 มิลลิวัตต์ต่อตารางเมตร) (Scott *et al.*, 2007)

4.2 ขั้วแคโทด

ขั้วแคโทดทำหน้าที่เป็นตัวถ่ายโอนอิเล็กตรอนให้กับสารออกซิเดชันหรือตัวรับอิเล็กตรอน ประสิทธิภาพในการทำงานของขั้วแคโทดจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นและชนิดของตัวรับอิเล็กตรอน ปริมาณโปรตอน ประสิทธิภาพของตัวเร่งปฏิกิริยา และโครงสร้างของขั้วแคโทด (Watanabe, 2008) โดยออกซิเจนที่อยู่ในอากาศเป็นตัวรับอิเล็กตรอนที่ได้รับความนิยมเป็นอย่างมากเนื่องจากไม่ต้องใช้ต้นทุนและมีความยั่งยืน ไม่มีพิษ แต่อย่างไรก็ตามปฏิกิริยาที่ขั้วแคโทดก็เป็นหนึ่งในปัจจัยที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการทำงานของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ การใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาอย่างแพลทินัมในการช่วยเพิ่มอัตราการเกิดปฏิกิริยารีดักชันที่ขั้วแคโทด ซึ่งสามารถเพิ่มศักยภาพในการทำงานให้กับเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพได้ ยกตัวอย่างเช่น แคโทดที่ทำจากแผ่นกราฟไฟต์ที่ถูกเคลือบด้วยผงแพลทินัมสามารถผลิตกระแสไฟฟ้าได้เพิ่มขึ้น 3-4 เท่าเมื่อเทียบกับขั้วแคโทดที่ไม่ได้มีการเคลือบด้วยผงแพลทินัม (Pham *et al.*, 2004) เป็นต้น แต่ก็มีข้อจำกัดในการนำไปใช้งาน เนื่องจากแพลทินัมเป็นโลหะที่มีราคาแพง จึงทำให้มีนักวิจัยหลายท่านเกิดการค้นคว้าหาตัวเร่งปฏิกิริยาดัอื่นที่มีคุณสมบัติที่เหมาะสมแทนแพลทินัม ยกตัวอย่างเช่น เหล็ก (Fe) และโคบอลต์ (Co) (Park และ Zeikus, 2003), Lead oxide (Morris *et al.*, 2007), cobalttetramethoxy-phenylporphyrin (CoTMPP), iron phthalocyanine (FePc) (Zhao *et al.*, 2005) เป็นต้น

นอกจากออกซิเจนแล้ว เฟอร์ริไซยาไนด์หรือเปอร์แมงกานेटได้ถูกนำมาใช้เป็นตัวรับอิเล็กตรอนแทนออกซิเจน ซึ่งพบว่าสามารถผลิตกำลังไฟฟ้าได้สูงถึง 258 วัตต์ต่อลูกบาศก์เมตร (Aelterman *et al.*, 2006) ทั้งนี้เนื่องจากสารเหล่านี้มีศักย์ไฟฟ้าเกินต่ำ นั่นหมายความว่าพลังงานที่จะใช้ในการกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยานั้นต่ำ แต่อย่างไรก็ตาม สารรับอิเล็กตรอนเหล่านี้มีความเหมาะสม

ที่จะนำมาใช้ในระดัการทดลองเท่านั้น เนื่องจากสารรับอิเล็กตรอนเหล่านี้มีความจำเป็นที่จะต้องนำมาฟื้นฟูสภาพใหม่ ซึ่งจะเป็นการเพิ่มต้นทุนให้กับเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ จึงไม่เหมาะสมในระดัอุตสาหกรรม

อีกทางเลือกหนึ่งของขั้วแคโทดสำหรับเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพที่กำลังได้รับความสนใจมากนั้นก็คือ ขั้วไบโอแคโทด (biocathode) ซึ่งจะมีเชื้อจุลินทรีย์ไปก่อตัวเป็นชั้นไบโอฟิล์มบนขั้วแคโทด โดยชั้นไบโอฟิล์มนี้ก็จะทำหน้าที่เป็นตัวเร่งในการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของฝั่งแคโทด ซึ่งข้อดีของขั้วไบโอแคโทดคือ ต้นทุนในการสร้างและดำเนินการต่ำเนื่องจากไม่มีการใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาและสารนำพาอิเล็กตรอน ซึ่งในปัจจุบันนี้ได้งานวิจัยมากมายที่กำลังให้ความสำคัญกับขั้วไบโอแคโทด เช่น ศึกษาวัสดุที่นำมาใช้เป็นขั้วไบโอแคโทดในเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ คือ เส้นใยกราไฟต์ (graphite felt), กระดาษคาร์บอน (carbon paper) และแผ่นตาข่ายสแตนเลส (stainless steel mesh) จากการศึกษาความสามารถในการเกาะติดของเชื้อบนขั้วแคโทด ประสิทธิภาพในการผลิตกำลังไฟฟ้า ความสามารถในการเกิดปฏิกิริยารีดักชันและความต้านทานภายใน พบว่าไบโอแคโทดที่ใช้เส้นใยกราไฟต์ให้ประสิทธิภาพดีสุด (Zhang *et al.*, 2012) เป็นต้น

4.3 เยื่อเลือกผ่านโปรตอน

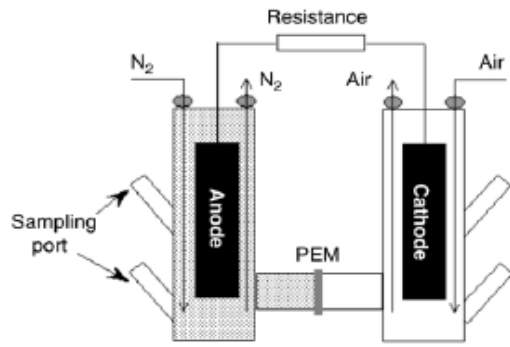
โดยทั่วไป เยื่อเลือกผ่านโปรตอนจะถูกนำมาพิจารณาเพื่อจำแนกรูปแบบของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ โดยเยื่อเลือกผ่านโปรตอนจะทำหน้าที่เป็นตัวแบ่งระหว่างส่วนที่เป็นแอโนดและแคโทด โดยจะยอมให้เฉพาะโปรตอนที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชันในฝั่งแอโนดเคลื่อนที่ไปยังฝั่งแคโทด อีกทั้งจะทำหน้าที่ป้องกันการแพร่ของออกซิเจนจากฝั่งแคโทดมายังฝั่งแอโนดด้วย โดยรายละเอียดของเยื่อเลือกผ่านโปรตอนจะถูกกล่าวอย่างละเอียดในหัวข้อต่อไป

5. รูปแบบของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ (Configuration of microbial fuel cell)

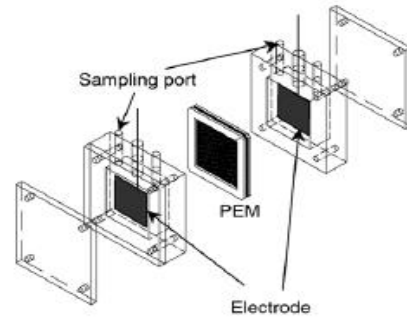
นอกจากวัสดุที่ได้กล่าวมาข้างต้นจะส่งผลต่อการผลิตกำลังไฟฟ้าของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพแล้ว รูปแบบของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพเช่นกัน ซึ่งในปัจจุบันรูปแบบเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพได้ถูกพัฒนาอย่างต่อเนื่องเพื่อให้ระบบสามารถผลิตกำลังไฟฟ้าได้มากขึ้น โดยรูปแบบของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพสามารถแบ่งออกเป็น 2 ลักษณะใหญ่ๆ ตามโครงสร้างได้ดังนี้

5.1 เซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพแบบห้องคู่ (dual chamber)

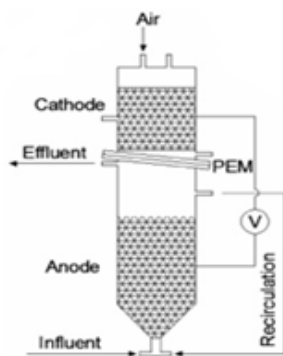
เซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพแบบห้องคู่ สามารถทำงานได้ทั้งแบบกะ (batch) และแบบต่อเนื่อง (continuous) โดยเซลล์เชื้อเพลิงชนิดนี้ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ห้องแอโนดและห้องแคโทด โดยเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพแบบห้องคู่สามารถสร้างได้หลายรูปแบบ และมีหลักการทำงานต่างกันไป ดังแสดงในภาพที่ 13 โดยห้องแอโนดและแคโทดจะถูกแยกออกจากกันด้วยเยื่อเลือกผ่านโปรตอน ซึ่งจะทำหน้าที่ยอมให้โปรตอนเคลื่อนที่จากห้องแอโนดผ่านไปยังห้องแคโทด ในขณะที่เยื่อเลือกผ่านจะไม่ยอมให้ออกซิเจนในส่วนแคโทดผ่านมายังส่วนแอโนดได้ หรืออาจจะมีการสร้างรูปแบบของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพแบบห้องคู่โดยไม่มีการใช้เยื่อเลือกผ่านโปรตอน อย่างเช่นสร้างเป็นท่อทรงกระบอก แล้วให้น้ำไหลจากด้านล่างขึ้นสู่ด้านบน (upflow tubular) โดยมีใยแก้วและเม็ดแก้วทำหน้าที่เป็นตัวแยกส่วนของแอโนดกับแคโทด ดังแสดงในภาพที่ 14(ก) หรือสร้างเป็นท่อทรงกระบอกซ้อนกันสองท่อแล้วใช้หลักการน้ำล้น ดังแสดงในภาพที่ 14(ข) เป็นต้น



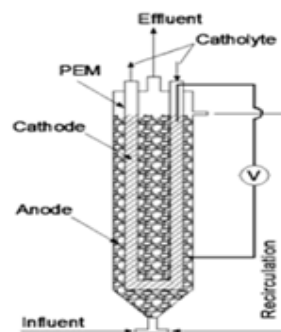
(ก)



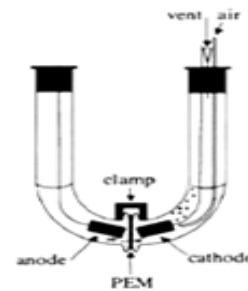
(ข)



(ค)



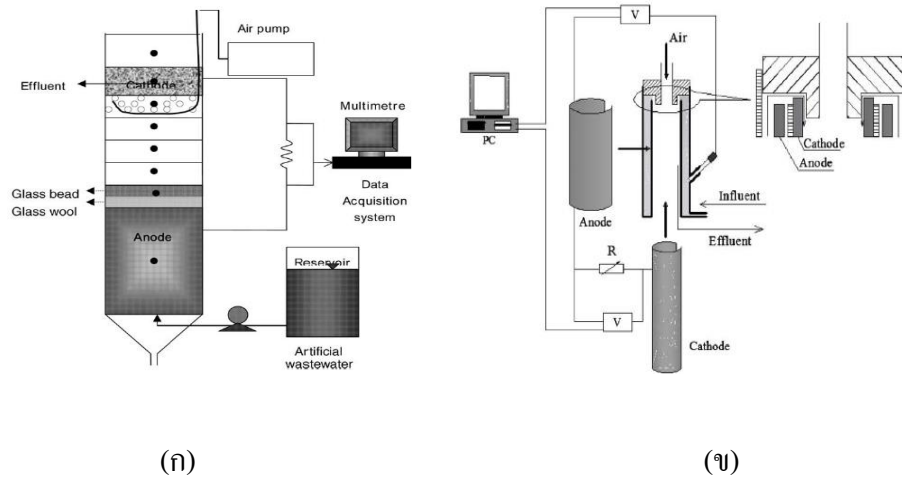
(ง)



(จ)

ภาพที่ 13 เซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพแบบห้องคู่ลักษณะต่างๆ (ก) รูปทรงตัว H (ข) รูปทรงสี่เหลี่ยม (ค) รูปทรงกระบอก (ง) รูปทรงกระบอกที่มีส่วนแคโทดเป็นรูปทรงตัวยูบรรจุอยู่ด้านใน และ (จ) รูปทรงตัวยู (U-Shape)

ที่มา: (ก) Logan (2008); (ข) Allen and Benetto (1993); (ค) He *et al.* (2005); (ง) He *et al.* (2006); และ (จ) Milliken and May (2007)

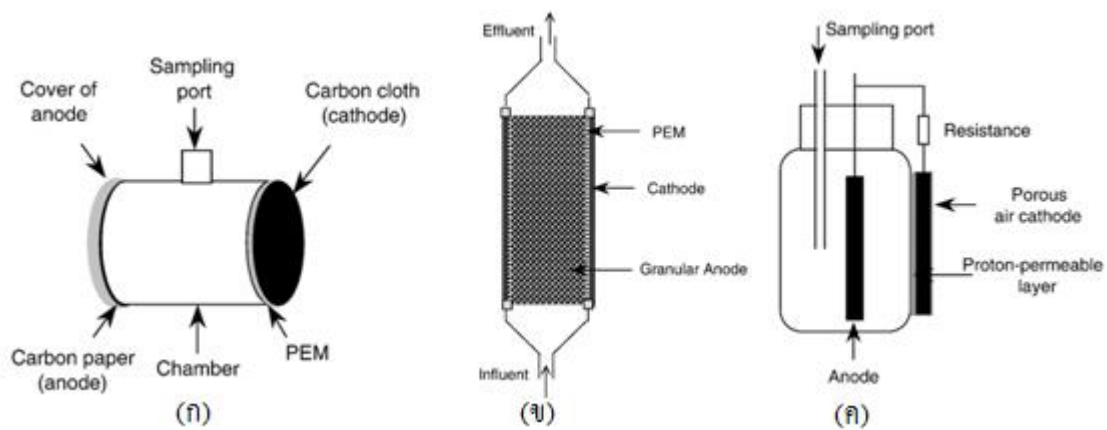


ภาพที่ 14 ลักษณะเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพแบบห้องคู่ชนิดไม่ใช่เยื่อเลือกผ่าน (ก) ใช้ใยแก้วและเม็ดแก้วทำหน้าที่แยกส่วนของแอโนดกับแคโทด และ (ข) ใช้หลักการน้ำส้ม

ที่มา: (ก) Jang *et al.* (2004) และ (ข) Li *et al.* (2009)

5.2 เซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพแบบห้องเดี่ยว (single chamber)

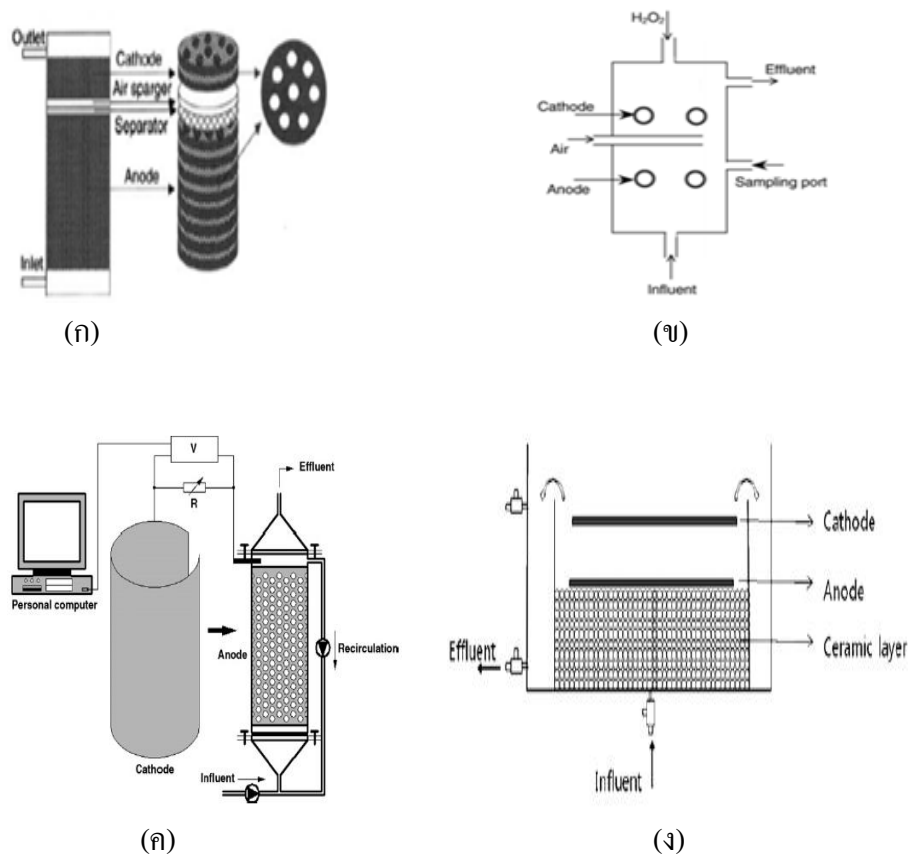
จากเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพแบบห้องคู่ก็ได้มีการปรับปรุงพัฒนามาเป็นเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพแบบห้องเดี่ยว โดยขั้วแคโทดสัมผัสกับอากาศโดยตรง ซึ่งลักษณะโครงสร้างของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพแบบห้องเดี่ยวก็จะมีทั้งชนิดใช้เยื่อเลือกผ่านและไม่ใช้เยื่อเลือกผ่านเช่นกัน โดยชนิดที่ใช้เยื่อเลือกผ่านแสดงในภาพที่ 15



ภาพที่ 15 เซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพแบบห้องเดี่ยวแบบใช้เยื่อเลือกผ่าน (ก) เยื่อเลือกผ่านเคลือบอยู่ขั้วแคโทดที่ช่องทางเชื่อมของส่วนแอโนด (ข) เยื่อเลือกผ่านเคลือบอยู่ขั้วแคโทดซึ่งอยู่ที่ผิวด้านข้างของทรงกระบอก และ (ค) ส่วนแอโนดและแคโทดอยู่คนละด้านของถังปฏิกรณ์

ที่มา: (ก) Lui and Logan (2004); (ข) Rabaey and Verstraete (2005) และ (ค) Du *et al.* (2007)

ส่วนชนิดที่ไม่ใช้เยื่อเลือกผ่านก็จะมีการนำวัสดุอื่นมาใช้ทดแทนการใช้เยื่อเลือกผ่าน อย่างเช่นใช้แผ่นอะคลิลิกที่มีรูพรุน แสดงในภาพที่ 16(ก) หรือใช้ฟองน้ำ แสดงในภาพที่ 16(ข) แทนการใช้เยื่อเลือกผ่าน หรือมีการออกแบบถังปฏิกรณ์ให้มีรูปแบบที่สามารถทำงานได้โดยไม่ต้องใช้เยื่อเลือกผ่าน อย่างเช่นให้ขั้วแคโทดหุ้มอยู่ด้านนอกทรงกระบอกที่มีรู โดยภายในบรรจุเม็ดคาร์บอนที่ทำหน้าที่เป็นแอโนด ดังแสดงในภาพที่ 16(ค) หรือออกแบบให้ขั้วแคโทดลอยอยู่เหนือ น้ำสัมผัสกับอากาศโดยตรง โดยมีระยะห่างระหว่างขั้วแอโนดกับแคโทดน้อยกว่า 3 เซนติเมตร ดังแสดงในภาพที่ 16(ง) เป็นต้น



ภาพที่ 16 เซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพแบบห้องเดียวแบบไม่ใช้เชื้อเลือกผ่าน (ก) ใช้แผ่นอะคลิลิกที่มีรูพรุนแทนเชื้อเลือกผ่าน (ข) ใช้ฟองน้ำแทนการใช้เชื้อเลือกผ่าน (ค) และ (ง) ขั้วแคโทดลอยสัมผัสกับอากาศโดยตรง

ที่มา : (ก) Moon *et al.* (2005); (ข) Tartakovsky and Guiot (2006); (ค) You *et al.* (2007) และ (ง) Yoo *et al.* (2010)

6. การคำนวณค่าทางไฟฟ้าของเซลล์เชื้อเพลิง

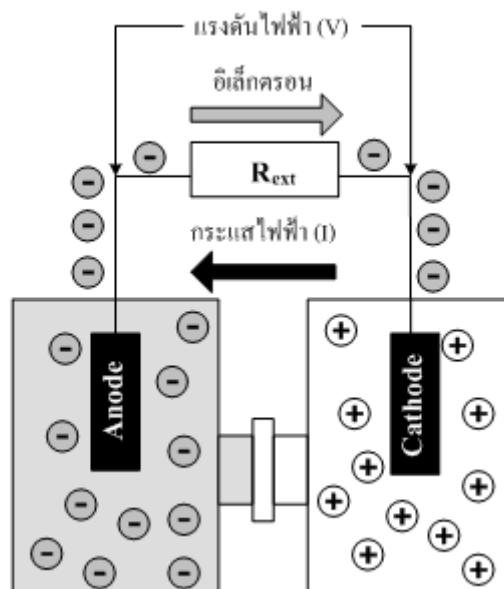
กระแสไฟฟ้า แรงดันไฟฟ้าและความต้านทานสามารถหาความสัมพันธ์ได้จากกฎของโอห์ม (Ohm's law) วงจรไฟฟ้าใดๆ ค่ากระแสไฟฟ้าจะแปรผันตรงกับค่าแรงดันไฟฟ้า และแปรผกผันกับความต้านทานภายนอก ปริมาณกระแสไฟฟ้าจะถูกคำนวณโดยการวัดปริมาณแรงดันไฟฟ้าที่ตกคร่อมความต้านทานภายนอก ดังภาพที่ 17 ตามความสัมพันธ์ในสมการที่ (5)

$$I = \frac{V}{R_{ex}} \quad (5)$$

เมื่อ V คือ แรงดันไฟฟ้า (โวลต์)

I คือ กระแสไฟฟ้าในวงจร (แอมแปร์)

R_{ex} คือ ความต้านทานภายนอก (โอห์ม)



ภาพที่ 17 การต่อวงจรของเซลล์เชื้อเพลิงซึ่งภาพทั่วไป

ที่มา: ปาจารย์ (2556)

กำลังไฟฟ้าเป็นอีกหนึ่งตัวแปรที่สำคัญที่จะถูกใช้เป็นตัวบ่งบอกถึงประสิทธิภาพการทำงานของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ ซึ่งกำลังไฟฟ้าที่ผลิตได้โดยเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพนั้นถูกคำนวณโดยอาศัยค่ากระแสไฟฟ้าที่ผ่านความต้านทานภายนอกที่เซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพผลิตได้และค่าความต่างศักย์ที่ตกคร่อมตัวต้านทาน ดังสมการที่ (6)

$$P = I \times V \quad (6)$$

เมื่อ P คือ กำลังไฟฟ้า (วัตต์) จากความสัมพันธ์ในสมการที่ (5) จะสามารถคำนวณหา กำลังไฟฟ้า จากสมการที่ (7) หรือ (8) ได้เช่นกัน

$$P = I^2 \times R_{ex} \quad (7)$$

$$P = \frac{V^2}{R_{ex}} \quad (8)$$

ซึ่งค่ากำลังไฟฟ้าที่ผลิตได้นั้นจะถูกทำให้เป็นมาตรฐานด้วยพื้นที่ผิวของขั้วแอโนด (A_{An}) ซึ่งจะทำให้ได้เป็นความหนาแน่นกำลังไฟฟ้า สามารถคำนวณได้จากสมการที่ (9)

$$P = \frac{V^2}{(A_{An} \times R_{ex})} \quad (9)$$

เมื่อ P_{An} คือ ความหนาแน่นกำลังไฟฟ้า (วัตต์ต่อตารางเมตร)

7. ประสิทธิภาพของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ

7.1 ประสิทธิภาพทางทฤษฎี

แรงดันไฟฟ้าที่ถูกผลิตขึ้นโดยเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพจะมีความซับซ้อนมากกว่าเซลล์เชื้อเพลิงโดยทั่วไป เนื่องจากต้องอาศัยเวลาสำหรับให้แบคทีเรียมาเกาะที่อิเล็กโทรดแล้วทำการสร้างเอนไซม์หรือสร้างโครงสร้างที่เอื้อต่อการถ่ายโอนอิเล็กตรอนออกมาที่ภายนอกเซลล์ แต่อย่างไรก็ตาม ศักย์ไฟฟ้าสูงสุดที่เซลล์เชื้อเพลิงจะสามารถผลิตได้สามารถอธิบายได้ตามหลักของอุณหพลศาสตร์ ซึ่งสามารถอธิบายได้ดังนี้ (Logan *et al.*, 2006)

ประสิทธิภาพทางทฤษฎีของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพขึ้นอยู่กับปฏิกิริยาเคมีไฟฟ้าที่เกิดขึ้นระหว่างปฏิกิริยาการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ขั้วแอโนดและปฏิกิริยาการรับอิเล็กตรอนที่ขั้วแคโทด ซึ่งการดำเนินไปของปฏิกิริยาสามารถอธิบายได้ในเทอมของการเปลี่ยนแปลงพลังงานอิสระกิบส์ (Gibbs free energy) เขียนแทนด้วย “ ΔG ” ดังสมการที่ 10 โดยพลังงานอิสระที่มีค่าลดลง (ΔG เป็นลบ) แสดงถึงปฏิกิริยาดังกล่าวเกิดขึ้นได้เองและจะมีค่าเป็นศูนย์ ($\Delta G = 0$) เมื่อปฏิกิริยาเข้าสู่สภาวะสมดุล

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln \Pi \quad (10)$$

- เมื่อ ΔG คือ พลังงานอิสระของสารที่สภาวะใดๆ
 ΔG° คือ พลังงานอิสระของสารที่สภาวะมาตรฐาน (อุณหภูมิ 298 เคลวิน และความดัน 1 บรรยากาศ)
 R คือ ค่าคงที่ของแก๊สมีค่าเท่ากับ 8,314 จูลต่อเคลวิน
 T คือ อุณหภูมิ (เคลวิน)
 Π คือ อัตราส่วนของความเข้มข้นของผลปฏิกิริยาและตัวทำปฏิกิริยา

สำหรับเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ พลังงานอิสระกิบส์สามารถคำนวณได้ในรูปของแรงเคลื่อนทางไฟฟ้าของเซลล์รวม (E) ซึ่งหมายถึงความต่างศักย์ไฟฟ้าระหว่างขั้วแอโนดและขั้วแคโทด โดยจะสัมพันธ์กับงาน (W) ที่เซลล์สามารถผลิตได้ ดังสมการที่ 11

$$W = EQ = E(nF) = -\Delta G \quad (11)$$

- เมื่อ Q คือ ประจุที่ถูกถ่ายโอนในปฏิกิริยา (คูลอมบ์)
 n คือ จำนวนโมลของอิเล็กตรอนในการเกิดปฏิกิริยา
 F คือ ค่าคงที่ของฟาราเดย์ (Faraday constant) มีค่าเท่ากับ 96,500 คูลอมบ์ต่อโมล

ดังนั้น
$$E = -\frac{\Delta G}{nF} \quad (12)$$

ซึ่งถ้าพิจารณาที่สภาวะมาตรฐาน Π จะมีค่าเท่ากับ 1 ดังนั้น

$$E^\circ = -\frac{\Delta G^\circ}{nF} \quad (13)$$

จากความสัมพันธ์ของสมการที่ (10) (12) และ (13) จะสามารถหาค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าของเซลล์รวมได้ ดังสมการที่ 14 ซึ่งเรียกว่าสมการของเนิร์นสต์ (Nernst's equation)

$$E = E^\circ - \frac{RT}{nF} \ln \Pi \quad (14)$$

เมื่อ E ค่าความแตกต่างของค่าศักย์ไฟฟ้าระหว่างขั้วแอโนดและขั้วแคโทด
 E° ค่าความแตกต่างของค่าศักย์ไฟฟ้าที่สภาวะมาตรฐาน

จากสมการเนิร์นสต์ นั้นสามารถหาค่าความแตกต่างของศักย์ไฟฟ้า (E) ของแต่ละขั้วไฟฟ้าได้ ($E_{Cathode}$ และ E_{Anode}) และสามารถหาค่า E_{Cell} หรือแรงดันไฟฟ้าทางทฤษฎีที่ได้จากเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพที่สภาวะสมดุล แรงดันไฟฟ้าของเซลล์สามารถคำนวณได้ ดังสมการที่ 15

$$E_{Cell} = E_{Cathode} - E_{Anode} \quad (15)$$

ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพสามารถพิจารณาได้จากครึ่งเซลล์ปฏิกิริยาหรือปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นที่ขั้วแอโนดและแคโทด โดยความต่างศักย์ไฟฟ้าระหว่างขั้วแอโนดและขั้วแคโทดจะมีค่าใกล้เคียงกับศักย์ไฟฟ้าที่ผลิตได้ในสภาวะวงจรเปิด (open circuit voltage, OCV) ยกตัวอย่างเช่น สารตั้งต้นคือ อะซิเตท ปฏิกิริยาแสดงดังสมการที่ 16



สมการที่ (10) ถูกนำมาใช้คำนวณหาค่าศักย์ไฟฟ้าของขั้วแอโนด สำหรับอะซิเตท $E^\circ = 0.187$ โวลต์ ที่สภาวะความเข้มข้น 16.9 มิลลิโมลาร์ ภายใต้สภาวะเป็นกลาง และความเข้มข้นของ HCO_3^- 5 มิลลิโมลาร์ ดังนั้น

$$E_{An} = E_{An}^\circ - \frac{RT}{8F} \ln \left(\frac{[CH_3COO^-]}{[HCO_3^-]^2 [H^+]^9} \right)$$

$$E_{An} = 0.187 - \frac{(8.314 \text{ J/molK})(298.15 \text{ K})}{8(9.65 \times 10^4 \text{ C/mol})} \ln \left(\frac{[0.0169]}{[0.005]^2 [10^{-7} \text{ M}]^9} \right) = -0.3 \text{ V} \quad (17)$$

สำหรับศักย์ไฟฟ้าของขั้วแคโทดนั้น ซึ่งโดยส่วนใหญ่ตัวรับอิเล็กตรอนที่นิยมใช้ในเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพคือ ออกซิเจน ปฏิกริยาสามารถเขียนได้ดังสมการที่ 18 และค่าศักย์ไฟฟ้าของขั้วแคโทดสามารถคำนวณได้ดังสมการที่ 19



$$E_{cat} = E_{cat}^\circ - \frac{RT}{4F} \ln \left(\frac{1}{pO_2 [H^+]^4} \right)$$

$$E_{cat} = 1.229 - \frac{(8.314 \text{ J/molK})(298.15 \text{ K})}{4(9.65 \times 10^4 \text{ C/mol})} \ln \left(\frac{1}{0.2 [10^{-7} \text{ M}]^4} \right) = 0.805 \text{ V} \quad (19)$$

ดังนั้น ศักย์ไฟฟ้าสูงสุดที่เซลล์สามารถผลิตได้ แสดงดังสมการที่ 20

$$E_{cell} = 0.805 - (-0.300) = 1.105 \text{ V} \quad (20)$$

ศักย์ไฟฟ้าของแต่ละขั้วไฟฟ้าขึ้นกับสารตั้งต้นที่ใช้ของแต่ละปฏิกิริยา ซึ่งปฏิกิริยาโดยทั่วไปที่ใช้ในเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพนั้น แสดงในตารางที่ 1

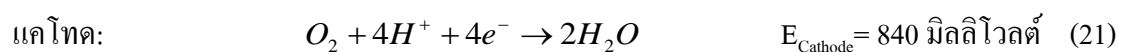
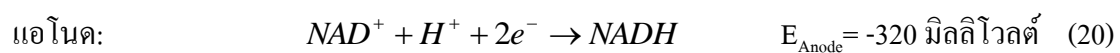
ตารางที่ 1 ศักย์ไฟฟ้าโดยทั่วไปของขั้วแอโนดและขั้วแคโทดที่สภาวะมาตรฐาน

ปฏิกิริยา	แรงดันไฟฟ้า (โวลต์)
ขั้วแอโนด	
$2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2$	0.000
$2HCO_3^- + 9H^+ + 8e^- \rightarrow CH_3COO^- + 4H_2O$	-0.300
$6CO_2 + 24H^+ + 24e^- \rightarrow C_6H_{12}O_6 + 6H_2O$	-0.014
$NAD^+ + H^+ + 2e^- \rightarrow NADH$	-0.320
$Pyruvate^{2-} + 2H^+ + 2e^- \rightarrow FADH_2$	-0.180
ขั้วแคโทด	
$O_2 + 4H^+ + 4e^- \rightarrow 2H_2O$	1.229
$O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2O_2$	0.695
$Fe(CN)_6^{3-} + e^- \rightarrow Fe(CN)_6^{4-}$	0.361
$MnO_2(s) + 4H^+ + 2e^- \rightarrow Mn^{2+} + 2H_2O$	1.229
$Fe^{3+} + e^- \rightarrow Fe^{2+}$	0.77

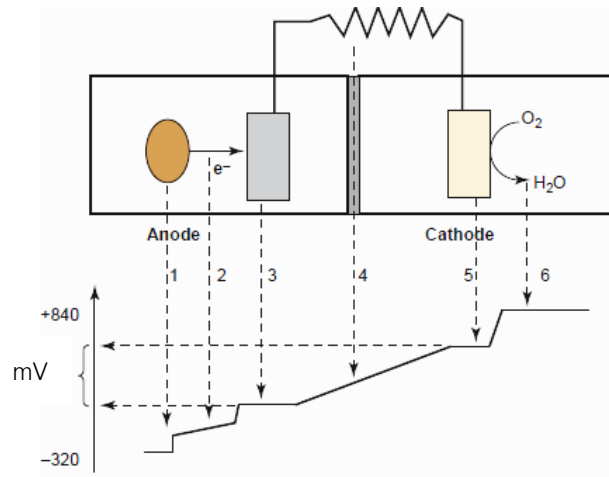
ที่มา: Logan (2008)

7.2 ประสิทธิภาพจริงของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ

แรงดันไฟฟ้าสูงสุดทางทฤษฎีของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพมีค่าประมาณ 1.2 โวลต์ แสดงดังสมการที่ (20) และ (21)



แต่อย่างไรก็ตาม แรงดันไฟฟ้าที่เซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพสามารถผลิตได้จริงนั้นย่อมมีค่าน้อยกว่าแรงดันไฟฟ้าทางทฤษฎี อันเนื่องมาจากเกิดการสูญเสียแรงดันไฟฟ้าภายในระบบ แสดงดังภาพที่ 18



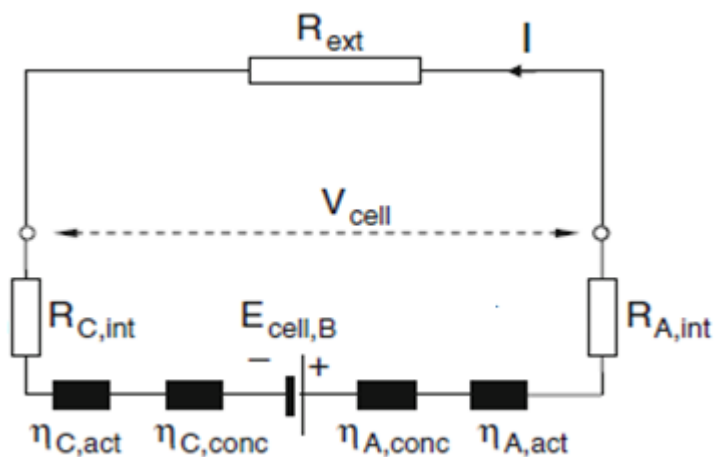
ภาพที่ 18 การสูญเสียศักย์ไฟฟ้าที่เกิดขึ้นระหว่างการถ่ายโอนอิเล็กตรอนในเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ

ที่มา: Rabaey and Verstraete (2005)

การสูญเสียแรงดันไฟฟ้าในแต่ละจุดของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพนั้นสามารถอธิบายได้ดังนี้

- | | |
|-----------|--|
| หมายเลข 1 | การสูญเสียแรงดันไฟฟ้าที่เกิดจากการกระตุ้นให้อิเล็กตรอนออกมาจากแบคทีเรีย |
| หมายเลข 2 | การสูญเสียแรงดันไฟฟ้าที่เกิดจากการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนผ่านอิเล็กโตรไลต์และชั้นไบโอฟิล์มไปยังขั้วไฟฟ้าแอโนด |
| หมายเลข 3 | การสูญเสียแรงดันไฟฟ้าที่เกิดจากการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนผ่านวัสดุที่ใช้เป็นขั้วไฟฟ้าแอโนด |
| หมายเลข 4 | การสูญเสียแรงดันไฟฟ้าที่เกิดจากการเคลื่อนที่ของโปรตอนผ่านเยื่อเลือกผ่านและการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนผ่านวงจรไฟฟ้าภายนอก |
| หมายเลข 5 | การสูญเสียแรงดันไฟฟ้าที่เกิดจากการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนผ่านวัสดุที่ใช้เป็นขั้วไฟฟ้าแคโทด |
| หมายเลข 6 | การสูญเสียแรงดันไฟฟ้าที่เกิดจากปริมาณของตัวรับอิเล็กตรอน (ออกซิเจน) และความสามารถในการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของตัวรับอิเล็กตรอน |

ซึ่งการสูญเสียแรงดันไฟฟ้าภายในระบบเกิดจากความต้านทานที่เกิดจากสภาพภายในตัวเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพโดยการสูญเสียแรงดันไฟฟ้างกล่าว สามารถแบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ การสูญเสียแรงดันไฟฟ้าเนื่องจากความต้านทานการเกิดปฏิกิริยา (Activation loss) การสูญเสียแรงดันไฟฟ้าเนื่องจากความต้านทานการไหลของประจุไฟฟ้า (Ohmic loss) และการสูญเสียแรงดันไฟฟ้าเนื่องจากความต้านทานการถ่ายโอนมวล (Concentration loss หรือ Mass transfer resistance) ดังภาพที่ 19



ภาพที่ 19 ความต้านทานภายในของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ

ที่มา: Picioreanu *et al.* (2010)

โดย $\eta_{A,conc}$ และ $\eta_{C,conc}$ คือ การสูญเสียแรงดันไฟฟ้าเนื่องจากประสิทธิภาพของการถ่ายโอนมวลที่ขั้วแอโนดและขั้วแคโทด ตามลำดับ

$\eta_{A,act}$ และ $\eta_{C,act}$ คือ การสูญเสียแรงดันไฟฟ้าเนื่องจากประสิทธิภาพของการเกิดปฏิกิริยาที่ขั้วแอโนดและขั้วแคโทด ตามลำดับ

$R_{A,ohm}$, $R_{C,ohm}$ คือ ความต้านทานไฟฟ้าตามกฎของโอห์ม

แรงดันไฟฟ้าที่เกิดขึ้นจากเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพที่เกิดการสูญเสียแรงดันไฟฟ้าอันเนื่องมาจากความต้านทานภายในนั้นสามารถแสดงได้ดังสมการที่ 22

$$V_{Cell} = E_{Cathode} - \eta_{C,act} - \eta_{C,conc} - E_{Anode} - \eta_{A,act} - \eta_{A,conc} - IR_{C,ohm} - IR_{A,ohm} \quad (22)$$

ค่าความต้านทานภายในเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพสามารถคำนวณได้จากกราฟโพลาริเซชัน (Polarization Curve) ที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างแรงดันไฟฟ้ากับความหนาแน่นกระแสไฟฟ้าที่เปลี่ยนแปลงไปตามการเปลี่ยนแปลงของค่าความต้านทานภายนอก ดังแสดงในภาพที่ 20 ซึ่งเมื่อพิจารณากราฟจะพบได้ว่าเมื่อความหนาแน่นของกระแสไฟฟ้าเพิ่มขึ้น แรงดันไฟฟ้ามีค่าลดลง ทั้งนี้เป็นผลเนื่องจากการเกิดการสูญเสียแรงดันไฟฟ้าภายในระบบนั่นเอง ซึ่งการสูญเสียที่เกิดขึ้นสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ส่วนใหญ่ๆ คือ

1. activation loss หรือ charge transfer resistance (η_{act}) คือการลดลงของแรงดันไฟฟ้าอย่างรวดเร็วในช่วงแรก ที่เกิดเนื่องจากความช้าของการเกิดปฏิกิริยาที่บริเวณผิวของขั้วไฟฟ้า ซึ่งหมายถึงความต้องการพลังงานในการกระตุ้นให้ปฏิกิริยาดำเนินไปข้างหน้านั่นเอง ซึ่งการสูญเสียแรงดันในส่วนนี้สามารถลดได้โดยอาศัยตัวเร่งปฏิกิริยาเพื่อช่วยเร่งปฏิกิริยาให้เกิดเร็วยิ่งขึ้น เพิ่มพื้นที่ผิวของขั้วอิเล็กโทรด หรือการเพิ่มอุณหภูมิ เป็นต้น

2. ohmic loss (IR_{ohm}) คือการลดลงของแรงดันไฟฟ้าอันเนื่องมาจากความต้านทานในการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนระหว่างขั้วไฟฟ้า (จากแอโนดไปแคโทด) รวมถึงความต้านทานในการเคลื่อนที่ของโปรตอนในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ โดยการลดลงของแรงดันไฟฟ้าในส่วนนี้จะแปรผันตรงกับค่าความหนาแน่นของกระแสไฟฟ้า ดังแสดงในภาพที่ 20 ซึ่งความต้านทานในส่วนนี้สามารถลดได้โดยการเลือกวัสดุของขั้วไฟฟ้าที่มีความสามารถในการนำไฟฟ้าสูงและลดระยะห่างระหว่างขั้วไฟฟ้าเพื่อเป็นการลดระยะทางในการเคลื่อนที่ของโปรตอน

3. concentration loss หรือ mass transfer resistance (η_{conc}) คือการลดลงของแรงดันไฟฟ้าในบริเวณที่มีความหนาแน่นกระแสไฟฟ้าสูง โดยค่าความต้านทานนี้ขึ้นอยู่กับอัตราการถ่ายโอนมวลของสารตั้งต้นเข้าสู่ไบโอฟิล์มที่ขั้วแอโนดและการถ่ายโอนมวลของตัวรับอิเล็กตรอนในสารละลายของฝั่งแคโทด

ความต้านทานภายในรวมของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพสามารถคำนวณได้จากความชันของกราฟบริเวณที่เป็นเส้นตรงหรือบริเวณที่เกิดการสูญเสียแรงดันแบบคงที่ ซึ่งมีความสัมพันธ์ตามสมการที่ (23)

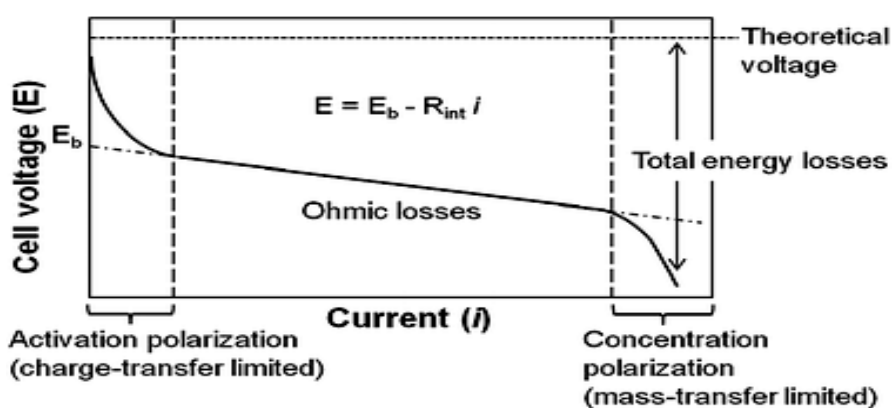
$$E = E_b - (I \times R_{int}) \quad (23)$$

เมื่อ E คือแรงดันไฟฟ้าในช่วง ohmic losses (โวลต์)

E_b คือ แรงดันไฟฟ้าที่จุดตัดแกน (โวลต์)

I คือค่ากระแสไฟฟ้า (แอมแปร์)

R_{int} คือความต้านทานภายในรวม (โอห์ม)



ภาพที่ 20 โพลาริเซชันของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพโดยทั่วไป

ที่มา: Fan *et al.* (2008)

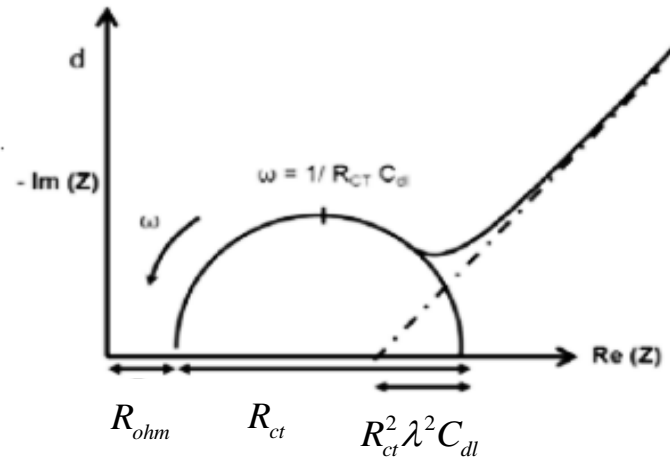
ซึ่งการหาค่าความต้านทานภายในจากกราฟโพลาริเซชันนั้นเป็นวิธีที่ง่าย แต่สามารถหาได้เฉพาะความต้านทานภายในรวมของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพได้เท่านั้น ซึ่งวิธีการหาค่าความต้านทานภายในจากเทคนิคอิมพีแดนซ์สเปกโทสโคปีเชิงเคมีไฟฟ้า (Electrochemical Impedance Spectroscopy หรือ EIS) ได้รับความนิยมมากกว่าเนื่องจากสามารถหาค่าความต้านทานภายในของแต่ละส่วนได้

หลักการพื้นฐานของเทคนิคอิมพีแดนซ์คือ การป้อนสัญญาณไฟฟ้ากระตุ้นคลื่นรูปไซน์ (Sinusoidal wave) ที่มีแอมพลิจูดต่ำเข้าระบบและวัดสัญญาณตอบสนองโดยสัญญาณไฟฟ้ากระตุ้นที่ใช้ป้อนสำหรับการหาค่าความต้านทานภายในของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพนั้นคือ การป้อนสัญญาณในรูปศักย์ไฟฟ้าที่ความถี่ค่าหนึ่งแล้ววัดค่าแอมพลิจูดและมุมเฟส หรือในทางไฟฟ้าเรียกว่า ส่วนจริง (Real part) และส่วนจินตภาพ (Imaginary part) ของกระแสไฟฟ้าที่มีความถี่นั้นๆ โดยค่าความถี่ที่ใช้ในเทคนิคนี้อยู่ในช่วง 10^{-4} ถึง 10^6 เฮิร์ต (Hz) (Logan *et al.*, 2008) รูปแบบของการวัดอิมพีแดนซ์สามารถแบ่งได้ออกเป็น 2 แบบ คือวัดแบบใช้ขั้วอิเล็กโทรด 3 ขั้ว หรือแบบใช้ 2 ขั้ว ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับจุดประสงค์ในการวัด (He and Mansfeld, 2009)

