การพัฒนาระบบถังปฏิกรณ์ทางชีวภาพแบบอากาศยกสำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียวและไดอะตอมเพื่อให้ได้ความเข้มข้นและผลผลิตสูง

โดย

ประเสริฐ ภวสันต์

โครงการวิจัยเลขที่ 84G-CHEM-2549

ทุนงบประมาณแผ่นดิน ปี 2549

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะวิศวกรรมศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กรุงเทพ ฯ

มิถุนายน 2550

การพัฒนาระบบถังปฏิกรณ์ทางชีวภาพแบบอากาศยก สำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียวและไดอะตอม เพื่อให้ได้ความเข้มข้นและผลผลิตสูง

โดย

ประเสริฐ ภวสันต์, Ph.D. (Imperial College, London)

โครงการวิจัยเลขที่ 84G-CHEM-2549

ทุนงบประมาณแผ่นดิน ปี 2549

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะวิศวกรรมศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กรุงเทพ ฯ

มิถุนายน 2550

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายในการพัฒนาถังสัมผัสแบบอากาศยกและปรับใช้ถังสัมผัสแบบอากาศยกในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียว โดยการศึกษาครั้งนี้ได้แบ่งการทำงานออกเป็น 3 ส่วน ส่วนแรก เป็นการเพาะเลี้ยงเซลล์ของไดอะตอม *Chaetoceros calcitrans* ซึ่งเป็นอาหารสำคัญในการอนุบาลสัตว์น้ำ เช่น ลูกกุ้ง กุลาดำ ซึ่งผลการศึกษาแสดงให้เห็นชัดเจนว่าการเพาะเลี้ยงในระบบถังสัมผัสแบบอากาศยก หรือเรียกได้ว่าเป็นถังปฏิกรณ์เชิงแสงแบบอากาศยกนั้นช่วยให้เซลล์สามารถเจริญเติบโตได้ดีกว่าระบบการเพาะเลี้ยงที่ใช้กันทั่วไป โดยมีการศึกษาถึงผลของสารอาหาร ผลของการออกแบบถัง และผลจากตัวแปรในการดำเนินงานต่าง ๆ คือ ความเข้มของแสง และ อัตราการให้อากาศ พบว่า สารอาหารมาตรฐาน F/2 นั้นจะสามารถใช้ในการเพาะเลี้ยงได้ดีขึ้นหากมีการเพิ่มความเข้มข้นของสารประกอบซิลิกาอีก 10% ส่วนการออกแบบถังไม่มีผลกระทบต่ออัตราการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญ และการเพาะเลี้ยงควรทำที่ความเข้มแสงเท่ากับ 400 μmol photon m^{-2} d^{-1} และความเร็วลมหอเปล่าเท่ากับ 3 cm/s ซึ่งที่สภาวะที่เหมาะสมนี้ ระบบจะให้เซลล์ที่ความหนาแน่นสูงสุดเท่ากับประมาณ $3x10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร

การศึกษาส่วนที่ 2 เป็นการเพาะเลี้ยงเซลล์ของสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* ซึ่งเป็นสาหร่ายที่มีศักยภาพในการพัฒนาเชิงอุตสาหกรรมเนื่องจากเป็นสาหร่ายที่สามารถผลิตสาร astaxanthin ซึ่งเป็นสาร antioxidant ที่มีคุณภาพดี แต่ในการศึกษานี้จะจำกัดเพียงแค่การเพาะเลี้ยงเซลล์เท่านั้น โดยทำการคัดเลือกชนิดของสารอาหารที่มีรายงานว่าใช้ได้ดีที่สุดจากสารอาหาร 6 ประเภท และพบว่าสารอาหารประเภท F1 สามารถให้การเจริญเติบโตได้ดีที่สุด และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงในถังสัมผัสแบบอากาศยกพบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตคือ ที่ความเร็วลมหอเปล่าเท่ากับ 0.4 ซม/วินาที คาร์บอนไดออกไซด์ 1% และที่ความเข้มแสงเท่ากับ 20 μmol photon/m^2-s โดยได้ค่าความเข้มข้นของเซลล์สูงสุดเท่ากับ $40x10^4$ cell/mL