โดยการวัดแบบใช้ขั้วอิเล็กโทรด 3 ขั้วจะถูกใช้สำหรับการวิเคราะห์หาค่าความต้านทานภายในของแต่ละขั้วอิเล็กโทรด โดยขั้วไฟฟ้าทำงาน (working electrode) จะถูกต่อเข้ากับขั้วอิเล็กโทรดที่เราต้องการจะวัด (แอนโนดหรือแคโทด) ในขณะที่ขั้วไฟฟ้าช่วย (counter electrode) จะถูกต่อเข้ากับขั้วอิเล็กโทรดอีกขั้วหนึ่ง โดยขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (reference electrode) จะถูกจุ่มลงให้ห้องแอนโนดหรือแคโทดก็ได้ ซึ่งการวัดแบบนี้นอกจากจะสามารถหาค่าความต้านทานในสารละลายหรือความต้านทานในการไหลของประจุ (solution หรือ ohmic resistance, R_{ohm}) ได้แล้ว อีกทั้งยังสามารถหาค่าความต้านทานในการเกิดปฏิกิริยาหรือการถ่ายโอนประจุ (charge transfer resistance, R_{ct}) และค่าความต้านทานการถ่ายโอนมวล (mass transfer หรือ diffusion resistance, R_d) ของแต่ละขั้วอิเล็กโทรดได้อีกด้วย

ในขณะที่การวัดแบบใช้ขั้วอิเล็กโทรด 2 ขั้ว จะถูกใช้สำหรับการวิเคราะห์หาค่าความต้านทานภายในรวมของระบบเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพทั้งหมด โดยขั้วไฟฟ้าทำงานจะถูกต่อเข้ากับขั้วอิเล็กโทรดขั้วใดขั้วหนึ่ง (แอนโนดหรือแคโทด) ในขณะที่ขั้วไฟฟ้าช่วยและขั้วไฟฟ้าอ้างอิงจะถูกต่อเข้ากับอีกขั้วหนึ่ง

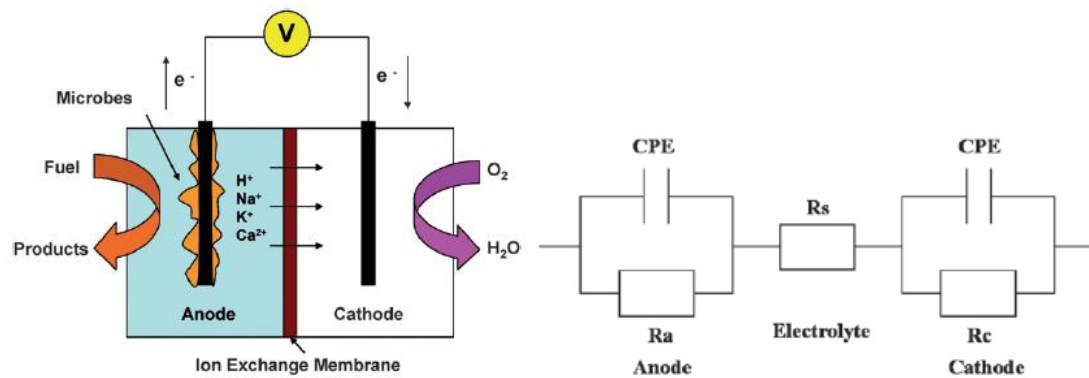
การวัดค่าอิมพีแดนซ์ของระบบเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพนั้นสามารถแสดงค่าในรูปแบบของกราฟ Nyquist ซึ่งเป็นกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างส่วนจริงของอิมพีแดนซ์ในแกน x (Z_{re}) และส่วนจินตภาพของอิมพีแดนซ์ในแกน y (Z_{im}) โดยค่าอิมพีแดนซ์ที่ความถี่สูงๆจะแสดงถึง R_{ohm} ซึ่งหาได้จากจุดตัดแกน x (Z_{re}) ที่แกน y (Z_{im}) มีค่าเท่ากับ 0 ขณะที่ R_{ct} สามารถหาได้จากเส้นผ่านศูนย์กลางของครึ่งวงกลม ดังแสดงในภาพที่ 21



ภาพที่ 21 ค่าความต้านทานภายในที่หาได้จากเทคนิคอิมพีแดนซ์สเปกโทรสโคปีเชิงเคมีไฟฟ้า

ที่มา: Sekar and Ramasamy (2013)

อย่างไรก็ตาม การสร้างวงจรสมมูลย์ (equivalent circuit) แสดงดังภาพที่ 22 ซึ่งเป็นการจำลองวงจรไฟฟ้าโดยเปรียบเทียบกับระบบจริง เป็นวิธีการที่นิยมนำมาประยุกต์ใช้ในการหาค่าความต้านทานภายใน โดยวิธีการดังกล่าว แสดงให้เห็นถึงข้อมูลในเชิงลึกมากกว่าวิธีอื่นๆ



ภาพที่ 22 แผนภาพเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพและวงจรสมมูลย์ของระบบ

ที่มา: He and Mansfeld (2009)

โดย R_a คือความต้านทานที่ขั้วแอโนด R_s คือ ความต้านทานภายในสารละลาย และ R_c คือความต้านทานที่ขั้วแคโทด โดยค่าความต้านทานภายในรวมสามารถหาได้จากผลรวมของ R_a R_s และ R_c

ดังนั้น จากค่า R_{ohm} และ R_{ct} ที่หาได้จากกราฟ Nyquist และค่าความต้านทานภายในรวมที่ได้จากการสร้างแบบวงจรสมมูลย์ ก็จะทำให้หาค่า R_d ได้ เนื่องจากผลรวมของ R_{ohm} R_{ct} และ R_d มีค่าเท่ากับค่าความต้านทานภายในรวมนั่นเอง

เยื่อเลือกผ่านโปรตอน

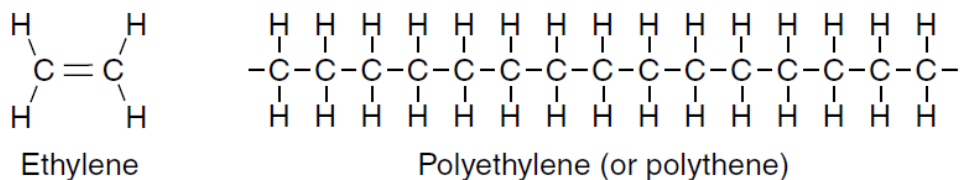
จากที่ได้กล่าวถึงรูปแบบของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพจะเห็นได้ว่ารูปแบบของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพที่ไม่มีการใช้เยื่อเลือกผ่านทั้งแบบห้องคู่และแบบห้องเดี่ยวจะทำให้เกิดความยุ่งยากในการออกแบบมากกว่าเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพแบบใช้เยื่อเลือกผ่าน โปรตอนเพราะต้องคำนึงถึงวิธีการป้องกันและระยะห่างระหว่างขั้วอิเล็กโทรดสองขั้วที่จะไม่ทำให้ออกซิเจนจากฝั่งแคโทดแพร่ข้ามผ่านมายังฝั่งแอโนดได้ ซึ่งถ้าระยะห่างระหว่างขั้วมากเกินไปก็จะเป็นการเพิ่มระยะทางในการเคลื่อนที่ของโปรตอน ซึ่งจะเป็นการเพิ่มความต้านทานภายในเซลล์เชื้อเพลิงอีกด้วย ดังนั้นเยื่อเลือกผ่านโปรตอนยังคงมีความสำคัญต่อเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพอย่างมาก

โดยเยื่อเลือกผ่านโปรตอนที่นำมาใช้งานกับเซลล์เชื้อเพลิง ควรมีคุณสมบัติ (Peighambardoust *et al.*, 2010) ดังนี้

- 1) มีความสามารถในการนำโปรตอนได้ดี
- 2) ไม่นำไฟฟ้า
- 3) มีคุณสมบัติเชิงกลสูง
- 4) เสถียรต่อสารเคมีและกระบวนการทางเคมีไฟฟ้า
- 5) ขอมให้การแพร่ข้ามผ่านของเชื้อเพลิงและออกซิเจนต่ำ
- 6) ต้นทุนในการผลิตต่ำ

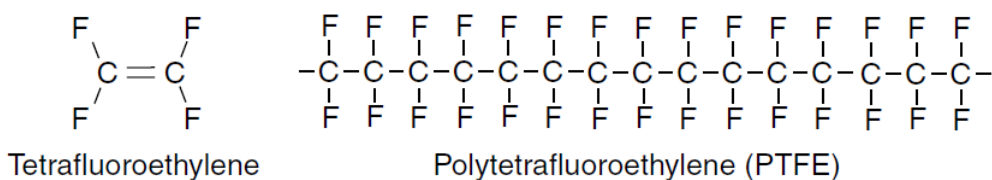
เยื่อเลือกผ่านโปรตอน (Proton Exchange Membrane, PEM) มีโครงสร้างหลักเป็นพอลิเมอร์จำพวกซัลโฟเนตฟลูออโรพอลิเมอร์ (Sulphonated fluoropolymers) หรือฟลูออโรเอทิลีน (Fluoroethylene) โดยเริ่มต้นจากเอทิลีนพอลิเมอร์ ดังแสดงในภาพที่ 23 ซึ่งการดัดแปลงเอทิลีนทำโดยให้ฟลูออรีนแทนที่ตำแหน่งของไฮโดรเจนในโมเลกุลได้โครงสร้างหน่วยย่อย ที่เรียกว่าเตตระ-

ฟลูออโรเอทีลีน (Tetrafluoroethylene) เรียกกระบวนการนี้ว่าเปอร์ฟลูออรีนชัน (Perfluorination) เมื่อ โมเลกุลเรียงต่อกัน จะได้พอลิเมอร์ที่เรียกว่าพอลิเตตระฟลูออโรเอทีลีน (Polytetrafluoroethylene) หรือ PTFE ซึ่งมีชื่อทางการค้าว่า Teflon ดังแสดงในภาพที่ 24 ซึ่งความแข็งแรงของพันธะระหว่างฟลูออรีนกับคาร์บอน (hydrophobicity) ทำให้พอลิเมอร์มีความทนทาน



ภาพที่ 23 โครงสร้างพอลิเอทีลีน

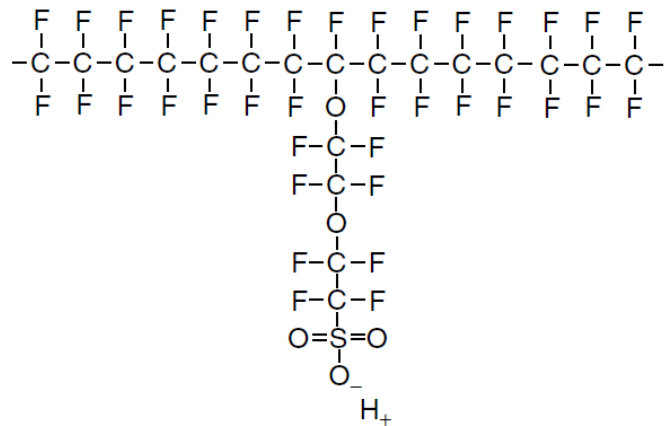
ที่มา: Larminie and Dicks (2003)



ภาพที่ 24 โครงสร้างของเตตระฟลูออโรเอทีลีน และพอลิเตตระฟลูออโรเอทีลีน

ที่มา: Larminie and Dicks (2003)

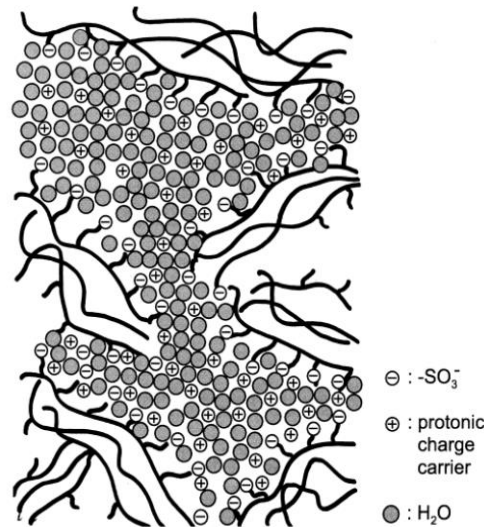
การเตรียมเยื่อเลือกผ่านให้มีคุณสมบัติในการนำไอออน ขึ้นตอนต่อไปมีความสำคัญอย่างยิ่ง นั่นก็คือ โครงสร้างหลัก PTFE จะถูกเติมโซ่กิ่งด้วยกรดซัลโฟนิก (HSO_3) ด้วยปฏิกิริยาที่เรียกว่า ซัลโฟเนชัน (sulfonation) โดยโมเลกุลของกรดซัลโฟนิกยึดเหนี่ยวกันด้วยพันธะไอออนิก ซึ่งจะสร้างพันธะที่ปลายพอลิเมอร์กลายเป็น SO_3^- และ H^+ ดังแสดงในภาพที่ 25 โดยวิธีการสังเคราะห์พอลิเมอร์ดังกล่าวถูกคิดค้น โดยบริษัท DuPont ซึ่งมีชื่อทางการค้าที่เรียกว่า นาฟิออน (Nafion[®]) โดยนาฟิออนมีค่าการนำโปรตอนที่สูงประมาณ 0.01-0.1 ซีเมนส์ต่อเซนติเมตร (S/cm) (Hogarth *et al.*, 2005)



ภาพที่ 25 โครงสร้างของซัลโฟเนตฟลูออโรเอทิลีน หรือกรดเปอร์ฟลูออโรซัลโฟนิก PTFE โคพอลิเมอร์

ที่มา: Larminie and Dicks (2003)

ซึ่งการมีประจุ SO_3^- และ H^+ จะทำให้โครงสร้างมีคุณสมบัติชอบน้ำ (hydrophilicity) โดยเยื่อเลือกผ่านจะมีความสามารถในการดูดซึมน้ำสูง ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญต่อการเคลื่อนที่ของโปรตอน การดูดซึมน้ำของเยื่อเลือกผ่าน จะทำให้เกิดการแยกเฟสกันระหว่างพวกที่ไม่ชอบน้ำกับพวกที่ชอบน้ำทำให้เกิดเป็นช่องทางการเคลื่อนที่ของน้ำ (water channel) แสดงดังภาพที่ 26 ซึ่งเมื่อ SO_3^- H^+ สัมผัสกับโมเลกุลน้ำ จะทำให้แรงยึดเหนี่ยวพันธะระหว่างหมู่ SO_3^- กับ H^+ อ่อนลง จึงทำให้ H^+ สามารถเคลื่อนที่ได้



ภาพที่ 26 ช่องทางการเคลื่อนที่ของน้ำที่เกิดจากการดูดซึมน้ำของนาไฟออน

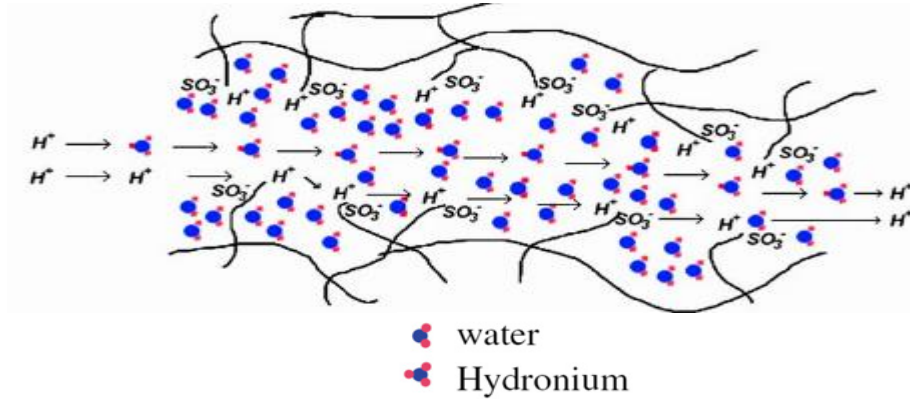
ที่มา: Hogarth *et al.* (2005)

กลไกในการเคลื่อนที่ของโปรตอนมีอยู่ 2 กลไกด้วยกันคือ เคลื่อนที่โดยโมเลกุลของน้ำเป็นตัวพาโปรตอนเคลื่อนที่ (vehicle mechanism) และการเคลื่อนที่แบบกระโดด (hopping หรือที่เรียกว่า Grotthus mechanism)

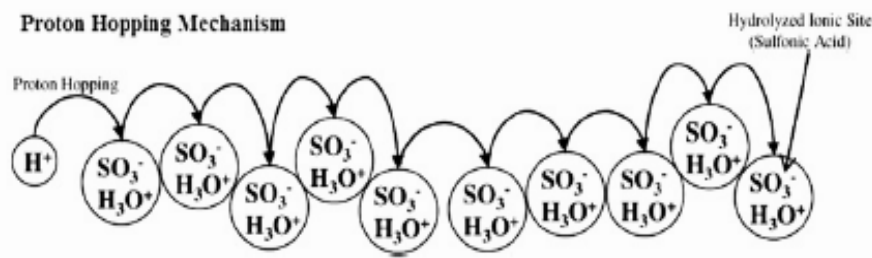
กลไกแรก คือ โมเลกุลน้ำเป็นตัวพาโปรตอนให้เคลื่อนที่ โดยโปรตอนจะติดไปกับโมเลกุลน้ำอยู่ในรูป $(H^+(H_2O)_x)$ ซึ่งปัจจัยสำคัญที่ทำให้โมเลกุลสามารถเคลื่อนที่ได้ คือ ปริมาตรช่องว่าง (free volume) ภายในสายโซ่พอลิเมอร์ของเยื่อเลือกผ่านโปรตอน ซึ่งจะยอมให้โมเลกุล $(H^+(H_2O)_x)$ สามารถเคลื่อนที่ผ่านเยื่อเลือกผ่านไปได้ โดยกลไกการเคลื่อนที่แบบโมเลกุลน้ำเป็นตัวพา แสดงดังในภาพที่ 27(ก) ซึ่งการเคลื่อนที่ของโมเลกุลน้ำสามารถเคลื่อนที่ได้โดย electroosmotic drag และการแพร่อันเนื่องมาจากความเข้มข้นที่แตกต่างกัน อีกทั้งธรรมชาติของส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ของโครงสร้างหลักที่เป็น Teflon จะช่วยทำให้น้ำสามารถเคลื่อนที่ผ่านเยื่อเลือกผ่านได้ดียิ่งขึ้น เนื่องจากที่พื้นผิวของส่วนที่ไม่ชอบน้ำมีแนวโน้มที่จะผลักโมเลกุลน้ำออกไป (Peighambardoust *et al.*, 2010)

กลไกที่สอง คือ โปรตอนจะเคลื่อนที่โดยกระโดดจากไอออนิกตำแหน่งหนึ่ง $(SO_3^-H_3O^+)$ ไปยังอีกตำแหน่งหนึ่ง ดังแสดงในภาพที่ 27(ข) ซึ่งโปรตอนมักจะชอบเคลื่อนที่แบบเกาะติดไปกับโมเลกุลน้ำมากกว่าที่จะเกิดการสร้างพันธะกับน้ำเกิดเป็นไฮโดรเนียมไอออน (H_3O^+) แบบชั่วคราว

ซึ่งเมื่อเคลื่อนที่ไปเจอกับโมเลกุลน้ำที่อยู่ในสภาวะที่เหมาะสมต่อการสร้างพันธะไฮโดรเจนก็จะทำให้เกิดการกระโดดของโปรตอนไปเกาะกับโมเลกุลของน้ำอีกโมเลกุลหนึ่ง



(ก) กลไกการเคลื่อนที่โปรตอนแบบน้ำเป็นพาหนะ (vehicle mechanism)



(ข) กลไกการเคลื่อนที่โปรตอนแบบ hopping หรือ Grotthuss

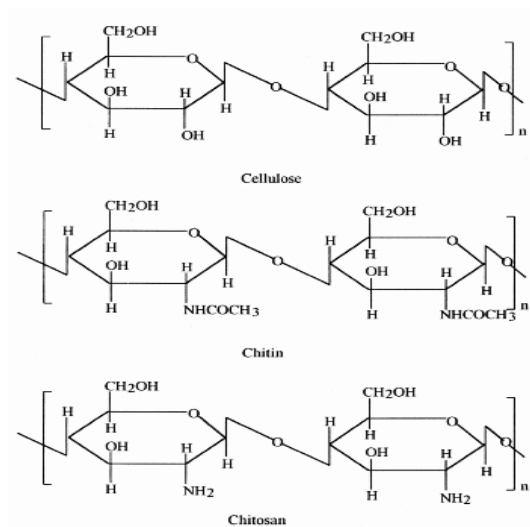
ภาพที่ 27 กลไกการเคลื่อนที่ของโปรตอนแบบ (ก) น้ำเป็นพาหนะ (ข) กระโดด

ที่มา: Peighambardoust *et al.* (2010)

ไคโตซาน

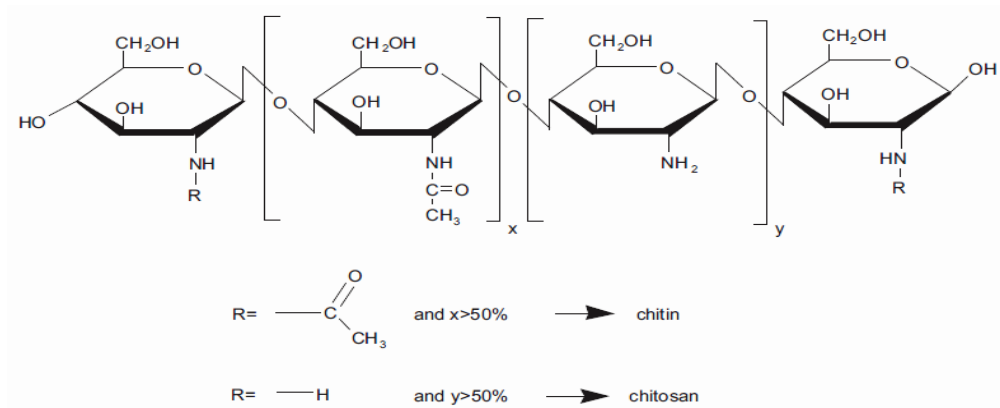
1. โครงสร้างและคุณสมบัติของไคโตซาน

ไคโตซาน (Chitosan) คืออนุพันธ์ของไคติน (Chitin) ซึ่งไคตินเป็น ไบโอฟอลิเมอร์ที่เป็นองค์ประกอบในเปลือกแข็งของสิ่งมีชีวิตหลายชนิด เช่น เปลือกหอย ปู กุ้ง เปลือกของแมลง ผงังเซลล์ของสาหร่าย ยีสต์ และเห็ดรา เป็นต้น โครงสร้างของไคตินประกอบด้วยน้ำตาลหน่วยย่อย คือ N-acetyl-D-glucosamine มาเรียงต่อกัน ซึ่งมีโครงสร้างโมเลกุลคล้ายกับเซลลูโลสมากเพียงแต่แตกต่างกันในส่วนของหมู่ OH ที่ตำแหน่ง C-2 ในโมเลกุลของไคตินจะเป็นหมู่อะซิตามิโด (NHCOCH₃) แทน แสดงดังภาพที่ 28 ซึ่งไคโตซานได้จากตัดเอาหมู่อะซิติด (-COCH₃) ของน้ำตาล N-acetyl-D-glucosamine เรียกกระบวนการนี้ว่า deacetylation คือเปลี่ยนน้ำตาล N-acetyl-D-glucosamine เป็น glucosamine แต่โดยทั่วไปแล้วไคโตซานจะเป็นโคพอลิเมอร์ที่มีองค์ประกอบของน้ำตาล N-acetyl-D-glucosamine และ glucosamine อยู่ในสายโซ่เดียวกัน ซึ่งตัวบ่งบอกถึงความ เป็นไคตินหรือไคโตซาน เรียกว่า Degree of Deacetylation (%DD) ซึ่งหมายถึงร้อยละในการลดลงของหมู่อะซิติด กล่าวคือถ้าพอลิเมอร์มีค่า%DD เกินกว่า 50 นั้นหมายความว่า หมู่อะซิติดถูกตัดหรือดึงออกไปมากกว่าร้อยละ 50 ดังแสดงในภาพที่ 29



ภาพที่ 28 โครงสร้างเซลลูโลส ไคติน และไคโตซาน

ที่มา: Kumar (2000)



ภาพที่ 29 โครงสร้างไคโตซาน

ที่มา: Ma and Sahai (2013)

กระบวนการในการผลิตไคโตซานจะประกอบไปด้วย 3 กระบวนการหลักๆ (Kumar, 2000) คือ

- 1) กระบวนการแยกโปรตีน โดยการแช่เปลือกกุ้งในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 4 โดยน้ำหนัก เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 2) กระบวนการแยกแร่ธาตุ โดยการแช่เปลือกกุ้งที่ผ่านการแยกโปรตีนออกเรียบร้อยแล้วโดยการแช่กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นร้อยละ 4 โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทำการล้างจนน้ำล้างมีเป็นกลาง ซึ่งก็จะได้เป็นโครงสร้างของไคติน
- 3) กระบวนการกำจัดหมู่อะซีทิล โดยการแช่ไคตินในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 40 โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-3 ชั่วโมง ซึ่งจะทำให้หมู่อะซีทิลบางส่วน (ประมาณร้อยละ 70) ถูกกำจัดออกไป

ระดับการกำจัดหมู่อะซีทิล (degree of deacetylation, %DD) สามารถหาได้จากหลายเทคนิคด้วยกัน (Alvarenga, 2011) เช่น

- 1) เทคนิคการวิเคราะห์ธาตุ (Elemental analysis, EA) ซึ่งจะเป็นการวิเคราะห์หาร้อยละของธาตุไนโตรเจน (%N) โดย %N จะสัมพันธ์กับร้อยละของหมู่อะซีทิล (degree of acetylation, %DA) ดังสมการที่ 24

$$\%DA = \frac{(8.695 - \%N)}{(8.695 - 6.896)} \times 100 \quad (24)$$

จาก %DA ก็จะสามารถทราบ %DD ได้ โดยเทคนิคนี้จะเหมาะสำหรับโคโตซานที่มี %N มากกว่า 7

2) เทคนิคการไทเทรต (Titration method) ซึ่งการไทเทรตสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณหมู่อะซิดิลที่ถูกกำจัดออกไปก็มีอยู่หลายแบบด้วยกันเช่น การไทเทรตแบบกรด-เบส การไทเทรตแบบโพเทนทิโอเมตรี (Potentiometry titration) ซึ่งเป็นการไทเทรตแบบวัดศักย์ไฟฟ้า หรือจะเป็นการไทเทรตแบบคอลลอยด์ (Colloid titration) ซึ่งจะอาศัยหลักการดึงดูดกันอย่างพอดีของประจุบวกและประจุลบ กล่าวคือ โคโตซานจะถูกละลายในสารละลายกรดอะซิดิก หลังจากนั้นสารละลายโคโตซานจะถูกไทเทรตด้วยโพแทสเซียมพอลิไวนิลซัลเฟต (PVS) โดยใช้ 3-amino-7-dimethylamino-2-methylphenothiazin-5-ium chloride เป็นตัวบ่งชี้จุดยุติ ซึ่งปริมาณประจุบวกของหมู่ NH_3^+ ที่เกิดจากการถูกให้โปรตอนจากกรดอะซิดิกนั้น จะเกิดแรงดึงดูดพอดีกับปริมาณประจุบวกของ SO_4^{2-} ของ PVS ซึ่งถ้าปริมาณของ PVS มากเกินไป สารละลายจะเปลี่ยนจากสีฟ้าเป็นสีแดง ดังนั้นก็จะทำให้สามารถหา % DD ได้ แต่อย่างไรก็ตาม การไทเทรตด้วยวิธีนี้จะมีข้อเสียคือ ตัวทำละลาย PVS จะต้องถูกทำให้บริสุทธิ์ก่อนนำมาใช้

3) เทคนิคสเปกโตรเมตรี (Spectrometric method) ซึ่งก็มีวิธีการวัดหลากหลายแบบเช่นกัน ยกตัวอย่างเช่น การใช้เทคนิค Nuclear Magnetic Resonance (NMR) ซึ่งข้อดีของเทคนิคนี้คือ ใช้ปริมาณสารตัวอย่างไม่มากในการวิเคราะห์และไม่จำเป็นต้องวิเคราะห์ในสถานะของแข็ง แต่ก็มีข้อเสียคือค่าใช้จ่ายสำหรับการวิเคราะห์สูง นอกจากเทคนิค NMR แล้ว เทคนิค Infrared spectroscopy (IR) ก็สามารถวิเคราะห์ได้เช่นกัน ซึ่งจะสามารถคำนวณหา %DA ได้จากสมการที่ 25

$$\%DA = (A_{1655} / A_{3450}) \times 115 \quad (25)$$

โดย A_{1655} / A_{3450} คืออัตราส่วนของพื้นที่ใต้พีคที่ตำแหน่ง 1655 cm^{-1} และ 3450 cm^{-1} ซึ่งแสดงถึงการสั่นของพันธะ C=O ใน NHCOCH_3 และการสั่นของหมู่ NH_2 ตามลำดับ ซึ่งข้อดีของเทคนิคนี้คือเสียค่าใช้จ่ายน้อยและเป็นเทคนิคที่ง่าย แต่อย่างไรก็ตามเทคนิคนี้จะถูกจำกัดเฉพาะตัวอย่างที่มี % DA มากกว่า 55% อีกทั้งอาจเกิดการดูดกลืนแสงของหมู่ OH ที่มาจากโมเลกุลของน้ำและพอลิแซคคาไรด์ ดังนั้นในการเตรียมตัวอย่างต้องแน่ใจว่าน้ำถูกกำจัดออกหมดแล้วและต้องทำสารตัวอย่างให้มีความบริสุทธิ์ เป็นต้น

โคโตซานจะประกอบไปด้วยหมู่ฟังก์ชันที่มีขั้ว 2 หมู่ ได้แก่ หมู่ไฮดรอกซิล (-OH) และหมู่เอมีน (NH_2) จึงสามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีได้ง่าย (chemical modification) โคโตซานไม่ละลายในน้ำแต่จะสามารถละลายได้ในกรดอ่อน อย่างเช่นกรดอะซิดิก กรดฟอร์มิก และกรดแลคติก เป็นต้น

เนื่องจากไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ที่ได้จากธรรมชาติ จึงทำให้ได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในการนำไปประยุกต์ในการใช้งานด้านต่างๆ เช่นด้านอุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมของเสียบ ด้านอาหารเสริม อุตสาหกรรมเครื่องสำอางค์ อุตสาหกรรมเกษตร และทางการแพทย์ เป็นต้น และไคโตซานก็ได้รับความสนใจในการนำมาทำเป็นเยื่อเลือกผ่านสำหรับเซลล์เชื้อเพลิง อย่างเช่น เซลล์เชื้อเพลิงเยื่อเลือกผ่านโปรตอน (Hydrogen-polymer electrolyte fuel cell, PEFC) เซลล์เชื้อเพลิงชนิดเมทานอลโดยตรง (Direct Methanol Fuel Cell, DMFC) และ เซลล์เชื้อเพลิงชนิดอัลคาไลน์ (Alkaline Fuel Cells, AFC) เป็นต้น

ซึ่งคุณสมบัติของไคโตซานที่ทำให้ได้รับความสนใจในการนำมาทำเยื่อเลือกผ่านสำหรับเซลล์เชื้อเพลิง คือ

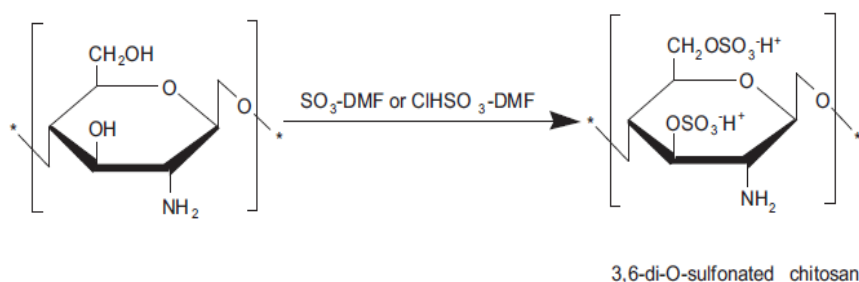
- 1) ไคโตซานมีราคาถูกและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม
- 2) ไคโตซานมีหมู่ฟังก์ชันที่มีคุณสมบัติชอบน้ำและสามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีได้ง่าย
- 3) ไม่นำไฟฟ้า
- 4) เสถียรต่อสารเคมีและความร้อน
- 5) มีความสามารถในการเลือกผ่านเมทานอลต่ำ

2. การปรับปรุงคุณสมบัติของไคโตซาน

เนื่องจากโครงสร้างมีหมู่ฟังก์ชันอย่างหมู่เอมีนและหมู่ไฮดรอกซิลสามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีได้ง่าย จึงทำให้ง่ายต่อการปรับปรุงคุณสมบัติของไคโตซานเพื่อให้มีความเหมาะสมต่อการใช้งานกับเซลล์เชื้อเพลิง ซึ่งวิธีการปรับปรุงคุณสมบัติไคโตซานมีอยู่หลายวิธีด้วยกัน เช่น

2.1 กระบวนการซัลโฟเนชัน (Sulfonation)

กระบวนการซัลโฟเนชันคือการแทนที่ไฮโดรเจนอะตอมด้วยหมู่ซัลโฟเนต ซึ่งการเกิดกระบวนการซัลโฟเนชันของไคโตซานสามารถเกิดได้ 2 แบบ นั่นคือ เกิดแบบ N-sulfonated คือหมู่ซัลโฟเนตจะไปทำปฏิกิริยาตรงตำแหน่งของแอมีน ($-NH_2$) และเกิดแบบ O-sulfonated คือหมู่ซัลโฟเนตจะไปทำปฏิกิริยาตรงตำแหน่งของไฮดรอกซิล ($-OH$) ซึ่งทั้งสองกระบวนการนี้ถูกเตรียมได้ด้วยสารซัลโฟเนชัน (sulfonating agents) ที่สภาวะแตกต่างกัน อย่างเช่นเวลาในการเกิดปฏิกิริยา อุณหภูมิ และความเข้มข้นของสารตั้งต้น เป็นต้น การเกิดแบบ N-sulfonated สามารถเตรียมได้จากการใช้โพรเพนซัลโทน (propane sulfone) เป็นสารซัลโฟเนชัน (Tsai *et al.*, 2010) และการเกิดแบบ O-sulfonated สามารถใช้ซัลเฟอร์ไตรออกไซด์ (SO_3) หรือ กรดคลอโรซัลโฟนิก (chlorosulfonic acid) เป็นสารซัลโฟเนชัน (Ma and Sahai, 2013) ดังแสดงในภาพที่ 30

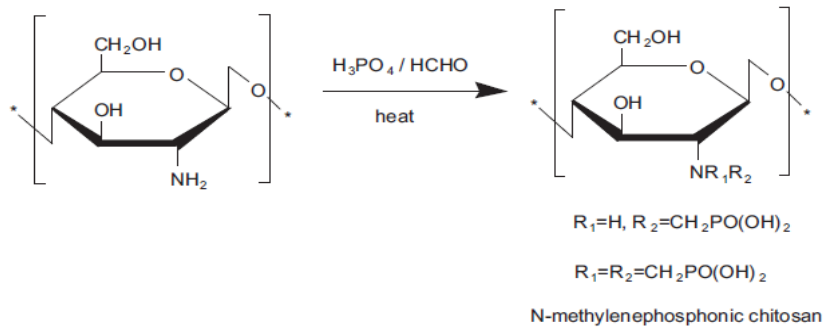


ภาพที่ 30 กระบวนการซัลโฟเนชันไคโตซาน

ที่มา: Ma and Sahai (2013)

2.2 การเติมหมู่ฟอสเฟต (Phosphorylation)

การเติมหมู่ฟอสเฟตให้กับหมู่ฟังก์ชันในไคโตซานจะมีส่วนไปเพิ่มคุณสมบัติชอบน้ำ จึงทำให้การเคลื่อนที่ของประจุดีขึ้น (Wan *et al.*, 2003) โดยกระบวนการเติมหมู่ฟอสเฟตให้กับหมู่ฟังก์ชันของไคโตซานก็จะขึ้นอยู่กับชนิดของสารที่จะเป็นตัวให้หมู่ฟอสเฟต อย่างเช่น ใช้กรดฟอสฟอนิก (phosphonic acid) ก็จะเป็นการเติมหมู่ฟอสเฟตให้กับหมู่แอมีน ดังแสดงในภาพที่ 31 หรือเกิดจากการทำปฏิกิริยาของไคโตซานกับฟอสฟอรัสเพนทอกไซด์ (phosphorous pentoxide) ในกรดมีเทนซัลโฟนิก (methanesulfonic acid) ก็จะเป็นการเติมหมู่ฟอสเฟตให้กับหมู่ไฮดรอกซิล เป็นต้น (Yao *et al.*, 2011)



ภาพที่ 31 กระบวนการเติมหมู่ฟอสเฟตให้กับสายโซ่ไคโตซาน

ที่มา: Ma and Sahai (2013)

2.3 การต่อสายโซ่พอลิเมอร์จากสายโซ่หลัก (graft copolymer)

พอลิเมอร์ที่มีการต่อกิ่งจากสายโซ่หลักคือพอลิเมอร์ที่ประกอบด้วยกลุ่มของโมโนเมอร์ประเภทหนึ่งที่เกี่ยวข้องกันเป็นโครงสร้างหลัก แล้วมีกลุ่มของโมโนเมอร์อีกประเภทหนึ่งมาต่อออกจากโครงสร้างหลัก อย่างเช่นพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) มีคุณสมบัติในการต้านการซึมผ่านของเมทานอลได้ดี แต่มีความสามารถในการเข้ากันได้กับไคโตซานต่ำ ทำให้ไม่สามารถนำมาผสมกับไคโตซานโดยตรงได้ จึงได้มีการนำมาต่อกับสายโซ่ไคโตซาน เพื่อสังเคราะห์เป็นเยื่อเลือกผ่านสำหรับเซลล์เชื้อเพลิงเมทานอล (Danwanichakul and Sirikhajornnam, 2013) เป็นต้น

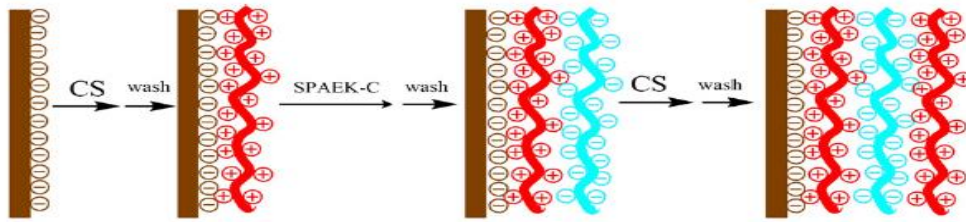
2.4 การผสมไคโตซานกับพอลิเมอร์ชนิดอื่น

จุดประสงค์ของการนำไคโตซานไปผสมกับพอลิเมอร์ชนิดอื่นคือ เพื่อต้องการคุณสมบัติของพอลิเมอร์ทั้งสองชนิดภายในสารที่เป็นเนื้อเดียวกัน เช่น ไคโตซานมีคุณสมบัติชอบน้ำสูง จึงทำให้มีความสามารถในการดูดซึมน้ำได้ดีแต่จะทำให้คุณสมบัติเชิงกลนั้นต่ำ ซึ่งจะส่งผลต่อความคงทนในการใช้งานกับเซลล์เชื้อเพลิง ดังนั้น จึงได้มีการนำไคโตซานไปผสมกับพอลิเมอร์ที่มีความเหนียวอย่างพอลิไวนิลไพโรลิโดน (PVP) เพื่อทำให้เยื่อเลือกผ่านมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น หลังจากนั้นทำการเพิ่มความสามารถในการนำโปรตอนด้วยการเชื่อมขวางด้วยกรดซัลฟิวริก (Smitha *et al.*, 2006) หรือ ผสมไคโตซานซึ่งเป็นพอลิเมอร์ประจุบวกกับพอลิอะคริลิกแอซิด (PAA) ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ประจุลบ โดยจะเกิดการเชื่อมขวางแบบไอออนิกระหว่างพอลิเมอร์ ซึ่งเป็นการเพิ่มความสามารถในการนำโปรตอน (Smitha *et al.*, 2004)

2.5 การคอมโพสิตไคโตซาน

โดยทั่วไป วัสดุที่นำมาคอมโพสิตกับไคโตซานมักจะเป็นสารอนินทรีย์ และพอลิเมอร์ชนิดอื่น โดยจุดประสงค์ของการคอมโพสิตกับสารอนินทรีย์ มีอยู่หลายประการด้วยกัน คือ เพื่อสร้างความสมดุลระหว่างความไม่ชอบน้ำและชอบน้ำให้กับเยื่อเลือกผ่าน เพื่อลดการแพร่ข้ามผ่านของเชื้อเพลิง และเพื่อปรับปรุงทั้งความสามารถในการนำโปรตอนและคุณสมบัติเชิงกล (Tripathi and Shahi, 2011) ซึ่งคุณสมบัติที่เกิดจากการคอมโพสิตไคโตซานกับสารอนินทรีย์ นอกจากจะขึ้นอยู่กับชนิดของสารอนินทรีย์แล้ว ยังขึ้นอยู่กับปริมาณ ขนาด และการกระจายตัวของสารอนินทรีย์ด้วย เช่น การคอมโพสิตกับสารอนินทรีย์จำพวกออกไซด์ที่มีคุณสมบัติความชื้นได้ดี เช่น ไททานเนียมไดออกไซด์ (TiO_2) หรือ เซอโคเนียมไดออกไซด์ (ZrO_2) ซึ่งจะช่วยให้เยื่อเลือกผ่านมีความสามารถในการดูดซับน้ำได้ดี (Dupuis, 2011) หรือคอมโพสิตกับสารอนินทรีย์จำพวกออกไซด์ (MgO , CaO SiO_2 หรือ Al_2O_3) จะเป็นการปรับปรุงความสามารถในการนำโปรตอนให้กับเยื่อเลือกผ่านไคโตซาน (Ramirez-Salgado, 2007) เป็นต้น อีกทั้ง ของแข็งจำพวกซูเปอร์แอซิด (super acid) สามารถปรับปรุงคุณสมบัติของเยื่อเลือกผ่านไคโตซานได้ทั้งความสามารถในการนำโปรตอนและความแข็งแรง โดยของแข็งประเภทนี้จะแบ่งได้เป็น โลหะออกไซด์ที่มีกรดซัลเฟตและ ซีโอไลต์ซูเปอร์แอซิด (super acid zeolite) (Wang *et al.*, 2010) นอกจากนี้ ได้มีงานวิจัยที่รายงานการสังเคราะห์เยื่อเลือกผ่านไคโตซานสำหรับเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ โดยนำไคโตซานไปคอมโพสิตกับคาร์บอนนาโนทิวบ์เพื่อให้ไปอุดรูพรุนของไคโตซาน ซึ่งจะเป็นการลดการแพร่ข้ามผ่านของออกซิเจนได้ แต่คุณสมบัติความไม่ชอบน้ำของคาร์บอนนาโนทิวบ์ก็จะส่งผลทำให้เยื่อเลือกผ่านมีความสามารถในการดูดซับน้ำได้ลดลง (Venkatesan and Dharmalingam 2013)

ส่วนการคอมโพสิตกับพอลิเมอร์นั้น พอลิเมอร์ชนิด poly (aryl ether ketone), polysulfone และ polybenzimidazole คือพอลิเมอร์สังเคราะห์ที่ได้รับความสนใจในการนำมาทดแทนนาฟิออน เนื่องจากมีความคงทน ซึ่งพอลิเมอร์สังเคราะห์เหล่านี้จะถูกเติมหมู่ซัลโฟเนตโดยผ่านกระบวนการซัลโฟเนชัน ซึ่งจะถูกนำมาคอมโพสิตกับไคโตซาน เช่น นำไคโตซานคอมโพสิตกับพอลิซัลโฟนแล้วทำการเชื่อมขวางด้วยกรดซัลฟิวริก ซึ่งจะเป็นการเพิ่มความสามารถในการนำโปรตอน (Smitha *et al.*, 2008) หรือ การสร้างชั้นฟิล์มโดยอาศัยแรงดึงดูดของพอลิเมอร์ที่มีประจุต่างกันคือ sulfonated poly (aryl ether ketone) หรือ SPAEK เป็นพอลิเมอร์ประจุลบซึ่งจะดึงดูดกับไคโตซานซึ่งเป็นพอลิเมอร์ประจุบวก จนเกิดเป็นชั้นฟิล์มดังแสดงในภาพที่ 32 ซึ่งเป็นการเพิ่มความสามารถในการนำโปรตอนและเพิ่มความแข็งแรงให้กับเยื่อเลือกผ่านไคโตซาน (Lin *et al.*, 2009) เป็นต้น



ภาพที่ 32 การสร้างชั้นฟิล์มระหว่างไคโตซานกับ SPAEK

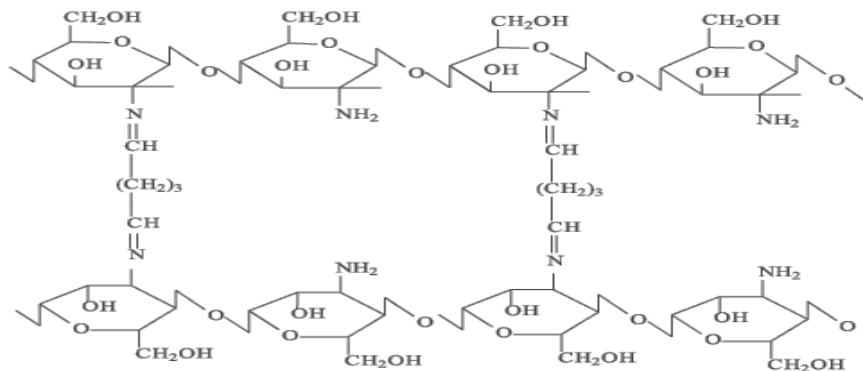
ที่มา: Lin *et al.* (2009)

2.6 การเชื่อมขวาง (Crosslinking)

การเชื่อมขวางเป็นวิธีการอย่างง่ายที่จะสามารถปรับปรุงคุณสมบัติทางกายภาพและความเสถียรต่อสารเคมีให้กับไคโตซานได้เป็นอย่างดี การเชื่อมขวางจะเกิดขึ้นเมื่อมีสารเชื่อมขวาง (crosslinking agent) มาทำหน้าที่เป็นตัวเชื่อมระหว่างโมเลกุลทำให้เกิดเป็นสะพานเชื่อม ซึ่งการเชื่อมขวางจะไปลดความสามารถในการเคลื่อนที่ของสายโซ่ในพอลิเมอร์และจะทำให้เกิดการเชื่อมขวางระหว่างสายโซ่จนเกิดเป็นโครงร่างตาข่ายและถ้าจำนวนโครงร่างตาข่ายมีมากพอก็จะทำให้พอลิเมอร์นั้นไม่สามารถละลายสารอินทรีย์และน้ำได้ แต่ยังคงดูดซึมน้ำไว้ในตัวได้ (Berger *et al.*, 2004)

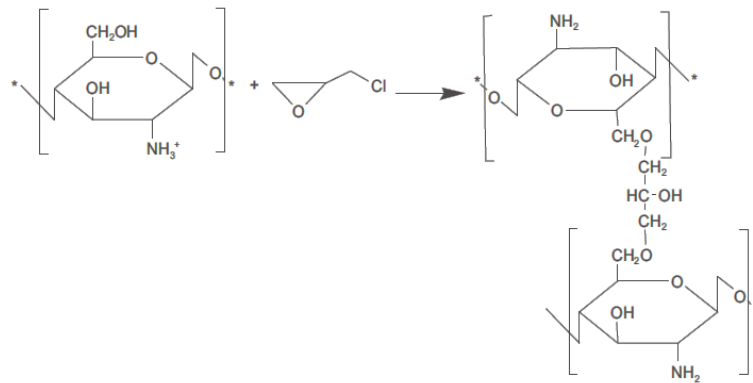
โดยทั่วไปแล้ว จุดประสงค์ของการเชื่อมขวางสายโซ่คือ เพื่อเพิ่มความแข็งแรงและเพิ่มความสามารถในการเคลื่อนที่ของประจุให้กับเยื่อเลือกผ่าน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของสารเชื่อมขวาง ซึ่งการสร้างพันธะในการเชื่อมขวางของไคโตซานสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภทหลักๆด้วยกัน คือ

ปัจจัยสำคัญในการเชื่อมขวางแบบโควาเลนต์คือ สารเชื่อมขวางที่มีความเหมาะสม ซึ่งสารเชื่อมขวางคือโมเลกุลที่มีหมู่ฟังก์ชันที่มีความว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาอย่างน้อย 2 หมู่ ที่จะสามารถเกิดการเชื่อมขวางระหว่างสายโซ่ได้ โดยในปัจจุบันสารเชื่อมขวางที่นิยมใช้ในการเชื่อมขวางแบบโควาเลนต์กับสายโซ่โกลโตซานจะเป็นสารจำพวกไดอัลดีไฮด์ (dialdehyde) ได้แก่ กลูตารอลดีไฮด์ (glutaraldehyde) ไกลโอซอล (glyoxal) ดังแสดงในภาพที่ 34 เนื่องจากหมู่อัลดีไฮด์ จะไปสร้างพันธะกับหมู่เอมีนของโกลโตซานเกิดเป็นพันธะอิมิน (Imine) สารจำพวกไดอัลดีไฮด์สามารถเกิดปฏิกิริยาได้โดยตรงในตัวกลางที่เป็นน้ำ ภายใต้สภาวะที่ไม่รุนแรง และไม่มีความจำเป็นต้องใช้สารตัวอื่นมาช่วยในการเกิดปฏิกิริยา ซึ่งนอกจากสารจำพวกอัลดีไฮด์แล้วยังมีสารเชื่อมขวางประเภทอื่นอีก เช่น กรดออกซาลิก (oxalic acid) หรือจีนิพิน (Genipin) ซึ่งเป็นสารเชื่อมขวางที่มาจากธรรมชาติ เป็นต้น และอีพิคลอโรไฮดริน (Epichlorohydrin) ซึ่งจะไปเกิดปฏิกิริยากับหมู่ OH ของโกลโตซาน ดังแสดงในภาพที่ 35



ภาพที่ 34 การเชื่อมขวางสายโซ่โกลโตซานด้วยกลูตารอลอัลดีไฮด์

ที่มา: Ma and Sahai (2013)

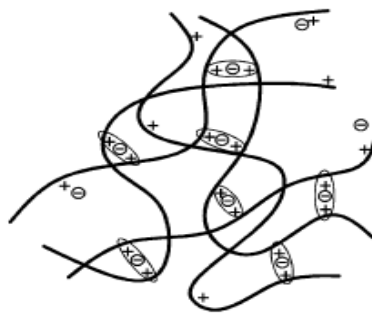


ภาพที่ 35 การเชื่อมขวางสายโซ่โกลิตซานด้วยอีพิกลอรไฮดริน

ที่มา: Ma and Sahai (2013)

กลูตาโรลดีไฮด์ (GA) เป็นสารเชื่อมขวางที่สามารถเชื่อมขวางกับโกลิตซานได้ ทั้งแบบสภาวะวิวิธพันธ์ (heterogeneous) และเอกพันธ์ (homogeneous) ซึ่งพบว่า การเชื่อมขวาง ภายใต้สภาวะวิวิธพันธ์นั้นจะไม่ค่อยเห็นการเปลี่ยนแปลงความเป็นผลึกของโกลิตซานมากนัก แต่สำหรับภายใต้สภาวะเอกพันธ์ พบว่าความเป็นผลึกจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารเชื่อมขวางเพิ่มมากขึ้น ความสามารถในการต้านแรงดึง (tensile strength) และความสามารถในการยืดออก (elongation at break) ของเยื่อเลือกผ่านโกลิตซานที่มีความเข้มข้นของสารเชื่อมขวางในปริมาณเล็กน้อยจะไม่ค่อยเกิดการเปลี่ยนแปลงมากนัก และเมื่อความเข้มข้นเพิ่มมากขึ้น การเชื่อมขวางเกิดมากขึ้น ความเป็นผลึกลดลง ก็จะส่งผลให้ค่าความสามารถในการทนแรงดึงลดลง แต่เมื่อความเข้มข้นถูกเพิ่มขึ้นถึงค่าหนึ่งแล้วจะยังทำให้เกิดการเชื่อมขวางมากขึ้นจนเกิดเป็น โครงร่างตาข่าย ซึ่งจะส่งผลให้ความสามารถในการทนแรงดึงเพิ่มขึ้น ซึ่งความเป็นผลึกของ โครงสร้างและสัดส่วนในการเกิดการเชื่อมขวางก็จะส่งผลต่อการดูดซับน้ำ โดยพบว่าที่ปริมาณสารเชื่อมขวางต่ำ ความสามารถในการดูดซับน้ำของเยื่อเลือกผ่านจะสูง แต่จะลดลงเมื่อปริมาณสารเชื่อมขวางเพิ่มขึ้น เนื่องจากหมู่ฟังก์ชันในสายโซ่โกลิตซาน อย่างหมู่ไฮดรอกซิลและหมู่เอมีนถูกเชื่อมขวางเพิ่มมากขึ้น จึงทำให้ไม่เหลือพันธะไฮโดรเจนที่จะสร้างพันธะกับน้ำจึงทำให้ความสามารถในการดูดซับน้ำลดลง ส่วนความสามารถในการนำประจุนั้นจะค่อยๆเพิ่มขึ้นตามปริมาณสารเชื่อมขวางที่เพิ่มขึ้น จนกระทั่งถึงความเข้มข้นค่าหนึ่งแล้วความสามารถในการนำประจุจะลดลง (Wan *et al.*, 2003)

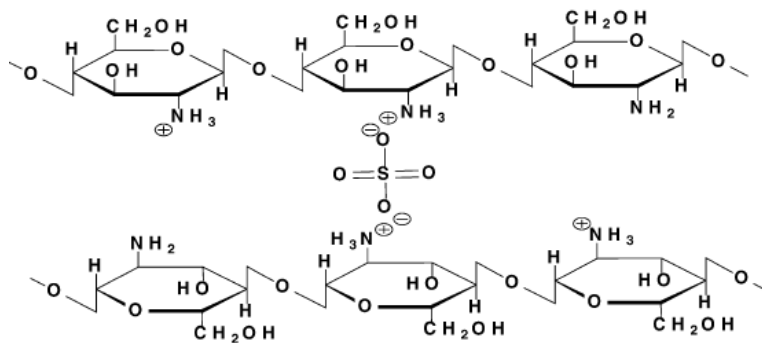
2.6.2 การเชื่อมขวางแบบไอออนิก (ionic crosslinking) คือประจุลบของสารเชื่อมขวาง จะเกิดอันตรกิริยากับประจุบวกของสายโซ่โคโคซานเกิดเป็นสะพานเชื่อมระหว่างสายโซ่ดังแสดง ในภาพที่ 36 โดยสารเชื่อมขวางส่วนใหญ่ที่ใช้จะเป็นสารที่มีประจุลบ เพราะมันจะไปเหนี่ยวนำทำให้เกิดการสร้างพันธะกับประจุบวกของแอมโมเนียมที่อยู่บนสายโซ่โคโคซาน ซึ่งการเชื่อมขวางด้วยพันธะไอออนิกมักจะไวต่อการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง (pH) มากกว่าการเชื่อมขวางกันด้วยพันธะโควาเลนต์ การเชื่อมขวางแบบไอออนิกสามารถแบ่งได้เป็น 2 แบบ โดยขึ้นกับชนิดของสารเชื่อมขวาง คือ โลหะประจุลบ หรือ โมเลกุลประจุลบ โดยโลหะประจุลบจะเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างของพันธะโคออร์ดิเนตโควาเลนต์ (coordinate covalent bond) ระหว่างประจุบวกของแอมโมเนียม (NH_4^+) ของโคโคซาน ซึ่งพันธะประเภทนี้มีความแข็งแรงมากกว่าแรงดึงดูดของโมเลกุลที่มีประจุต่างกัน ที่เกิดจากสารเชื่อมขวางประเภทโมเลกุลประจุลบกับ NH_4^+ นอกจากนี้ยังมีแรงอันตรกิริยาประเภทอื่นที่เกิดขึ้นในโครงสร้าง เช่น แรงอันตรกิริยาของกลุ่มไม่มีขั้วหรือพันธะไฮโดรเจนระหว่างสายโซ่



ภาพที่ 36 การเชื่อมขวางแบบไอออนิก

ที่มา: Berger *et al.* (2004)

ซึ่งปัจจัยสำคัญในการเชื่อมขวางแบบไอออนิกจะคล้ายกับการเชื่อมขวางแบบโควาเลนต์กล่าวคือ การเชื่อมขวางแบบโควาเลนต์ต้องการสารเชื่อมขวางที่มีหมู่ฟังก์ชันหลายหมู่ ในขณะที่การเชื่อมขวางแบบไอออนิกต้องการสารเชื่อมขวางที่มีประจุต่างกัน โดยสารเชื่อมขวางประเภทโลหะประจุลบที่ได้รับความนิยม ได้แก่ Mo(VI) (Draget *et al.*, 1992) หรือ Pt (II) (Brack *et al.*, 1997) ส่วนสารเชื่อมขวางประเภทโมเลกุลประจุลบจำพวกประจุของซัลเฟต (SO_4^{2-}) และ ฟอสเฟต (PO_4^{3-}) ได้แก่ กรดซัลฟิวริก ดังแสดงในภาพที่ 37 และ ไตรฟอสเฟต (tripolyphosphate) เป็นต้น



ภาพที่ 37 การเชื่อมขวางแบบไอออนิกด้วยกรดซัลฟิวริก

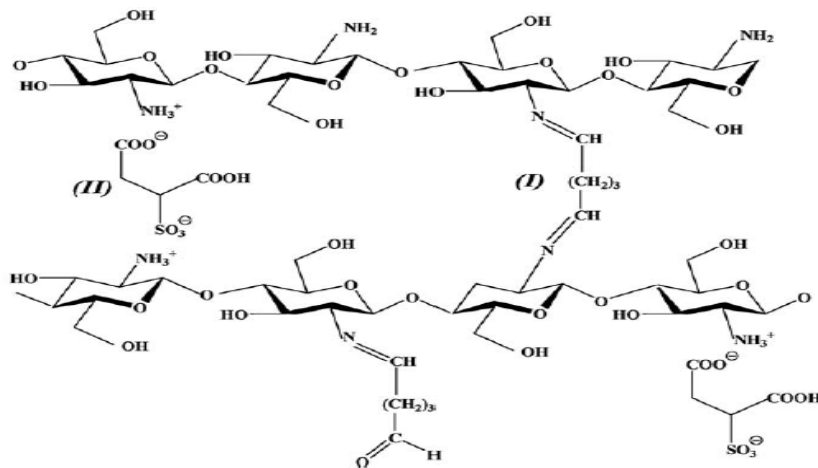
ที่มา: Mukoma *et al.* (2004)

กระบวนการในการเชื่อมขวางแบบไอออนิกเป็นกระบวนการที่ง่ายและสามารถทำได้ในสถานะที่ไม่รุนแรง โดยการจุ่มแผ่นฟิล์มไคโตซานลงในสารเชื่อมขวาง หรือการเติมสารละลายไคโตซานลงในสารเชื่อมขวาง โดยปฏิกิริยาในการเชื่อมขวางจะขึ้นอยู่กับขนาดโมเลกุลของสารเชื่อมขวางและประจุของไคโตซานและสารเชื่อมขวางในระหว่างปฏิกิริยา โดยโมเลกุลที่เล็กกว่าจะสามารถเกิดปฏิกิริยาได้เร็วกว่าเนื่องจากสามารถแพร่ได้ดีกว่า โดยความหนาแน่นของประจุบวกของไคโตซานและประจุลบของสารเชื่อมขวางจะต้องมีมากพอที่จะทำให้เกิดอันตรกิริยากัน กล่าวคือความเป็นกรด-ด่างของไคโตซานและสารเชื่อมขวางจะต้องอยู่ในช่วงที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งถ้าค่าความเป็นกรด-ด่างมีค่าสูงเกินไป จะทำให้ประจุบวกถูกทำให้เป็นกลางและระบบจะไม่เกิดการเชื่อมขวางแบบไอออนิก ซึ่งนอกจากขนาดของสารเชื่อมขวางและความหนาแน่นของประจุแล้ว ความเข้มข้นของสารเชื่อมขวาง อีกทั้งน้ำหนักโมเลกุล %DD ความเข้มข้นของไคโตซานและเวลาในการเกิดปฏิกิริยาก็ส่งผลต่อปริมาณในการเชื่อมขวางด้วยเช่นกัน (Berger *et al.*, 2004)

ซึ่งในการนำไปประยุกต์ใช้งานจริง พบว่าหลายงานวิจัยได้มีการนำสารเชื่อมขวางมากกว่าหนึ่งชนิดมาทำการเชื่อมขวางไคโตซานเพื่อทำการปรับปรุงคุณสมบัติที่แตกต่างกัน เช่น

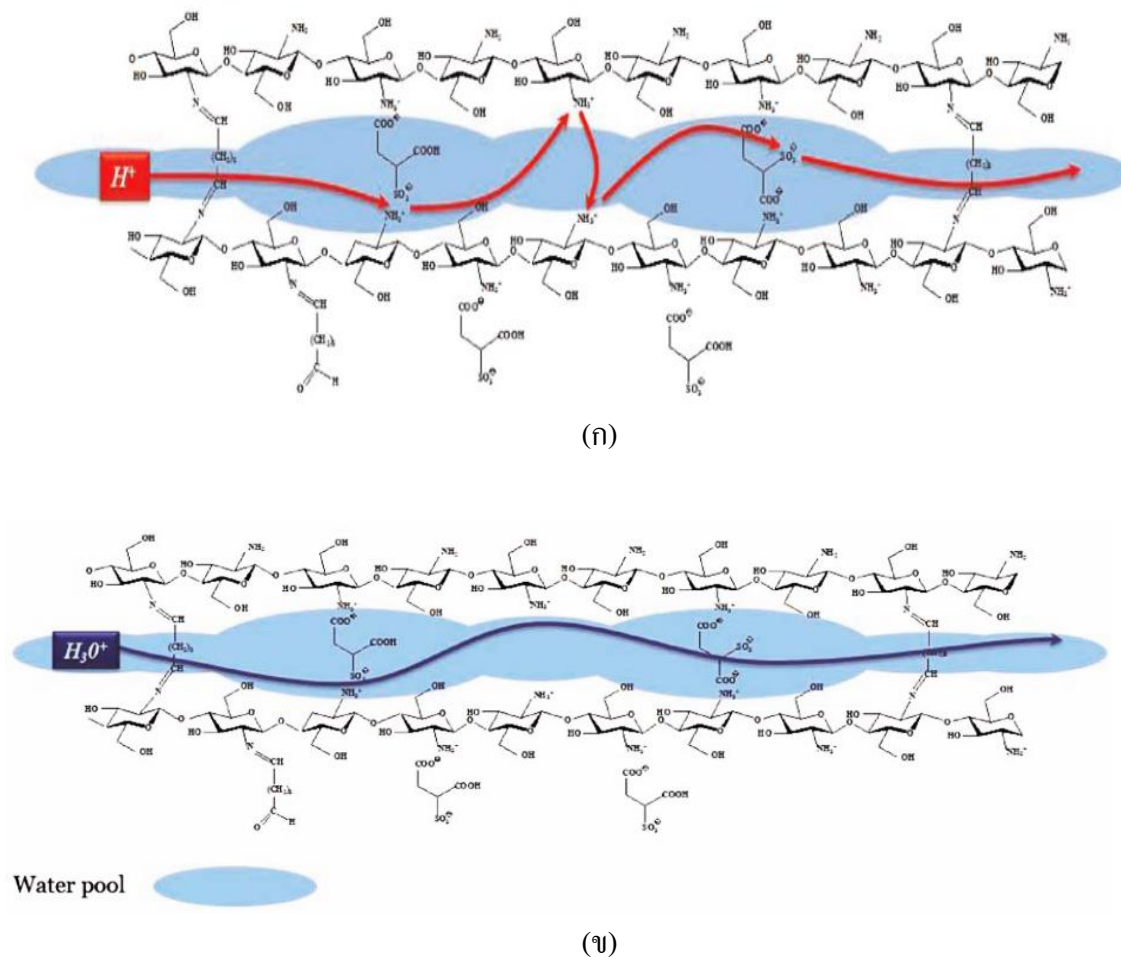
การใช้สารเชื่อมขวางสองชนิด คือ กรดซัลโฟซาลิไซลิก (SSA) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 8, 12 และ 16 โดยน้ำหนัก และกลูตาโรลดีไฮด์ (GA) ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก โดย SSA ถูกใช้เป็นสารเชื่อมขวางแบบไอออนิก แสดงดังภาพที่ 38 โดยพบว่า เมื่อความเข้มข้นของ SSA เพิ่มขึ้น จะยังมีหมู่ SO_3H เพิ่มขึ้นส่งผลให้เยื่อเลือกผ่านไคโตซานมีความสามารถในการนำโปรตอนเพิ่มขึ้น (0.0372, 0.0452 และ 0.0478 S/cm ตามลำดับ) และความสามารถในการดูดซับน้ำก็มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามปริมาณ SSA แต่การเพิ่มขึ้นของ SSA ที่มากเกินไปจะทำให้ช่องทางในการ

เคลื่อนที่ของโปรตอนลดลงเนื่องจากเกิดการเชื่อมขวางที่มากเกินไป และเมื่อมีการวิเคราะห์ถึงพลังงานที่จะใช้ในการกระตุ้นให้เกิดการเคลื่อนที่ของโปรตอน พบว่าเชื้อเลือกผ่านที่ความเข้มข้นกรดร้อยละ 12 โดยน้ำหนัก ใช้พลังงานในการกระตุ้น (10.518 กิโลจูลต่อโมล) ใกล้เคียงกับของนาฟิออน (9.2กิโลจูลต่อโมล) โดยสมมติฐานในการเคลื่อนที่ของโปรตอนแสดงดังภาพที่ 39 (Dashtimoghadam *et al.*, 2009)



ภาพที่ 38 โครงสร้างของไคโตซานที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วย SSA และ GA

ที่มา: Dashtimoghadam *et al.* (2009)



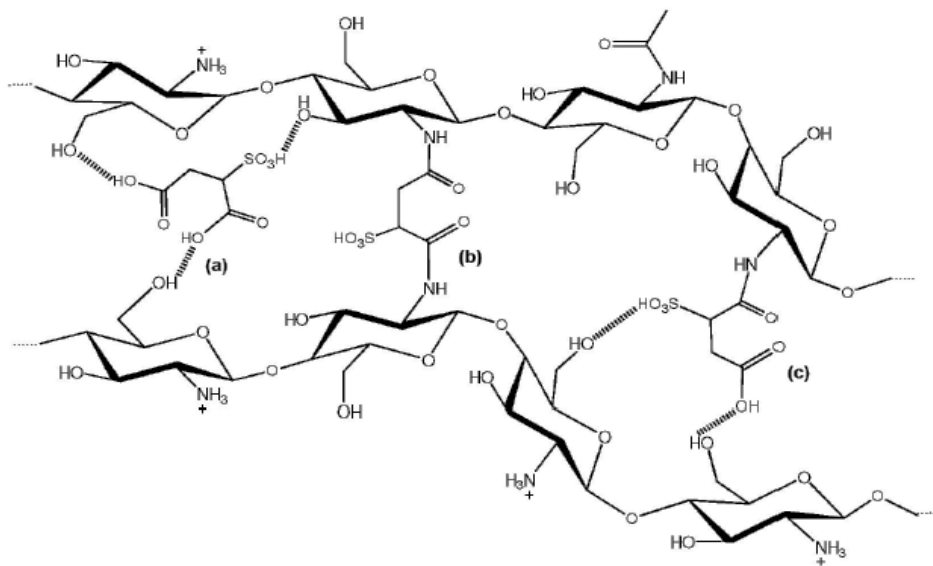
ภาพที่ 39 สมมติฐานในการเคลื่อนที่ของโปรตอน โดย (ก) เคลื่อนที่แบบกระโดด (ข) เคลื่อนที่โดยน้ำเป็นตัวพา

ที่มา: Dashtimoghadam *et al.* (2009)

นอกจากจะเป็นการปรับปรุงคุณสมบัติในการนำโปรตอนแล้ว การใช้สารเชื่อมขวาง ทั้ง SSA และ GA ก็จะสามารถไปปรับปรุงเยื่อเลือกผ่านให้มีความแข็งแรงโดยไม่สูญเสียคุณสมบัติชอบน้ำของไคโตซาน โดย GA จะสร้างพันธะโควาเลนต์กับไคโตซาน จึงทำให้เยื่อเลือกผ่านมีคุณสมบัติเชิงกลสูงขึ้น แต่ความสามารถในการดูดซึมน้ำจะลดลงเนื่องจากสูญเสียหมู่แอมีนในการสร้างพันธะกับหมู่อัลดีไฮด์ของ GA ส่วนโมเลกุลของ SSA ประกอบด้วยหมู่ที่มีขั้ว 3 หมู่ คือ หมู่คาร์บอกซิลิก 2 หมู่และหมู่ซัลโฟนิค 1 หมู่ ซึ่งการเชื่อมขวางด้วยกรด SSA จะไปช่วยทำให้เยื่อเลือกผ่านมีความชอบน้ำมากขึ้น โดยอัตราส่วนของสารเชื่อมขวางที่ใช้ GA/SSA คือ 2:1 ซึ่งพบว่า เยื่อเลือกผ่านที่ประกอบด้วยสารเชื่อมขวางร้อยละ 30 มีความแข็งแรงมากขึ้น (ค่ามอดูลัสของยัง 7344

และค่าการต้านแรงดึง 134 เมกะปาสกาล) เมื่อเปรียบเทียบกับเยื่อเลือกผ่านไคโตซานที่ไม่ได้ทำการเชื่อมขวาง (ค่ามอดูลัสของยัง 1233 และค่าการต้านแรงดึง 39 เมกะปาสกาล) ส่วนการดูดซับน้ำของเยื่อเลือกผ่าน พบว่า เมื่อมีการเติมสารเชื่อมขวางลงไป ปริมาณเล็กน้อย การดูดซับน้ำของเยื่อเลือกผ่านลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับเยื่อเลือกผ่านไคโตซานที่ไม่ได้ถูกเชื่อมขวาง แต่เมื่อมีการเติมสารเชื่อมขวางเพิ่มมากขึ้น การดูดซับน้ำเพิ่มขึ้น (Tsai and Wang, 2008)

นอกจากนี้ พบว่า SSA ได้ถูกตั้งสมมติฐานว่ามีโอกาสเกิดการเชื่อมขวางกับสายโซ่ไคโตซานได้ 3 แบบ ดังแสดงในภาพที่ 40 โดยเกิดการเชื่อมขวางแบบพันธะโควาเลนต์และแบบพันธะไฮโดรเจน โดยใช้กรดคลอริดริก (chloridric acid) เป็นตัวทำละลายไคโตซาน ซึ่งจะเป็นตัวกระตุ้นในการเกิดปฏิกิริยาการเชื่อมขวางระหว่าง SSA กับไคโตซาน โดยกรดคลอริดริกจะไปเหนี่ยวนำให้หมู่คาร์บอกซิลิกของ SSA เกิดการเชื่อมขวางกับไคโตซาน โดย SSA จะถูกใช้ในปริมาณที่แตกต่างกันคือตั้งแต่ ร้อยละ 8-80 โดยน้ำหนัก ซึ่งพบว่า การเชื่อมขวางเกิดสูงสุดที่ปริมาณ SSA ร้อยละ 15 โดยน้ำหนัก และเมื่อทำการเปรียบเทียบความสามารถในการดูดซับน้ำของเยื่อเลือกผ่านที่มี SSA อยู่ร้อยละ 80 โดยน้ำหนักกับเยื่อเลือกผ่านที่ไม่มีการเชื่อมขวาง พบว่าเยื่อเลือกผ่านที่มี SSA อยู่สามารถดูดซับน้ำได้น้อยกว่า ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากหมู่ที่มีคุณสมบัติชอบน้ำอย่าง SO_3H เป็นตัวที่เกิดการเชื่อมขวางกับไคโตซาน ส่วนค่าการแลกเปลี่ยนประจุ (ionic exchange capacity, IEC) เป็นค่าที่แสดงถึงปริมาณของหมู่ SO_3H ที่มีอยู่ในเยื่อเลือกผ่าน โดยคิดต่อน้ำหนักแห้งของเยื่อเลือกผ่าน ซึ่งพบว่าค่า IEC มีค่าเพิ่มขึ้นตามปริมาณกรด SSA โดยมีค่าอยู่ในช่วง 0.0794-3.12 มิลลิโมลต่อกรัม (mmol/g) ส่วนค่าการนำโปรตอนของเยื่อเลือกผ่านถูกวัดในสภาวะเป็นกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ซึ่งก็พบว่าเยื่อเลือกผ่านที่มีปริมาณกรดอยู่ร้อยละ 80 จะให้ค่าการนำโปรตอนสูงสุดที่ 0.17 ซีเมนต์ต่อเซนติเมตร (S/cm) (Witt *et al.*, 2010)



ภาพที่ 40 โครงสร้างการเกิดอันตรกิริยาระหว่างไคโตซานกับ SSA

ที่มา: Witt *et al.* (2010)

นอกจากนี้ ปริมาณของหมู่ SO_3H และปริมาณการเชื่อมขวางที่เกิดขึ้น ต่างก็เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อคุณสมบัติต่างๆของเยื่อเลือกผ่าน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับว่าสภาวะใดที่จะทำให้ปัจจัยไหนมีความโดดเด่นมากกว่ากัน ยกตัวอย่างเช่น ค่า IEC และความสามารถในการดูดซับน้ำของเยื่อเลือกผ่านนั้นควรที่จะมีค่าเพิ่มตามปริมาณกรด SO_3H แต่จากการศึกษาปริมาณกรด SSA ร้อยละ 5-30 โดยน้ำหนัก ซึ่งถูกใช้เป็นตัวเชื่อมขวางระหว่างสายโซ่ของเซลลูโลสในการสังเคราะห์เยื่อเลือกผ่าน (Seo *et al.*, 2009) พบว่า เยื่อเลือกผ่านมีความสามารถในการดูดซับน้ำเพิ่มขึ้นเมื่อมีปริมาณกรดถึงร้อยละ 25 โดยน้ำหนัก แต่เมื่อกรดมีปริมาณเพิ่มขึ้นมากกว่านี้ ความสามารถในการดูดซับน้ำกลับลดลง ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากการที่มีปริมาณกรดเพิ่มมากขึ้น แต่การเชื่อมขวางก็เกิดขึ้นมากด้วย ส่งผลให้โครงสร้างมีความอัดแน่นมากขึ้น จึงทำให้เกิดการดูดซับน้ำได้ลดลง ส่วนการนำโปรตอนมีค่าสูงสุดที่ปริมาณกรดร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก ส่วนความสามารถในการทนแรงดึง พบว่าเยื่อเลือกผ่านมีความสามารถในการทนแรงดึงสูงขึ้นเมื่อมีปริมาณกรดถึงร้อยละ 15 โดยน้ำหนัก และเมื่อมีกรดเพิ่มขึ้นกลับมีค่าลดลง ทั้งนี้เนื่องมาจากเมื่อมีปริมาณกรดเพิ่มขึ้นจะทำให้เยื่อเลือกผ่านมีคุณสมบัติในการชอบน้ำมากยิ่งขึ้น ซึ่งจะทำให้มีคุณสมบัติเชิงกลลดลง และพบว่าที่ปริมาณกรดร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก เยื่อเลือกผ่านจะกลับมามีความสามารถในการทนแรงดึงสูงขึ้น เนื่องจากผลของการเชื่อมขวางนั้นส่งผลมากกว่าปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้น จึงทำให้ความสามารถในการดูดซับน้ำลดลงและความแข็งแรงจึงเพิ่มขึ้น

2.7 ปฏิกริยาควอเทอไนเซชัน (Quaternization)

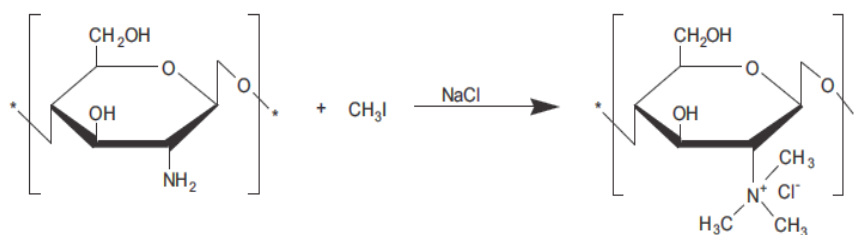
ปฏิกริยาควอเทอไนเซชันหรือการเติมหมู่เมทิล (Methylation) คือ การเพิ่มประจุบวก ซึ่งจะทำให้ไคโตซานมีความสามารถในการดูดซับน้ำเพิ่มมากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามการดูดซับน้ำที่มากเกินไปก็จะส่งผลทำให้เยื่อเลือกผ่านมีคุณสมบัติเชิงกลต่ำลง ดังนั้นในหลายๆงานวิจัยก็ได้มีการปรับปรุงด้วยการเชื่อมขวางสายโซ่ไคโตซานด้วยสารเชื่อมขวางที่ให้ความแข็งแรงอย่างเช่น กลูตาโรลดีไฮด์ (Wang *et al.*, 2011) หรือ เอทิลีน ไกลคอล ได ไกลซิดีลอีเทอร์ (Wan *et al.*, 2010) เป็นต้น

2.7.1 วิธีการควอเทอไนซ์เซชัน

ปฏิกริยาควอเทอไนเซชันสามารถเกิดได้หลายสถานะ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของสารควอเทอไนซ์ ได้แก่

ก. การควอเทอไนซ์โดยใช้ไอโอดีน

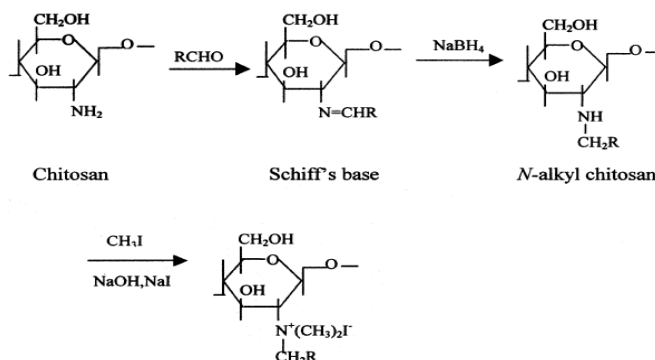
ซึ่งการควอเทอไนซ์โดยใช้ไอโอดีน (CH_3I) เป็นสารเติมหมู่เมทิลสามารถพิจารณาได้ 2 วิธี คือ การควอเทอไนซ์โดยตรง (direct quaternization) คือ ไคโตซานทำปฏิกริยากับอัลคิลแฮไลด์ภายใต้สภาวะเป็นเบส (Polnok *et al.*, 2004) ดังแสดงในภาพที่ 41



ภาพที่ 41 ปฏิกริยาควอเทอไนเซชันโดยตรง

ที่มา: Ma and Sahai (2013)

อีกวิธี คือ การไปเพิ่มหมู่แอลคิลตรงตำแหน่งไนโตรเจนของหมู่เอมีน (reductive N-alkylation) ด้วยการทำปฏิกิริยากับอัลดีไฮด์เกิดเป็น Schiff's base ก่อน แล้วต่อด้วยเติมหมู่เมทิลด้วยเมทิลไอโอไดด์ ดังแสดงในภาพที่ 42



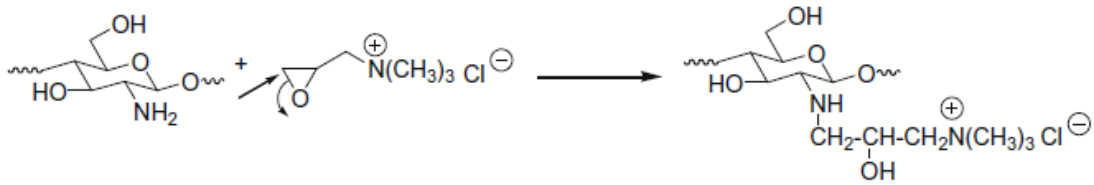
ภาพที่ 42 ปฏิกิริยาควอเทอไนเซชันโดยผ่านกระบวนการ Alkylation

ที่มา: Jia *et al.* (2001)

โดยสัดส่วนที่ถูกควอเทอไนซ์ (degree of quaternization) หรือสัดส่วนที่ถูกแทนที่ (degree of substitution) ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ชนิดของเบสและจำนวนขั้นตอนในการทำปฏิกิริยา (Polnok *et al.*, 2004) ชนิดของตัวทำละลาย (Runarsson *et al.*, 2007) ความเข้มข้นของเบสและระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (Curti *et al.* 2003) ชนิดของหมู่แอลดีไฮด์ (Jia *et al.*, 2001) เป็นต้น

ข. การควอเทอไนซ์โดยใช้ไกลซิดิลไตรเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ (glycidyl trimethylammonium chloride, GTMAC)

ไกลซิดิลไตรเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ หรือ GTMAC ถูกนำมาใช้เป็นสารควอเทอไนซ์เนื่องจากโครงสร้างของ GTMAC มีหมู่ควอเทอนารีแอมโมเนียมอยู่แล้ว อีกทั้ง GTMAC สามารถทำปฏิกิริยากับไคโตซานได้หลายสถานะ โดย GTMAC จะทำปฏิกิริยากับหมู่เอมีนของไคโตซาน เนื่องจากมีความเป็นนิวคลีโอฟิลิกพอที่จะเปิดวงอีพอกซีของ GTMAC ภายใต้อุณหภูมิเป็นกรด (Ruifua *et al.*, 2012) และกลาง (Wu *et al.*, 2006) ดังแสดงในภาพที่ 43 และ GTMAC สามารถทำปฏิกิริยากับหมู่ไฮดรอกซิลในสถานะเบสได้ (Gruškienė *et al.*, 2013) แต่อย่างไรก็ตาม GTMAC เป็นสารควอเทอไนซ์ที่มีราคาแพง

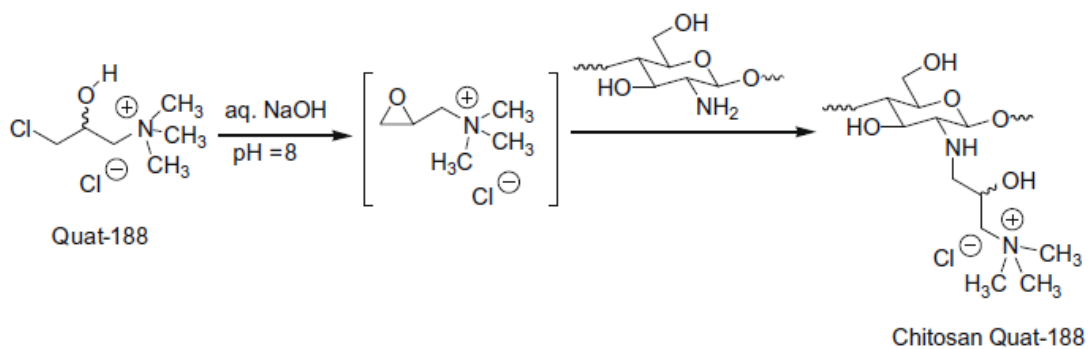


ภาพที่ 43 ปฏิกริยาควอเทอไนเซชันระหว่างไคโตซานกับ GTMAC

ที่มา: Sajomsang (2010)

ค. การควอเทอไนซ์โดยใช้ 3-คลอโร-2-ไฮดรอกซีโพรพิลไตรเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ หรือ ควอต-188 (3-Chloro-2-hydroxypropyl) trimethylammonium chloride, Quat-188)

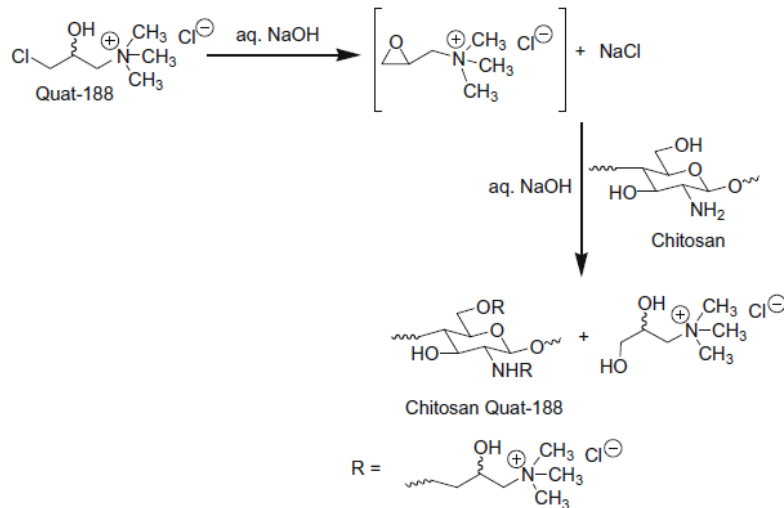
ควอต-188 เป็นสารควอเทอไนซ์ที่มีโครงสร้างคล้ายกับ GTMAC แต่มีราคาถูกและมีความเป็นพิษต่ำ (Yang *et al.*, 2012) โดยภายใต้สภาวะเป็นเบส ควอต-188 จะเกิดโครงสร้างอีพอกไซด์ซึ่งมีความว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยากับหมู่เอมีนและหมู่ไฮดรอกซิลของไคโตซานโดยผ่านกระบวนการแทนที่ด้วยนิวคลีโอไฟล์ (nucleophilic substitution) ซึ่งทำให้เกิดการแทนที่ของควอเทอนารีแอมโมเนียม ดังแสดงในภาพที่ 44



ภาพที่ 44 ปฏิกริยาควอเทอไนเซชันระหว่างไคโตซานกับควอต-188

ที่มา: Sajomsang (2010)

โดยความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เป็นปัจจัยสำคัญต่อการเกิดโครงสร้างอีพอกไซด์ของควอต-188 ถ้าใช้ความเข้มข้นของ NaOH สูง จะเป็นการไฮโดรไลซ์ควอต-188 ทำให้เกิดเป็นไดออล (diol) ในปริมาณสูง ดังแสดงในภาพที่ 45 อีกทั้งในสภาวะดังกล่าวยังจะส่งผลให้เกิดการเสื่อมสลายของพอลิแซ็กคาไรด์อีกด้วย



ภาพที่ 45 ปฏิกริยาควอเทอไนเซชันระหว่างไคโตซานกับควอต-188 ที่สภาวะความเข้มข้นของเบสสูง

ที่มา: Sajomsang *et al.* (2010)

ง. การควอเทอไนซ์โดยใช้สารควอเทอไนซ์ชนิดอื่น

ไคเมทิลซัลเฟตเป็นสารเติมหมู่เมทิลที่มีราคาถูกลงและมีความเป็นพิษต่ำกว่าไอโอดีน โดยในการเกิดปฏิกริยาควอเทอไนซ์จะเกิดขึ้นในสารละลายผสมระหว่างโซเดียมคลอไรด์และโซเดียมไฮดรอกไซด์ และทำการรีฟลักซ์ที่อุณหภูมิห้องหรือที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส โดยสัดส่วนที่ถูกควอเทอไนซ์จะขึ้นอยู่กับเวลาและอุณหภูมิในการทำปฏิกริยา แต่อย่างไรก็ตาม ถึงแม้ว่าไคเมทิลซัลเฟตจะถูกพิจารณาเป็นสารเติมหมู่เมทิลแทนไอโอดีน แต่ก็พบว่าสัดส่วนในการควอเทอไนซ์ด้วยไคเมทิลซัลเฟตนั้น เกิดขึ้นน้อยกว่าการควอเทอไนซ์ด้วยไอโอดีน (Sajomsang *et al.*, 2010)

2.3.2 ผลของการควอเทอโนซ์ต่อคุณสมบัติบางประการต่อไคโตซาน

การควอเทอโนซ์ไคโตซาน นอกจากจะเป็นการทำให้ไคโตซานสามารถละลายน้ำได้ในช่วงของความเป็นกรด-เบสที่กว้างขึ้นแล้ว ยังพบว่า การควอเทอโนซ์ไคโตซานสามารถเพิ่มประสิทธิภาพต่อคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ให้กับไคโตซานได้อีกด้วย

โดยกลไกการออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ที่แน่นอนของไคโตซานและอนุพันธ์ยังไม่เป็นที่แน่ชัด แต่อย่างไรก็ตาม การแสดงคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของไคโตซานได้ถูกตั้งสมมติฐานว่าอาจเกิดได้หลายกลไก (เยวพา, 2555) เช่น

- พอลิเมอร์ประจุบวกของไคโตซานสามารถเกิดแรงกระทำกับประจุลบของผนังเซลล์จุลินทรีย์ทำให้เกิดการเปลี่ยนโครงสร้างของผนังเซลล์จุลินทรีย์ ส่งผลให้ผนังเซลล์เกิดความเสียหาย

- หมู่อะมิโนของไคโตซานสามารถดูดซับสารอาหารและไอออนของโลหะที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญของจุลินทรีย์ จึงสามารถลดอัตราการเจริญหรือยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้

- ไคโตซานสามารถเกิดเป็นสารประกอบที่ซับซ้อนบริเวณผิวหน้าของผนังเซลล์จุลินทรีย์โดยก่อตัวเป็นชั้นบาง ๆ รอบเซลล์ขัดขวางการส่งผ่านสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์เข้าสู่ภายในเซลล์ทำให้คุณสมบัติการเลือกผ่านของเซลล์สูญเสียไป

- ไคโตซานสามารถเข้าไปรบกวนระบบ และกลไกการทำงานเอนไซม์ภายในเซลล์จุลินทรีย์ให้ผิดปกติ

- ไคโตซานสามารถยับยั้งการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิกและโปรตีน แม้ว่าโมเลกุลของไคโตซานมีขนาดใหญ่เกินกว่าจะแพร่ผ่านผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ แต่เมื่อไคโตซานถูกไฮโดรไลส์ โดยเอนไซม์ที่มีในจุลินทรีย์บางชนิด เช่นไคโตซานเนส ไคโตซานจะมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำลง ทำให้สามารถแพร่ผ่านเข้าไปภายในเซลล์ของจุลินทรีย์และขัดขวางการสังเคราะห์ mRNA ได้

โดยการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของไคโตซานขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยด้วยกัน ได้แก่

1) ปัจจัยภายในไคโตซาน เช่น น้ำหนักโมเลกุลและความหนาแน่นของประจุบวก ซึ่งพบว่าหน่วยโมโนเมอร์ของไคโตซาน 2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose ซึ่งเป็นเกลือไฮโดรคลอไรด์ จะไม่แสดงคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ โดยจะแสดงการยับยั้งเมื่อมีหน่วยโมโนเมอร์หลายหน่วยมาประกอบกัน แต่อย่างไรก็ตาม ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานกับความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ยังไม่เป็นที่แน่นอน อย่างเช่น ในบางกรณีพบว่า น้ำหนักโมเลกุลที่เพิ่มขึ้นจะยิ่งไปลดประสิทธิภาพในการทำงานของ *E. coli* แต่ในขณะที่กรณีศึกษาอื่น พบว่า ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงจะยิ่งทำให้การทำงานของเชื้อ *E. coli* มีประสิทธิภาพดีกว่า ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ นอกจากนี้ ยังมีการพบอีกว่า *E. coli* และ *Bacillus subtilis* มีประสิทธิภาพในการทำงานเท่ากัน โดยไม่ขึ้นกับน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน (Tikhonov *et al.*, 2006) เป็นต้น

ส่วนความหนาแน่นของประจุบวกจะสัมพันธ์กับร้อยละในการลดลงของ หมู่อะซิดิลของไคโตซาน (%DD) กล่าวคือ ไคโตซานที่มี % DD สูง แสดงถึง มีปริมาณ NH_2 มาก ซึ่งเมื่ออยู่ในสภาวะเป็นกรด หมู่ NH_2 จะถูกทำให้โปรตอนเกิดเป็น NH_3^+ ประจุบวกที่เกิดขึ้นจะไปเกิดแรงดึงดูดกับประจุลบที่ผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ ส่งผลให้เกิดการยับยั้งดียิ่งขึ้น