การศึกษาส่วนสุดท้ายเป็นการศึกษาถึงพฤติกรรมของถังสัมผัสแบบอากาศยกที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางกว้าง เพื่อจำลองสภาวะของการขยายขนาด โดยพบว่าเมื่อหอมีขนาดกว้างขึ้น พฤติกรรมจะเข้าใกล้พฤติกรรมของ bubble column ซึ่งทำให้ความเร็วในการไหลวนต่ำและมีอัตราการถ่ายเทมวลระหว่างวัฏภาคน้อย การติดตั้งท่อภายในจำเป็นจะต้องคำนึงถึงสภาวะความไม่เป็นอุดมคติของระบบ โดยถ้าให้จำนวนท่อภายในมากขึ้น (กำหนดให้มีค่าสัดส่วนพื้นที่ของ downcomer และ riser เท่าเดิม) จะได้พฤติกรรมทางด้านการถ่ายเทมวลสารระหว่างวัฏภาคก๊าซและของเหลวดีขึ้น

0644

Abstract

This work aimed at the development of the airlift contactors for actual biological applications, including the cultivation of single cell algae. The work was divided into three main sections, i.e. the cultivation of marine water diatom *Chaetoceros calcitrans*, the cultivation of fresh water *Haematococcus pluvialis* and the scaleup of the airlift contactor. The first part dealt with the enhancement of the productivity of the cell cultivation of *Chaetoceros calcitrans*. This diatom has been widely utilized as feed in marine hatcheries, e.g. black tiger shrimp larvae. The results revealed clearly that the cultivation in the airlift system was significantly more superior than the conventional cultivation technique. The standard F/2 medium could be modified by adding extra 10% silica compound. The design of the airlift system did not have significant effect on cell growth whereas the optimal light intensity and the superficial velocity were 400 μmol photon m^{-2} d^{-1} and 3 cm/s, respectively.

The second section dealt with the cultivation of fresh water single cell alga, *Haematococcus pluvialis* which is recognized as the best natural source of the antioxidant astaxanthin. The best culture medium was selected from the six reported mediums in literature where the F1 standard medium was found to give the best performance. The optimal conditions for the cultivation of this cell were: light intensity = 20 μmol photon/m^2-s, carbon dioxide = 1%, and the superficial gas velocity = 0.4 cm/s. At these conditions, cell grew at the rate of $40x10^4$ cell/mL.

The last section of this work concerned with the scale up of the airlift systems. This scale up problem was experimentally simulated using the column with greater width. It was found that the performance of the large scale system approached that of bubble columns with low circulating velocity and low gas-liquid mass transfer. This, to some extent, could be solved by installing several draft tubes (as risers) while keeping the ratio between the downcomer and riser cross sectional area constant.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำนำ

งานวิจัยที่ผ่านมาของห้องปฏิบัติการวิศวกรรมชีวเคมีได้ศึกษาถึงพฤติกรรมของถังสัมผัสแบบอากาศยก โดยเน้นไปที่ระบบสองวัฏภาคคือก๊าซและของเหลว ผลที่ได้รับคือความสามารถในการอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรทางด้านการออกแบบและดำเนินการและพฤติกรรมทางด้านอุทกพลศาสตร์และการถ่ายเทมวลสารระหว่างวัฏภาคได้ในระดับหนึ่ง งานวิจัยชิ้นนี้เป็นส่วนขยายของงานพื้นฐานที่เคยได้ทำไปก่อนหน้านี้ โดยเน้นการบูรณาการระหว่างศาสตร์ทางด้านการออกแบบระบบและงานทางด้านชีวภาพ โดยได้ทดลองเพาะเลี้ยงเซลล์ของสาหร่ายเซลล์เดียวในระบบถังสัมผัสแบบอากาศยก ซึ่งเมื่อมีปฏิกิริยาทางชีวภาพดำเนินอยู่จึงเรียกชื่อใหม่เป็น ถังปฏิกรณ์แบบอากาศยก และเนื่องจากสาหร่ายเซลล์เดียวเหล่านี้จำเป็นต้องใช้แสงในการเจริญเติบโต การออกแบบให้มีการใช้แสงอย่างมีประสิทธิภาพจึงเป็นปัจจัยสำคัญประการหนึ่ง จึงเรียกชื่อรวมของระบบว่าเป็น ถังปฏิกรณ์เชิงแสงแบบอากาศยก