2) สภาพแวดล้อมภายนอก ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ และเวลา จากที่ได้กล่าวมาข้างต้น ในสภาวะเป็นกรด ประจุบวกที่เกิดขึ้นจะไปเกิดอันตรกิริยากับผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ ส่งผลให้เกิดการแสดงคุณสมบัติการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของไคโตซาน แต่อย่างไรก็ตาม ก็อาจจะไม่จริงเสมอไปที่สภาวะเป็นกลางแล้วไคโตซานจะไม่แสดงคุณสมบัติการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เลย ยกตัวอย่างเช่น ไคโตซานที่มี % DD ต่ำ (62.6 %) สามารถแสดงการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในสภาวะเป็นกลางได้ดีกว่าไคโตซานที่มี % DD สูง (97.5 % และ 83.5%) (Kong *et al.*, 2010) และได้มีงานวิจัยที่พบว่า อนุพันธ์ของไคโตซานสามารถยับยั้ง *E. coli* ได้ดีขึ้นตามการเพิ่มขึ้นของค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยจะแสดงการยับยั้งสูงสุดที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 7-7.5 (Yang *et al.*, 2005) ดังนั้น จะเห็นได้ว่าการมีประจุบวกของไคโตซานไม่ใช่ปัจจัยเดียวที่จะทำให้ไคโตซานแสดงคุณสมบัติการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ส่วนปัจจัยทางด้านอุณหภูมิและเวลาในการจัดเก็บสารละลายไคโตซานนั้นต่างก็ส่งผลต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เช่นกัน ซึ่งได้มีงานวิจัยพบว่า ไคโตซานในรูปสารละลายก่อนที่จะถูกจัดเก็บจะแสดงการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าเมื่อมีการจัดเก็บแล้ว 15 สัปดาห์ และสารละลายไคโตซานที่ถูกจัดเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสจะมีความสามารถในการยับยั้งได้ดีกว่าที่ถูกเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (Kong *et al.*, 2010) เป็นต้น

3) ลักษณะทางกายภาพของโคโตซาน สามารถพิจารณาได้ในรูปของของเหลว และของแข็ง ซึ่งถ้าเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์แล้ว โคโตซานในรูปของแข็งจะสามารถยับยั้งได้ไม่ดีเท่าเมื่ออยู่ในสถานะของเหลว เนื่องจากในรูปของแข็งจะเกิดการยับยั้งได้เฉพาะที่พื้นผิว ซึ่งปัจจัยที่ส่งผลต่อการยับยั้งของโคโตซานในรูปของแข็ง ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง รูปร่างและขนาดของโคโตซาน ซึ่งถ้าค่าความเป็นกรด-ด่าง มีค่าต่ำกว่าค่าสัมประสิทธิ์การแตกตัว (pK_a เท่ากับ 6.3-6.5) พื้นผิวของของแข็งจะเริ่มละลาย ซึ่งจะทำให้การยับยั้งคล้ายกับโคโตซานในรูปของเหลว โดยศักย์ซีต้า (zeta potential) เป็นตัวบ่งชี้สำคัญที่จะแสดงถึงประจุที่เกิดขึ้นบนพื้นผิว ซึ่งศักย์ซีต้าคือ ความต่างศักย์ระหว่างศักย์ไฟฟ้าบริเวณพื้นผิวของอนุภาคกับศักย์ไฟฟ้าในชั้นสารละลาย ซึ่งหลายงานวิจัยก็ได้มีการพบว่าอนุภาคโคโตซานที่มีค่าศักย์ซีตาสูงกว่าจะสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่า (Qi et al., 2004, Vallapa et al., 2011 และ Wiarachai et al., 2012)

จากที่ได้กล่าวถึงวิธีในการควอเทอไนซ์ จะเห็นได้ว่าการควอเทอไนซ์โคโตซาน หรือการเพิ่มประจุบวกให้กับโคโตซานนั้นสามารถทำได้หลายสถานะ กล่าวคือสามารถเกิดขึ้นได้ทั้งแบบเอกพันธ์ (homogeneous) และวิวิธพันธ์ (heterogeneous) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับการนำไปใช้งาน ซึ่งสำหรับโคโตซานในรูปของแข็ง นับได้ว่าถูกนำมาประยุกต์ใช้อย่างมาก เช่น ไฟเบอร์ ฟิล์ม เยื่อเลือกผ่าน และอนุภาคระดับนาโน เป็นต้น

ซึ่งได้มีงานวิจัย ที่ทำการควอเทอไนซ์โคโตซานแบบวิวิธพันธ์โดยใช้ CH_3I เป็นสารเติมหมู่เมทิล เพื่อให้เกิดประจุบวกที่โคโตซานนั้น จากการศึกษาความเข้มข้นของ CH_3I ที่แตกต่างกัน (0.4 -2 โมลาร์) ใช้เวลาในการทำปฏิกิริยา 12 ชั่วโมง พบว่าที่ความเข้มข้น 0.8-1.2 โมลาร์ การเพิ่มขึ้นของหมู่เมทิลจะไปทำให้พื้นผิวโคโตซานจะมีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นถึง 1.6-2 โมลาร์ จะทำให้มีสัดส่วนของประจุบวกที่พื้นผิวโคโตซานเพิ่มขึ้นจึงทำให้มีคุณสมบัติชอบน้ำ และสัดส่วนในการเกิดควอเทอไนซ์มีค่าเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ CH_3I และเมื่อทำการวัดประจุบวกที่พื้นผิวโดยใช้ศักย์ซีต้า พบว่า ยิ่งความเข้มข้นของ CH_3I เพิ่มขึ้น ประจุบวกที่พื้นผิวยังมีค่าเพิ่มขึ้น โดยโคโตซานจะมีประจุบวกที่พื้นผิวประมาณ +13.11mV ซึ่งเมื่อพิจารณาถึงรูปร่างที่เปลี่ยนแปลงไปของแบคทีเรียชนิดแกรมบวก (*S. aureus*) และแกรมลบ (*E. coli*) ที่เกาะอยู่บนพื้นผิวของโคโตซานและควอเทอไนซ์โคโตซาน พบว่า ที่พื้นผิวของโคโตซานและควอเทอไนซ์โคโตซานด้วย CH_3I ที่มีความเข้มข้น 0.4 โมลาร์ ไม่พบถึงความเสียหายของ *S. aureus* ซึ่งแสดงถึงความไม่สามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ และเมื่อพิจารณาที่ความเข้มข้น 0.8 และ 1.2 โมลาร์ พบว่าเซลล์เกิดความเสียหาย จะเห็นได้ว่ามีขนาดเล็กลง เซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง และเมื่อเพิ่มประจุให้กับพื้นผิว นั่นคือ ความเข้มข้น 1.6 และ 2 โมลาร์ พบว่าเซลล์เกิดการแตก ซึ่งเมื่อพิจารณากับเชื้อ *E. coli* พบว่าที่พื้นผิวโคโตซานและ 0.4 โมลาร์ มีเชื้อเกาะอยู่น้อยมากนั้นแสดงถึง

ว่าไม่มีแรงดึงดูดกันระหว่างที่พื้นผิวของไคโตซานกับผนังเซลล์ของเชื้อภายใต้สภาวะเป็นกลาง แต่เมื่อความเข้มข้นของ CH_3I เพิ่มมากขึ้น พบว่ามีเชื้อเกาะอยู่จำนวนมากและถูกทำลายอย่างเห็นได้ชัดเจน (Vallapa *et al.*, 2011)

นอกจากนี้ได้มีงานวิจัย ที่ทำการศึกษาผลของการควอเทอไนซ์ที่พื้นผิวของไคโตซาน โดยมีการใช้ไตรพอลีฟอสเฟต (TPP) เป็นตัวเชื่อมขวางระหว่างสายโซ่ไคโตซาน ซึ่งได้มีการเปรียบเทียบผลของการควอเทอไนซ์ระหว่างการควอเทอไนซ์แบบเอกพันธ์และวิวิธพันธ์ โดยใช้ CH_3I เป็นสารควอเทอไนซ์ เมื่อพิจารณาค่าศักย์ซีต้าพบว่า การควอเทอไนซ์แบบวิวิธพันธ์มีศักย์ซีต้าสูงกว่า (29.3 mV) ไคโตซาน (27.1mV) และไคโตซานที่ถูกควอเทอไนซ์แบบเอกพันธ์ (23.2 mV) ซึ่งไคโตซานที่ถูกควอเทอไนซ์แบบเอกพันธ์กลับมีค่าศักย์ซีต้าต่ำกว่าไคโตซาน ที่เป็นเช่นนี้เพราะอาจจะเนื่องมาจากประจุบวกที่ถูกเพิ่มเข้าไปในขั้นตอนการควอเทอไนซ์แบบเอกพันธ์เกิดแรงดึงดูดกับประจุลบของ TPP จึงทำให้ที่พื้นผิวมีประจุบวกลดลง ซึ่งในขณะที่การควอเทอไนซ์แบบวิวิธพันธ์ไม่มีการสูญเสียประจุบวกในการเชื่อมขวางกับ TPP จึงส่งผลให้มีค่าศักย์ซีต้าสูงกว่า (Wiarachai *et al.*, 2012)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ในการสังเคราะห์เชื้อเลือกผ่าน

- 1.1 ปีกเกอร์ขนาด 150 600 และ 1000 มิลลิลิตร
- 1.2 จานเพาะเชื้อ (petri dish) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 เซนติเมตร
- 1.3 ซ้อนดักสาร
- 1.4 แท่งแก้วคน
- 1.5 แท่งแม่เหล็กกวนสาร
- 1.6 กรวยกรองบุชเนอร์
- 1.7 ฟลาสก์
- 1.8 เครื่องชั่งแบบหยาบ (ทศนิยม 2 ตำแหน่ง): PM6100, Mettler Toledo, Switzerland
- 1.9 เครื่องชั่งแบบละเอียด (ทศนิยม 5 ตำแหน่ง): XP205, Mettler Toledo, Switzerland
- 1.10 เครื่องให้ความร้อนและกวนสารละลาย (Hot Plate & Stirrer): Cimarec 2, England
- 1.11 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง: 420A, Orion, U.S.A.
- 1.12 ปีมสุญญากาศ: V700, Buchi, Switzerland
- 1.13 ชุดกวนผสมรุ่น: RW20, IKA, Germany
- 1.14 ตู้ควบคุมอุณหภูมิ: ULM 500, Memmert, Germany

2. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

- 2.1 ขั้วแพลตินัมเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.6 มิลลิเมตร
- 2.2 เส้นใยกราฟไฟต์ (graphite felt) คาร์บอนมากกว่าร้อยละ 99 (Beijing Great Wall, China)
- 2.3 เครื่องควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH controller): CPM121-P, Endress Hauser, Switzerland
- 2.4 Peristaltic pump: Midi-vaio, Ismatec, Germany

- 2.5 เครื่องวัดความหนาในระดับไมโคร (ความละเอียด 0.001 มิลลิเมตร): IP 65, Mitutoyo, U.S.A.
- 2.6 Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR): Tensor 27, Bruker, U.K.
- 2.7 เครื่องทดสอบแรงดึง (Universal Testing Machine, UTM): Model B1type, Cometech, Taiwan
- 2.8 เครื่องวัดขนาดอนุภาค (Zetasizer): Nano-ZS 90, Malvern, U.K.
- 2.9 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM): JSM-5410LV, JEOL, U.K.
- 2.10 Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS): Field Machine 871, AC Gill, U.K.
- 2.11 เครื่องเก็บข้อมูล (Data Acquisition): DAQ-1411, input voltage range: ± 1.25 V, FTezDAQ data acquisition software, Futek instruments, United States
- 2.12 เครื่องปรับค่าความต้านทาน: EU-30A, Heath company, United States

3. วัตถุดิบและสารเคมี

- 3.1 ไคโตซาน น้ำหนักโมเลกุล 500,000 กรัมต่อโมล มีระดับดีอะซิทิลเลชัน (% DD) ร้อยละ 85 (Seafresh industry public company limited, ประเทศไทย)
- 3.2 กรดซัลโฟซัลซินิก เข้มข้นร้อยละ 70 โดยน้ำหนัก (เกรด AR, Sigma Aldrich, U.S.A.)
- 3.3 กลูตาโรลอัลดีไฮด์ เข้มข้นร้อยละ 25 โดยน้ำหนัก (เกรด AR, Unilab, India)
- 3.4 กรดอะซิติก (เกรด AR, VWR international, U.K.)
- 3.5 กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นร้อยละ 37 โดยปริมาตร (เกรด AR, QREC Chemical, New Zealand)
- 3.6 3-คลอโร-2-ไฮดรอกซีโพรพิลไตรเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ เข้มข้นร้อยละ 60 โดยน้ำหนัก (เกรด AR, Sigma Aldrich, U.S.A.)
- 3.7 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (เกรด AR, Ajax finechem, Australia)
- 3.8 โซเดียมคลอไรด์ (เกรด AR, Alpha, India)
- 3.9 ไอโอดีน (เกรด AR, Fisher Scientific, U.K.)
- 3.10 ทริปโตน (เกรด LR, Himedia, India)

- 3.11 สารสกัดยีสต์ (เกรด LR, Himedia, India)
- 3.12 โซเดียมคลอไรด์ (เกรด AR, Alpha, India)
- 3.13 เต็มซัลไฟต์ (เกรดการค้า)
- 3.14 น้ำกลั่น
- 3.15 น้ำปราศจากไอออน
- 3.16 แก๊สไนโตรเจน (เกรด UHP 99.99%, Lab gas, ประเทศไทย)
- 3.17 เชื้อผสม (Mixed Culture) จากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศของโรงงานเส้นหมี่ชอเฮง จำกัด

วิธีการ

1. การสังเคราะห์เชื้อเลือกผ่าน

- 1.1 การสังเคราะห์เชื้อเลือกผ่าน โคโคซาน
 - 1.1.1 เตรียมสารละลายโคโคซานเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก ในกรดอะซิติก กวนผสมทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
 - 1.1.2 กรองแยกส่วนที่ไม่ละลายออก
 - 1.1.3 นำสารละลายโคโคซานเทใส่จานเพาะเชื้อในปริมาณ 80 กรัม แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน
 - 1.1.4 นำเชื้อเลือกผ่านโคโคซานที่แห้งแล้วมาแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 โมลาร์ เป็นเวลา 30 นาที แล้วทำการลอก
 - 1.1.5 ล้างเชื้อเลือกผ่านด้วยน้ำกลั่นจนค่าความเป็นกรด-ด่างเป็นกลาง
 - 1.1.6 เก็บเชื้อเลือกผ่านไว้ในน้ำปราศจากไอออนเพื่อนำไปใช้ต่อไป
- 1.2 การสังเคราะห์เชื้อเลือกผ่าน โคโคซานเชื่อมขวาง
 - 1.2.1 เตรียมสารละลายโคโคซานเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก ในกรดอะซิติก และกรดไฮโดรคลอริก กวนทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
 - 1.2.2 กรองแยกส่วนที่ไม่ละลายออก

- 1.2.3 นำสารละลายไคโตซานมาหยดกรดซัลฟิวริกชนิดกลึงไปในอัตราส่วน 0.1, 0.2, 0.4, 0.6 และ 0.8 โดยโมลต่อโมลเอมีน ตามลำดับ กวนทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
 - 1.2.4 เติมน้ำเกลือกลูตาโรลดีไฮด์เข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก กวนทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง
 - 1.2.5 นำสารละลายไคโตซานที่ผ่านการเชื่อมขวางมากรองแยกส่วนที่ไม่ละลายออก
 - 1.2.6 นำสารละลายไคโตซานที่ผ่านการเชื่อมขวางเท่าใส่งานเพาะเชื้อในปริมาณ 120 กรัม แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน
 - 1.2.7 นำเชื้อเลือกผ่านไคโตซานที่แห้งแล้วมาแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 โมลาร์ เป็นเวลา 30 นาที
 - 1.2.8 ล้างเชื้อเลือกผ่านด้วยน้ำกลั่นจนค่าความเป็นกรด-ด่างเป็นกลาง
 - 1.2.9 เก็บเชื้อเลือกผ่านไว้ในน้ำปราศจากไอออนเพื่อนำไปใช้ต่อไป
- 1.3 การควอเทอไนซ์เชื้อเลือกผ่านไคโตซาน
 - 1.3.1 นำสารละลายควอต-188 มาปรับ pH เท่ากับ 8 โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 15 น้ำหนักต่อปริมาตร
 - 1.3.2 ใส่ไอโอดีน (I_2) เพื่อใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา โดยใช้ในอัตราส่วน 0.25 กรัมของไอโอดีนต่อปริมาตร 20 มิลลิลิตรของควอต-188
 - 1.3.3 นำเชื้อเลือกผ่านมาแช่ลงในสารละลายควอต-188 เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง
 - 1.3.4 นำเชื้อเลือกผ่านที่ผ่านการควอเทอไนซ์เรียบร้อยแล้วมาล้างจนค่าความเป็นกรด-ด่างเป็นกลาง

2. วิเคราะห์โครงสร้างทางเคมี

นำเชื้อเลือกผ่านไคโตซานและเชื้อเลือกผ่านไคโตซานเชื่อมขวางที่ปริมาณ SSA ที่แตกต่างกันไปวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีโดยใช้เครื่อง Fourier Transform Infrared (FT-IR) รุ่น Tensor 27 ยี่ห้อ Bruker โดยทำการวิเคราะห์ในช่วงความยาวคลื่น $4000-400\text{ cm}^{-1}$

3. ทดสอบคุณสมบัติเชิงกล

นำเยื่อเลือกผ่านที่สังเคราะห์ได้ไปทำการทดสอบคุณสมบัติเชิงกลตามมาตรฐาน ASTM D882 โดยใช้เครื่องทดสอบแรงดึง รุ่น Model B1type ยี่ห้อ Comotech ที่ความเร็วการดึง 5 mm/min โดยทำการทดสอบตัวอย่างละ 5 ซ้ำ

4. ทดสอบการดูดซับน้ำ

นำเยื่อเลือกผ่านไปทำการอบแห้งแล้วนำมาเก็บไว้ในตู้ดูดความชื้น ทำการชั่งน้ำหนักแห้งของตัวอย่างจนกระทั่งน้ำหนักนิ่งแล้วทำการบันทึกน้ำหนักนั้นไว้ หลังจากนั้นนำเยื่อเลือกผ่านไปแช่น้ำที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาชั่งน้ำหนักออกด้วยกระดาษกรองแล้วชั่งน้ำหนักอย่างรวดเร็ว โดยทำการทดสอบตัวอย่างละ 7 ซ้ำ นำน้ำหนักของเยื่อเลือกผ่านแห้งและน้ำหนักหลังการดูดซับน้ำไปคำนวณหาค่าร้อยละการดูดซับน้ำ ดังสมการที่ 26

$$\text{ร้อยละการดูดซับน้ำ} = \frac{\text{น้ำหนักเปียก (}w_w\text{)} - \text{น้ำหนักแห้ง (}w_d\text{)}}{\text{น้ำหนักแห้ง (}w_d\text{)}} \times 100 \quad (26)$$

โดย W_w คือ น้ำหนักเยื่อเลือกหลังการดูดซับน้ำ (กรัม)

W_d คือ น้ำหนักเยื่อเลือกก่อนการดูดซับน้ำ (กรัม)

5. ทดสอบค่าการนำโปรตอน

ทำการตัดเยื่อเลือกผ่านเป็นรูปร่างกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ที่ถูกแช่ในน้ำปราศจากไอออนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาทดสอบหาค่าความต้านทาน (R) โดยใช้เครื่อง EIS ที่ความถี่ 3 MHz ถึง 1 Hz และค่าแอมพลิจูด 10 mV ใช้ขั้วแพลตินัมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.6 มิลลิเมตรเป็นขั้วอิเล็กโทรด หลังจากทำการหาค่าความต้านทานเรียบร้อยแล้ว นำเยื่อเลือกผ่านมาวัดความหนาด้วยไมโครมิเตอร์รุ่น IP 65 ยี่ห้อ Mitutoyo ทำการทดสอบตัวอย่างละ 7 ซ้ำ แล้วคำนวณหาค่าการนำโปรตอนดังสมการที่ 27

$$\sigma = \frac{L}{RS} \quad (27)$$

โดย σ คือ ค่าการนำโปรตอน (ซีเมนต์ต่อเซนติเมตร)

L คือ ระยะห่างระหว่างขั้วอิเล็กโทรด (ความหนาของเยื่อเลือกผ่าน) (เซนติเมตร)

R คือ ค่าความต้านทานทาน (โอห์ม)

S คือ พื้นที่หน้าตัดของเยื่อเลือกผ่าน (ตารางเซนติเมตร)

6. การวัดประจุที่พื้นผิว

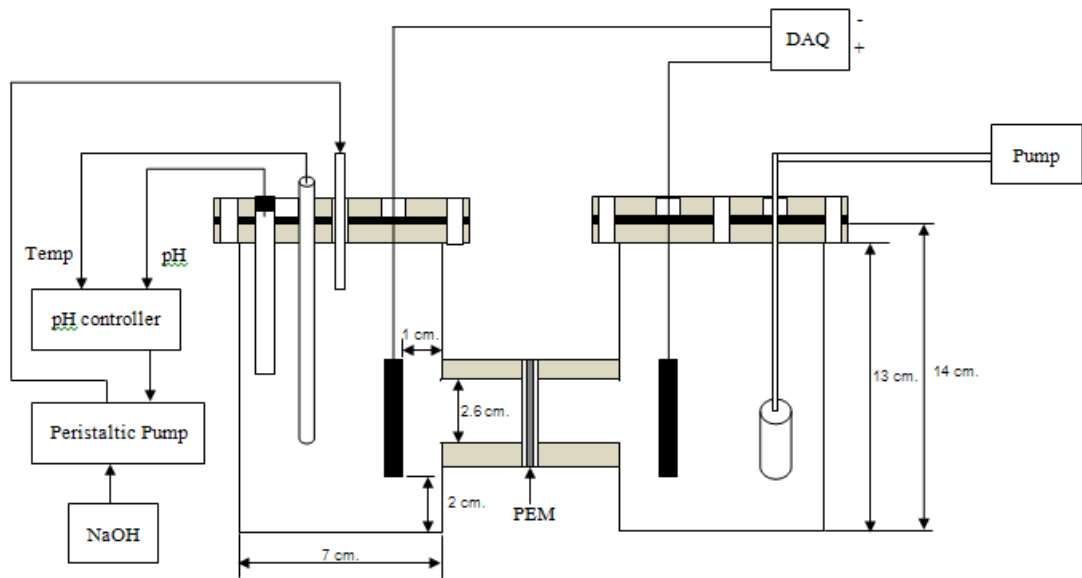
นำเยื่อเลือกผ่านที่ผ่านการควอเทอไนซ์ไปวัดประจุที่เกิดขึ้นบนพื้นผิวโดยใช้เครื่อง Zetasizer รุ่น Nano-ZS90 ยี่ห้อ Malvern

7. พิจารณาลักษณะทางกายภาพของเชื่อบนเยื่อเลือกผ่านหลังควอเทอไนซ์

นำเยื่อเลือกผ่านไคโตซานและเยื่อเลือกผ่านไคโตซานที่ผ่านการควอเทอไนซ์ด้วยเวลาที่แตกต่างกันแช่ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อผสม (mixed culture) โดยทำการบ่มเชื้อเป็นเวลา 72 ชั่วโมง แล้วนำไปส่องดูลักษณะของเชื้อที่เกาะอยู่บนเยื่อเลือกผ่าน โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope) ยี่ห้อ JEOL รุ่น JSM-5410LV

8. การทดสอบเยื่อเลือกผ่านไคโตซานกับเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ

เมื่อทำการสังเคราะห์และทดสอบคุณสมบัติต่างๆของเยื่อเลือกผ่านไคโตซานเรียบร้อยแล้ว เยื่อเลือกผ่านไคโตซานที่สภาวะเหมาะสมจะถูกนำมาทดสอบประสิทธิภาพการทำงานกับเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ โดยระบบที่ใช้ในการทดสอบจะเป็นเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพแบบห้องคู่ ดังแสดงในภาพที่ 46



ภาพที่ 46 แผนภาพเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพแบบห้องคู่ที่ใช้ในการทดสอบ

ที่มา: ญาณิสสา และ ชิตตยา (2554)

โดยแต่ละห้องจะมีปริมาตรภายในประมาณ 600 มิลลิลิตร ซึ่งตำแหน่งเชื้อเพลิงจะอยู่กึ่งกลางระหว่างห้องแอโนดและห้องแคโทด และตำแหน่งของขั้วอิเล็กโทรดมีระยะห่างกัน 70 มิลลิเมตร โดยฝั่งแอโนดจะจุ่มหัววัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH probe) และหัววัดอุณหภูมิ (Pt 100) เพื่อทำการวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายในฝั่งแอโนดซึ่งจะถูกควบคุมด้วยเครื่องควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH controller) โดยเครื่องควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างจะถูกต่อเข้ากับ peristaltic pump ซึ่งจะคอยดูดสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงไปเพื่อให้ได้ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7

โดยขั้นตอนการเตรียมอุปกรณ์เพื่อที่จะประกอบเชื้อเพลิงชีวภาพกับเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ มีดังต่อไปนี้

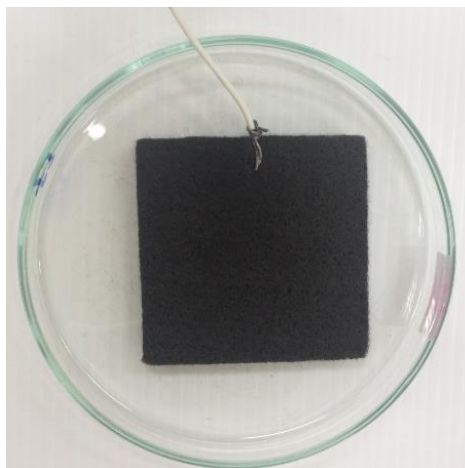
9.1 เตรียมขั้วอิเล็กโทรด เนื่องจากเส้นใยกราฟไฟต์ที่ใช้ในการทดลองนั้นอาจมีคราบไขมันหรือสิ่งสกปรกเกาะอยู่ที่ผิวหน้า ดังนั้นจึงควรทำความสะอาดเส้นใยกราฟไฟต์ก่อนนำมาใช้งาน ตามขั้นตอนของ Zhu *et al.* (2011) ดังต่อไปนี้

9.1.1 นำเส้นใยกราฟไฟต์ชนิดพอลิอะคริโลไนไตรล์ มาเขย่ากับอะซิโตนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 ชั่วโมง เพื่อทำการกำจัดคราบน้ำมันที่อาจจะติดอยู่ที่ผิวของเส้นใยกราฟไฟต์ออก

9.1.2 หลังจากนั้นนำมาต้มกับน้ำปราศจากไอออนเป็นเวลา 3 ชั่วโมง โดยการเปลี่ยนน้ำทุกๆ ครึ่งชั่วโมง เพื่อชะสารอื่นๆ จำพวกสารที่มีขี้ว และอะซิโตนที่มีคราบน้ำมันละลายอยู่ให้หลุดออกจากผิวของเส้นใยกราฟไฟต์

9.1.3 นำเส้นใยคาร์บอนที่ได้ไปอบให้แห้งในเครื่องอบที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียสเป็นเวลาข้ามคืน โดยไม่ให้มีอากาศไหลเข้ามาในเครื่องอบเพื่อป้องกันสิ่งสกปรกที่อาจจะมาเกาะที่ขี้ว

9.2 นำขี้วอิเล็กทรอนิกส์ที่ผ่านการทำความสะอาดแล้วมาตัดให้ได้ขนาด $50 \times 50 \times 3$ มิลลิเมตร แล้วนำมาชั่งน้ำหนักให้ขี้วอิเล็กทรอนิกส์แต่ละแผ่นมีน้ำหนักที่เท่ากัน หลังจากนั้นนำสายสัญญาณมาร้อยเข้ากับขี้วอิเล็กทรอนิกส์ทั้ง 2 ขี้ว ดังแสดงในภาพที่ 47

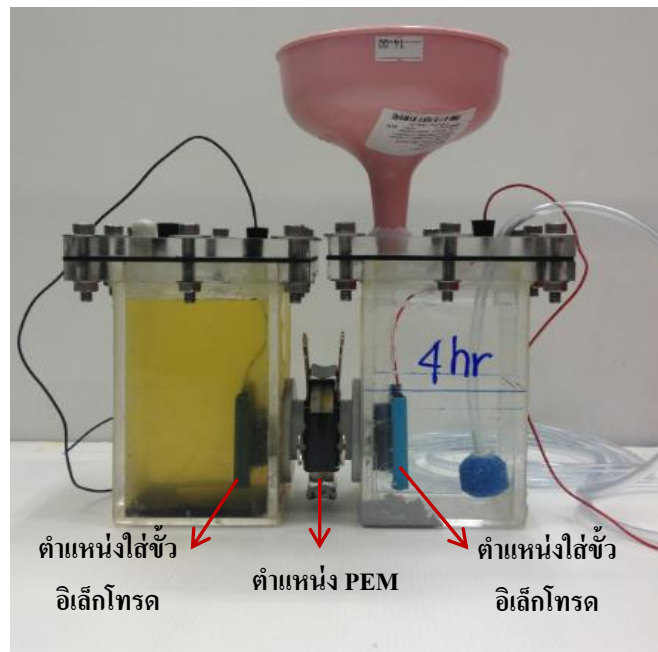


ภาพที่ 47 เส้นใยกราฟไฟต์ที่ใช้เป็นขี้วอิเล็กทรอนิกส์ในการทดลอง

9.3 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Luria Bertani Broth (LB) ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร แล้วนำไปพ่นในโตรเจนเพื่อไล่อากาศออกเป็นเวลา 30 นาที

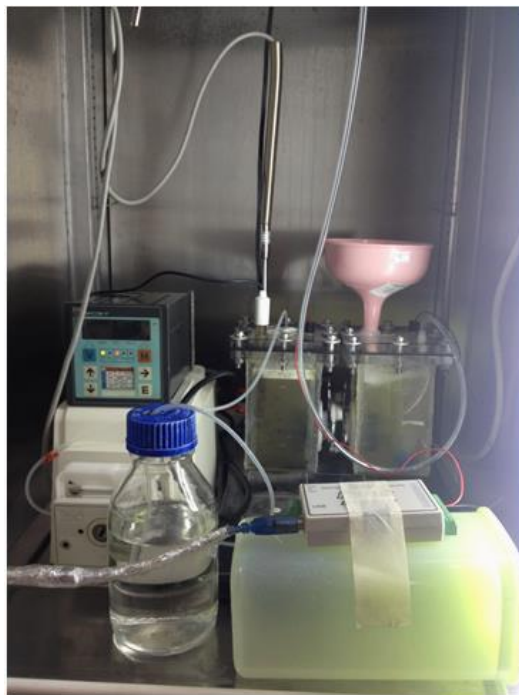
9.4 นำเชื้อเลือกผ่านมาประกอบกับเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ หลังจากนั้นนำขี้วอิเล็กทรอนิกส์ที่ร้อยสายสัญญาณเรียบร้อยแล้วสอดลงไปในห้องสำหรับขี้วอิเล็กทรอนิกส์ หลังจากนั้นนำอาหารมาเทใส่ห้องแอโนดที่มีเชื้อผสม (mixed culture) อยู่ ซึ่งเชื้อผสมมาจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศของโรงงานเส้นไหมช่อเฮง (ห้องซ้ายมือ) แล้วนำไปพ่นแก๊สไนโตรเจนเพื่อไล่อากาศออกอีก

ครึ่งเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำอาหารเลี้ยงเชื้อในฝั่งแอโนดไปวัดค่าการละลายของออกซิเจน ส่วนฝั่งแคโทดใส่หัวฟ่นอากาศแล้วนำมาเติมน้ำจนเต็ม (ห้องขวามือ) แสดงดังภาพที่ 47



ภาพที่ 48 เซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพแบบห้องคู่หลังจากประกอบเรียบร้อยแล้ว

9.5 นำเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพแบบห้องคู่เข้าตู้บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พร้อมทั้งติดตั้งระบบควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยนำหัววัดอุณหภูมิและหัววัดค่าความเป็นกรด-ด่างจุ่มลงไปในยังอาหารเลี้ยงเชื้อในฝั่งแอโนดเพื่อคอยควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างให้เท่ากับ 7 หลังจากนั้นทำการปั่นกววนเชื้อในฝั่งแอโนด แล้วทำการต่อสายสัญญาณที่ขั้วไฟฟ้าเข้ากับเครื่องเก็บข้อมูลเพื่อทำการเก็บค่าแรงดันไฟฟ้าสูงสุดที่เซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพสามารถผลิตได้ ดังแสดงในภาพที่ 48



ภาพที่ 49 ระบบของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพขณะทำการทดสอบ

9.6 เมื่อระบบสามารถผลิตแรงดันไฟฟ้าได้คงที่ จะทำการวัดค่าความต้านทานการไหลของประจุไฟฟ้า โดยใช้เครื่อง Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS) รุ่น Field Machine 871

ผลและวิจารณ์

ในงานวิจัยนี้ ได้แบ่งผลการทดลองออกเป็น 4 ส่วน คือ การสังเคราะห์เยื่อเลือกผ่านไคโตซาน ผลของการเชื่อมขวางไคโตซาน ผลของการควอเทอไนซ์ไคโตซานและผลของการทดสอบประสิทธิภาพเยื่อเลือกผ่านไคโตซานกับเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ

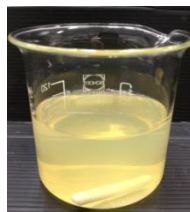
1. การสังเคราะห์เยื่อเลือกผ่านไคโตซานและไคโตซานเชื่อมขวาง

ในการสังเคราะห์เยื่อเลือกผ่านไคโตซานและไคโตซานเชื่อมขวางด้วยกรด SSA เริ่มต้นจากการศึกษาอัตราส่วนโดยโมลของ SSA ที่แตกต่างกัน ดังนี้ คือ 1 2 4 6 และ 8 โมล SSA ต่อโมลแอมีน (CS-1SSA, CS-2SSA CS-4SSA CS-6SSA และ CS-8SSA ตามลำดับ) โดยทำการเตรียมสารละลายไคโตซาน แล้วนำไปหยดด้วยกรด SSA ที่อัตราส่วนโดยโมลที่แตกต่าง ทำการผสมเป็นเวลา 24 ชั่วโมง สารละลายที่ได้ใส หลังจากนั้นนำไปขึ้นรูปเยื่อเลือกผ่านโดยการนำไปเทใส่จานเพาะเชื้อ แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เมื่อเวลาผ่านไป 3 วัน พบว่า ที่ CS-1SSA เยื่อเลือกผ่านแห้งแล้วแต่มีรอยแตกเกิดขึ้นและมีบางจุดที่เกิดสีน้ำตาลเข้ม ส่วน CS-2SSA เป็นของเหลวเหนียวสีน้ำตาลเข้ม และที่ CS-4SSA CS-6SSA และ CS-8SSA มีลักษณะเช่นเดียวกัน คือ เป็นของเหลวสีน้ำตาล ซึ่งเมื่อเวลาผ่านไป 14 วัน พบว่า สารละลายไม่แห้ง เป็นของเหลวเหนียวสีน้ำตาลเข้มเกือบดำ ดังแสดงในภาพที่ 50



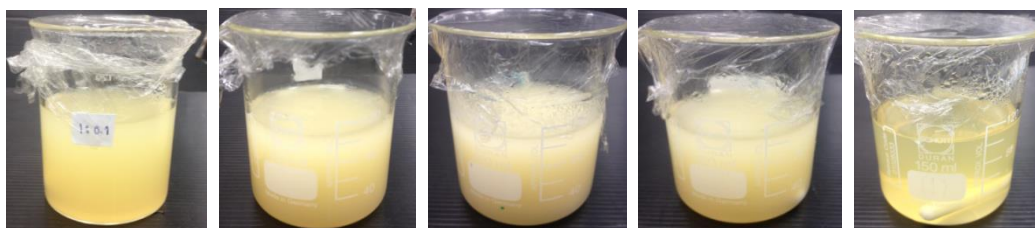
ภาพที่ 50 ลักษณะเยื่อเลือกผ่านของ CS-8SSA ที่ทำการอบแห้งที่ 60 องศาเซลเซียส เมื่อเวลาผ่านไป 14 วัน

จากปัญหาดังกล่าว จึงทำให้เกิดสมมติฐานว่าอาจเป็นเพราะปริมาณกรด SSA ที่เติมนั้นมากเกินไป จึงทำให้สารละลายไม่แห้ง ไม่สามารถขึ้นรูปได้ จึงได้ทำการลดอัตราส่วนโดยโมลของ SSA ลง โดยทำการศึกษาที่อัตราส่วนโดยโมลของ SSA ที่แตกต่างกันดังนี้ คือ 0.1 0.2 0.4 0.6 และ 0.8 โมล SSA โดยเริ่มจากการเตรียมสารละลายไคโตซานเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก โดยทำการละลายไคโตซานในสารละลายกรดอะซิติกเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดังแสดงในภาพที่ 51 (ก) แล้วนำไปหยดด้วยกรด SSA ที่อัตราส่วนโดยโมลที่แตกต่างกันทำการผสมเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะได้ลักษณะของสารละลายดังแสดงในภาพ 51 (ข) โดยให้ CS, CS-0.1SSA CS-0.2SSA CS-0.4SSA CS-0.6SSA และ CS0.8SSA คือไคโตซานและไคโตซานที่ถูกเชื่อมขวางด้วยกรด SSA ที่อัตราส่วนโดยโมลแตกต่างกัน



CS

(ก)



CS-0.1SSA

CS-0.2SSA

CS-0.4SSA

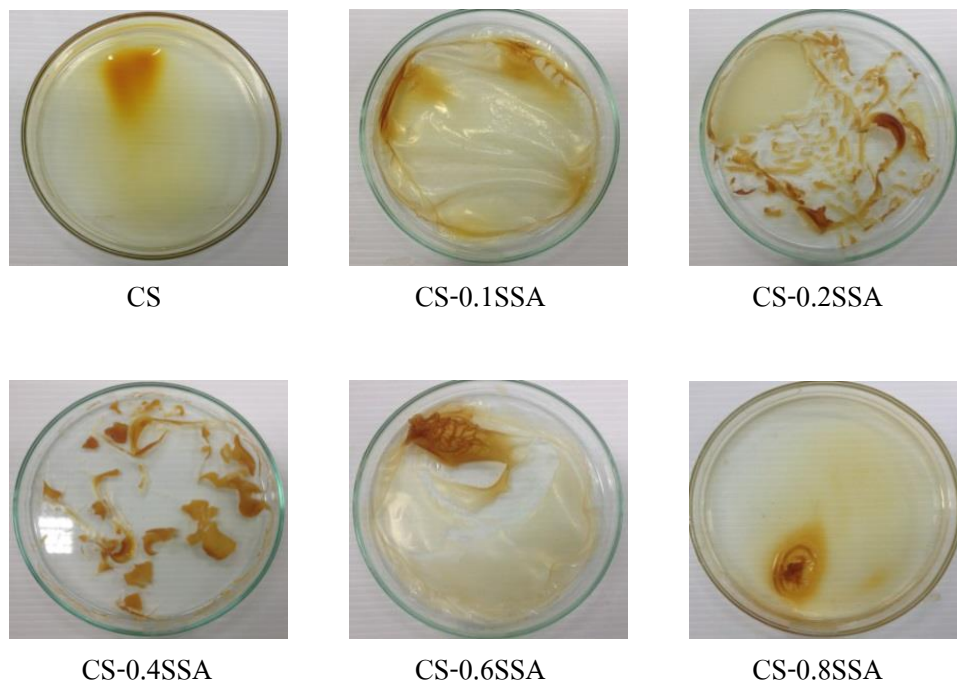
CS-0.6SSA

CS-0.8SSA

(ข)

ภาพที่ 51 สารละลายไคโตซานในกรดอะซิติก (ก) ก่อนหยด SSA และ (ข) หลังหยด SSA ที่อัตราส่วนโดยโมลแตกต่างกัน

จากภาพที่ 51 จะเห็นได้ว่าเมื่อมีการหยด SSA ลงไปแล้ว สารละลายไคโตซานจะมีสีขุ่นขึ้น โดยที่อัตราส่วน CS-0.2SSA จะเริ่มเห็นว่าสารละลายขุ่นอย่างชัดเจน และที่ CS-0.4SSA สารละลายจะขุ่นสุด พอเพิ่มเป็น CS-0.6SSA สารละลายกลับเริ่มใส แต่ก็ยังคงเห็นความขุ่นอยู่ และเมื่อเพิ่มเป็น CS-0.8SSA สารละลายกลับมาใส หลังจากนั้นได้มีการนำสารละลายไปขึ้นรูปเยื่อเลือกผ่านโดยการนำไปเทใส่จานเลี้ยงเชื้อ แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จนกระทั่งน้ำระเหยออกไปหมด ซึ่งจะได้ลักษณะเยื่อเลือกผ่านดังแสดงในภาพที่ 52



ภาพที่ 52 ลักษณะเยื่อเลือกผ่านไคโตซานและไคโตซานเชื่อมขวางที่อัตราส่วนโดยโมลของ SSA ที่แตกต่างกัน หลังอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

จากภาพที่ 52 จะพบว่าไคโตซานสามารถขึ้นรูปได้ แต่เมื่อมีการหยด SSA ลงไปในอัตราส่วน 0.1 0.2 0.4 และ 0.6 โดยโมล ไม่สามารถขึ้นรูปเยื่อเลือกผ่านได้ โดยเฉพาะในอัตราส่วน 0.4 โดยโมล ซึ่งสารละลายมีสีขุ่นมากที่สุด พอแห้งแล้วเกิดการแตกเป็นชิ้นเล็กๆ และเมื่อเพิ่ม SSA เป็น 0.8 โดยโมล สามารถขึ้นรูปได้ แต่อย่างไรก็ตาม จะเห็นได้ว่าทั้งไคโตซานและไคโตซานที่มีการเชื่อมขวางเมื่อแห้งแล้วจะมีจุดสีน้ำตาลเข้มเกิดขึ้น แม้กระทั่ง CS และ CS-0.8SSA ถึงแม้ว่าจะสามารถขึ้นรูปได้ แต่ก็พบปัญหานี้เช่นกัน ซึ่งปัญหานี้อาจเกิดเนื่องมาจากการใช้อุณหภูมิในการอบแห้งที่สูงเกินไป

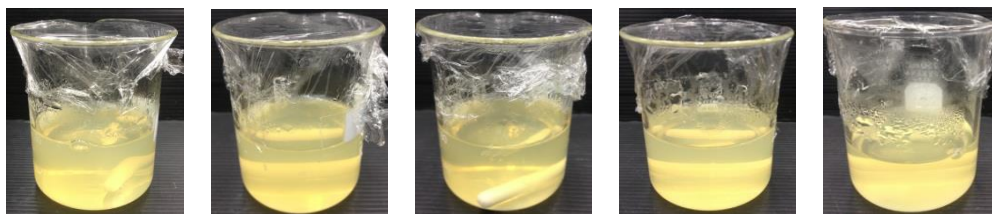
จากปัญหาที่เกิดขึ้น 2 ประการ คือ สารละลายไคโตซานที่มีการเชื่อมขวางด้วยกรด SSA ขุ่นและไม่สามารถขึ้นรูปได้ และเกิดจุดสีน้ำตาลเข้มของเยื่อเลือกผ่าน จึงนำไปสู่การแก้ปัญหาดังกล่าว จนกระทั่งพบงานวิจัยที่ใช้กรดคลอริดริก (chloridric acid) เป็นตัวทำลาย โดยได้กล่าวไว้ว่ากรดคลอริดริก (ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากกรดไฮโดรคลอริกกับกรดอะซิติค) จะช่วยการเชื่อมขวางระหว่างไคโตซานกับ SSA (Witt *et al.*, 2010) ดังนั้นในการทดลองจึงได้ลองนำกรดไฮโดรคลอริกมาหยดลงในสารละลายไคโตซานซึ่งมีสารละลายกรดอะซิติคเป็นตัวทำลาย ทำการผสมเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดังแสดงในภาพที่ 53(ก) หลังจากนั้นนำ SSA มาหยดลงในสารละลายไคโตซาน

ซึ่งก็พบว่าทุกอัตราส่วนโดยโมลของ SSA สารละลายใส ไม่ขุ่นเหมือนที่เคยเป็นมา ดังแสดงในภาพที่ 53(ข)



CS

(ก)



CS-0.1SSA

CS-0.2SSA

CS-0.4SSA

CS-0.6SSA

CS-0.8SSA

(ข)

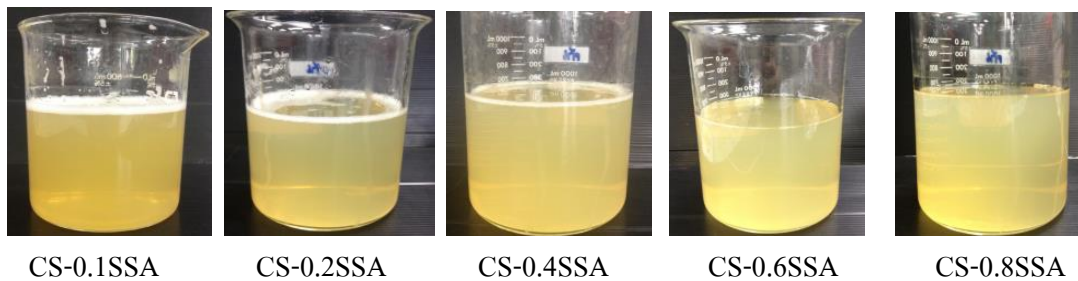
ภาพที่ 53 สารละลายไคโตซานในกรดอะซิติกและกรดไฮโดรคลอริก (ก) ก่อนหยด SSA และ (ข) หลังหยด SSA ที่อัตราส่วนโดยโมลแตกต่างกัน

หลังจากนั้นได้นำสารละลายไคโตซานที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยกรด SSA มาเติมสารเชื่อมขวาง GA ในปริมาณร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก พบว่าสารละลายกลายเป็นเจล และมีของแข็งเป็นเม็ดเล็กๆสีน้ำตาลแดงเกิดขึ้น ดังแสดงในภาพที่ 54 จึงตั้งสมมติฐานว่าสารละลายอาจจะมีความเข้มข้นเกินไปจึงทำให้เมื่อมีการเติมลงไปแล้วสารละลาย GA ไม่ละลายในสารละลายไคโตซาน



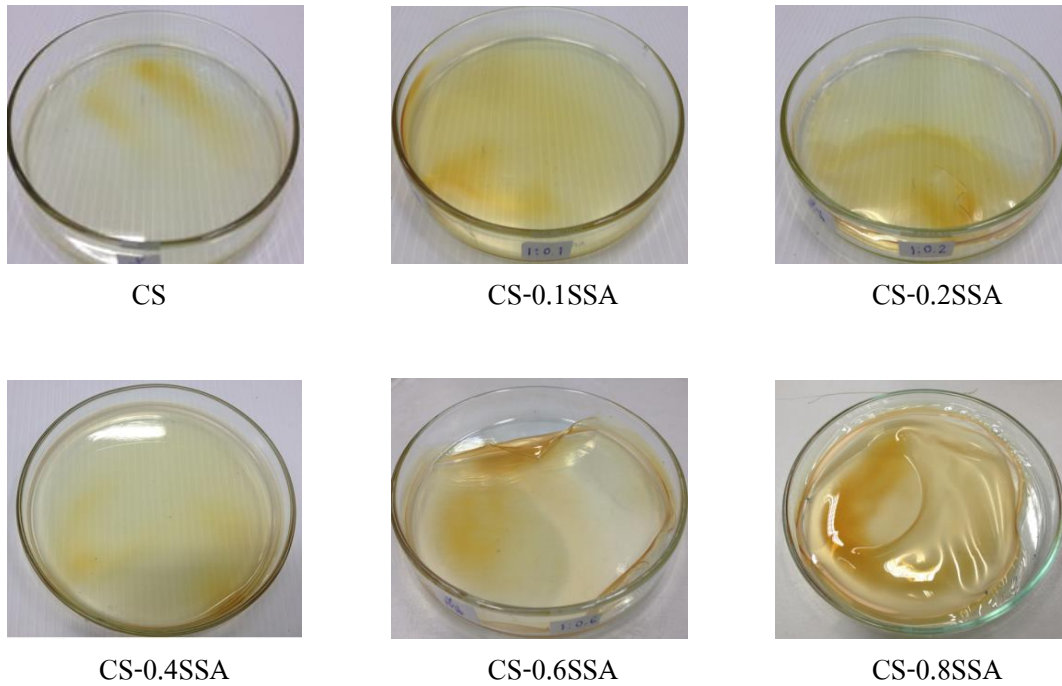
ภาพที่ 54 ลักษณะสารละลายโคโตซานหลังเติมสารละลาย GA

จากปัญหาที่เกิดขึ้น จึงได้ทำการแก้ปัญหาด้วยการนำสารละลาย GA ไปเจือจางในน้ำก่อน แล้วค่อยนำมาเติมลงในสารละลายโคโตซานเชื่อมขวาง โดยปริมาณน้ำที่ใช้ในการเจือจาง คือ 1:1 ของปริมาณสารละลายโคโตซาน สิ่งที่สังเกตได้หลังจากการเติม พบว่าสารละลายไม่หนืดและไม่มีเม็ดสีน้ำตาลแดงเกิดขึ้น และเมื่อทำการผสมเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะได้สารละลายดังภาพที่ 55



ภาพที่ 55 สารละลายโคโตซานที่อัตราส่วนโดยโมล SSA แตกต่างกันหลังเติมสารละลาย GA

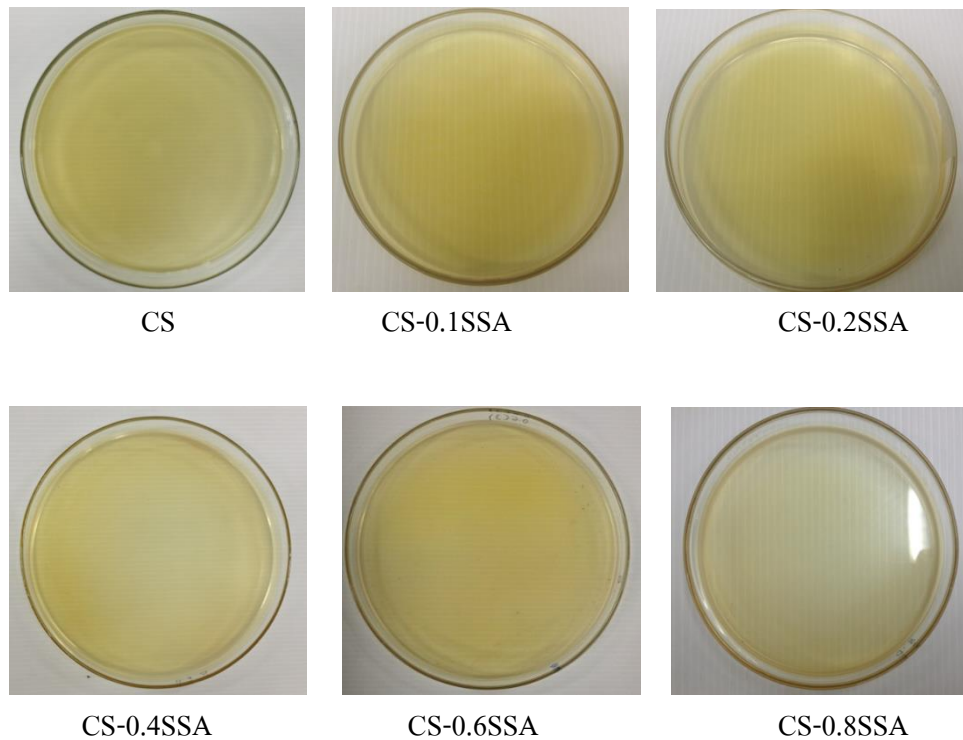
หลังจากนั้นนำสารละลายโคโตซานและสารละลายโคโตซานที่ถูกเชื่อมขวางด้วย SSA และ GA ไปขึ้นรูป โดยทำการลดอุณหภูมิในการอบแห้งจากเดิม 60 องศาเซลเซียสเป็น 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน ซึ่งจะได้ลักษณะเยื่อเลือกผ่านดังแสดงในภาพที่ 56



ภาพที่ 56 ลักษณะเยื่อเลือกผ่านไคโตซานและไคโตซานเชื่อมขวางที่อัตราส่วนโดยโมลของ SSA ที่แตกต่างกัน หลังอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

จากภาพที่ 56 พบได้ว่า สามารถขึ้นรูปเยื่อเลือกผ่านได้ทั้งหมด แต่ยังคงมีปัญหาเรื่องความไม่สม่ำเสมอของสีและเนื้อสัมผัสของเยื่อเลือกผ่าน ถึงแม้จะมีการลดอุณหภูมิในการอบแห้งแล้วก็ตาม จึงทำให้เกิดสมมติฐานว่าอาจเป็นเพราะลมในตู้อบพัดมาสัมผัสกับสารละลายในแต่ละจุดไม่เท่ากัน จึงทำให้อัตราการระเหยของน้ำไม่เท่ากัน ส่งผลให้เกิดการแห้งไม่พร้อมกัน เนื้อสัมผัสของเยื่อเลือกผ่านจึงไม่มีความสม่ำเสมอ อีกทั้งระดับของสารละลายในงานเพาะเชื้ออาจจะไม่เท่ากัน จึงทำให้บริเวณที่หนากว่าเกิดสีเข้ม

จากปัญหาดังกล่าว จึงได้ทำการปรับระดับในการวางงานเพาะเชื้อเพื่อให้ระดับสารละลายเท่ากัน และทำการอบแห้งในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยไม่มีลมเป่า โดยใช้ระยะเวลา 12 วัน ซึ่งพบว่าเยื่อเลือกผ่านมีความสม่ำเสมอทั้งสีและเนื้อสัมผัส และความหนาที่วัดได้อยู่ในช่วง 120-220 ไมครอน ดังแสดงในภาพที่ 57



ภาพที่ 57 ลักษณะเชื้อเลือกผ่านไคโตซานและไคโตซานเชื่อมขวางที่อัตราส่วนโดยโมลของ SSA ที่แตกต่างกัน หลังอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสและไม่มีลมเป่า

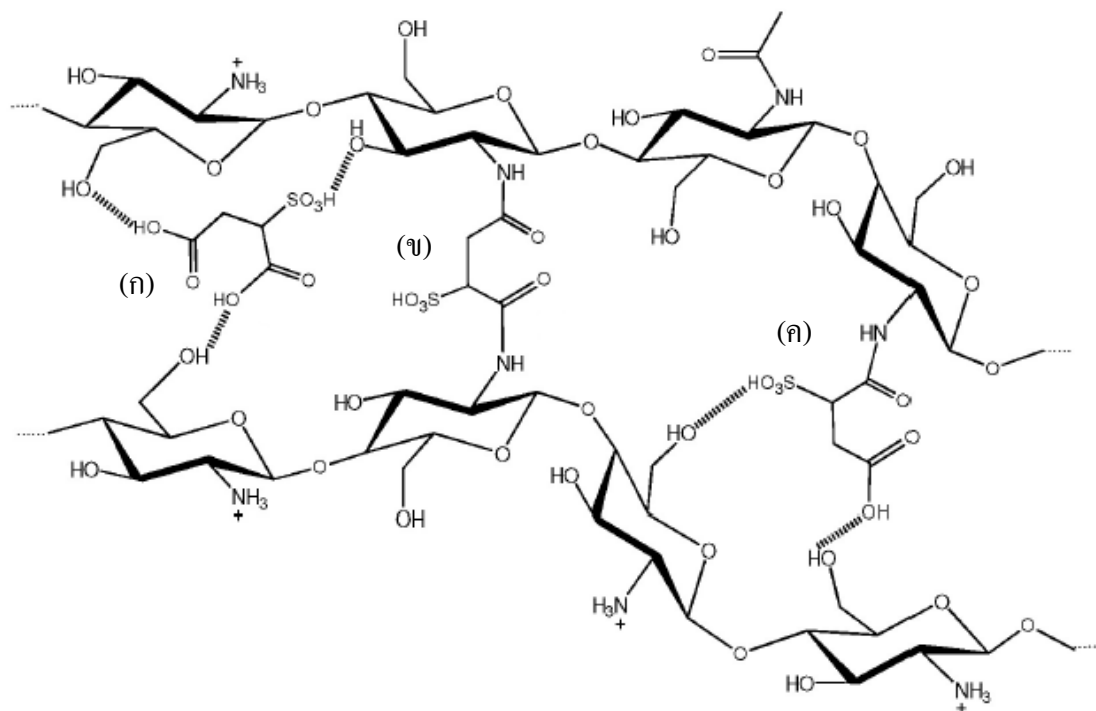
จากการทดลองทั้งหมดที่ได้กล่าวมา จึงทำให้ได้ข้อสรุปในการสังเคราะห์เชื้อเลือกผ่านไคโตซานและไคโตซานเชื่อมขวาง คือต้องใช้กรดไฮโดรคลอริกเป็นตัวช่วยในการเชื่อมขวางระหว่างไคโตซานกับ SSA ในขณะที่สารละลาย GA ต้องทำการเจือจางก่อนที่จะถูกนำไปใช้ในการเชื่อมขวางและ อุณหภูมิที่ใช้ในการอบแห้ง คือ 40 องศาเซลเซียสและไม่มีลมเป่า หลังจากขึ้นรูปเชื้อเลือกผ่านได้เรียบร้อยแล้วก็จะนำไปทดสอบคุณสมบัติต่างๆ โดยทำการเปรียบเทียบเชื้อเลือกผ่านไคโตซานและเชื้อเลือกผ่านไคโตซานที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยอัตราส่วน โดยโมลของ SSA ที่แตกต่างกัน

2. ผลของการเชื่อมขวางไคโตซาน

ผลของการเชื่อมขวางไคโตซานจะทำการศึกษาโครงสร้างทางเคมี คุณสมบัติเชิงกล การดูดซับน้ำ ความสามารถในการแลกเปลี่ยนประจุ และค่าการนำโปรตอนของเชื้อเลือกผ่านไคโตซานและไคโตซานที่ผ่านการเชื่อมขวางแล้ว ซึ่งผลการทดลองแสดงดังต่อไปนี้

2.1 การศึกษาโครงสร้างทางเคมีของไคโตซานและไคโตซานเชื่อมขวางโดยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR)

จากที่ได้กล่าวถึงงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการเชื่อมขวางของไคโตซาน จะพบได้ว่าการเชื่อมขวางระหว่างไคโตซานกับสารเชื่อมขวาง SSA ได้ถูกตั้งสมมติฐานว่าสามารถเกิดการเชื่อมกันได้หลายแบบ จากงานวิจัยของ Witt *et al.*, 2010 ได้ตั้งสมมติฐานว่าไคโตซานกับ SSA อาจเกิดการเชื่อมขวางกันได้ 3 แบบ ดังแสดงในภาพที่ 58 โดยแบบ (ก) เกิดการเชื่อมขวางด้วยพันธะไฮโดรเจน ขณะที่แบบ (ข) เกิดการเชื่อมขวางด้วยพันธะโควาเลนต์ และแบบ (ค) เกิดการเชื่อมขวางด้วยพันธะไฮโดรเจนและโควาเลนต์ โดยการเกิดแบบ (ข) จะสามารถเพิ่มความสามารถในการนำโปรตอนให้กับเชื้อเลือกผ่านไคโตซานได้ดี เนื่องจากหมู่ SO_3H ถูกปล่อยอิสระ ซึ่งจะเป็นตัวส่งผ่านให้โปรตอนเกิดการเคลื่อนที่ได้ดีขึ้น

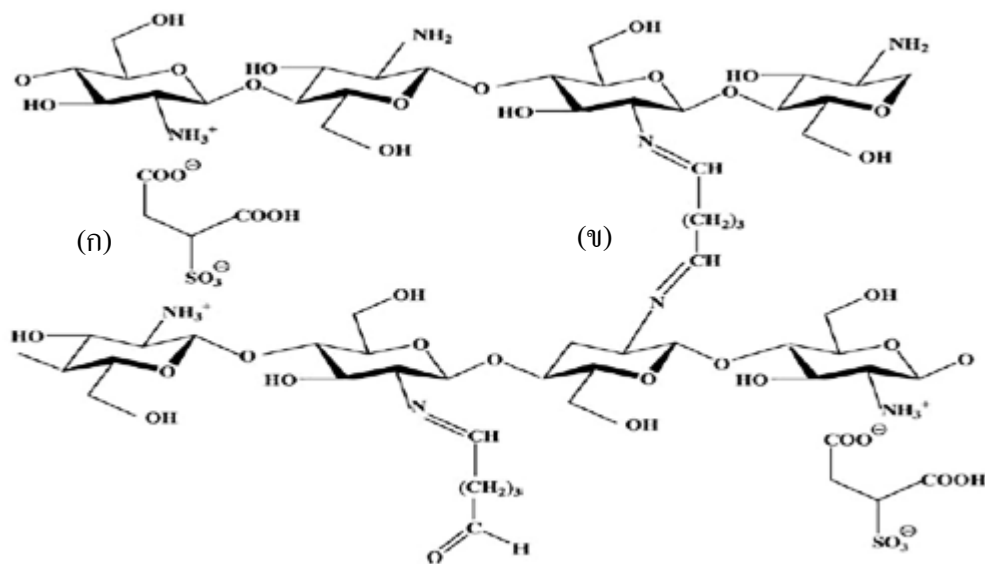


ภาพที่ 58 โครงสร้างที่เป็นไปได้สำหรับการเชื่อมขวางระหว่างไคโตซานกับ SSA

ที่มา: Witt *et al.* (2010)

นอกจากโครงสร้างที่ได้กล่าวไปข้างต้นแล้ว ยังพบว่าไคโตซานกับ SSA ถูกตั้งสมมติฐานว่าเกิดการเชื่อมขวางกันด้วยแรงดึงดูดระหว่างประจุลบของ SSA กับ ประจุบวกของไคโตซาน (NH_3^+) โดยประจุลบของ SSA อาจมาจาก COO^- หรือ SO_3^- ดังแสดงในภาพที่ 59(ก)

ส่วนการเชื่อมขวางของไคโตซานกับ GA จะเกิดการเชื่อมขวางกันด้วยพันธะโควาเลนต์ โดยหมู่อัลดีไฮด์ของ GA จะทำปฏิกิริยากับหมู่เอมีนของไคโตซาน เกิดเป็นพันธะอิมิน ($\text{C}=\text{N}$) ดังแสดงในภาพที่ 59(ข)

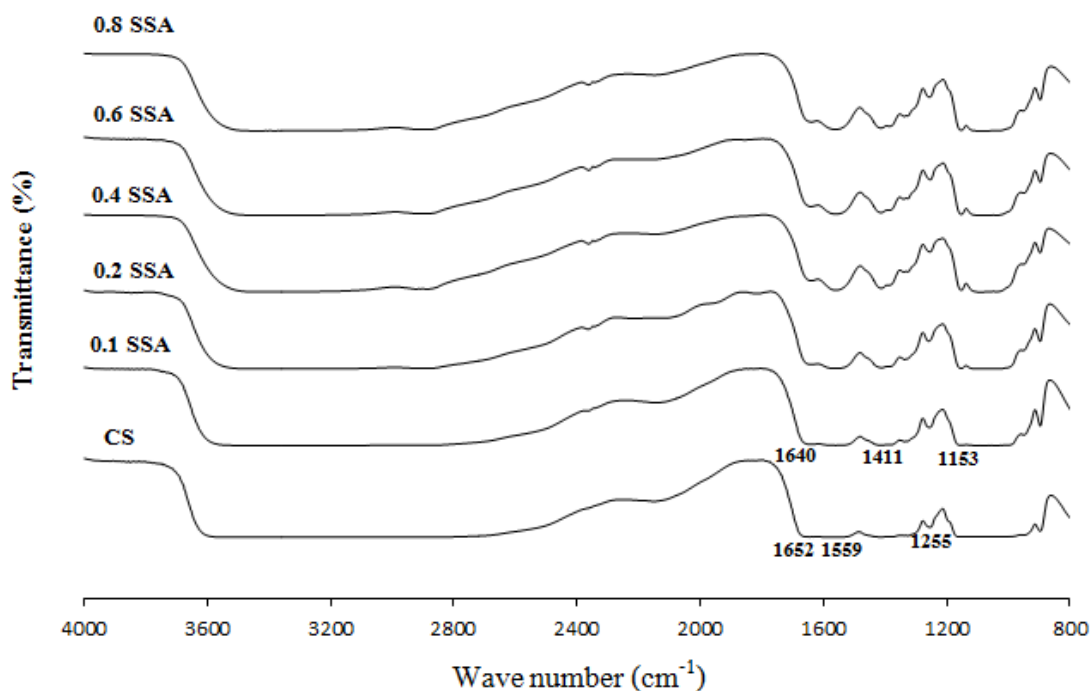


ภาพที่ 59 โครงสร้างการเชื่อมขวางระหว่างไคโตซานกับ (ก) SSA ด้วยพันธะไอออนิก (ข) GA

ที่มา: Dashtimoghadam *et al.* (2009)

ซึ่งเทคนิค FT-IR เป็นการวิเคราะห์การสั่นพันธะของโมเลกุล ซึ่งการสั่นจะเกิดจากการดูดกลืนพลังงานที่เป็นค่าเฉพาะของพันธะนั้นๆ ซึ่งมักอยู่ในช่วงคลื่นอินฟราเรด แต่เนื่องจากในโมเลกุลหนึ่งๆ มีพันธะได้หลายแบบ และพันธะแต่ละพันธะก็มีรูปแบบการสั่นได้อีกหลายแบบ จึงทำให้โมเลกุลหนึ่งๆ จะแสดงการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดได้หลายช่วงคลื่นพร้อมๆ กัน ลักษณะการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดจะเป็นแถบ (band) หรือพีก (peak) แสดงถึงค่าปริมาณรังสีอินฟราเรดที่ถูกดูดกลืนในรูปแบบ % transmittance ซึ่งหมายถึงปริมาณรังสีที่สามารถทะลุผ่านตัวอย่างออกไปได้เทียบกับเลขคลื่นซึ่งมักอยู่ในช่วง $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$ กราฟที่ได้จะเรียกว่า อินฟราเรดสเปกตรัม ดังนั้นจึงสามารถนำมาวิเคราะห์เพื่อเป็นยืนยันในการเชื่อมขวางระหว่างไคโตซานกับสารเชื่อมขวางทั้ง

SSA และ GA ได้ กราฟ FT-IR ของไคโตซานและไคโตซานเชื่อมขวางที่อัตราส่วนโดยโมลของ SSA ที่แตกต่างกัน แสดงดังภาพที่ 60



ภาพที่ 60 FT-IR สเปกตรัมของเยื่อเลือกผ่านไคโตซาน (CS) และไคโตซานเชื่อมขวางที่อัตราส่วนโดยโมลของ SSA ต่างกัน (CS-0.1SSA CS-0.2SSA CS-0.4SSA CS-0.6SSA และ 0.8SSA)

จากภาพที่ 60 กราฟ FT-IR ของไคโตซาน มีพีคเกิดขึ้นดังต่อไปนี้ คือพีคที่ตำแหน่ง 1559 ซึ่งแสดงถึงหมู่ NH_3^+ ที่เกิดจากการถูกให้โปรตอนที่หมู่ NH_2 โดยพันธะจะเกิดการสั่นในช่วงหมายเลขคลื่น 1550-1625 cm^{-1} และพีคที่ตำแหน่ง 1652 cm^{-1} แสดงถึงหมู่เอไมด์ I (C=O) ซึ่งจะเกิดการสั่นในช่วงหมายเลขคลื่น 1630-1695 cm^{-1} (Wang *et al.*, 2004) ซึ่งหมู่เอไมด์เกิดจากการดึงเอาหมู่อะซิติก (deacetylation) ของโครงสร้างไคตินออกไม่หมด ขณะที่การเกิดพีคที่ตำแหน่ง 1255 แสดงการสั่นของพันธะ C-H ในหมู่ CH_3 ของไคโตซาน (Dashtioghdam *et al.*, 2010)

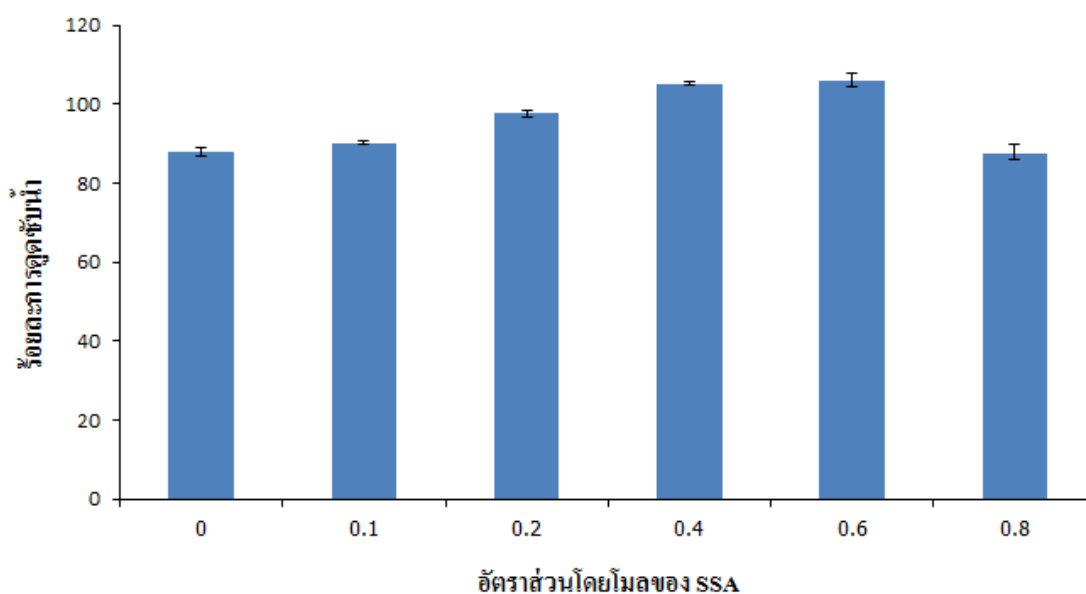
เมื่อพิจารณากราฟ FT-IR หลังเชื่อมขวางไคโตซานด้วย SSA และ GA พบว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงของพีค ดังต่อไปนี้ คือ เกิดพีคตำแหน่ง 1153 ซึ่งแสดงถึงการปรากฏขึ้นของ O=S=O ของกลุ่ม SO_3 ซึ่งจะเกิดการสั่นในช่วง 1120-1190 (Stuart 2004 และ Meenakshi *et al.*, 2012) พิจารณากราฟ จะเห็นได้ว่า พีคถี่ขึ้นตามปริมาณ SSA ที่เพิ่มขึ้น ซึ่งสามารถกล่าวได้ว่ามี SSA อยู่ในเยื่อเลือกผ่านเพิ่มขึ้น โดยจะเห็นได้ชัดเจนช่วงแรกจนกระทั่งถึง CS-0.4SSA และเมื่อเพิ่ม SSA

เป็น CS-0.6SSA และ CS-0.8SSA พีคที่เล็กขึ้นเล็กน้อย อีกทั้งพีคที่ตำแหน่ง 1640 มีความเด่นชัดขึ้นมา ซึ่งเกิดจากการสั่นของพันธะ 2 ประเภทคือ พันธะ C=O ของหมู่เอไมด์ (O=CR-NH) ซึ่งนอกจากจะมาจากโครงสร้างของไคตินแล้ว ยังสามารถพิจารณาได้ว่าเกิดจากการเชื่อมขวางระหว่างไคโตซานกับ SSA ที่ตำแหน่ง NH₂ ดังแสดงในภาพที่ 56 (ข) และการสั่นของพันธะอิมิน (C=N) ที่เกิดจากการเชื่อมขวางกันระหว่างหมู่ NH₂ ของไคโตซานกับ -CHO ของ GA ซึ่งจะเกิดการสั่นในช่วง 1640-1690 cm⁻¹ (Wang et al., 2004 และ Pierog and Ostrowska-Czubenko 2010) และจากกราฟ FT-IR จะสังเกตได้ว่าเมื่ออัตราส่วนโดยโมลของ SSA เพิ่มขึ้น การปรากฏขึ้นของพีคที่ตำแหน่ง 1640 จะยิ่งมีความเด่นชัดมากขึ้น ที่เป็นเช่นนี้เพราะอาจเกิดจากสมมติฐาน 2 ประการ ดังต่อไปนี้ ประการแรกคือ เมื่อมีการเติม SSA มากขึ้น โอกาสในการเข้าทำปฏิกิริยาที่ตำแหน่ง NH₂ เพื่อการเชื่อมขวางย่อมเพิ่มมากขึ้น ในขณะที่ปริมาณการใช้งานของ GA นั้นคงที่ ดังนั้นปริมาณในการเกิดพันธะของ อิมินก็ควรที่จะเท่ากัน กล่าวคือ การเข้าทำปฏิกิริยาของ SSA ไม่ส่งผลต่อการเข้าทำปฏิกิริยาของ GA แต่อย่างไรก็ตาม ก็อาจมีความเป็นไปได้ที่จะเกิดแบบประการที่สอง คือ การเข้าทำปฏิกิริยาของ SSA ส่งผลต่อการเข้าทำปฏิกิริยาของ GA ด้วย กล่าวคือ โอกาสในการเข้าทำปฏิกิริยาของ SSA ที่เพิ่มขึ้นตามปริมาณของ SSA นั้น อาจจะทำให้หมู่เอมีนที่ว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยานั้นเหลือน้อยลง จึงทำให้เมื่อมีการเติม GA ลงไปแล้ว GA มีโอกาสในการเกิดปฏิกิริยาน้อยลง แต่อย่างไรก็ตาม การที่พีคมีแนวโน้มสูงขึ้นตามปริมาณการเพิ่มขึ้นของ SSA ก็แสดงได้ว่า โอกาสในการเกิดพันธะเอไมด์มีมากกว่าการลดลงของการสร้างพันธะอิมินของ GA นอกจากนี้ยังพบอีกว่าพีคที่ตำแหน่ง 1411 ซึ่งแสดงถึงการสั่นของพันธะ C-O-H ในหมู่คาร์บอกซิลิก ซึ่งสั่นในช่วง 1395-1440 (Silverstein *et al.*, 2005) จึงอาจกล่าวได้ว่าเกิดการเชื่อมขวางระหว่างไคโตซานกับ SSA แบบภาพที่ 58(ก) 58(ค) และ 59(ก) อีกทั้งพีคที่ตำแหน่ง 1559 มีความเด่นชัดขึ้นมาเช่นกัน ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าเกิดจากการดึงดูดกันระหว่าง NH₃⁺ ของไคโตซานกับ COO⁻ หรือ SO₃⁻ ของ SSA โดยความลึกของพีคก็มีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นตามปริมาณ SSA เช่นกัน

จากข้อมูลดังกล่าวจึงยืนยันได้ว่าไคโตซานเกิดการเชื่อมขวางกับ GA และมีความเป็นไปได้ว่าไคโตซานอาจเกิดการเชื่อมขวางกับ SSA ได้ทั้งแบบภาพ 58 และ 59

2.2 ผลการทดสอบคุณสมบัติการดูดซับน้ำ

ความสามารถในการดูดซับน้ำที่ดีเป็นคุณสมบัติหนึ่งของเยื่อเลือกผ่านโปรตอน เนื่องจากการเคลื่อนที่ของโปรตอนต้องอาศัยน้ำเป็นตัวกลาง ซึ่งถ้าเยื่อเลือกผ่านมีความสามารถในการดูดซับน้ำสูง ก็จะมีแนวโน้มที่โปรตอนจะเกิดการเคลื่อนที่ได้ดี ซึ่งผลการทดสอบคุณสมบัติการดูดซับน้ำของเยื่อเลือกผ่านไคโตซานและไคโตซานเชื่อมขวาง แสดงดังภาพที่ 61 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าร้อยละการดูดซับน้ำกับอัตราส่วนโดยโมลของ SSA



ภาพที่ 61 ร้อยละการดูดซับน้ำของเยื่อเลือกผ่านไคโตซานและไคโตซานเชื่อมขวางที่อัตราส่วนโดยโมลของ SSA ต่างกัน

จากภาพที่ 61 พบว่า เมื่อปริมาณ SSA เพิ่มขึ้น ค่าร้อยละการดูดซับน้ำเพิ่มขึ้น โดยปริมาณ SSA ที่ 0.6 โมล จะทำให้เยื่อเลือกผ่านมีการดูดซับน้ำมากที่สุด คือ ร้อยละ 106 เนื่องจากการมีปริมาณที่เพิ่มขึ้นของหมู่ SO_3H ซึ่งเป็นกลุ่มที่ชอบน้ำ จึงทำให้เยื่อเลือกผ่านดูดซับน้ำได้มาก แต่อย่างไรก็ตามเมื่อปริมาณ SSA เพิ่มขึ้นอีก กลับพบว่า เยื่อเลือกผ่านมีค่าร้อยละการดูดซับน้ำลดลง ซึ่งอาจเป็นเพราะถึงแม้ว่าการเพิ่มขึ้นของ SSA เป็นการเพิ่มขึ้นของ SO_3H แต่อย่างไรก็ตามก็จะส่งผลให้เกิดการเชื่อมขวางระหว่างสายโซ่เพิ่มขึ้นมากด้วย จึงทำให้สายโซ่มีความอัดแน่นกันมากขึ้น อีกทั้งหมู่ SO_3H ที่เพิ่มขึ้นอาจจะเป็นกลุ่มที่ถูกเชื่อมกับไคโตซาน ซึ่งไม่ได้ถูกปล่อยอิสระที่จะทำให้สามารถสร้างพันธะกับโมเลกุลของน้ำได้ จึงส่งผลให้เยื่อเลือกผ่านมีความสามารถในการดูดซับน้ำลดลง

2.3 ผลการทดสอบคุณสมบัติเชิงกล

เนื่องด้วยหน้าที่ของสารเชื่อมขวาง SSA นอกจากจะเป็นการเพิ่มความแข็งแรงให้กับเยื่อเลือกผ่านไคโตซานแล้ว อีกทั้งยังเป็นการเพิ่มคุณสมบัติการชอบน้ำให้กับเยื่อเลือกผ่านไคโตซานอีกด้วย ซึ่งถ้าเยื่อเลือกผ่านมีความสามารถในการดูดซับน้ำมากเกินไป ก็จะส่งผลทำให้ความแข็งแรงลดลง ดังนั้น จึงได้มีการทดสอบคุณสมบัติเชิงกลของเยื่อเลือกผ่านที่อัตราส่วนโดยโมลของ SSA ที่แตกต่างกัน ดังตารางที่ 2

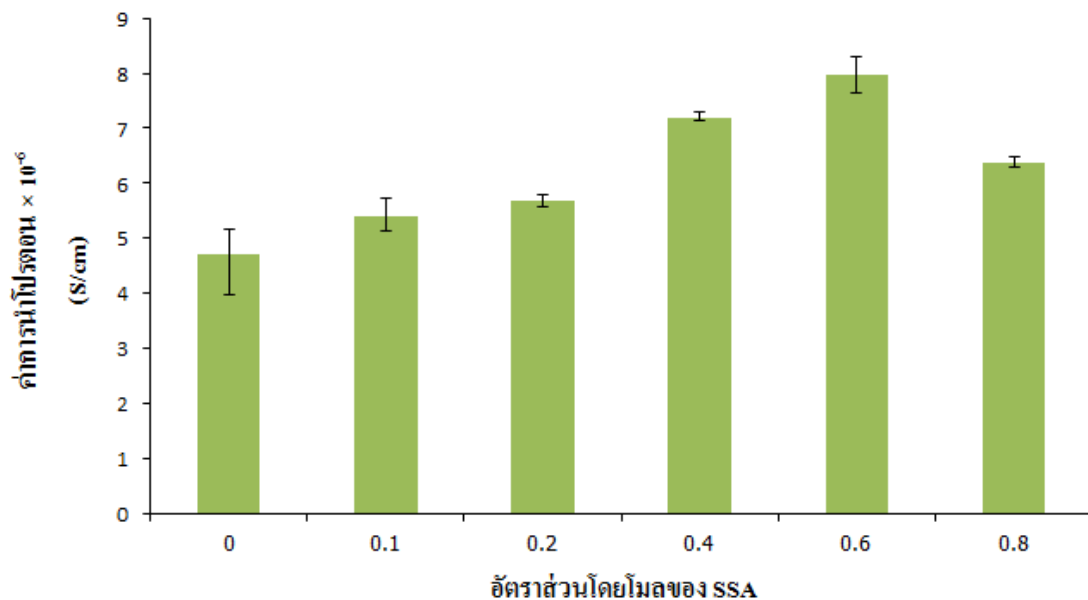
ตารางที่ 2 คุณสมบัติเชิงกลของเยื่อเลือกผ่านไคโตซานและไคโตซานเชื่อมขวางที่อัตราส่วนโดยโมลของ SSA แตกต่างกัน

อัตราส่วนโดยโมล ของ SSA	แรงดึงสูงสุด (MPa)	ร้อยละการยืดตัว (%)	ค่ายังมอดูลัส (MPa)
0	10.570	75.437	5.170
0.1	6.824	43.700	7.455
0.2	2.513	15.203	6.876
0.4	2.829	21.300	4.190
0.6	6.698	60.010	4.273
0.8	3.645	58.057	3.486

จากตารางที่ 2 พบว่า เมื่อมีการเติม SSA ทำให้เยื่อเลือกผ่านไคโตซานมีความแข็งแรงลดลง โดยพิจารณาจากความสามารถในการทนแรงดึงสูงสุดนั้นมีค่าลดลงเมื่อมีการเติม SSA จนกระทั่งถึง 0.2 โมล เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของหมู่ SO_3H ซึ่งเป็นหมู่ชอบน้ำ จึงทำให้เยื่อเลือกผ่านนั้นเกิดการดูดซับน้ำได้เพิ่มขึ้น จึงส่งผลให้เยื่อเลือกผ่านทนแรงดึงสูงสุดได้ลดลง และเมื่อมีการเพิ่มเกินกว่าจุดนั้นพบว่าเยื่อเลือกผ่านสามารถทนแรงดึงสูงสุดได้เพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นผลของการเพิ่มขึ้นของปริมาณการเชื่อมขวางที่ส่งผลให้สายโซ่ไคโตซานนั้นมีความอัดแน่นกันมากขึ้นจึงทำให้เยื่อเลือกผ่านมีความแข็งแรงมากขึ้น แต่เมื่อมีการเติม SSA 0.8 โมล พบว่าค่าแรงดึงสูงสุดกลับมีค่าลดลง ซึ่งอาจจะเป็นอิทธิพลของการเพิ่มขึ้นของหมู่ SO_3H ที่จะทำให้เยื่อเลือกผ่านนั้นดูดซับน้ำได้มากขึ้นจึงทำให้ความแข็งแรงลดลง อีกทั้งอาจจะเนื่องมาจากหมู่ SO_3H ที่เพิ่มขึ้นไม่ได้ถูกปล่อยอิสระ แต่จะถูกเชื่อมขวางแบบภาพที่ 58(ก) 58(ค) และ 59(ก) ซึ่งอาจจะไม่แข็งแรงเท่ากับการสร้างพันธะแบบโควาเลนต์ ดังแสดงในภาพที่ 58(ข) จึงส่งผลให้เยื่อเลือกผ่านมีความแข็งแรงน้อยลงนั่นเอง

2.4 ผลการทดสอบการนำโปรตอน

ความสามารถในการนำโปรตอนเป็นคุณสมบัติที่สำคัญที่สุดสำหรับเยื่อเลือกผ่านโปรตอน โดยหมู่ SO_3H ของ SSA นอกจากจะทำให้เยื่อเลือกผ่านนั้นสามารถดูดซับน้ำได้เพิ่มขึ้น ซึ่งจะเป็นการเพิ่มการเคลื่อนที่ของโปรตอนได้มากขึ้นแล้ว อีกทั้งหมู่ SO_3H ทำหน้าที่เป็นตัวนำพาโปรตอน ซึ่งจะเป็นการเพิ่มโอกาสทำให้โปรตอนเคลื่อนที่ได้ดีขึ้นอีกด้วย ผลการทดสอบการนำโปรตอนของเยื่อเลือกผ่านที่อัตราส่วนโดยโมลของ SSA ที่แตกต่างกัน แสดงดังภาพที่ 62



ภาพที่ 62 ค่าการนำโปรตอนของเยื่อเลือกผ่านไคโตซานและไคโตซานเชื่อมขวางที่อัตราส่วนโดยโมลของ SSA แตกต่างกัน

จากผลทดสอบการนำโปรตอนพบว่า เยื่อเลือกผ่านไคโตซานมีค่าการนำโปรตอน 4.72×10^{-6} S/cm เมื่อมีการเติม SSA ลงไป ทำให้เยื่อเลือกผ่านไคโตซานมีความสามารถในการนำโปรตอนได้ดีขึ้น พิจารณาได้จากค่าการนำโปรตอนที่เพิ่มขึ้น โดยที่ SSA 0.6 โมล เยื่อเลือกผ่านไคโตซานมีค่าการนำโปรตอนสูงสุด คือ 7.84×10^{-6} S/cm และเมื่อปริมาณ SSA เพิ่มขึ้นเป็น 0.8 โมล กลับพบว่าค่าการนำโปรตอนลดลง ซึ่งผลก็มีความสอดคล้องกับผลการทดสอบการดูดซับน้ำ ที่อาจเป็นไปได้ว่าหมู่ SO_3H ที่เพิ่มขึ้นไม่ได้ถูกปล่อยอิสระ ซึ่งหมู่ SO_3H จะไปเกิดการเชื่อมขวาง จึงทำให้ตำแหน่งในการเคลื่อนที่ของโปรตอนลดลง

จากผลการทดสอบคุณสมบัติเยื่อเลือกผ่านไคโตซานที่เชื่อมขวางด้วย SSA ในปริมาณที่แตกต่างกัน จะได้ข้อสรุปสำหรับงานวิจัยนี้ว่า ถึงแม้ว่าเยื่อเลือกผ่านไคโตซานที่ถูกเชื่อมขวางด้วย

SSA จะมีความแข็งแรงต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเยื่อเลือกผ่านไคโตซานที่ไม่ได้ผ่านการเชื่อมขวาง แต่อย่างไรก็ตาม การเชื่อมขวางด้วย SSA จะทำให้เยื่อเลือกผ่านมีความสามารถในการดูดซับน้ำและความสามารถในการนำโปรตอนเพิ่มขึ้น โดยเยื่อเลือกผ่านไคโตซานที่ถูกเชื่อมขวางด้วย SSA ที่อัตราส่วน 0.6 โมล จะทำให้เยื่อเลือกผ่านมีคุณสมบัติเหมาะสมที่สุด โดยมีค่าการนำโปรตอนสูงสุดคือ 7.84×10^{-6} S/cm และความสามารถในการต้านแรงดึงสูงสุดที่ 6.698 MPa

จากผลดังกล่าว จึงได้นำเยื่อเลือกผ่านไคโตซานที่ถูกเชื่อมขวางด้วย SSA 0.6 โมลไปทำการควอเทอไนซ์ที่เวลาควอเทอไนซ์แตกต่างกันคือ 2 4 และ 8 ชั่วโมง ซึ่งผลของการควอเทอไนซ์จะถูกกล่าวในหัวข้อถัดไป

3. ผลของการควอเทอไนซ์เยื่อเลือกผ่านไคโตซาน

ผลของการควอเทอไนซ์จะเป็นการศึกษาประจุบวกที่เกิดขึ้น ร้อยละการดูดซับน้ำคุณสมบัติเชิงกล ค่าการนำโปรตอน และลักษณะทางกายภาพของเยื่อเลือกผ่านก่อนและหลังทำการควอเทอไนซ์ที่เวลาแตกต่างกัน คือ 2 4 และ 8 ชั่วโมง โดยให้ CS, CS-0.6SSA-0, CS-0.6SSA-2, CS-0.6SSA-4 และ CS-0.6SSA-8 คือเยื่อเลือกผ่านไคโตซานและเยื่อเลือกผ่านไคโตซานเชื่อมขวางด้วย SSA 0.6 โมลที่ถูกควอเทอไนซ์ด้วยเวลาที่แตกต่างกัน ตามลำดับ

3.1 ผลการวัดประจุบวกที่พื้นผิว

ความหนาแน่นของประจุบวกที่เกิดขึ้นที่พื้นผิวของเยื่อเลือกผ่านสามารถวัดได้โดยใช้หลักการวัดศักย์ซีต้า มีหน่วยเป็นมิลลิโวลต์ (mV) ซึ่งศักย์ซีต้าเป็นการวัดความแตกต่างของศักย์ไฟฟ้าระหว่างของเหลวที่อนุภาคแขวนลอยอยู่กับของเหลวที่ล้อมรอบอนุภาคนั้นไว้ โดยค่าศักย์ซีต้าเยื่อเลือกผ่านไคโตซานก่อนและหลังควอเทอไนซ์ที่เวลาแตกต่างกันแสดงดังตารางที่ 3

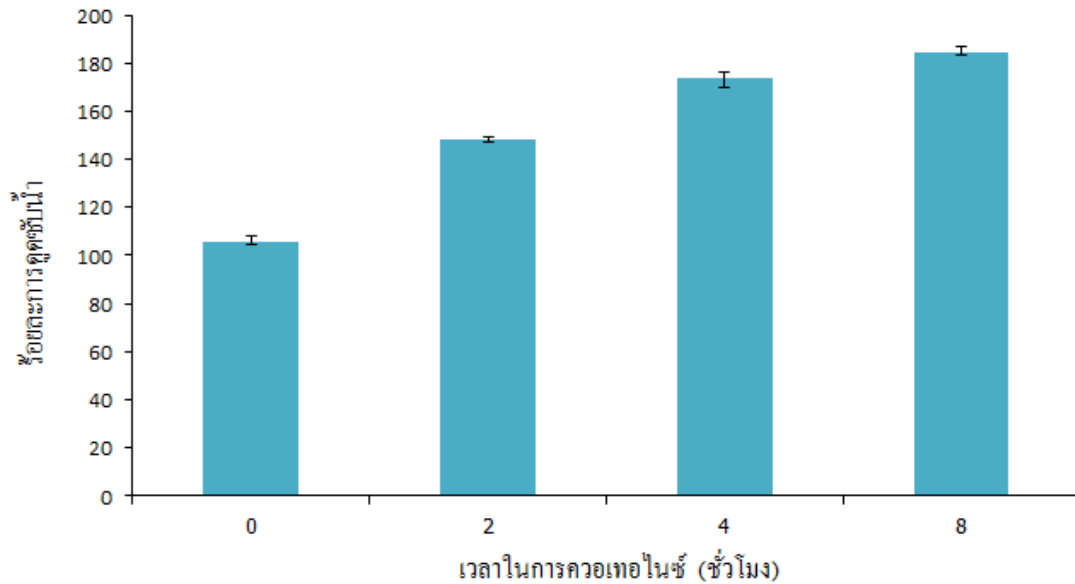
ตารางที่ 3 ค่าศักย์ซีต้าของเยื่อเลือกผ่านไคโตซานก่อนและหลังควอเทอไนซ์ที่เวลาแตกต่างกัน

	ชนิดของเยื่อเลือกผ่าน				
	CS	CS-0.6SSA-0	CS-0.6SSA-2	CS-0.6SSA-4	CS-0.6SSA-8
ศักย์ไฟฟ้าซีต้า (mV)	+ 9.2	+2.2	+12.2	+32.2	+45.3

จากตารางที่ 3 เมื่อเปรียบเทียบค่าศักย์ซีต้าระหว่าง CS กับ CS-0.6SSA-0 จะเห็นได้ว่าค่าศักย์ซีต้ามีค่าลดลง ที่เป็นเช่นนี้เพราะ NH_3^+ ของไคโตซานถูกเชื่อมขวาง ปริมาณ NH_3^+ จึงลดลง ส่งผลให้ค่าศักย์ซีต้ามีค่าลดลง และเมื่อนำ CS-0.6SSA ไปควอเทอไนซ์ที่เวลาแตกต่างกัน พบว่าเมื่อเวลาในการควอเทอไนซ์เพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่าศักย์ซีต้ามีค่าสูงขึ้น นั่นแสดงถึงการเข้าทำปฏิกิริยาของสารควอเทอไนซ์ซึ่งก็คือควอต-188 กับไคโตซาน จึงทำให้เยื่อเลือกผ่านมีประจุบวกเพิ่มขึ้น

3.2 ทดสอบการดูดซับน้ำ

เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของประจุบวกอาจจะไปส่งผลต่อการดูดซับน้ำของเยื่อเลือกผ่าน จึงได้ทำการทดสอบการดูดซับน้ำของเยื่อเลือกผ่านหลังควอเทอไนซ์ที่เวลาแตกต่างกัน และได้ทำการเปรียบเทียบผลการดูดซับน้ำกับเยื่อเลือกผ่านก่อนควอเทอไนซ์ แสดงดังภาพที่ 63



ภาพที่ 63 ร้อยละการดูดซับน้ำของเยื่อเลือกผ่านไคโตซานก่อนและหลังควอเทอไนซ์ที่เวลาแตกต่างกัน

จากภาพที่ 63 พบว่าเยื่อเลือกผ่านที่ผ่านการควอเทอไนซ์มีความสามารถในการดูดซับน้ำมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับเยื่อเลือกผ่านที่ไม่ได้ผ่านการควอเทอไนซ์ เนื่องจากประจุบวกที่เพิ่มขึ้นจะเป็นการเพิ่มส่วนที่มีความชอบน้ำ จึงส่งผลให้เยื่อเลือกผ่านมีความสามารถในการดูดซับน้ำสูงขึ้น โดยการควอเทอไนซ์ที่เวลา 8 ชั่วโมง มีค่าร้อยละการดูดซับน้ำสูงสุด คือ ร้อยละ 185

3.3 ทดสอบคุณสมบัติเชิงกล

จากที่ได้กล่าวถึงผลในการทดสอบการดูดซับน้ำของเยื่อเลือกผ่านที่ผ่านการควอเทอไนซ์ที่เวลาแตกต่างกัน จะพบว่าเมื่อเวลาในการควอเทอไนซ์เพิ่มขึ้น เยื่อเลือกผ่านมีความสามารถในการดูดซับน้ำเพิ่มขึ้น ซึ่งจะส่งผลต่อความแข็งแรงของเยื่อเลือกผ่าน จึงได้ทำการทดสอบคุณสมบัติเชิงกลของเยื่อเลือกผ่านก่อนและหลังควอเทอไนซ์ที่เวลาแตกต่างกัน แสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 คุณสมบัติเชิงกลของเยื่อเลือกผ่านไคโตซานก่อนและหลังควอเทอไนซ์ที่เวลาแตกต่างกัน

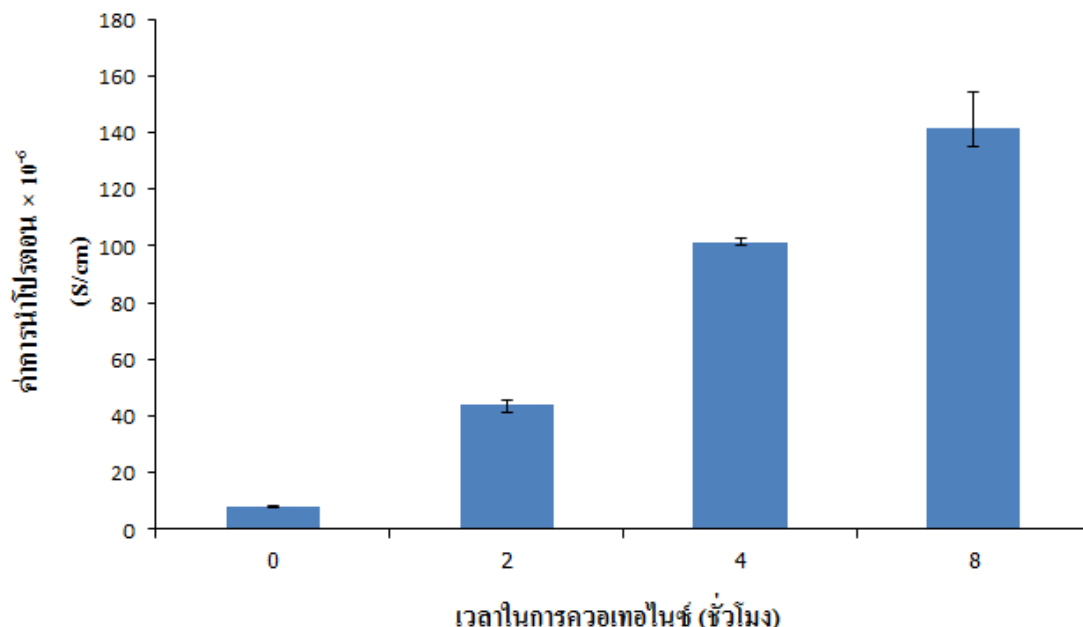
ชนิดเยื่อเลือกผ่าน	แรงดึงสูงสุด (MPa)	ร้อยละการยืดตัว (%)	ค่ายังมอดูลัส (MPa)
CS	10.567	75.437	5.170
CS-0.6SSA-0	6.698	60.010	4.273
CS-0.6SSA-2	3.383	31.233	4.516
CS-0.6SSA-4	2.622	27.607	2.971
CS-0.6SSA-8	-	-	-

หมายเหตุ (-) ไม่สามารถทำการทดสอบได้

จากตารางที่ 4 พบว่าเมื่อมีการควอเทอไนซ์เยื่อเลือกผ่านไคโตซาน ส่งผลให้เยื่อเลือกผ่านไคโตซานมีความสามารถในการทนแรงดึงสูงสุดลดลง ซึ่งก็มีความสอดคล้องกับผลการทดสอบการดูดซับน้ำ กล่าวคือเมื่อเวลาในการควอเทอไนซ์เพิ่มขึ้น ค่าศักย์ซีต้าเพิ่มขึ้นส่งผลให้ความสามารถในการดูดซับน้ำเพิ่มสูงขึ้น จึงทำให้เยื่อเลือกผ่านมีความแข็งแรงลดลง โดยเยื่อเลือกผ่านไคโตซานที่ผ่านการควอเทอไนซ์ 8 ชั่วโมงนั้น ไม่สามารถเตรียมตัวอย่างเพื่อทำการทดสอบได้ เนื่องจากเกิดรอยรึกขาคทุกครั้งขณะเตรียมตัวอย่าง ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากผลของการดูดซับน้ำมาก จึงทำให้เยื่อเลือกผ่านมีความแข็งแรงต่ำมาก

3.4 ค่าการนำโปรตอน

เนื่องด้วยการควอเทอไนซ์ส่งผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่อการดูดซับน้ำของเยื่อเลือกผ่าน ซึ่งก็จะส่งผลโดยตรงต่อความสามารถในการนำโปรตอนด้วย เนื่องจากน้ำเป็นตัวกลางในการนำโปรตอนให้เคลื่อนที่ ซึ่งค่าการนำโปรตอนของเยื่อเลือกผ่านที่ถูกควอเทอไนซ์ที่เวลาแตกต่างกัน แสดงดังภาพที่ 64



ภาพที่ 64 ค่าการนำโปรตอนของเยื่อเลือกผ่านไคโตซานที่ถูกควอเทอไนซ์ที่เวลาแตกต่างกัน

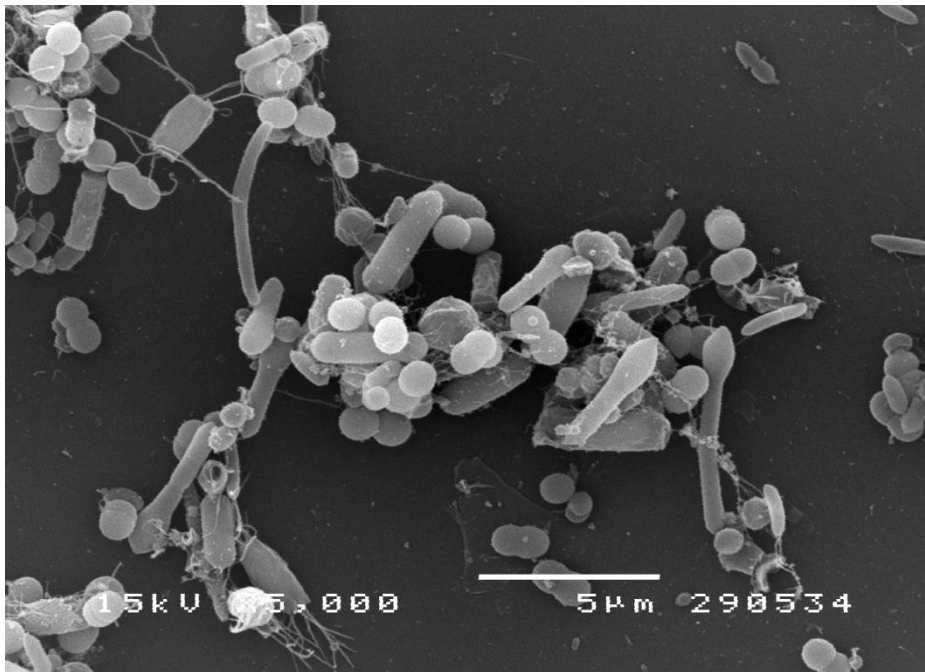
จากภาพที่ 64 พบว่า เมื่อเวลาในการควอเทอไนซ์เพิ่มขึ้น เยื่อเลือกผ่านมีความสามารถในการนำโปรตอนเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับเยื่อเลือกผ่านที่ไม่ได้ผ่านการควอเทอไนซ์กับเยื่อเลือกผ่านที่ผ่านการควอเทอไนซ์เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่ามีค่าการนำโปรตอนเพิ่มขึ้นถึง 5.5 12.7 และ 17.7 เท่า ตามลำดับ

จากผลที่ได้กล่าวมาข้างต้น จะเห็นได้ว่าการควอเทอไนซ์นั้นจะส่งทั้งผลดีและผลเสียต่อคุณสมบัติของเยื่อเลือกผ่านไคโตซาน กล่าวคือ การเพิ่มขึ้นของประจุบวกจะส่งผลโดยตรงต่อการดูดซับน้ำของเยื่อเลือกผ่าน ซึ่งจะเป็นผลดีต่อคุณสมบัติการนำโปรตอนของเยื่อเลือกและถึงแม้ว่าจะสามารถทำให้เยื่อเลือกผ่านไคโตซานมีความสามารถในการนำโปรตอนได้มากกว่าการปรับปรุงด้วยการเชื่อมขวางด้วย SSA แต่อย่างไรก็ตามการควอเทอไนซ์ก็จะส่งผลเสียต่อคุณสมบัติเชิงกล ที่จะทำให้เยื่อเลือกผ่านมีความแข็งแรงลดลงอย่างมากอันเนื่องมาจากการดูดซับน้ำที่มากขึ้น เมื่อเทียบกับความแข็งแรงของเยื่อเลือกผ่านที่เชื่อมขวางด้วย SSA

แต่อย่างไรก็ตาม จุดประสงค์ในการควอเทอไนซ์เยื่อเลือกผ่านสำหรับงานวิจัยนี้ก็คือ เกิดจากสมมติฐานที่ว่า การเพิ่มขึ้นของประจุบวกน่าจะส่งผลต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ดังนั้นจึงได้มีการนำเยื่อเลือกผ่านที่ผ่านการควอเทอไนซ์ที่เวลาแตกต่างกันไปทำการศึกษาลักษณะทางกายภาพบนเยื่อเลือกผ่าน ซึ่งจะกล่าวในหัวข้อถัดไป

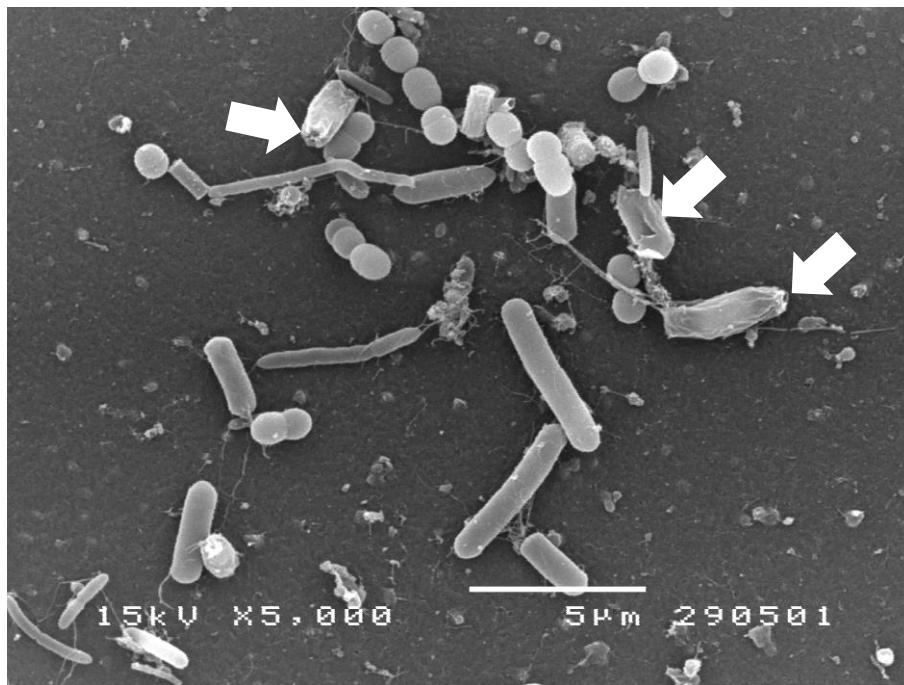
3.5 ลักษณะทางกายภาพของเชือบนเยื่อเลือกผ่าน

การศึกษาลักษณะทางกายภาพของเชือบนเยื่อเลือกผ่าน คือการดูลักษณะของเชื้อที่เปลี่ยนแปลงไปบนเยื่อเลือกผ่าน หลังทำการบ่มเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเยื่อเลือกผ่านอยู่เป็นเวลา 72 ชั่วโมง โดยลักษณะทางกายภาพของเชื้อที่เกาะบนเยื่อเลือกผ่านต่างชนิดกัน แสดงดังภาพที่ 65

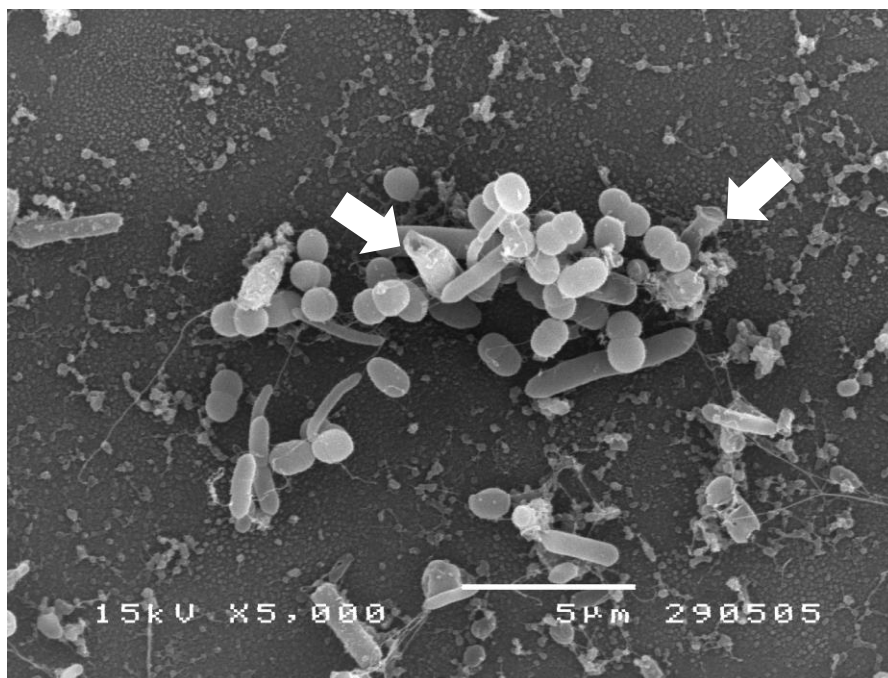


(ก)

ภาพที่ 65 ภาพถ่ายแบบส่องกราดแสดงลักษณะทางกายภาพของเชื้อที่เกาะบนเยื่อเลือกผ่าน ดังต่อไปนี้ (ก) นาฟิออน (ข) CS (ค) CS-0.6SSA-0 (ง) CS-0.6SSA-2 และ (จ) CS-0.6SSA-4

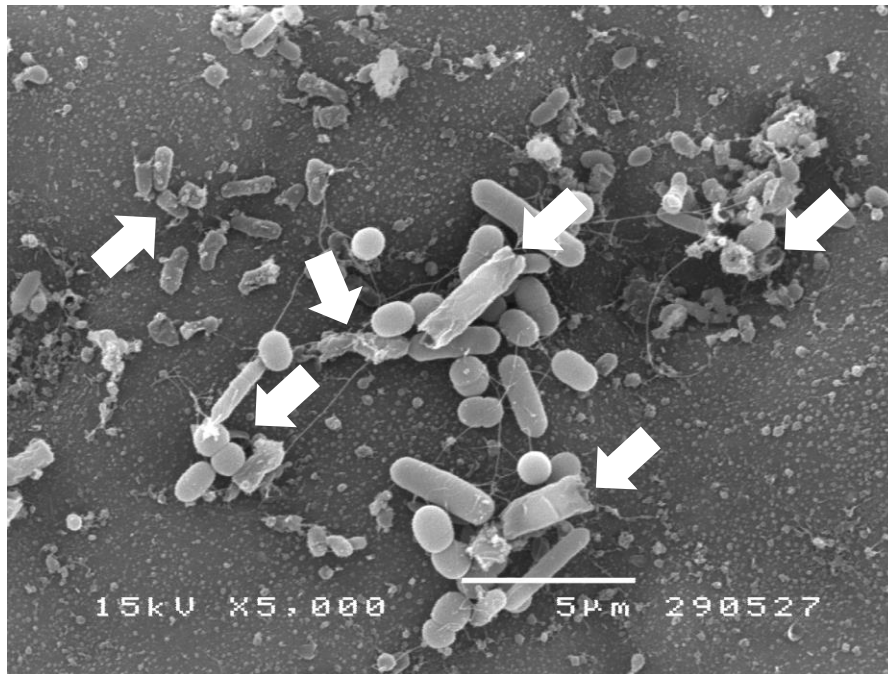


(ข)

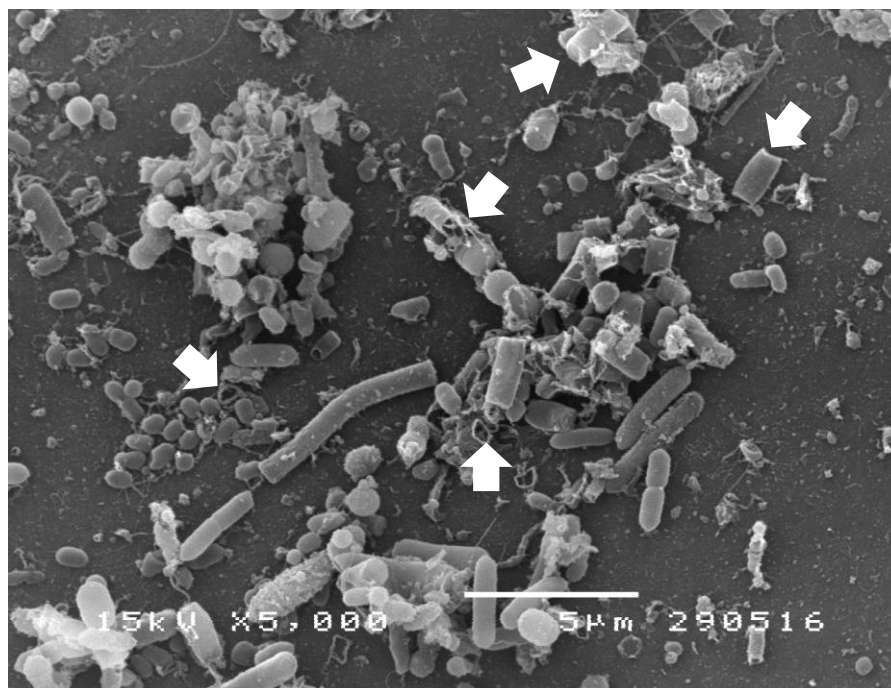


(ค)

ภาพที่ 65 (ต่อ) ภาพถ่ายแบบส่องกราดแสดงลักษณะทางกายภาพของเชื้อที่เกาะบนเชื้อเห็ดผ่าน
 ดังต่อไปนี้ (ก) นาฟิออน (ข) CS (ค) CS-0.6SSA-0 (ง) CS-0.6SSA-2 และ (จ) CS-
 0.6SSA-4



(ง)



(จ)

ภาพที่ 65 (ต่อ) ภาพถ่ายแบบส่องกราดแสดงลักษณะทางกายภาพของเชื้อที่เกาะบนเชื้อเห็ดผ่าน
 ดังต่อไปนี้ (ก) นาฟิออน (ข) CS (ค) CS-0.6SSA-0 (ง) CS-0.6SSA-2 และ (จ) CS-
 0.6SSA-4

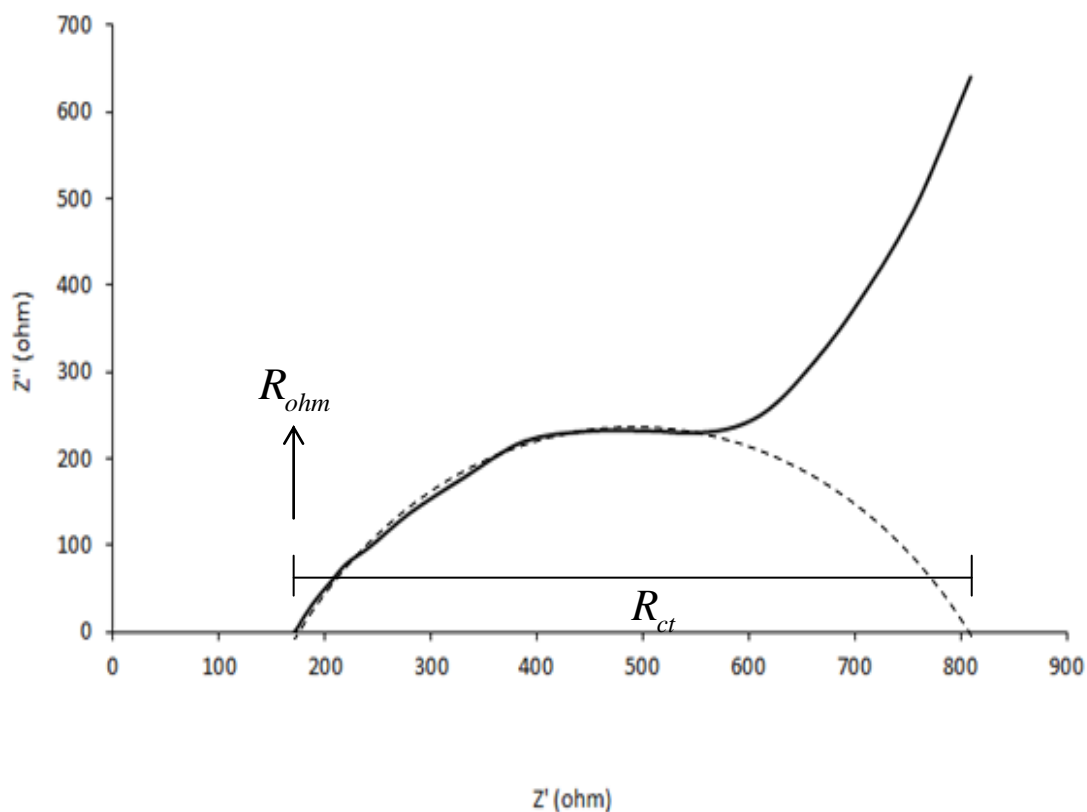
จากภาพที่ 65 จะเห็นได้ว่า ลักษณะของเชื้อที่เกาะบนเชื้อเลือกผ่านนาฟิออนก่อนข้างที่จะสมบูรณ์เมื่อเปรียบเทียบกับลักษณะของเชื้อที่เกาะอยู่บน CS ซึ่งเริ่มจะเห็นรูปร่างของเชื้อที่บิดเบี้ยวไปจากเดิม ตามที่ลูกศรชี้ในภาพ 65(ข) และเมื่อพิจารณาที่ CS-0.6SSA พบว่าเกิดความเสียหายของเชื้อเล็กน้อย แสดงดังภาพที่ 65(ค) ซึ่งก็มีความสอดคล้องกับค่าศักย์ซีต้าที่ลดลง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะผลของการเชื่อมขวางสายโซ่ไคโตซาน ที่ทำให้เกิดการสูญเสียประจุบวกของหมู่ NH_3^+ จึงทำให้เชื้อเลือกผ่านแสดงการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ลดลง ซึ่งในขณะที่เชื้อเลือกผ่านที่ผ่านการควอเทอไนซ์ที่เวลา 2 และ 4 ชั่วโมง คือ CS-0.6SSA-2 และ CS-0.6SSA-4 แสดงดังภาพที่ 65(ง) และ 65(จ) ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าการแตกออกของเชื้อ รูปร่างและขนาดที่เปลี่ยนแปลงไป โดยเฉพาะที่ CS-0.6SSA-4 เห็นความเสียหายของเชื้อได้อย่างชัดเจน ทั้งนี้เป็นเพราะการเพิ่มขึ้นของประจุบวกที่พื้นผิวของเชื้อเลือกผ่านไคโตซานที่จะไปเกิดอันตรกิริยากับผนังเซลล์ของเชื้อ จึงส่งผลทำให้เกิดความเสียหายต่อเชื้อ

จากผลของการควอเทอไนซ์เชื้อเลือกผ่านไคโตซาน สามารถกล่าวได้ว่าการเพิ่มขึ้นของประจุบวกที่พื้นผิวของเชื้อเลือกผ่านนั้นส่งผลต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ โดยเห็นได้จากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ ซึ่งจะส่งผลทำให้ผนังเซลล์เกิดความเสียหาย

จากผลการทดสอบคุณสมบัติต่างๆของเชื้อเลือกผ่านไคโตซานหลังการควอเทอไนซ์ จะเห็นได้ว่า เชื้อเลือกผ่านที่ผ่านการควอเทอไนซ์เป็นเวลา 4 ชั่วโมง (CS-0.6SSA-4) น่าจะมีความเหมาะสมต่อการนำไปใช้งานกับเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ เนื่องจากที่สภาวะนี้เชื้อเลือกผ่านมีความสามารถในการดูดซับน้ำสูงและในขณะเดียวกันก็ยังคงมีความแข็งแรงพอที่จะสามารถนำไปใช้งานได้ และที่สำคัญยังแสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีอีกด้วย ดังนั้นทางผู้วิจัยจึงได้นำเชื้อเลือกผ่าน CS-0.6SSA-4 ไปทดสอบประสิทธิภาพกับเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ ซึ่งจะกล่าวในหัวข้อถัดไป

4 ผลของการทดสอบกับเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ

ผลการทดสอบเชื้อเลือกผ่านไคโตซานหลังการปรับปรุงคุณสมบัติกับเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ ได้ทำการศึกษาหาค่าความต้านทานการไหลของประจุไฟฟ้า (ohmic resistance, R_{ohm}) ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของความต้านทานภายในเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ โดยความต้านทานการไหลของประจุไฟฟ้าแสดงถึงความต้านทานในการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนและโปรตอนจากฝั่งแอโนดไปยังฝั่งแคโทด ดังนั้นเชื้อเลือกผ่านจึงเป็นหนึ่งในปัจจัยที่ส่งผลต่อค่าความต้านทานการไหลของประจุ โดยค่าความต้านทานการไหลของประจุของระบบที่ใช้เชื้อเลือกผ่าน CS-0.6SSA-4 แสดงดังภาพที่ 66



ภาพที่ 66 กราฟอิมพีแดนซ์แสดงค่าความต้านทานภายในของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพที่ใช้ในการทดสอบ

จากผลการทดลอง พบว่าเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพแบบห้องคู่โดยใช้เชื้อเพลิงผ่าน CS-0.6SSA-4 เป็นเชื้อเพลิงผ่านโปรตอน ที่ทำการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ระบบสามารถผลิตแรงดันไฟฟ้าคงที่ได้ 465 mV และสามารถทำการวัดค่าความต้านทานภายในที่เกิดขึ้นได้ ดังแสดงในภาพที่ 66 โดยค่าความต้านทานการไหลของประจุไฟฟ้า (R_{ohm}) สามารถหาได้จากจุดตัดแกน x ที่แกน y มีค่าเท่ากับศูนย์ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 156 โอห์ม และค่าความต้านทานการถ่ายเทประจุหรือค่าความต้านทานการเกิดปฏิกิริยา (R_{ct}) สามารถหาได้จากความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางของครึ่งวงกลม ซึ่งมีค่าประมาณ 640 โอห์ม ซึ่งเมื่อพิจารณาค่าความต้านทานการไหลของประจุของระบบอื่นๆ พบว่า มีค่าความต้านทานการไหลของประจุเท่ากับ 14 โอห์ม (You *et al.*, 2008) 8.29 โอห์ม (Yoo *et al.*, 2010) และ 6.1 โอห์ม (You *et al.*, 2007) เป็นต้น ซึ่งถึงแม้ว่าระบบเซลล์เชื้อเพลิงที่ได้ทำการศึกษาในงานวิจัยนี้จะมีค่าความต้านทานการไหลของประจุสูงกว่าก็ตาม ซึ่งค่าความต้านทานการไหลของประจุไฟฟ้าไม่ได้ขึ้นอยู่กับเชื้อเพลิงผ่านโปรตอนเพียงปัจจัยเดียว อีกทั้งรูปแบบของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพก็เป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่มีผลต่อค่าความต้านทานการไหลของประจุ ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ยากที่จะนำมาพิจารณาเปรียบเทียบกัน แต่อย่างไรก็ตามก็จะพบได้

ว่าเชื่อถือผ่านไคโตซานที่ได้ผ่านการปรับปรุงคุณสมบัติแล้วสามารถนำมาใช้งานกับเซลล์
เชื้อเพลิงชีวภาพได้จริง

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. ในขั้นตอนการสังเคราะห์เยื่อเลือกผ่านไคโตซานโดยทำการปรับปรุงคุณสมบัติเยื่อเลือกผ่านไคโตซานให้มีความเหมาะสมต่อการนำไปประยุกต์ใช้กับเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพนั้น สามารถสรุปผลได้ดังต่อไปนี้ คือ

1.1 ผลของการสังเคราะห์เยื่อเลือกผ่านไคโตซานโดยการเชื่อมขวางด้วยกรดซัลฟิวซิกซินิกในปริมาณที่แตกต่างกันนั้น สามารถยืนยันผลได้จากการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีด้วยเครื่องมือ FT-IR โดยโครงสร้างทางเคมีที่เกิดจากการเชื่อมขวางระหว่างสายโซ่ไคโตซานกับสารเชื่อมขวางกรดซัลฟิวซิกซินิกนั้นมีโอกาสเกิดขึ้นได้หลายแบบ โดยแต่ละรูปแบบก็จะส่งผลทำให้เยื่อเลือกผ่านไคโตซานแสดงคุณสมบัติเปลี่ยนไป กล่าวคือ ถ้าการเชื่อมขวางเกิดแบบพันธะโควาเลนต์พร้อมกับปล่อยหมู่ซัลโฟนิคอิสระที่จะทำหน้าที่เป็นตัวนำพาให้โปรตอนเกิดการเคลื่อนที่ เยื่อเลือกผ่านไคโตซานก็ย่อมที่จะมีความแข็งแรงอีกทั้งมีความสามารถในการนำโปรตอนที่ดี แต่ถ้าหมู่ซัลโฟนิคไม่ได้ถูกปล่อยอิสระอันเนื่องมาจากเป็นตัวที่ถูกเชื่อมขวางโดยอาจจะเกิดแบบพันธะไฮดรอกซิลหรือพันธะไฮโดรเจนนั้น ก็อาจจะส่งผลทำให้เยื่อเลือกผ่านมีความแข็งแรงและความสามารถในการนำโปรตอนลดลงได้

ซึ่งจากการทดลองได้ทำการศึกษาปริมาณกรดซัลฟิวซิกซินิกที่แตกต่างกัน คือ 0.1 0.2 0.4 0.6 และ 0.8 โดยโมลต่อโมลแอมีน โดยพบว่าเยื่อเลือกผ่านไคโตซานที่ถูกเชื่อมขวางด้วยกรดซัลฟิวซิกซินิก 0.6 โมล มีคุณสมบัติที่เหมาะสมที่สุด โดยมีค่าการนำโปรตอนสูงสุด คือ 7.84×10^{-6} S/cm และความสามารถในการทนแรงดึงสูงสุดที่ 6.698 MPa

1.2 ผลของการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์โดยการควอเทอไนซ์เยื่อเลือกผ่านไคโตซาน พบว่าเมื่อเวลาในการควอเทอไนซ์เพิ่มขึ้น เกิดประจุบวกที่พื้นผิวมากขึ้น ซึ่งประจุบวกที่เพิ่มขึ้นจะไปแสดงการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์โดยก่อให้เกิดความเสียหายที่ผนังเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งสามารถพิจารณาได้จากลักษณะทางกายภาพที่เปลี่ยนแปลงไปของเชื้อที่เกาะอยู่บนเยื่อเลือกผ่าน แต่อย่างไรก็ตาม การควอเทอไนซ์นั้นได้ส่งผลต่อคุณสมบัติของเยื่อเลือกผ่านไคโตซานด้วย กล่าวคือ การเพิ่มขึ้นของประจุบวกจะทำให้เยื่อเลือกผ่านมีความสามารถในการดูดซับน้ำเพิ่มมากขึ้น ซึ่งจะส่งผลโดยตรงต่อความสามารถในการนำโปรตอนที่เพิ่มสูงขึ้น โดยจากผลค่าการนำโปรตอนของ

เยื่อเลือกผ่านหลังการควอเทอไนซ์นั้นมีความสูงค่ามากเมื่อเปรียบเทียบกับผลค่าการนำโปรตอนของเยื่อเลือกผ่านหลังการเชื่อมขวาง แต่อย่างไรก็ตามจะเห็นได้ว่าเยื่อเลือกผ่านหลังการควอเทอไนซ์นั้นมีความแข็งแรงต่ำมากทั้งนี้เป็นผลอันเนื่องมาจากการดูดซับน้ำที่มากเกินไปนั่นเอง

จากผลการทดสอบคุณสมบัติต่างๆของเยื่อเลือกผ่านไคโตซานหลังการควอเทอไนซ์ จะเห็นได้ว่า เยื่อเลือกผ่านที่ผ่านการควอเทอไนซ์เป็นเวลา 4 ชั่วโมง น่าจะมีความเหมาะสมต่อการนำไปใช้งานกับเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ เนื่องจากที่สภาวะนี้เยื่อเลือกผ่านมีความสามารถในการดูดซับน้ำสูงและในขณะเดียวกันก็ยังคงมีความแข็งแรงพอที่จะสามารถนำไปใช้งานได้ และที่สำคัญยังแสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีอีกด้วย

2. จากการทดสอบประสิทธิภาพเยื่อเลือกผ่านไคโตซานหลังการปรับปรุงคุณสมบัติกับเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพแบบห้องคู่ โดยใช้เส้นใยกราไฟต์เป็นขั้วอิเล็กโทรด และเชื้อจุลินทรีย์เป็นเชื้อผสมจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศ สามารถสรุปได้ว่าเยื่อเลือกผ่านไคโตซานหลังการปรับปรุงคุณสมบัติสามารถนำไปใช้งานกับระบบเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพได้จริง โดยสามารถวัดค่าความต้านทานการไหลของประจุไฟฟ้าได้เท่ากับ 170 โอห์ม

ข้อเสนอแนะ

1. จากขั้นตอนการสังเคราะห์เชื้อเลือกผ่านโคโคซาน โดยการเชื่อมขวางด้วยกรดซัลโฟซัลโฟนิกนั้น จะเห็นได้ว่าไม่สามารถเชื่อมขวางโคโคซานกับกรดซัลโฟนิกได้โดยตรง โดยต้องมีกรดไฮโดรคลอริกมาช่วยในการเชื่อมขวางจึงจะทำให้สามารถขึ้นรูปเชื้อเลือกผ่านได้ แต่อย่างไรก็ตามทางผู้วิจัยไม่ได้ทำการศึกษาว่ากรดไฮโดรคลอริกไปส่งผลอย่างไร จึงได้มีข้อเสนอแนะสำหรับผู้สนใจต่อไปว่าอาจจะทำการศึกษาถึงหน้าที่ของกรดไฮโดรคลอริกที่จะไปช่วยในการเชื่อมขวางหรืออาจจะทำการศึกษาว่ามีกรดชนิดใดบ้างที่มีหน้าที่เช่นเดียวกับกรดไฮโดรคลอริก

2. จากผลการทดสอบค่าการนำโปรตอนของเชื้อเลือกผ่านหลังการควอเทอไนซ์จะเห็นว่าเชื้อเลือกผ่านมีความสามารถในการนำโปรตอนสูงอย่างมาก เมื่อเปรียบเทียบกับค่าการนำโปรตอนของเชื้อเลือกผ่านหลังการเชื่อมขวาง แต่อย่างไรก็ตาม เชื้อเลือกผ่านที่ผ่านการควอเทอไนซ์จะมีความแข็งแรงต่ำมาก ดังนั้นในการศึกษาครั้งต่อไปอาจจะปรับปรุงโดยการใส่สารเชื่อมขวางที่เพิ่มความแข็งแรงให้กับเชื้อเลือกผ่านโคโคซานโดยเฉพาะ อย่างเช่นอาจจะเพิ่มปริมาณการใช้กลูตาโรลอัลดีไฮด์หรือใส่สารเชื่อมขวางที่มีขนาดใหญ่กว่าเพื่อเพิ่มความแข็งแรงให้กับเชื้อเลือกผ่านโคโคซานแล้วทำการควอเทอไนซ์เพื่อเป็นการเพิ่มความสามารถในการนำโปรตอน

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

ญาณิศา ปิสิญฐนะกุล และ ชัชตยา วินัยรัชย์. 2554. คุณสมบัติของอิเล็กโทรดต่อการผลิตกระแสไฟฟ้าด้วยเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ. โครงการงานวิศวกรรมเคมี ปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ประเวศ อัจฉรวรรณลักษณ์. 2553. การพัฒนาเซลล์เชื้อเพลิงแบบเมมเบรนแลกเปลี่ยนโปรตอนเพื่อการใช้งานในเครื่องใช้ไฟฟ้าขนาดเล็ก โดยเทคนิคการออกแบบผลิตภัณฑ์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ปจารีย์ จันทร์ชูกลิ่น. 2556. การพัฒนาเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพห้องเดียวที่มีชุดกั้นอากาศแบบไม่ใช้เยื่อเลือกผ่านและสารนำพาอิเล็กตรอนสำหรับการผลิตกระแสไฟฟ้า. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เยาวพา สุวัตติ กลุ่มวิจัยชีววิเคราะห์ วารสารเพื่อการวิจัยและพัฒนา องค์การเภสัชกรรม R&D Newsletter ปีที่ 19 ฉบับที่ 4 เดือนตุลาคม – ธันวาคม พ.ศ. 2555

Aelterman, P., K.N. Rabaey, H.T. Pham, N. Boon and W. Verstraete. 2006. Continuous electricity generation at high voltages and currents using stacked microbial fuel cells. **Environ. Sci. Technol** 40: 3388-3394.

Allen, R. M. and H.P. Bennetto. 1993. Microbial fuel-cells: electricity production from carbohydrates. **Appl. Biochem. Biotechnol** 39(40): 27-40.

Alvarenga, E.S.D. 2011. Characterization and Properties of Chitosan. **Biotechnology of biopolymers**. ISBN: 978-953-307-179-4.

Andujar, J.M. and F. Segura. 2009. Fuel cells: History and updating. A walk along two centuries. **Renewable and Sustainable Energy Reviews** 13: 2309–2322.

- Berger, J., M. Reist, J.M. Mayer, O. Felt, N.A. Peppas, and R. Gurny. 2004. Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics** 57: 19–34.
- Brack, H.P., S.A. Tirmizi and W.M. Risen. 1997. A spectroscopic and viscosimetric study of the metal ion-induced gelation of the biopolymer chitosan. **Polymer** 38: 2351–2362.
- Curti, Elisabete, D.D. Britto and S.P. Campana-Filho. 2003. Methylation of chitosan with iodomethane: effect of reaction conditions on chemoselectivity and degree of substitution. **Macromol. Biosci** 3: 571-576.
- Danwanichakul, P. and P. Sirikhajornnam 2012. An Investigation of chitosan-grafted-poly(vinyl alcohol) as an electrolyte membrane. **Journal of Chemistry** 2013.
- Dashtimoghadam, E., M.M. Hasani-Sadrabadi and H. Moaddel. 2009. Structure modification of chitosan biopolymer as a novel polyelectrolyte membrane for green power generation. **Polym. Adv. Technol.** 21: 726–734.
- Draget, K.I., K.M. Varum, E. Moen, H. Gynnild and O. Smidsrod. 1992. Chitosan cross-linked with Mo (VI) polyoxyanions: a new gelling system. **Biomaterials** 13: 635–638.
- Du, Z., H. Li and T. Gu. 2007. A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy. **Biotechnol Adv** 25: 464–482.
- Dupuis, A. 2011. Proton exchange membranes for fuel cells operated at medium temperatures: Materials and experimental techniques. **Progress in Materials Science** 56: 289–327.
- Fan., Y., E. Sharbrough and H. Liu. 2008. Quantification of the internal resistance distribution of microbial fuel cells. **Environ. Sci. Technol.** 42: 8101-8107.

- Gruškiene, R., R.S. Deveikyte, R.C.D. Makuška. 2013. Quaternization of chitosan and partial destruction of the quaternized derivatives making them suitable for electrospinning. **CHEMIJA** 24(4): 325-334.
- He, Z., S.D. Minteer and L.T. Angenent. 2005. Electricity generation from artificial wastewater using an upflow microbial fuel cell. **Environ. Sci. Technol** 39: 5262-5267.
- He, Z., N. Wagner, S.D. Minteer and L.T. Angenent. 2006. An upflow microbial fuel cell with an interior cathode: assessment of the internal resistance by impedance spectroscopy. **Environ. Sci. Technol** 40: 5212-5217.
- He, Z. and F. Manfield. 2009. Exploring the use of electrochemical impedance spectroscopy (EIS) in microbial fuel cell studies. **Energy Environ. Sci.** 2: 215-219.
- Hogarth, W.H.J., J.C. Diniz and G.Q. Lu. 2005. Solid acid membranes for high temperature (>140°C) proton exchange membrane fuel cells. **Journal of Power Source** 142: 223-237.
- Ieropoulos, I.A., J. Greenman, C. Melhuish and J. Hart. 2005. Comparative study of three types of microbial fuel cell. **Enzyme Microb Tech** 37: 238-45.
- Jang, J.K., T.H. Pham, I.S. Chang, K.H. Kang, H. Moon and K.S. Cho. 2004. Construction and operation of a novel mediator-and membrane-less microbial fuel cell. **Process. Biochem** 39: 1007-1012.
- Jia, Z. D.F., Shen and W.L., Xu. 2001. Synthesis and antibacterial activities of quaternary ammonium salt of chitosan. **Carbohydrate Research** 333: 1-6.
- Kong, M., X.G. , Chen, K., Xing and H.J., Park. 2010. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. **International Journal of Food Microbiology** 144: 51-63.

- Kumar, M.N.V.R. 2000. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive and Functional Polymers** 46: 1-27.
- Larminie, J. and A.D., Dicks. 2003. **Fuel Cell Systems Explained**. 2nd. John Wiley & Sons, New Jersey.
- Li, Z., X. Zhang, Y. Zeng and L. Lei. 2009. Electricity production by an overflow-type wetted-wall microbial fuel cell. **Bioresource Technology** 100: 2551-2555.
- Lin, H.D. C.J., Zhao, W.J., Ma and H., Na. 2009. Low water swelling and high methanol resistant proton exchange membrane fabricated by cross-linking of multilayered polyelectrolyte complexes **Journal of Membrane Science** 345: 242-248.
- Liu, H. and B.E. Logan. 2004. Electricity generation using an air-cathode single chamber microbial fuel cell in the presence and absence of a proton exchange membrane. **Environ. Sci. Technol** 38: 4040-4046.
- Logan, B.E., B., Hamelers, R., Rozendal, U., Schroder, J., Keller, S., Freguia, P., Aelterman, W., Verstraete and K.N., Rabaey. 2006. Microbial Fuel Cells: Methodology and Technology. **Environ. Sci. Technol** 40(17): 5181-5192.
- Logan B. E.. 2008. **Microbial Fuel Cells**. 10th. John Wiley & Sons, New Jersey.
- Ma, J. and Y.S., Sahai. 2013. Chitosan biopolymer for fuel cell applications **Carbohydrate Polymers** 92: 955– 975.
- Meenakshi, S., S.D., Bhat, A.K., Sahu, S., Alwin, P. Sridhar and S. Pitchumani. 2012. Natural and synthetic solid polymer hybrid dual network membranes as electrolytes for direct methanol fuel cells. **J Solid State Electrochem**. 16:1709–1721.

- Milliken, C.E. and H.D., May. 2007. Sustained generation of electricity by the spore-forming, gram-positive, *Desulfitobacterium hafniense* strain DCB2. **Appl. Microbiol. Biotechnol** 73: 1180-1189.
- Moon, H., I.S. Chang, J.K. Jang and B.H. Kim. 2005. Residence time distribution in microbial fuel cell and its influence on COD removal with electricity generation. **Biochem. Eng. J** 27: 59-65.
- Morris, J. M., S. Jin, J. Wang, C. Zhu, and M. A. Urynowicz. 2007. Lead dioxide as an alternative catalyst to platinum in microbial fuel cells. **Electrochemistry Communications** 9(7): 1730–1734.
- Mukoma, P.,B.R. Jooste and H.C.M. Vosloo 2004. Synthesis and characterization of cross-linked chitosan membranes for application as alternative proton exchange membrane materials in fuel cells. **Journal of Power Sources** 136: 16–23.
- Park, D. H., and J. G. Zeikus. 2003. Improved fuel cell and electrode designs for producing electricity from microbial degradation. **Biotechnol. Bioeng** 81(3): 348-355.
- Peighambaroust, S.J., S. Rowshanzamir and Amjadi, M. 2010. Review of the proton exchange membrane for fuel cell application. **International Journal of Hydrogen Energy** 35: 9349-9384.
- Pham, T.H., J.K. Jang, I. S. Chang and B. H. Kim. 2004. Improvement of cathode reaction of a mediatorless microbial fuel cell. **Journal of Microbiology and Biotechnology** 14(2): 324-329.
- Picioreanu, C., K.P. Katuri, M.C.M.V Loosdrecht , I.M. Head and K. Scott. 2010. Modelling microbial fuel cells with suspended cells and added electron transfer mediator. **J. Appl. Electrochem** 40: 151–162.

- Pierog M. and J., Ostrowska-Czubenko. 2010. Synthesis and characteristics of three composition hydrogel membranes for technical applications. *XXV ARS SEPARATORIA*.
- Polnok, A. G., Borchard, J.C., Verhoet. N., Sarisuta and H.E., Junginger. 2004. Influence of methylation process on the degree of quaternization of N-trimethyl chitosan chloride. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics** 57: 77-83.
- Qi, L. Z., Xu, X., Jiang, C.H., Hu and X.F., Zou. 2004. Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticles. **Carbohydrate Research**. 339: 2693–2700.
- Rabaey, K. and W. Verstraete. 2005. Microbial fuel cell: novel biotechnology for energy generation. **Trends Biotechnol** 23(6): 291-298.
- Ramirez-Salgado, J. 2007. Study of basic biopolymer as proton membrane for fuel cell systems. **Electrochimica Acta** 52: 3766–3778.
- Rinaldi, A., B. Mecheri, V. Garavaglia, S. Licoccia, P.D. Nardo and E. Traversa. 2008. Engineering materials and biology to boost performance of microbial fuel cells: a critical review. **Energy Environ. Sci.** 1: 417-429.
- Rosenbaum, M., F. Zhao, M. Quaas, U. Schroder and F. Scholz. 2006. Interfacing Electrocatalysis and Biocatalysis with Tungsten Carbide: A High-Performance, Noble-Metal-Free Microbial Fuel Cell. **Angew. Chem. Int. Ed** 45: 6658 –6661.
- Ruihua, H., Y. Bingcho, D.S., Zheng and B. Wang. 2012. Preparation and characterization of a quaternized chitosan. **J Mater Sci** 47: 845–851.
- Rúnarsson, Ö. V., J. Holappa, T. Nevalainen, M. Hjalmsdóttir, T. Järvinen, T. Loftsson, J. M. Einarsson, S. Jónsdóttir, M. Valdimarsdóttir and M. Másson. 2007. Antibacterial activity of methylated chitosan and chitooligomer derivatives: Synthesis and structure activity relationships. **European Polymer Journal**. 43(6): 2660-2671.

- Sajomsang, W. 2010. Synthetic methods and applications of chitosan containing pyridylmethyl moiety and its quaternized derivatives: A review. **Carbohydrate Polymers** 80: 631–647.
- Sekar N., Ramasamy R.P. 2013. Electrochemical Impedance Spectroscopy for Microbial Fuel Cell Characterization. **J Microb Biochem Technol** S6: 004. doi:10.4172/1948-5948.S6-004
- Seo, J.A., J.C. Kim and J.K. Koh. 2009. Preparation and characterization of crosslinked cellulose/sulfosuccinic acid membranes as proton conducting electrolyte. **Ionic** 15: 555-560.
- Schroder, U. 2007. Anodic electron transfer mechanisms in microbial fuel cells and their energy efficiency. **Phys. Chem. Chem. Phys.** 9: 2619–2629.
- Scott, K., G. A. Rimbu, K. P. Katuri, K. K. Prasad and I. M. Head, 2007. Application of modified carbon anodes in microbial fuel cells. **Process Saf. Environ. Prot** 85(5): 481-488.
- Silverstein, R.M., F.X. Webster and D.J. Kiemle. 2005. **Spectrometric identification of organic compounds**. 7th. John Wiley & Sons, New Jersey.
- Smitha, B., S. Sridhar and A.A. Khan. 2004. Polyelectrolyte complexes of chitosan and poly(acrylic acid) as proton exchange membranes for fuel cells. *Macromolecules* 37: 2233–2239.
- Smitha. B, S. Sridhar and A.A. Khan. 2006. Chitosan–poly(vinyl pyrrolidone) blends as membranes for direct methanol fuel cell applications. **Journal of Power Sources** 159: 846–854.
- Smitha, B., D., Anjali Devi, and S., Sridhar 2008. Proton-conducting composite membranes of chitosan and sulfonated polysulfone for fuel cell application. **International Journal of Hydrogen Energy** 33: 4138–4146.

- Stuart, B. 2004. **Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications**. John Wiley & Sons, New Jersey.
- Tartakovsky, B. and S.R. Guiot. 2006. A comparison of air and hydrogenperoxide oxygenated microbial fuel cell reactors. **Biotechnol** 22: 241–246.
- Tikhonov, V.E., E.A. Stepnova, C.G. Babak, I.A. Yamskov, J. Palma-Guerrero, H.B. Jansson, L.V. Lopez-Llorca, J. Salinas, D.V. Gerasimenko, I.D. Avdienko and V.P. Varlamov. 2006. Bactericidal and antifungal activities of a low molecular weight chitosan and its N-/2(3)-(dodec-2-enyl) succinoyl/-derivatives. **Carbohydrate Polymers** 64: 66–72.
- Tripathi, B. P., and V. K., Shahi. 2011. Organic–inorganic nanocomposite polymer electrolyte membranes for fuel cell applications. **Progress in Polymer Science** 36: 945–979.
- Tsai, H.S. and Y.Z. Wang. 2008. Properties of hydrophilic chitosan network membranes by introducing binary crosslink agents. **Polymer Bulletin** 60: 103-113.
- Tsai, H., Y., Wang, J., Lin and W., Lien. 2010. Preparation and properties of sulfopropyl chitosan derivatives with various sulfonation degree. **Journal of Applied Polymer Science** 116: 1686–1693.
- Vallapa, N. Vallapa, O. Wiarachai, N. Thongchul, J. Pan, V. Tangpasuthadol, S. Kiatkamjornwong and V. P. Hoven. 2011. Enhancing antibacterial activity of chitosan surface by heterogeneous quaternization. **Carbohydrate Polymers** 83 (2) 868-875.
- Venkatesan, P.N. and S., Dharmalingam. 2013. Characterization and performance study on chitosan-functionalized multi walled carbon nanotube as separator in microbial fuel cell. **Journal of Membrane Science** 435: 92–98.
- Wan, Y., K.A.M, Creber, B., Peppley and V. Tam bui. 2003. Ionic conductivity and related properties of crosslinked chitosan membranes. **Journal of Applied Polymer Science**. 89: 306-317.

- Wan, Y., B. Peppley, K.A.M. Creber and V. Tam bui. 2010. Anion-exchange membranes composed of quaternized-chitosan derivatives for alkaline fuel cells. **Journal of Power Sources** 195: 3785–3793.
- Wang, T., M., Turhan and S.D.R., Gunasekaran. 2004. Selected properties of pH-sensitive, biodegradable chitosan-poly (vinyl alcohol) hydrogel. **Polym Int.** 53: 911-918.
- Wang, J., Y., Zhang, H., Wu, L., Xiao and Z. Jiang. 2010. Fabrication and performances of solid superacid embedded chitosan hybrid membranes for direct methanol fuel cell. **Journal of Power Sources** 195: 2526–2533.
- Wang, J., R. He and Q. Che. 2011. Anion exchange membranes based on semi-interpenetrating polymer network of quaternized chitosan and polystyrene. **Journal of Colloid and Interface Science** 361: 219–225.
- Watanabe, K. 2008. Recent developments in microbial fuel cell technologies for sustainable Bioenergy. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 106(6): 528–536.
- Wiarachai, O., N. Thongchul, S., Kiatkamjornwong and V.P., Hoven 2012. Surface-quaternized chitosan particles as an alternative and effective organic antibacterial material. 2012. **Colloid and Surfaces B: Bioniterfaces** 92: 121-129.
- Witt, M.A., G.M.O. Barra, J.R. Bertolino and A.T.N. Pires. 2010. Crosslinked chitosan/poly(vinyl alcohol)) blends with proton conductivity characteristic. **J. Braz. Chem. Soc.** 21 (9). 1692-1698.
- Wu, J. Z.G. Su and G.H., Ma. 2006. A thermo and pH-sensitive hydrogel composed of quaternized chitosan/glycerophosphate. **International Journal of Pharmaceutics** 315: 1-11.

- Yang, Z., Y., Shang., X., Huang, Y., Chen, Y., Lu, A., Chen, Y.X., Jiang, W., Gu, X.Z., Qian, H., Yang and R.S., Cheng. 2012. Cationic content effects of biodegradable amphoteric chitosan-based flocculants on the flocculation properties. **Journal of Environmental Sciences**. 24(8): 1378–1385.
- Yang, T.C., C.C., Chou and C.F., Li. 2005. Antibacterial activity of N-alkylated disaccharide chitosan derivatives. **International Journal of Food Microbiology** 97: 237–245.
- Yao, K., Li, J., and Yao, F. 2011. **Chitosan-based hydrogels: Functions and applications**. 1st. CRC Press.
- Yoo, K., Y.C. Song and S.K. Lee. 2010. Characteristic and continuous operation of floating air-cathode microbial fuel cell (FA-MFC) for wastewater treatment and electricity generation. **KSCE journal of civil engineering** 15(2): 245-249.
- You, S., Q. Zhao, J. Zhang, J. Jiang, C. Wan, M. Du and S. Zhao. 2007. A graphite-granule membrane-less tubular air-cathode microbial fuel cell for power generation under continuously operational conditions. **Journal of Power Sources** 173: 172-177.
- You S, Q. Zhao, J. Zhang, H. Liu, J. Jiang and S. Zhao. 2008. Increased sustainable electricity generation in up-flow air-cathode microbial fuel cells. **Biosens Bioelectron** 23: 1157-1160.
- Zhang, Y., J., Sun, Y.Y., Hu, S., Li and Q., Xu. 2012. Bio-cathode materials evaluation in microbial fuel cells: A comparison of graphite felt, carbon paper and stainless steel mesh materials. **International journal of hydrogen energy** 37: 16935-16942.
- Zhao, F., F. Harnisch, U. Schrode, F. Scholz, P. Bogdanof and I. Herrmann. 2005. Application of pyrolysed iron (II) phthalocyanine and CoTMPP based oxygen reduction catalysts as cathode materials in microbial fuel cells. **Electrochemistry Communications** 7: 1405–1410.

Zhu, N., X. Chen, T. Zhang, P. Wu, P. Li and J. Wu. 2011. Improved performance of membrane free single-chamber air cathode microbial fuel cells with nitric acid and ethylenediamine surface modified activated carbon fiber felt anodes. **Bioresource Technology** 102: 422-426.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

สูตรและขั้นตอนการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ภาคผนวก ก

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

ทริปโตน	10	กรัมต่อลิตร
สารสกัดจากยีสต์	5	กรัมต่อลิตร
โซเดียมคลอไรด์	10	กรัมต่อลิตร
กลูโคส	10	กรัมต่อลิตร
สารละลายบัพเฟอร์	10	มิลลิลิตรต่อลิตร

ขั้นตอนการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. ชั่งสารเคมีตามสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้กล่าวมาข้างต้น ผสมจนสารละลายเข้าเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มิลลิลิตร
2. นำอาหารที่เตรียมได้ไปปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้เท่ากับ 7 โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 โมลาร์
3. นำอาหารไปพ่นในโตรเจนเพื่อไล่อากาศออกเป็นเวลา 30 นาทีก่อนนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การคำนวณปริมาณสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

ภาคผนวก ข

การคำนวณปริมาณสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. การคำนวณปริมาณกรดซัลโฟซัลซินิก (SSA)

โคโตซานน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 500,000 กรัมต่อโมล และมี % Deacetylation เท่ากับ 85 %

ซึ่ง 1 โมโนเมอร์โคโตซานมีน้ำหนักโมเลกุล เท่ากับ 161 กรัมต่อโมล

ดังนั้น โคโตซานจะมีจำนวนโมโนเมอร์ทั้งหมด $\frac{500,000}{161} = 3105.6$ โมโนเมอร์

ซึ่ง % Deacetylation แสดงถึงร้อยละในการกำจัดหมู่อะซิติลออก ซึ่งเท่ากับว่าจะมีหมู่ NH_2 เกิดขึ้นเท่ากับปริมาณที่กำจัดหมู่อะซิติลออก

ดังนั้น โคโตซานจะมีหมู่ NH_2 ทั้งหมด $3105.6 \times 0.85 = 2640$ หมู่

ซึ่งถ้าตั้งสมมติฐานว่า อัตราส่วนโดยโมลในการเข้าทำปฏิกิริยาระหว่าง NH_2 : SSA คือ 1:1

ดังนั้น ถ้าใช้โคโตซาน 2 กรัม ซึ่งจะเท่ากับ $\frac{2}{500,000} = 4 \times 10^{-6}$ โมลโคโตซาน

โมลของ NH_2 ก็เท่ากับ $4 \times 10^{-6} \times 2640 = 0.01056$ โมล

ดังนั้นโมล SSA จะเท่ากับ 0.01056 โมล (น้ำหนักโมเลกุลของ SSA เท่ากับ 198.15 กรัมต่อโมล)

ดังนั้น ถ้าใช้โคโตซาน 2 กรัม ต้องใช้กรด SSA เท่ากับ $0.01056 \times 198.15 = 2.092$ กรัม

ซึ่งกรด SSA เข้มข้นร้อยละ 70 โดยน้ำหนัก

ดังนั้น ต้องใช้กรด SSA เท่ากับ 2.989 กรัม

ดังนั้น ถ้าใช้ SSA ในอัตราส่วน 0.1 โดยโมล จะต้องใช้ SSA เท่ากับ $2.989 \times 0.1 = 0.2989$ กรัมต่อ
น้ำหนักโคโตซาน 2 กรัม

2. การคำนวณปริมาณกลูตาโรลดีไฮด์ (GA)

ในการทดลองใช้ GA ร้อยละ 2 กรัมโดยน้ำหนัก

ดังนั้น โคโตซาน 2 กรัม ต้องใช้ GA เท่ากับ $2 \times 0.02 = 0.04$ กรัม

ซึ่ง GA เข้มข้นร้อยละ 25 โดยน้ำหนัก

ดังนั้น ต้องใช้ GA เท่ากับ $\frac{0.04 \times 100}{25} = 0.16$ กรัมต่อน้ำหนักโคโตซาน 2 กรัม

ภาคผนวก ค
ข้อมูลดิบจากการทดลอง

ภาคผนวก ก

ข้อมูลดิบจากการทดลอง

ตารางผนวกที่ ค1 ผลการทดสอบการดูดซับน้ำของเยื่อเลือกผ่านแต่ละชนิด

ชนิดของเยื่อเลือกผ่าน	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	น้ำหนักเปียก (กรัม)	ร้อยละการดูดซับน้ำ
CS			
1	0.04646	0.08752	88.377
2	0.02888	0.05584	89.874
3	0.04303	0.08048	87.032
4	0.02718	0.05064	86.313
5	0.0355	0.0655	84.474
6	0.02642	0.0507	91.904
7	0.03844	0.0726	88.866
CS-0.1SSA			
1	0.03076	0.05846	90.052
2	0.02785	0.05288	89.874
3	0.04862	0.09351	92.328
4	0.03506	0.06683	90.616
5	0.03424	0.06527	90.625
6	0.03142	0.05894	87.587
7	0.03170	0.05945	87.539

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ชนิดของเชื้อเลือกผ่าน	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	น้ำหนักเปียก (กรัม)	ร้อยละการดูดซับน้ำ
CS-0.2SSA			
1	0.0301	0.05841	94.053
2	0.0371	0.0741	99.730
3	0.04015	0.07965	98.381
4	0.02811	0.05577	98.399
5	0.02492	0.04935	98.034
6	0.03343	0.06517	94.945
7	0.03118	0.0613	96.600
CS-0.4SSA			
1	0.03708	0.07684	107.228
2	0.03258	0.06754	107.305
3	0.04009	0.08245	105.662
4	0.04373	0.08945	104.550
5	0.02811	0.05764	105.051
6	0.02526	0.0513	103.087
7	0.03892	0.07981	105.061
CS-0.6SSA			
1	0.03003	0.0586	95.138
2	0.03536	0.0744	110.407
3	0.02653	0.05564	109.724
4	0.03252	0.06766	108.056
5	0.03754	0.05537	97.592
6	0.01936	0.03961	104.597
7	0.02953	0.06059	105.181

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ชนิดของเชื้อเลือกผ่าน	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	น้ำหนักเปียก (กรัม)	ร้อยละการดูดซับน้ำ
CS-0.8SSA			
1	0.02742	0.05262	91.903
2	0.03088	0.06157	99.384
3	0.0275	0.04942	79.709
4	0.02800	0.05208	86.000
5	0.04438	0.0842	89.725
6	0.03800	0.0701	84.473
7	0.03796	0.071	87.038
CS-0.6SSA-2			
1	0.01895	0.04749	150.607
2	0.02399	0.06001	150.146
3	0.02954	0.07309	147.427
4	0.02824	0.07031	148.973
5	0.01706	0.04221	147.421
6	0.01797	0.04403	145.019
7	0.01633	0.03978	143.601
CS-0.6SSA-4			
1	0.02040	0.05212	155.490
2	0.02078	0.05527	165.977
3	0.01928	0.04987	158.662
4	0.0197	0.05418	175.025
5	0.01828	0.04859	165.809
6	0.02425	0.06695	176.082
7	0.01111	0.02996	169.667

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ชนิดของเชื้อเลือกผ่าน	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	น้ำหนักเปียก (กรัม)	ร้อยละการดูดซับน้ำ
CS-0.6SSA-8			
1	0.03586	0.10366	189.069
2	0.02873	0.08140	183.328
3	0.01987	0.05701	186.915
4	0.03496	0.10116	189.359
5	0.03255	0.09125	180.338
6	0.02876	0.08140	183.032
7	0.04039	0.11471	184.006

ตัวอย่างแสดงการคำนวณร้อยละการดูดซับน้ำของ CS

$$\text{ร้อยละการดูดซับน้ำ} = \frac{\text{น้ำหนักเปียก} - \text{น้ำหนักแห้ง}}{\text{น้ำหนักแห้ง}} \times 100$$

$$\text{ดังนั้น ร้อยละการดูดซับน้ำของ CS} = \frac{0.08752 - 0.04646}{0.04646} \times 100$$

$$= 88.377 \%$$

ตารางผนวกที่ ค2 คุณสมบัติเชิงกลของเยื่อเลือกผ่านแต่ละชนิด

ชนิดเยื่อเลือกผ่าน	Max Load	Max Load	Break	Elasticity	Maximum	Stress1	Stress2	strain1	strain2	User
CS	Stress	Elong	Elong		Load	Stress	Stress	Strain	Strain	Function
	MPa			MPa	N	MPa	MPa	strain	strain	
1	14.79	68.68	68.74	----	38.416	0.98	1.32	0.04	0.06	5.63
2	13.06	65.34	65.54	----	33.908	0.83	1.32	0.04	0.06	8.13
3	13.36	86.74	87.09	----	34.692	0.94	1.28	0.04	0.06	5.63
4	14.42	88.1	88.1	----	37.436	0.94	1.32	0.04	0.06	6.29
5	13.81	70.89	70.9	----	35.868	1.13	1.59	0.04	0.06	7.63
Mean	13.89	75.95	76.07	0	36.064	0.96	1.37	0.04	0.06	6.66
Std	0.72	10.67	10.69	0	1.87	0.11	0.13	0	0	1.16

ตารางผนวกที่ ค2 (ต่อ)

ชนิดเชื้อเลือกผ่าน	Max Load	Max Load	Break	Elasticity	Maximum	Stress1	Stress2	strain1	strain2	User
CS-0.1SSA	Stress	Elong	Elong		Load	Stress	Stress	Strain	Strain	Function
	MPa			MPa	N	MPa	MPa	strain	strain	
1	5.93	20.37	20.43	----	15.386	1.59	2.26	0.04	0.06	11.13
2	11.51	50.93	51	----	29.89	1.36	1.89	0.04	0.06	8.79
3	8.15	49.67	49.91	----	21.168	1.06	1.36	0.04	0.06	4.96
4	8.98	40.09	40.38	----	23.324	0.94	1.55	0.04	0.06	10.13
5	5.66	41.34	41.39	----	14.7	0.87	1.17	0.04	0.06	4.96
Mean	8.05	40.48	40.62	0	20.894	1.16	1.65	0.04	0.06	7.99
Std	2.4	12.24	12.27	0	6.237	0.3	0.43	0	0	2.89

ตารางผนวกที่ ค2 (ต่อ)

ชนิดเยื่อเลือกผ่าน	Max Load	Max Load	Break	Elasticity	Maximum	Stress1	Stress2	strain1	strain2	User
CS-0.2SSA	Stress	Elong	Elong		Load	Stress	Stress	Strain	Strain	Function
	MPa			MPa	N	MPa	MPa	strain	strain	
1	5.02	22.54	22.62	----	13.034	1.17	1.66	0.04	0.06	8.13
2	5.06	30.63	30.84	----	13.132	1.02	1.43	0.04	0.06	6.79
3	1.62	4.92	5.06	----	4.214	1.36	0	0.04	0.06	-22.71
4	3.17	13.57	13.91	----	8.232	1.17	1.66	0.04	0.06	8.13
5	3.09	15.78	16.93	----	8.036	0.87	1.28	0.04	0.06	6.79
6	3.28	16.26	16.6	----	8.526	1.02	1.43	0.04	0.06	6.79
Mean	3.54	17.28	17.66	0	9.196	1.1	1.24	0.04	0.06	2.32
Std	1.31	8.67	8.63	0	3.399	0.17	0.63	0	0	12.28

ตารางผนวกที่ ค2 (ต่อ)

ชนิดเยื่อเลือกผ่าน	Max Load	Max Load	Break	Elasticity	Maximum	Stress1	Stress2	strain1	strain2	User
CS-0.4SSA	Stress	Elong	Elong		Load	Stress	Stress	Strain	Strain	Function
	MPa			MPa	N	MPa	MPa	strain	strain	
1	4.83	22.97	22.98	----	12.544	0.94	1.36	0.04	0.06	6.96
2	1.85	10.06	12.54	----	4.802	0.72	1.06	0.04	0.06	5.63
3	4.64	20.06	20.15	----	12.054	1.09	1.59	0.04	0.06	8.29
4	4.6	33.95	34.12	----	11.956	0.68	0.91	0.04	0.06	3.79
5	4.57	20.87	21.38	----	11.858	1.02	1.47	0.04	0.06	7.46
Mean	4.1	21.58	22.23	0	10.643	0.89	1.28	0.04	0.06	6.43
Std	1.26	8.52	7.76	0	3.276	0.18	0.28	0	0	1.76

ตารางผนวกที่ ค2 (ต่อ)

ชนิดเชื้อเลือกผ่าน	Max Load	Max Load	Break	Elasticity	Maximum	Stress1	Stress2	strain1	strain2	User
CS-0.6SSA	Stress	Elong	Elong		Load	Stress	Stress	Strain	Strain	Function
	MPa			MPa	N	MPa	MPa	strain	strain	
1	2.79	13.79	13.94	----	7.252	0.79	1.21	0.04	0.06	6.96
2	12.08	63.97	65.65	----	31.36	0.87	1.32	0.04	0.06	7.46
3	11.81	64.54	65	----	30.674	0.75	1.21	0.04	0.06	7.63
4	8.34	51.52	51.63	----	21.658	0.94	1.4	0.04	0.06	7.63
5	11.21	68.06	68.41	----	29.106	1.13	1.59	0.04	0.06	7.63
Mean	9.25	52.38	52.93	0	24.01	0.9	1.35	0.04	0.06	7.46
Std	3.9	22.46	22.74	0	10.134	0.15	0.16	0	0	0.29

ตารางผนวกที่ ค2 (ต่อ)

ชนิดเยื่อเลือกผ่าน	Max Load	Max Load	Break	Elasticity	Maximum	Stress1	Stress2	strain1	strain2	User
CS-0.8SSA	Stress	Elong	Elong		Load	Stress	Stress	Strain	Strain	Function
	MPa			MPa	N	MPa	MPa	strain	strain	
1	5.32	34.15	34.26	----	13.818	1.13	1.51	0.04	0.06	6.29
2	10.08	66.01	66.22	----	26.166	0.94	1.47	0.04	0.06	8.79
3	7.21	61.7	62.09	----	18.718	1.02	1.4	0.04	0.06	6.29
4	8	61.34	61.78	----	20.776	0.98	1.4	0.04	0.06	6.96
5	7.96	51.13	51.22	----	20.678	1.43	1.96	0.04	0.06	8.79
Mean	7.71	54.87	55.11	0	20.031	1.1	1.55	0.04	0.06	7.42
Std	1.71	12.81	12.91	0	4.442	0.2	0.24	0	0	1.28

ตารางผนวกที่ ค2 (ต่อ)

ชนิดเชื้อเพลิงผ่าน	Max Load	Max Load	Break	Elasticity	Maximum	Stress1	Stress2	strain1	strain2	User
CS-0.6SSA-2	Stress	Elong	Elong		Load	Stress	Stress	Strain	Strain	Function
	MPa			MPa	N	MPa	MPa	strain	strain	
1	3.36	9.9	11.04	----	5.488	1.56	2.22	0.04	0.06	10.96
2	6.61	32.98	32.99	----	10.78	1.32	1.8	0.04	0.06	7.96
3	2.58	8.55	8.84	----	4.214	1.32	1.92	0.04	0.06	9.96
4	6.07	32.71	33.08	----	9.898	1.26	1.68	0.04	0.06	6.96
Mean	4.66	21.03	21.49	0	7.595	1.37	1.91	0.04	0.06	8.96
Std	1.98	13.65	13.36	0	3.231	0.13	0.23	0	0	1.83

ตารางผนวกที่ ค2 (ต่อ)

ชนิดเชื้อเลือกผ่าน	Max Load	Max Load	Break	Elasticity	Maximum	Stress1	Stress2	strain1	strain2	User
CS-0.6SSA-4	Stress	Elong	Elong		Load	Stress	Stress	Strain	Strain	Function
	MPa			MPa	N	MPa	MPa	strain	strain	
1	4.57	28.02	28.3	----	7.448	1.08	1.38	0.04	0.06	4.96
2	2.7	14.48	15.25	----	4.41	1.02	1.38	0.04	0.06	5.96
3	4.45	22.87	23.06	----	7.252	1.14	1.5	0.04	0.06	5.96
4	5.89	31.93	32.97	----	9.604	1.14	1.5	0.04	0.06	5.96
Mean	4.4	24.33	24.9	0	7.178	1.1	1.44	0.04	0.06	5.71
Std	1.31	7.54	7.6	0	2.131	0.06	0.07	0	0	0.5

ตารางผนวกที่ ค3 ค่าการนำโปรตอนของเยื่อเลือกผ่านแต่ละชนิด

ชนิดเยื่อเลือกผ่าน	ความหนาของเยื่อเลือกผ่าน (L) (cm)	ค่าความต้านทาน (R) (Ω)	พื้นที่ของเยื่อเลือกผ่าน (S) (cm ²)	ค่าการนำโปรตอน $\times 10^{-6}$ (S/cm)
CS				
1	0.0233	19012.99	0.21802	5.621
2	0.0151	13990.96	0.21802	5.172
3	0.0140	11617.63	0.21802	5.527
4	0.0144	13209.03	0.21802	5.000
5	0.0110	12664.40	0.21802	3.984
6	0.0091	12475.00	0.21802	3.346
7	0.0070	9513.985	0.21802	3.375
CS-0.1SSA				
1	0.0118	9444.361	0.21802	5.731
2	0.0131	11299.66	0.21802	5.318
3	0.0121	11519.65	0.21802	4.818
4	0.0145	10388.78	0.21802	6.433
5	0.0170	16420.57	0.21802	4.749
6	0.0212	14832.68	0.21802	6.556
7	0.0150	13411.48	0.21802	5.130

ตารางผนวกที่ ค3 (ต่อ)

ชนิดเชื้อเลือก ผ่าน	ความหนาของ เชื้อเลือกผ่าน (L) (cm ²)	ค่าความต้านทาน (R) (Ω)	พื้นที่ของ เชื้อเลือกผ่าน (S) (cm ²)	ค่าการนำ โปรตอน $\times 10^{-6}$ (S/cm)
CS-0.2SSA				
1	0.0130	9648.80	0.21802	6.180
2	0.0127	10440.44	0.21802	5.579
3	0.0127	9059.71	0.21802	6.430
4	0.0132	10585.44	0.21802	5.720
5	0.0131	10377.00	0.21802	5.790
6	0.0143	12190.44	0.21802	5.381
7	0.0129	10791.38	0.21802	5.483
CS-0.4SSA				
1	0.0145	9527.17	0.21802	6.981
2	0.0156	9649.07	0.21802	7.416
3	0.0151	9512.16	0.21802	7.281
4	0.0131	10475.99	0.21802	5.736
5	0.0128	8201.12	0.21802	7.159
6	0.0143	9182.88	0.21802	7.143
7	0.0155	9719.22	0.21802	7.315

ตารางผนวกที่ ค3 (ต่อ)

ชนิดเชื้อเลือก ผ่าน	ความหนาของ เชื้อเลือกผ่าน (L) (cm ²)	ค่าความต้านทาน (R) (Ω)	พื้นที่ของ เชื้อเลือกผ่าน (S) (cm ²)	ค่าการนำ โปรตอน $\times 10^{-6}$ (S/cm)
CS-0.6SSA				
1	0.0161	9240.08	0.21802	7.992
2	0.0190	9797.44	0.21802	8.895
3	0.0192	10604.13	0.21802	8.305
4	0.0208	11048.94	0.21802	8.635
5	0.0148	9453.97	0.21802	7.181
6	0.0194	11646.63	0.21802	7.640
7	0.0183	11721.83	0.21802	7.161
CS-0.8SSA				
1	0.0172	11360.44	0.21802	6.945
2	0.0209	15251.24	0.21802	6.286
3	0.0180	15411.97	0.21802	5.357
4	0.0165	11652.97	0.21802	6.495
5	0.0225	14522.39	0.21802	7.092
6	0.0213	18345.63	0.21802	5.328
7	0.0165	11957.5	0.21802	6.329
CS-0.6SSA-2				
1	0.0138	1339.91	0.21802	47.2
2	0.0166	1504.26	0.21802	50.6
3	0.0144	1457.10	0.21802	45.3
4	0.0159	1896.56	0.21802	38.5
5	0.0170	1900.99	0.21802	41.0
6	0.0170	1918.44	0.21802	40.6
7	0.0171	1712.26	0.21802	45.8

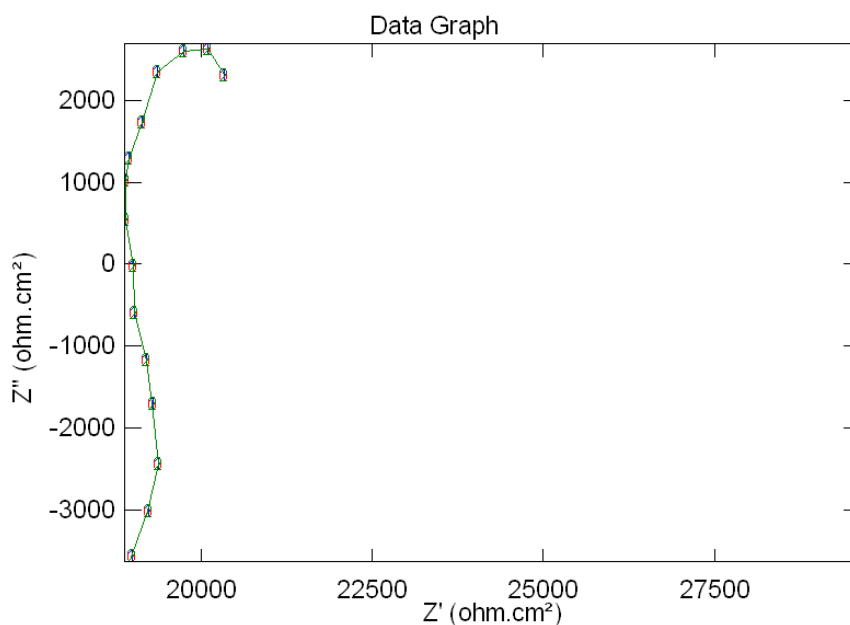
ตารางผนวกที่ ค3 (ต่อ)

ชนิดเยื่อเลือก ผ่าน	ความหนาของ เยื่อเลือกผ่าน (L) (cm ²)	ค่าความต้านทาน (R) (Ω)	พื้นที่ของ เยื่อเลือกผ่าน (S) (cm ²)	ค่าการนำ โปรตอน $\times 10^{-6}$ (S/cm)
CS-0.6SSA-4				
1	0.0173	851.39	0.21802	93.2
2	0.0186	826.74	0.21802	103
3	0.0183	835.34	0.21802	100
4	0.0187	779.56	0.21802	110
5	0.0193	881.33	0.21802	100
6	0.0183	912.50	0.21802	92.0
7	0.0192	820.95	0.21802	107
CS-0.8SSA-8				
1	0.0134	485.052	0.21802	127
2	0.0152	513.411	0.21802	136
3	0.0171	584.063	0.21802	134
4	0.0121	352.386	0.21802	157
5	0.0166	495.270	0.21802	154
6	0.0181	529.187	0.21802	157
7	0.0200	681.546	0.21802	135

ตัวอย่างแสดงการคำนวณค่าการนำโปรตอนของ CS

ค่าการนำโปรตอนคำนวณได้จากสมการ
$$\sigma = \frac{L}{RS}$$

โดยค่าความต้านทาน (R) มาจากกราฟ Nyquist ที่พลอตระหว่างส่วนจริง (Z') และส่วนจินตภาพ (Z'') โดยค่าความต้านทานคือการอ่านค่า Z' ที่ Z'' เท่ากับ 0 แสดงดังภาพผนวกที่ ค1 และจะได้ข้อมูล แสดงดังตารางภาคผนวกที่ ค4



ภาพผนวกที่ ค1 กราฟ Nyquist ของโคโตะซานที่ทำการวัดครั้งที่ 1

ตารางผนวกที่ ค4 ค่าส่วนจริง (Z') และส่วนจินตภาพ (Z'') ที่อ่านได้จากกราฟ

Z' (ohm.cm ⁻¹)	Z'' (ohm.cm ⁻¹)	Impedance (ohm.cm ⁻¹)	Frequency (Hz)	Theta
19036	-592.7	19046	5955.6	-1.7833
19018	-24.56	19018	4310	-0.0739923
18903	539.11	18911	3119.2	1.6336
18908	1022.9	18936	2257.4	3.0968

จากตารางผนวกที่ ค4 การหาค่า Z' ที่ Z'' เท่ากับ 0 ต้องทำการประมาณค่าในช่วง คือ

$$\frac{18903 - 19018}{539.11 - (-24.56)} = \frac{Z' - 19018}{0 - (-24.56)}$$

ดังนั้น ค่าความต้านทาน เท่ากับ 19012.99 Ω

ส่วนพื้นที่หน้าตัดของเยื่อเลือกผ่าน (S) คำนวณจาก สูตรพื้นที่วงกลม $S = \frac{\pi D^2}{4}$

โดยเยื่อเลือกผ่านมีเส้นผ่านศูนย์กลาง เท่ากับ 0.0527 cm

ดังนั้น พื้นที่หน้าตัดของเยื่อเลือกผ่าน (S) เท่ากับ 0.21802 cm²

ดังนั้น CS ซึ่งมีความหนาเท่ากับ 0.0233 cm จะมีค่าการนำโปรตอน

$$\frac{0.0233}{19012.99 \times 0.21802} = 5.621 \times 10^{-6} \text{ S/cm}$$

ตารางผนวกที่ ค5 ค่าศักย์ซีต้าของเยื่อเลือกผ่านก่อนและหลังการควอเทอไนซ์

ชนิดเยื่อเลือกผ่าน	ศักย์ซีต้า (mV)		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
CS	8.99	8.48	9.28
CS-0.6SSA-0	1.41	2.24	2.90
CS-0.6SSA-2	12.1	12.1	12.3
CS-0.6SSA-4	33.5	30.2	33
CS-0.6SSA-8	45.3	44.3	46.3

ภาคผนวก ง
ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ



Application of modified chitosan membrane for microbial fuel cell: Roles of proton carrier site and positive charge

Penjit Srinophakun, Anusith Thanapimmetha, Sansaporn Plangsri, Sutamart Vetchayakunchai, Maythee Saisriyoot*

Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Kasatsart University, 50 Ngumwongwan Road, Janjak, Bangkok 10900, Thailand

ARTICLE INFO

Article history:
Received 19 January 2016
Received in revised form
23 June 2016
Accepted 25 June 2016
Available online xxx

Keywords:
Microbial fuel cell
Chitosan
Proton exchange membrane
Renewable energy

ABSTRACT

Modified chitosan membrane was synthesized as a proton exchange membrane for microbial fuel cell application. Glutaraldehyde and sulfosuccinic acid were used as crosslinking agents in order to improve its ultimate tensile strength and proton conductivity. 3-Chloro-2-hydroxypropyl trimethylammonium chloride was employed for quaternization to develop its antimicrobial activity. The results showed that the proton conductivity of the membrane was enhanced with the content of sulfosuccinic acid, as a result of proton carrier sites, until a certain value was reached. The additional positive charge from quaternization increased with the reaction time. The morphological change of microorganisms in contact with the surface of the quaternized chitosan membrane exhibited damage and the number of damaged microorganisms increased with the positive charge density; nevertheless, the high positive charge density resulted in not only a high antimicrobial property, but also in significant water uptake of the quaternized chitosan membrane. As a consequence, the strength of the membrane was lost. Additionally, the positive charge also accelerated the adhesion of microorganisms at the membrane surface, but the surface growth could be retarded due to the high number of microorganisms being damaged.

© 2016 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

The demand for alternative, non-fossil-fuel-based technologies as well as their research are being rapidly promoted, together with the implementation of environmentally oriented management leading to decentralized options and renewable sources especially regarding waste-to-energy (Wang et al., 2015). As a result, more and more attention has been paid to microbial fuel cells as a promising alternative energy resource, from which wastewater treatment and reuse along with bioenergy generation can be accomplished with many operational and functional advantages including cleaner, safer and quieter performance, low emissions, high efficiency, moderate operating temperatures and direct electricity recovery. Almost all kinds of wastewater, can be used as a source of energy in a microbial fuel cell application, for example, municipal waste liquor (Kook et al., 2016), swine wastewater (Min et al., 2005), domestic wastewater (Puig et al., 2011) and even aqueous Co(II) (Huang et al., 2015). The most practical application is

the treatment of high organic content wastewater on a large scale due to the higher energy density of the source. One example of a pilot scale MFC microbial fuel cell using domestic wastewater (Jiang et al., 2011) demonstrated that up to 380 mW/m² could be produced. Additionally, 24,758 kWh annually could also be theoretically generated from 100,000 l/day wastewater (Fomero et al., 2010).

A microbial fuel cell (MFC) is a bioelectrochemical system employing microorganisms to degrade substrate and generate electricity. Generally, an MFC consists of anode and cathode compartments, which are separated by a proton exchange membrane (PEM). In the anode part, electrochemically active microorganisms oxidize the organic and/or inorganic effluents. The electrons resulting from the cellular respiratory pathways are conveyed through an electron transfer chain to the negative terminal and further flow to the positive terminal (or electron acceptor terminal) linked by an external circuit; meanwhile, protons diffuse through the PEM toward the cathode compartment. The protons and electrons are subsequently consumed in a reduction process with oxygen to form water. The oxidation process in the anode compartment and the reduction at the surface of the positive terminal create a potential difference and a current can be drawn out

* Corresponding author.
E-mail address: fmgmbs@ku.ac.th (M. Saisriyoot).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.06.153>
0959-6526/© 2016 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Please cite this article in press as: Srinophakun, P., et al., Application of modified chitosan membrane for microbial fuel cell: Roles of proton carrier site and positive charge, Journal of Cleaner Production (2016), <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.06.153>

through an external circuit.

The operation of a PEM is one of the most crucial factors in MFC performance. Excellent transport ability to carry protons from anode to cathode compartments in MFCs must be effectively provided. Moreover, PEMs should ideally be able to prevent the transfer of substrate and oxygen (Liu and Logan, 2004; Min et al., 2005; Rahimnejad et al., 2012).

At present, nearly all of the commercially available PEMs are based on Nafion, a long side chain perfluorosulfonic acid (PFSA) membrane with hydrophilic sulfonic acid groups (SO_3H) chemically grafted onto a hydrophobic fluorocarbon backbone. Nafion possesses not only high selectivity to protons, but also favorable chemical and physical stability (Lee et al., 2008; Peighambari et al., 2010). Nonetheless, Nafion is also the most expensive component of MFCs representing around 40% of the total cost of a finished MFC (Patra, 2008; Rozendal et al., 2008). Consequently, alternative commercial PEMs have been proposed by many researchers.

Hyfon, a short side chain PFSA, exhibits higher proton conductivity and better chemical stability than Nafion, while its internal resistance is higher (Ieropoulos et al., 2010). Zirfon, a diaphragm separator, made from very fine zirconium oxide particles (85 wt%) and the polymer polysulfone (15 wt%), was also investigated with an acetate MFC. Its ionic resistance outperformed that of Nafion but its high oxygen permeability was a drawback (Pant et al., 2010). Ultrex CMI 7000, a strong acid cation exchange membrane with gel polystyrene crosslinked with divinylbenzene, has also been employed by many researchers (Hamisch et al., 2008; He and Mansfeld, 2009; Rabaey et al., 2003; Sun et al., 2012). Together with its lower cost, Ultrex CMI 7000 demonstrated satisfactory proton conductivity and mechanical durability while its ohmic resistance was comparatively high.

Chitosan (CS), a cost effective and eco-friendly polymer electrolyte-based membrane from the exoskeleton of crustaceans such as crabs and shrimps and from the cell walls of fungi, is expected to a promising substitute utilized in fuel cells. It is a natural polymer with repeating structural units of 2-amino-2-deoxy-(1,4)- β -D-glucopyranose. It is also among the best candidates to replace Nafion for fuel cell application due to its excellent biocompatibility, biodegradability, non-toxicity and chemical and thermal stability (Ma and Sahai, 2013; Malmiri et al., 2012; Varshney and Gupta, 2011); nevertheless, the proton conductivity and mechanical strength of CS films are comparatively lower than those of Nafion. This drawback presents decisive problems and limits the use of this material in a variety of fields. Fortunately, the backbone of CS has certain functional groups—free amine ($-\text{NH}_2$) and hydroxyl ($-\text{OH}$) groups—that can provide CS with high hydrophilicity (Mukoma et al., 2004; Tsai and Wang, 2008). Moreover, these functional groups allow chemical modification to improve the properties of chitosan membrane.

Various chemical modifications of CS have been performed to improve its properties. A common modification is crosslinking to stimulate its mechanical and chemical stability. In this process, three dimensional networks are formed through interconnection between CS chains by crosslinker (Dashtimoghdam et al., 2010; Mi et al., 2005; Uragami et al., 2002; Witt et al., 2010). Sulfonation, an organic reaction in which a hydrogen atom on functional groups of CS is replaced by a sulfonic acid functional group, has also been investigated by many researchers (Jaya Kumar et al., 2007; Tsai et al., 2010; Xiang et al., 2009). Graft polymerization, a polymerization of a monomer initiated from radicals formed on a CS backbone, has been used to exert new properties or functionalities, while the thermodynamic stability and phase separation remain intact (Dawwanchakul and Sirikhajornnam, 2013; Jayakumar et al., 2005; Jiang et al., 2012; Torres et al., 2015). Quaternization, an

introduction of a permanent positively charged quaternary ammonium group on a dissociated hydroxyl group or amino group, has been employed to increase the water solubility and antimicrobial activity of CS (Mohamed et al., 2013; Nechita et al., 2015; Sajomsang et al., 2009; Tan et al., 2013).

In this present work, the functionality-oriented development of chitosan as a PEM for MFCs is proposed. For this purpose, sulfosuccinic acid (SSA) and 3-chloro-2-hydroxypropyl trimethylammonium chloride (Quat-188) were selected as a representative of proton carrier sites and positively charged molecules in the membrane, respectively. The effects of these key parameters on the chemical, mechanical, electrical and biological properties of CS membrane were analyzed. To the extent of our knowledge, this is the first time that a comprehensive investigation of the synthesis and characterization and identification of the effects of these two parameters on an actual MFC operation of modified chitosan membranes has been revealed.

2. Materials and methods

Chitosan (85% degree of deacetylation, molecular weight = 500,000 Da) was purchased from Seafresh Chitosan (Lab) Co., Ltd, Thailand. Sulfosuccinic acid (70 wt% aqueous solution, Sigma Aldrich), glutaraldehyde (25% solution, Unilab), 3-chloro-2-hydroxypropyl trimethylammonium chloride (60% solution, Sigma Aldrich), acetic acid (VWR international), hydrochloric acid (37% solution, QREC Chemical), iodine (Fisher Scientific), tryptone (HiMedia), yeast extract (HiMedia), sodium chloride (Alpha) and sodium hydroxide (Ajax Finechem) were analytical grade and used as received. The seed anaerobic sludge was collected from the Upflow Anaerobic Sludge Blanket (USAB) reactor (Cho Heng Rice Vermicelli Factory Co. Ltd, Thailand). Graphite felt (carbon-99%) was purchased from Beijing Great Wall, China.

2.1. Synthesis of membranes

Initially, 2 wt% aqueous solution of CS was prepared by dissolving 2 g of CS powder in 100 ml of 2% (v/v) acetic acid solution with a minimal quantity of hydrochloric acid. After the CS powder had completely dissolved, various amounts of SSA (0.2, 0.4, 0.6 and 0.8 mol ratio by amine groups of CS) were added. After 24 h of mixing, the solution was treated with 2 wt% GA for a further 24 h. The final homogeneous mixture was cast on Petri dishes and dried in the oven at 40 °C. The dehydrated membranes were neutralized with 1 M NaOH and washed intensively with water until a neutral pH of wash water was reached. Finally, the membranes with a thickness of approximately 120–140 μm were kept in deionized water before being used.

For the quaternization, Quat-188 solution was adjusted to pH 8 using 15% (w/v) NaOH solution. Then, 0.25 g of iodine per 20 ml of Quat-188 was added. The crosslinked CS membrane was dipped into Quat-188 solution for 2, 4 and 8 h at room temperature. Finally, the quaternized CS membranes were washed rigorously with water for neutralization.

2.2. Characterization of modified CS membranes

FT-IR spectra of the crosslinked membranes were obtained using the Bruker (TENSOR 27) FT-IR spectrometer with the wave numbers ranging from 4000 to 400 cm^{-1} .

Water uptake, as a swelling behavior, was determined by measuring the weight difference of the membrane under wet and dry conditions. The samples were dried in an oven at 65 °C for 24 h and kept in a dehumidifier at 35% RH under room temperature until a constant weight was reached. The weighed samples were then

soaked in deionized water for 24 h at room temperature. The excess of water on the surface of the sample was quickly removed with filter paper, and the samples were then reweighed. This process was repeated several times. Finally, the water uptake ratio was determined using Equation (1):

$$\% \text{water uptake} = \frac{w_w - w_d}{w_d} \times 100 \quad (1)$$

where w_w and w_d are the weight of wet and dried membranes, respectively.

Mechanical properties of the fully hydrated membranes were measured according to the ASTM D882-02, Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting, using a Cometech (Model B1) Tensile Testing Machine; the gauge length and the crosshead speed were 30 mm and 5 mm/min, respectively. The test specimens were cut into strips 70 mm long and 25.9 mm wide.

The proton conductivity of fully hydrated membrane in deionized water was measured using the two-point probe method. AC impedance measurements for resistance evaluation were performed by AC Gill (Field Machine 871) with the frequency range from 30 kHz to 1 kHz and amplitude of 10 mV. The proton conductivity of the samples was calculated using Equation (2):

$$\sigma = \frac{L}{RS} \quad (2)$$

where σ is the proton conductivity (S/cm); L is the thickness (cm) of the membrane; S is the contact area between the electrodes and the membrane (i.e., the electrode surface area, 0.03143 cm²); and R is the bulk membrane resistance (Ω) calculated from the Nyquist plot.

The zeta potential of quaternized CS membrane was measured using a Zetasizer (Malvern, Nano-ZS90) at 25 °C with a scattering angle of 173°.

Scanning Electron Microscopy (SEM; JEOL, JSM-5410LV) was used to examine the morphology of microorganisms on the quaternized CS membranes after incubation for 72 h.

2.3. MFC construction, operation and analysis

A batch mode of a dual chamber MFC was used as shown in Fig. 1. The MFC setup consisted of two 600 ml chambers joined

through a short tube and separated by a membrane. A modified chitosan membrane was applied as the proton exchange membrane (26 mm diameter) separating the two compartments. Anode and cathode electrodes were made of graphite felt (50 × 50 × 30 mm). These two electrodes were connected by a copper wire through an analog-to-digital converter and the anode chamber was mixed gently using a magnetic stirrer.

The electrode spacing between the anode and cathode was 70 mm, and seed anaerobic sludge functioned as microorganisms (18 g/600 ml of cultural medium) in the anode chamber.

The anodic/cultural medium contained 10 g/l tryptone, 5 g/l yeast extract and 10 g/l NaCl at pH 7. The medium was purged with nitrogen for 30 min before the operation took place. The MFC was operated at 30 °C. The air flow rate into the cathode chamber was 1.5 l/min during operation.

The Open Circuit Voltage (OCV) of the MFC was monitored through a 24-bit analog-to-digital converter (Futek DAQ-1411, ±1.25 V voltage range) with a sampling rate of 3.34 mHz. Internal resistance was characterized using electrochemistry impedance spectrometer (EIS) methods (He and Mansfield, 2009). Scanning was performed after the cell had been operating under open-circuit conditions for 72 h. The impedance measurement was taken from 30 kHz to 0.01 Hz by applying a sine wave with an amplitude of 10 mV.

3. Results and discussion

The dissolved chitosan in acetic acid solution was initially crosslinked with SSA at various ratios followed by a constant ratio of GA. A crosslinked membrane with optimal proton conductivity and mechanical properties was then quaternized with Quat-188.

3.1. Crosslinking characterization and its effects on membrane properties

The FT-IR spectra of the CS and crosslinked CS membranes are presented in Fig. 2. The resultant crosslinked membranes are designated as xSSA where x is the mole ratio of SSA by amine groups.

In the case of the chitosan-based structure (CS), the IR band at approximately 1559 cm⁻¹ corresponded to N-H deformation of

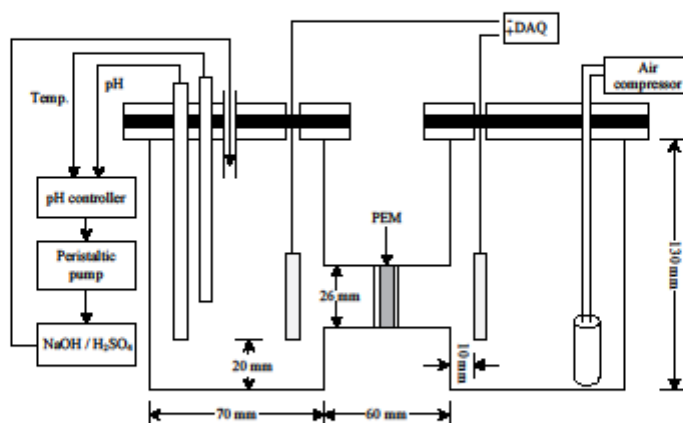


Fig. 1. Dual chamber microbial fuel cell used in this work.

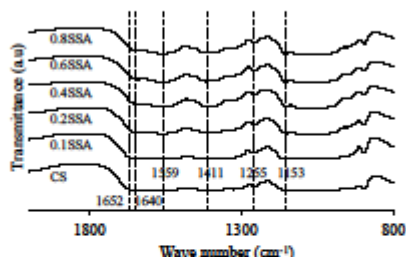


Fig. 2. FT-IR spectra of the CS and crosslinked CS membranes.

primary amine groups and the band at 1652 cm^{-1} could be assigned to C–O stretching in amide groups (Wang et al., 2004). The band at 1255 cm^{-1} represented the C–H of CH_3 groups from the acetamide group, indicating that CS was not completely deacetylated (Dashtimoghadam et al., 2010). After crosslinking with SSA and GA, the spectral band of crosslinked membranes at 1153 cm^{-1} and related to O–S–O became more apparent when the content of SSA increased (Meeanakshi et al., 2012; Stuart, 2004).

Compared with possible structural scheme for the crosslinking with GA or SSA interactions previously studied (Dashtimoghadam et al., 2010; Witt et al., 2010), the significant band at 1652 cm^{-1} shifting to 1640 cm^{-1} probably consisted of both the imine (C–N) stretching band of Schiff's base from GA, as shown in Fig. 3(a), and amide I from the interaction between the NH_2 of the CS and carbonyl groups of SSA, as shown in Fig. 3(d) (Pieróg and Ostrowska-Czubenko, 2010). With increasing amounts of SSA, that peak became more evident. This phenomenon can be described from two aspects. First, the interaction between the SSA and CS had no influence on the number of potential amine groups to bind with GA (more bonds with SSA, constant bonds with GA). Second, this interaction generated the opposite result on the possible number of bonds of GA (more bonds with SSA, fewer bonds with GA), but the rate of increase in SSA bonds was still more than that of the decrease in the number of GA bonds. Moreover, there was also a peak at 1411 cm^{-1} related to the C–O–H in carboxylic groups (Silverstein et al., 2005), implying that the

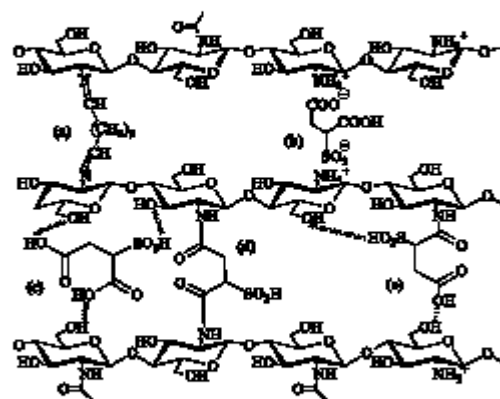


Fig. 3. Possible structures scheme for the crosslinking with GA (a) or SSA (b, c, d and e) interactions.

interaction between SSA and CS, as shown in Fig. 3(c) and (e), feasibly occurred. Furthermore, a peak at 1559 cm^{-1} became apparent, suggesting that the NH_2^+ of CS might interact with ionic groups of SSA as shown in Fig. 3(b).

3.1.1. Proton conductivity and water uptake

Proton conductivity of the membrane plays an important role in the performance of MFCs in terms of the operational fuel cell voltage and current output. The proton transfer across the membranes might originate from two mechanisms. The first is the Grotthuss mechanism, wherein protons are passed from one proton carrier site—namely, $-\text{NH}_2$, $-\text{NH}_3^+$ or $-\text{SO}_3\text{H}$, which has abilities of dissociating H^+ and forming a hydrogen bond—to a neighboring one. The second is the vehicle mechanism, wherein protons combine with water molecules to produce hydronium ions, for example, H_3O^+ , H_5O_2^+ , and H_9O_4^+ , etc., migrating through a stream of water. The proton conductivity of crosslinked CS membranes with different mole ratios of SSA is shown in Fig. 4. The proton conductivity was enhanced with the amount of SSA as a result of SO_3H groups inducing more water uptake (the vehicle mechanism) and acting as conducting sites for proton transfer (the Grotthuss mechanism); nevertheless, the maximum proton conductivity of 0.0554 mS/cm was limited at 0.6 mol ratio of SSA. Above that dosage, the proton conductivity declined. From this behavior, it can be assumed that the SO_3H group might be involved in the crosslinking (Fig. 3(b), (c) and 3(e)) and could also lead to restriction of the conduction channels owing to over crosslinking.

The amount of water uptake of the membranes is displayed in Fig. 4. The water uptake continuously increased with the content of SSA up to 0.6 mol ratio due the hydrophilic behavior of the SO_3H groups which had a strong affinity toward water molecules; nevertheless, the existence of the SO_3H groups not only enhanced this physical property, but crosslinking of CS took part in the mechanical properties of the whole membranes as well. By increasing the SSA content up to 0.8 mol ratio, the crosslinking of the membrane was increased, leading to a more compact structure of the membrane, resulting in less accommodation of H_2O molecules; subsequently the water uptake was reduced.

3.1.2. Mechanical properties

The mechanical properties of the membranes are presented in Table 1. Up to an SSA mole ratio of 0.2 , the tensile strength of the membranes was reduced by the introduction of the SSA because the SO_3H groups of the SSA made the membrane more hydrophilic; nevertheless, if more SSA was applied, the tensile strength of the membranes was dominated by the effect of intermolecular forces

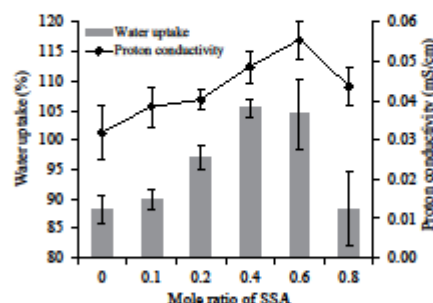


Fig. 4. Water uptake and proton conductivity of crosslinked membranes as a function of SSA mole ratios.

Table 1
Mechanical properties of CS and crosslinked CS membranes.

Mole ratio of SSA	Tensile strength (MPa)	Elongation (%)	Young's modulus (MPa)
0	10.57 ± 0.55	74.99 ± 9.85	5.17 ± 0.76
0.1	6.82 ± 1.40	43.70 ± 5.21	7.46 ± 0.16
0.2	2.51 ± 0.09	15.20 ± 1.43	6.87 ± 0.81
0.4	2.83 ± 0.18	21.30 ± 1.50	4.19 ± 0.36
0.6	6.70 ± 0.30	60.01 ± 7.35	4.27 ± 0.11
0.8	3.65 ± 0.13	58.06 ± 6.00	3.49 ± 0.37

All values expressed as mean ± SD (n = 5).

from crosslinking rather than the hydrophilic behavior of the sulfonic groups, leading to a rise in the tensile strength in the regime between 0.2 and 0.6 mol ratios of SSA. Above that regime, the tensile strength fell again, implying that developed interactions between the CS and SSA (Fig. 3) might not be random in manner. In other words, at a 0.8 mol ratio of SSA, interaction of the type shown in Fig. 3(b), (c) or 3(e) was generated in greater proportion, in which there are weaker intermolecular interactions compared with those in Fig. 3(d).

The results of crosslinking the CS membrane indicated that the highest proton conductivity and ultimate tensile strength (0.0554 mS/cm and 6.698 MPa, respectively) were obtained simultaneously with a 0.6 mol ratio of sulfosuccinic acid. Thus, the 0.6 mol ratio was taken to the following quaternization step.

3.2. Quaternization and its effects on membrane properties

The zeta potentials, which represent the surface charge density of the quaternized CS membrane (Fig. 5) originated from Quat-188 for reaction times 0, 2, 4 and 8 h, are shown in Table 2. From the results, the zeta potential values increased with the reaction time of quaternization—a fact which could be accounted for by the greater addition of a positive charge from Quat-188. Furthermore, the higher positive charge promoted more water to be adsorbed inside the membrane.

3.2.1. Proton conductivity and water uptake

The mobility of the proton is decisively dependent on the water content (degree of hydration) of the membrane because the transportation of the proton arises inside the water channels lined with proton carrier sites in the backbone of the polymer. With the crosslinking with SSA, sulfonate counter-ions ($-\text{SO}_3^-$) are responsible for the proton transfer by the Grotthuss mechanism in which the dissociation and formation of mobile protons are mandatory. This mechanism necessitates the existence of water behaving as a "proton solvent" (Balog et al., 2010). Furthermore, the water itself functions as a vehicle to transport hydronium ions (vehicle mechanism). In the quaternization with Quat-188, the quaternary ammonium group lacks the ability to be a proton carrier site; nevertheless, this positively charged group augments the water uptake substantially.

The proton conductivity of the quaternized CS membrane as a function of quaternizing time is presented in Fig. 6. Increasing the quaternizing time resulted in increased proton conductivity. The CS



Fig. 5. Quaternization of CS membrane using Quat-188.

Table 2
Zeta potential of CS and quaternized CS membranes.

Type of membrane	Zeta potential (mV)
CS	+8.92 ± 0.47
CS-0.6SSA-0	+2.18 ± 0.75
CS-0.6SSA-2	+12.17 ± 0.12
CS-0.6SSA-4	+32.23 ± 1.78
CS-0.6SSA-8	+45.30 ± 1.00

All values expressed as mean ± SD (n = 3).

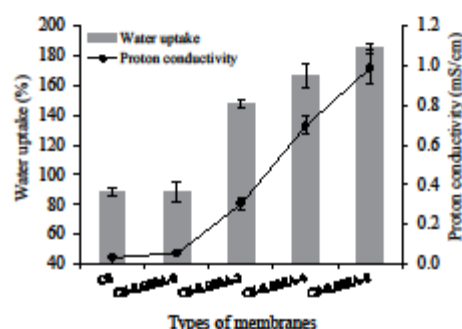


Fig. 6. Water uptake and proton conductivity of quaternized membranes as a function of quaternizing time.

membrane quaternized for 8 h had the highest proton conductivity (0.9919 mS/cm). Although the proton conductivity of the chitosan membrane can be increased substantially through quaternization, the highest value was still less than that of Nafion which has values of 53, 59 and 63 mS/cm for Nafion 112, 115 and 117, respectively (Soboleva et al., 2008). Additionally, the water uptake also has a detrimental effect on the mechanical properties of the membrane. Therefore, the balance between both properties is critical.

3.2.2. Mechanical properties

The impact of the high water uptake on mechanical properties by means of quaternization is shown in Table 3. The ultimate tensile strength decreased with increasing reaction time indicating that the more positive the charge density, the weaker the mechanical properties that are unavoidably obtained. Moreover, the quaternized CS membrane from a reaction time of 8 h could not be prepared for mechanical testing due to its fragility. The ultimate tensile strength from a reaction time of 4 h was 2.62 MPa which was also lower than that of Nafion 112 (19.1 MPa, Liu et al., 2003), Nafion 115 (15.8 Mpa, Shao et al., 2006) and Nafion 117 (17 MPa, Li et al., 2015), but this membrane was strong enough for its task, therefore it was employed for further investigation.

Table 3
Mechanical properties of CS and quaternized CS membranes.

Type of membrane	Tensile strength (MPa)	Elongation (%)	Young's Modulus (MPa)
CS	10.57 ± 0.55	75.44 ± 9.85	5.17 ± 0.76
CS-0.6SSA-0	6.70 ± 0.30	60.01 ± 7.35	4.27 ± 0.11
CS-0.6SSA-2	3.84 ± 0.27	31.23 ± 2.79	4.52 ± 0.91
CS-0.6SSA-4	2.62 ± 0.29	27.61 ± 4.54	2.97 ± 0.12
CS-0.6SSA-8	n/a	n/a	n/a

All values expressed as mean ± SD (n = 5).

3.2.3. Microorganism morphology

Biofouling is the biggest challenge in the development of a proton exchange membrane for MFCs. It arises on the anode side of the membrane surface by the formation of biofilm due to microorganisms and organic substrate. This biofilm deteriorates membrane performance and durability (Choi et al., 2011; Xu et al., 2012). Several methods have been proposed to avoid this circumstance. In the anti-adhesion approach, the membrane is chemically modified to prevent cellular adhesion and substrate adsorption (Sun et al., 2012; Tang et al., 2015, 2013). In the antimicrobial approach, the membrane is modified to kill or disrupt bacteria adhering to the membrane (Madaeni et al., 2011; Rusen et al., 2014; Zhang et al., 2012).

Antimicrobial activity is also one of the advantageous properties of CS since it enhances the use of MFCs in terms of its usable lifetime; nevertheless, CS exhibits antimicrobial activity only in an acidic medium, a feature which is ascribed to the poor solubility of CS above its pKa (pH 6.5). Quaternization of the amino groups with Quat-188 introduces permanently positively charged quaternary ammonium groups to the backbone of CS and has been recognized

as a potential route to improve the antimicrobial activity of PEMs over a broader pH range (Vallapa et al., 2011; Witrachai et al., 2012).

Several mechanisms of antimicrobial activity of CS have been proposed; nonetheless, the exact mechanism is still uncertain (Raafat et al., 2008; Rabaa et al., 2003). It has been suggested that the positive charge of CS molecules allows interactions with negatively charged microbial cell membranes, giving rise to the leakage of proteinaceous and other intracellular components (Helander et al., 2001; Liu et al., 2004).

The damaging impact on microorganisms by the quaternized CS membranes is related to the zeta potential (Table 2) of the membranes. The morphology of those microorganisms determined by SEM exhibits morphological change of those microorganisms in contact with the surface of the CS and quaternized CS membranes after 72 h of incubation. As shown in Fig. 7(a), the morphology of some cells on the CS membrane (CS) was deformed, while the crosslinked CS membrane (CS-0.6SSA-0) exhibited lower antimicrobial action (Fig. 7(b)) due to the positive charge (NH_4^+) being depleted by crosslinking reaction. Fig. 7(c) and (d) display the damage inflicted on microorganisms on the quaternized CS

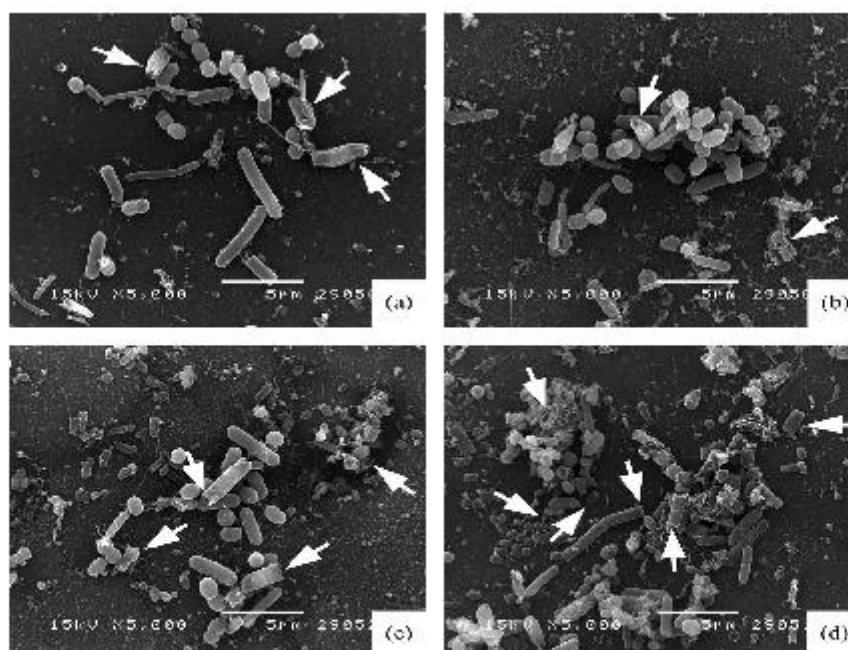


Fig. 7. SEM micrographs of (a) chitosan, (b) CS-0.6SSA-0 (c) CS-0.6SSA-2 and (d) CS-0.6SSA-4 membranes.

Please cite this article in press as: Srinophakun, P., et al., Application of modified chitosan membrane for microbial fuel cell: Roles of proton carrier site and positive charge, Journal of Cleaner Production (2016), <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.06.153>

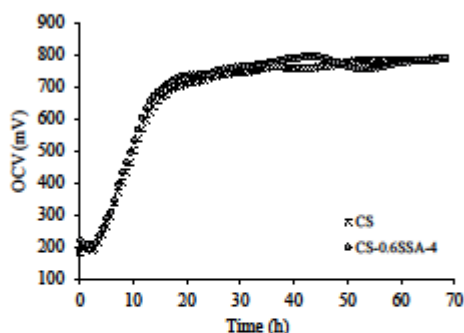


Fig. 8. Open circuit voltage of microbial fuel cell with CS and modified CS membranes under no-load conditions.

membranes (CS-0.6SSA-2 and CS-0.6SSA-4, respectively). Some cells were apparently broken and deformed from their original shape, especially those of the CS-0.6SSA-4 membrane.

It is worth noting that increased membrane surface positive charges led to an increased number of microorganisms attaching to the surface of the membrane because the positive charges at the membrane surface pull the negative charges in the microbial cell membrane close to them, hence the adhesion of microorganisms at the membrane surface is accelerated with quaternized membranes; nevertheless, peeling off the microorganisms from the quaternized membrane, compared with that from the unquaternized one, should be faster because a higher number of microorganisms are damaged. In the same way, Gottenbos et al. (2001) found that the bacteria adhered rapidly to the positively charged surface of their modified membrane, but there was no subsequent surface growth. As a result, membrane fouling can be prolonged or even prevented. This scenario should be taken into consideration.

3.3. Performance of microbial fuel cell

The highest voltage generated in an MFC is the open circuit voltage (OCV). An evolution in the OCV was observed and recorded in Fig. 8 with an initial OCV generation of 189 and 219 mV by the MFCs with CS and CS-0.6SSA-4 membranes, respectively.

The lag phase of both MFCs was almost identical, taking around 3 h. In this period, adaptation of microorganism cells to exploit new environmental conditions took place; the cells did not divide. This process could embrace repair of macromolecular damage accumulated during the period of non-growth, synthesis of cellular components required for growth, colonizing the electrode and manufacturing enzymes or structures necessary for electrons transferring outside the cell. Once everything had settled, the cells

entered exponential growth (or log phase) in which the number of cells, or “living electron generators”, increased twofold with each consecutive time period, thereby resulting in an exponential jump in the OCV. A stationary phase arose when the growth rate and death rate were equal, leading to a constant number of “living electron generators” and, as a result, a constant OCV. In this phase, an OCV of around 790 mV was recorded for both MFCs. The OCV should be equal to the maximum possible potential (E_{mf}) which is theoretically in the order of 1.1 V (Logan et al., 2006); nevertheless, the measured OCV was lower due to various potential losses inside the MFC. The performance of any MFC depends on a combination of the intrinsic internal resistance consisting of: the ohmic resistance (R_{ohm}); resistance to electron transport within the cell components (electrodes and interconnections) and resistance to proton transfer through PEM (or membrane resistance represented in terms of membrane conductivity) and anodic and cathodic electrolytes, charge-transfer resistance (R_{ct}); the activation energy barrier for electrons transfer at electrodes and diffusion resistance (R_d); voltage polarization due to slow diffusion in electrolytes and intrinsic maximum possible potential (E_{mf}) due to the chemical and biological reactions at the anode and cathode, as shown in Fig. 9.

The power output of an MFC depends on many parameters, namely, the reactor configuration and electrode material, the substrate and the operating conditions such as the temperature and pH (Ayyaru and Dharmalingam, 2011; Huang et al., 2015; Mahendraravman and Sangeetha, 2013). All these parameters are summed and represented as the internal resistance which is the most important factor that determines the performance of MFCs.

The power output of an MFC can be calculated from V_{cell}^2/R_{ext} where V_{cell} is the voltage measured using a voltmeter and R_{ext} is the external resistor connected to the MFC. The maximum power output is obtained when the resistance of R_{ext} is equal to the internal resistance ($R_{C,ohm} + R_{C,ct} + R_{Cd} + R_{A,ohm} + R_{A,ct} + R_{Ad}$); therefore the smallest internal resistance is preferred to improve the MFCs efficiency.

The ohmic resistance, predominated by resistance to proton transfer through PEM, is a key performance driver of fuel cells. This phenomenon was characterized using the EIS method after 72 h operation (in the stationary phase of the culture) as shown in Fig. 10.

Enhancement of membrane conductivity around 74% from crosslinking and around 1692% through quaternization (4 h) was found in the setting up of proton conductivity measurement in deionized water. In actual operation, decreasing the R_{ohm} was not as much as was expected. The R_{ohm} of the cell equipped with unmodified CS membrane was approximately 190 Ω , whereas that with the CS-0.6SSA-4 membrane was roughly 156 Ω . This circumstance emerged from the slow movement of ions between electrodes because of the high electrolyte resistance of the cultural medium (rather than the structurally improved PEM)

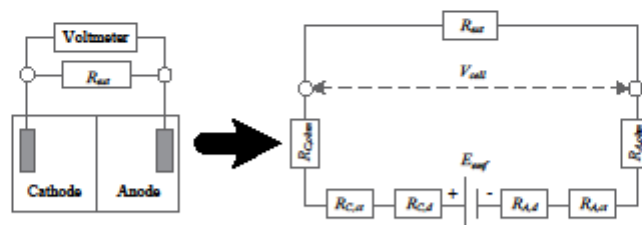


Fig. 9. Equivalent circuit of a microbial fuel cell.

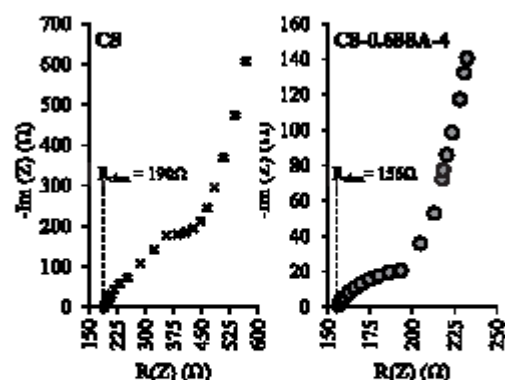


Fig. 10. Nyquist plot of impedance spectra of the dual chamber microbial fuel cell.

predominated the overall ohmic resistance, hence the ohmic resistance of the MFC was not decreased as much as expected.

4. Conclusions

The modified chitosan membrane was successfully synthesized. It served as a cost-effective alternative to a commercial proton exchange membrane. The positive charge was the key to increasing the proton conductivity of the chitosan membrane, rather than the proton carrier site. Additionally, having a high degree of water uptake was mandatory to increase proton conductivity, but this occurrence concurrently impacted on the dimensional and mechanical stabilities. To maintain the mechanical properties while stepping up to a higher degree of positive charge, the decoupling of both parameters is requisite. The positive charge accelerated the adhesion of microorganisms at the membrane surface; nevertheless, the charge also had damaging impact on microorganisms. Consequently, membrane fouling could be delayed. In-depth evaluation of the antimicrobial activity was beyond the original scope of this work; nonetheless, further investigations are essential.

The structural modification had a strong effect on the proton conductivity, mechanical properties and antimicrobial activity; nevertheless, in actual MFC operation, a high electrolyte resistance in the cultural medium still governed the overall ohmic resistance. The high cost of investment in a high proton conductive PEM such as Nafion is not necessary from this aspect. The implementation of an MFC on an industrial scale is advantaged by this result.

Acknowledgements

The authors would like to thank Cho Heng Rice Vermicelli Factory Co., Ltd. for the seed anaerobic sludge and the Center of Nanotechnology at Kasetsart University, Bangkok, Thailand for FT-IR measurements. This work was financially supported by the Thailand Research Fund [TRG5780276]; the Kasetsart University Research and Development Institute; the National Research University Project of Thailand (NRU); and the Faculty of Engineering, Kasetsart University.

References

- Ayyaru, S., Dharmalingam, S., 2011. Development of MFC using sulfonated poly-ether ether ketone (SPEEK) membrane for electricity generation from waste water. *Bioresour. Technol.* 102, 11167–11171. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2011.09.021>
- Balog, S., Gasser, U., Mortensen, K., Gubler, L., Scherer, G.G., Ben Youssef, H., 2010.

Correlation between morphology, water uptake, and proton conductivity in radiation-grafted proton-exchange membranes. *Macromol. Chem. Phys.* 211, 635–643. <http://dx.doi.org/10.1002/macp.200900503>

- Choi, M.-J., Chae, K.J., Ajayi, F.F., Kim, K.Y., Yu, H.W., Kim, C.W., Kim, I.S., 2011. Effects of biofouling on ion transport through cation exchange membranes and microbial fuel cell performance. *Bioresour. Technol.* 102, 298–303. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.05.129>
- Darwanichakul, P., Sritthajornnam, P., 2013. An investigation of chitosan-grafted-poly(vinyl alcohol) as an electrolyte membrane. *J. Chem.* 2013, 1–9. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/642871>
- Dashtrimgahadam, E., Hesani-Sadrabadi, M.M., Moaddebi, H., 2010. Structural modification of chitosan biopolymer as a novel polyelectrolyte membrane for green power generation. *Polym. Adv. Technol.* 21, 726–734. <http://dx.doi.org/10.1002/pat.1495>
- Forness, J.J., Rosenbaum, M., Angenent, L.T., 2010. Electric power generation from municipal food and animal wastewater using microbial fuel cells. *Electroanalysis* 22 (7–8), 832–843. <http://dx.doi.org/10.1002/elan.200900011>
- Gottenbos, B., Grijjma, D.W., Van Der Mei, H.C., Feijen, J., Busscher, H.J., 2001. Antimicrobial effects of positively charged surfaces on adhering Gram-positive and Gram-negative bacteria. *J. Antimicrob. Chemother.* 48, 7–13. <http://dx.doi.org/10.1093/jac/48.1.7>
- Hamisch, F., Schröder, U., Scholtz, F., 2008. The suitability of monopolar and bipolar ion exchange membranes as separators for biological fuel cells. *Environ. Sci. Technol.* 42, 1740–1746. <http://dx.doi.org/10.1021/es702234a>
- He, Z., Mansfield, F., 2009. Exploring the use of electrochemical impedance spectroscopy (EIS) in microbial fuel cell studies. *Energy Environ. Sci.* 2, 215. <http://dx.doi.org/10.1039/b814914c>
- Helander, I.M., Nummihö-Lassila, E.L., Ahvainen, R., Rhaodes, J., Riller, S., 2001. Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of Gram-negative bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* 71, 235–244. [http://dx.doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00609-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00609-2)
- Huang, L., Liu, Y., Yu, L., Qian, X., Chen, G., 2015. A new clean approach for production of cobalt dihydroxide from aqueous Co(II) using oxygen-reducing biocathode microbial fuel cells. *J. Clean. Prod.* 86, 441–446. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.08.018>
- Isoopoulos, I., Greenman, J., Melhuish, C., 2010. Improved energy output levels from small-scale microbial fuel cells. *Bioelectrochemistry* 78, 44–50. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bioelectrochem.2009.05.009>
- Jayakumar, R., Nwe, N., Tolera, S., Tamura, H., 2007. Sulfated chitin and chitosan as novel biomaterials. *Int. J. Biol. Macromol.* 62 (2), 142–158. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiomac.2006.05.021>
- Jayakumar, R., Prabaharan, M., Reis, R.L., Mano, J.F., 2005. Graft copolymerized chitosan-present status and applications. *Carbohydr. Polym.* 62, 142–158. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2005.07.017>
- Jiang, D., Curtis, M., Troop, E., Scheible, K., McGrath, J., Hu, B., Sult, S., Raymond, D., Li, B., 2011. A pilot-scale study on utilizing multi-anode/cathode microbial fuel cells (MAC MFC) to enhance the power production in wastewater treatment. *Int. J. Hydrogen Energy* 36, 876–884. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2010.08.074>
- Jiang, J., Pan, X., Cao, J., Jiang, J., Hua, D., Zhu, X., 2012. Synthesis and property of chitosan graft copolymer by RAFT polymerization with tolylic acid-chitosan complex. *Int. J. Biol. Macromol.* 50, 586–590. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiomac.2012.01.033>
- Koók, L., Rákosnéberzskó, T., Nemestóthy, N., Bélafi-Bakó, K., Balonyi, P., 2016. Bio-electrochemical treatment of municipal waste liquor in microbial fuel cells for energy valorization. *J. Clean. Prod.* 112, 4406–4412. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2015.06.116>
- Lee, D.K., Lee, K.J., Kim, Y.W., Kim, J.H., 2008. Synthesis and characterization of crosslinked triblock copolymers for fuel cells. *Desalination* 233, 104–112. <http://dx.doi.org/10.1016/j.desal.2007.09.032>
- Li, J., Cai, W., Ma, L., Zhang, Y., Chen, Z., Cheng, H., 2015. Towards neat methanol operation of direct methanol fuel cells: a novel self-assembled proton exchange membrane. *Chem. Commun.* 51, 6556–6559. <http://dx.doi.org/10.1039/C4CC09420D>
- Liu, H., Du, Y., Wang, X., Sun, L., 2004. Chitosan kills bacteria through cell membrane damage. *Int. J. Food Microbiol.* 95, 147–155. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.01.022>
- Liu, H., Logan, B.E., 2004. Electricity generation using an air-cathode single chamber microbial fuel cell in the presence and absence of a proton exchange membrane. *Environ. Sci. Technol.* 38, 4040–4046. <http://dx.doi.org/10.1021/es049344a>
- Logan, B.E., Hamelers, B., Rozendal, R., Schröder, U., Keller, J., Fregula, S., Aelterman, P., Verstraete, W., Rabaey, K., 2006. Microbial fuel cells: methodology and technology. *Environ. Sci. Technol.* 40, 5181–5192. <http://dx.doi.org/10.1021/es060501e>
- Ma, J., Sahai, Y., 2013. Chitosan biopolymer for fuel cell applications. *Carbohydr. Polym.* 92, 955–975. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.10.015>
- Madaeni, S.S., Zinadini, S., Vatangour, V., 2011. A new approach to improve anti-fouling property of PVDF membrane using in situ polymerization of PAA functionalized TiO₂ nanoparticles. *J. Memb. Sci.* 380, 155–162. <http://dx.doi.org/10.1016/j.memsci.2011.07.006>
- Mahendrarman, E., Sangeetha, D., 2013. Increased microbial fuel cell performance using quaternized poly(ether ether ketone) anionic membrane electrolyte for electricity generation. *Int. J. Hydrogen Energy* 38, 2471–2479. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2012.12.013>

Please cite this article in press as: Srinophakun, P., et al., Application of modified chitosan membrane for microbial fuel cell: Roles of proton carrier site and positive charge, *Journal of Cleaner Production* (2016), <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.06.153>

- Malmik, H.J., Ali, M., Jahanian, G., Bemenjan, A., 2012. Potential applications of chitosan nanoparticles as novel support in enzyme immobilization. *Am. J. Biochem. Biotechnol.* 8, 208–219. <http://dx.doi.org/10.3844/ajbbrp.2012.2032.19>.
- Meemalathi, S., Bhat, S.D., Sahu, A.K., Alwin, S., Siddhar, P., Pitchumani, S., 2012. Natural and synthetic solid polymer hybrid dual network membranes as electrolytes for direct methanol fuel cells. *J. Solid State Electrochem* 16, 1709–1721. <http://dx.doi.org/10.1007/s10008-011-1587-1>.
- MI, F.L., Shyu, S.S., Peng, C.K., 2005. Characterization of ring-opening polymerization of genipin and pH-dependent cross-linking reactions between chitosan and genipin. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* 43, 1985–2000. <http://dx.doi.org/10.1002/pola.20669>.
- Min, B., Kim, J., Oh, S., Regan, J.M., Logan, B.E., 2005. Electricity generation from swine wastewater using microbial fuel cells. *Water Res.* 39, 4961–4968. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2005.09.089>.
- Mohamed, N.A., Sabaa, M.W., El-Ghandour, A.H., Abdel-Aziz, M.M., Abdel-Gawad, Q.F., 2013. Quaternized N-substituted carbonylmethyl chitosan derivatives as antimicrobial agents. *Int. J. Biol. Macromol.* 60, 156–164. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.05.022>.
- Mukoma, P., Jooste, B.R., Vosloo, H.C.M., 2004. Synthesis and characterization of cross-linked chitosan membranes for application as alternative proton exchange membrane materials in fuel cells. *J. Power Sources* 136, 16–23. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpowsour.2004.05.027>.
- Nechita, P., Bobu, E., Parafine, C., Dinica, R.M., Balan, T., 2015. Antimicrobial coatings based on chitosan derivatives and quaternary ammonium salts for packaging paper application. *Cellul. Chem. Technol.* 49 (7–8), 625–632.
- Pant, D., Van Rogaert, G., De Smet, M., Dieis, L., Vanbroekhoven, K., 2010. Use of novel permeable membrane and air cathodes in acetate microbial fuel cells. *Electrochim. Acta* 55, 7710–7716. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jelechem.2009.11.086>.
- Patra, A., 2008. Low-cost, single-chambered microbial fuel cells for harvesting energy and cleansing wastewater. *J. U.S. JWP* 72–85. doi:10.2175.
- Peighambarpour, S.J., Rowshanzamir, S., Anjadi, M., 2010. Review of the proton exchange membranes for fuel cell applications. *Int. J. Hydrogen Energy* 35 (17), 9340–9384. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2010.05.017>. Elsevier Ltd.
- Pieróg, M., Ostrowska-Czubenko, J., 2010. XXV ARS SEPARATORIA. In: Synthesis and Characteristics of Three Component Hydrogen Membranes for Technical Applications, pp. 211–217.
- Puig, S., Serra, M., Coma, M., Balaguer, M.D., Colprim, J., 2011. Simultaneous domestic wastewater treatment and renewable energy production using microbial fuel cells (MFCs). *Water Sci. Technol.* 64, 904–909. <http://dx.doi.org/10.2166/wst.2011.1401>.
- Raafat, D., Von Bagen, K., Haas, A., Sahl, H.G., 2008. Insights into the mode of action of chitosan as an antibacterial compound. *Appl. Environ. Microbiol.* 74, 3764–3773. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.00463-08>.
- Rabey, K., Lissens, G., Siciliano, S.D., Verstraete, W., 2003. A microbial fuel cell capable of converting glucose to electricity at high rate and efficiency. *Bio-technol. Lett.* 25, 1531–1535.
- Rabea, E.I., Badawy, M.E.T., Stevens, C.V., Smaghe, G., Steurbaut, W., 2003. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. *Biomacromolecules* 4, 1467–1485. <http://dx.doi.org/10.1021/bm034130m>.
- Rahimnejad, M., Ghasemi, M., Najafpour, G.D., Ismail, M., Mohammad, A.W., Choresht, A.A., Hassan, S.H.A., 2012. Synthesis, characterization and application studies of self-made Fe3O4/PES nanocomposite membranes in microbial fuel cell. *Electrochim. Acta* 85, 700–706. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jelechem.2011.08.036>.
- Rozendal, R.A., Hamelers, H.V.M., Rabaye, K., Keller, J., Buisman, C.J.N., 2008. Towards practical implementation of bioelectrochemical wastewater treatment. *Trends Biotechnol.* 26, 460–459. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trech.2008.04.008>.
- Rusen, E., Mocanu, A., Nistor, L.C., Dinescu, A., Călbrescu, L., Mustăţea, G., Voicu, Ş.I., Andronescu, C., Diacon, A., 2014. Design of antimicrobial membrane based on polymer colloids/multiwall carbon nanotubes hybrid material with silver nanoparticles. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 6, 17384–17393. <http://dx.doi.org/10.1021/jam505024p>.
- Sajomsang, W., Tantayanon, S., Tangpasuthadol, V., Daly, W.H., 2009. Quaternization of N-aryl chitosan derivatives: synthesis, characterization, and antibacterial activity. *Carbohydr. Res.* 344, 2502–2511. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carres.2009.09.004>.
- Shao, Z.G., Xu, H., Li, M., Hsing, L.M., 2006. Hybrid Nafion-inorganic oxides membrane doped with heteropolyacids for high temperature operation of proton exchange membrane fuel cell. *Solid State Ionics* 177, 779–785. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ssi.2005.12.035>.
- Silverstein, R.M., Webster, F.X., Kiemle, D.J., 2005. Spectrometric Identification of Organic Compounds, seventh ed. John Wiley & Sons, Inc. [http://dx.doi.org/10.1016/0022-8560\(76\)87024-X](http://dx.doi.org/10.1016/0022-8560(76)87024-X).
- Soboleva, T., Xie, Z., Shi, Z., Tang, F., Naveen, T., Holdcroft, S., 2008. Investigation of the through-plane impedance technique for evaluation of anisotropy of proton conducting polymer membranes. *J. Electroanal. Chem.* 622, 146–152. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jelechem.2008.05.017>.
- Stuart, B.H., 2004. Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications, AnTs. John Wiley & Sons, Ltd. <http://dx.doi.org/10.1002/0470011493>.
- Sun, Y., Wei, J., Liang, P., Huang, X., 2012. Microbial community analysis in bio-cathode microbial fuel cells packed with different materials. *Amb. Express* 2, 21. <http://dx.doi.org/10.1186/2191-0855-2-21>.
- Tan, H., Ma, R., Lin, C., Liu, Z., Tang, T., 2013. Quaternized chitosan as an antimicrobial agent: antimicrobial activity, mechanism of action and biomedical applications in orthopedics. *Int. J. Mol. Sci.* 14, 1854–1869. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms14018854>.
- Tang, L., Gu, W., Yi, P., Biltz, J.L., Hong, J.Y., Fairbrother, D.H., Chen, K.L., 2013. Bacterial anti-adhesive properties of polysulfone membranes modified with polyelectrolyte multilayers. *J. Membr. Sci.* 446, 201–211. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmemsci.2013.06.031>.
- Tang, L., Livi, K.J.T., Chen, K.L., 2015. Polysulfone membranes modified with bio-inspired polydopamine and silver nanoparticles formed in situ to mitigate biofouling. *Environ. Sci. Technol. Lett.* 2, 59–65. <http://dx.doi.org/10.1021/acsc.5b00008>.
- Torres, M.G., Muñoz, S.V., Rosales, S.G.S., Carrión-Castro, M.D.P., Muñoz, R.A.F., González, R.O., González, M.R.E., Talavera, R.R., 2015. Radiation-induced graft polymerization of chitosan onto poly(3-hydroxybutyrate). *Carbohydr. Polym.* 133, 482–492. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.07.032>.
- Tsai, H.S., Wang, Y.Z., 2008. Properties of hydrophilic chitosan network membranes by introducing binary crosslink agents. *Polym. Bull.* 60, 103–113. <http://dx.doi.org/10.1007/s00289-007-0846-x>.
- Tsai, H.S., Wang, Y.Z., Lin, J.J., Lien, W.F., 2010. Preparation and properties of allyl-propylchitosan derivatives with various sulfonation degree. *J. Appl. Polym. Sci.* 116, 1686–1693. <http://dx.doi.org/10.1002/app.31689>.
- Utagami, T., Takano, M., Miyata, T., 2002. Evaporation characteristics of cross-linked quaternized chitosan membranes for the separation of an ethanol/water azeotrope. *Macromol. Chem. Phys.* 203, 1162–1170. [http://dx.doi.org/10.1002/1522-3935\(200206\)203:9<1162::AID-MACP1162>3.0.CO;2-Q](http://dx.doi.org/10.1002/1522-3935(200206)203:9<1162::AID-MACP1162>3.0.CO;2-Q).
- Vallapa, N., Wirachai, O., Thongchul, N., Pan, J., Tangpasuthadol, V., Kitkanjornwong, S., Hoven, V.P., 2011. Enhancing antibacterial activity of chitosan surface by heterogeneous quaternization. *Carbohydr. Polym.* 83, 868–875. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.08.075>.
- Vashtey, P.K., Gupta, S., 2011. Natural polymer-based electrolytes for electrochemical devices: a review. *Ionics* 17, 479–483. <http://dx.doi.org/10.1007/s11581-011-0563-1>.
- Wang, T., Turhan, M., Ganasekaran, S., 2004. Selected properties of pH-sensitive, biodegradable chitosan-poly(vinyl alcohol) hydrogel. *Polym. Int.* 53, 911–918. <http://dx.doi.org/10.1002/pol.1461>.
- Wang, Y., Yan, Y., Chen, G., Zuo, J., Yan, B., Yin, P., 2015. Effectiveness of waste-to-energy approaches in China: from the perspective of greenhouse gas emission reduction. *J. Clean. Prod.* 1–7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2015.09.060>.
- Wirachai, O., Thongchul, N., Kitkanjornwong, S., Hoven, V.P., 2012. Surface-quaternized chitosan particles as an alternative and effective organic antibacterial material. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 92, 121–129. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.11.034>.
- Witt, M.A., Barra, G.M.O., Bertolino, J.R., Piles, A.T.N., 2010. Crosslinked chitosan/poly(vinyl alcohol) blends with proton conductivity characteristic. *J. Braz. Chem. Soc.* 21, 1692–1698. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-50532010000900014>.
- Xiang, Y., Yang, M., Guo, Z., Cui, Z., 2009. Alternatively chitosan sulfate blending membrane as methanol-blocking polymer electrolyte membrane for direct methanol fuel cell. *J. Membr. Sci.* 337, 318–323. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmemsci.2009.04.006>.
- Xu, J., Sheng, G.-P., Luo, H.-W., Li, W.-W., Wang, L.-F., Yu, H.-Q., 2012. Fouling of proton exchange membrane (PEM) deteriorates the performance of microbial fuel cell. *Water Res.* 46, 1817–1824. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2011.11.060>.
- Zhang, M., Zhang, K., De Gussem, B., Verstraete, W., 2012. Biogenic silver nanoparticles (bio-Ag0) decrease biofouling of bio-Ag0/PES nanocomposite membranes. *Water Res.* 46, 2077–2087. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2012.01.015>.