เซลล์ที่เลือกใช้ในงานวิจัยนี้เป็นเซลล์ที่มีการใช้งานจริง 2 ชนิด คือ เซลล์ของ *Chaetoceros calcitrans* ซึ่งใช้ในอุตสาหกรรมการอนุบาลสัตว์น้ำ เช่นลูกกุ้ง และลูกปลา และเซลล์ของ *Haematococcus pluvialis* ซึ่งสามารถผลิตสาร antioxidant ที่มีมูลค่าสูงได้ ผลที่ได้รับจากงานวิจัยชิ้นนี้จึงสามารถนำไปใช้งานได้จริง โดยได้ให้สภาวะในการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมทุกอย่างไว้ในรายงานฉบับนี้แล้ว

นอกจากนี้งานวิจัยนี้ยังครอบคลุมถึง การขยายขนาดของระบบถังสัมผัสแบบอากาศยก โดยเน้นให้เห็นถึงความไม่เป็นอุดมคติของระบบถังสัมผัสแบบอากาศยกเมื่อมีขนาดใหญ่ และได้เสนอทางเลือกในการปรับปรุงประสิทธิภาพไว้ตามรายละเอียดในรายงานฉบับนี้แล้ว

คณะผู้วิจัย
รศ.ดร.ประเสริฐ ภวสันต์
ผศ.ดร.อาทิวรรณ โชติพฤกษ์
ดร.สรวิศ เผ่าทองศุข

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

บทคัดย่อ i

Abstract ii

คำนำ iii

บทที่ 1 การเพาะเลี้ยงเซลล์ Chaetoceros calcitrans ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยก 1

1.1 ระบบที่ใช้ในการทดลองและวิธีการทดลอง 2

1.2 การวิเคราะห์สารอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยง 5

1.3 สภาวะการเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยก 6

1.4 สรุปผลการเพาะเลี้ยงเซลล์ Chaetoceros calcitrans ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยก 11

1.5 เอกสารอ้างอิง 12

บทที่ 2 การเพาะเลี้ยงเซลล์ Haematococcus pluvialis ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยก 13

2.1 ระบบที่ใช้ในการทดลองและวิธีการทดลอง 13

2.2 การคัดเลือกสารอาหารที่เหมาะสม 15

2.3 ผลการดำเนินงาน 19

2.4 สรุปผลการเพาะเลี้ยงเซลล์ Haematococcus pluvialis ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยก 25

2.5 เอกสารอ้างอิง 26

บทที่ 3 การศึกษาผลของการจัดวางรูปแบบของท่อภายในสำหรับถังปฏิกรณ์แบบอากาศยกขนาดใหญ่ 27

3.1 ระบบที่ใช้และวิธีการทดลอง 27

3.2 ผลและวิเคราะห์การทดลอง 31

3.3 สรุปผลการทดลอง 35

3.4 เอกสารอ้างอิง 35

บทที่ 4 แนวทางการดำเนินการต่อไป (ปีที่ 2) 36

4.1 การเพาะเลี้ยงเซลล์ 36

4.2 การออกแบบระบบขนาดใหญ่ 37

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1 การเพาะเลี้ยงเซลล์ *Chaetoceros calcitrans* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยก

1.1 ระบบที่ใช้ในการทดลองและวิธีการทดลอง

1.1.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของเซลล์ *Chaetoceros calcitrans*

การทดลองในส่วนนี้ได้จัดขึ้นในขวดลูกชมพู่ขนาด 250 mL โดยให้แสงสว่างด้วยหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ขนาด 18W โดยการทดลองควบคุมนี้จะกำหนดให้มีค่าความเข้มแสงอยู่ที่ 200 μmol photon/m^2-s หรือประมาณ 10,000 ลักซ์ ควบคุมอุณหภูมิในช่วง 30±2°C สารอาหารหลักที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์คือสารอาหารมาตรฐานสำหรับการเพาะเลี้ยงไดอะตอมทั่วไป คือ สารละลายกิลลาด F/2 (Guillard standard medium solution หรือเรียกโดยย่อว่าสารอาหาร F/2) ซึ่งมีส่วนประกอบดังนี้ (Guillard 1975)

สารละลายมาตรฐาน A: Nitrate and Phosphate stock solution

สาร	ปริมาณ (สำหรับสารละลายปริมาตร 1 ลิตร)
$NaNO_3$	84.15 g
$Na_2HPO_4 \cdot H_2O$	6.0 g
$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	2.90 g
$Na_2EDTA \cdot 2H_2O$	10.0 g

สารละลายมาตรฐาน B: Silicate stock solution

สาร	ปริมาณ (สำหรับสารละลายปริมาตร 1 ลิตร)
$Na_2SiO_3(9H_2O)$	33.0 g

สารละลายมาตรฐาน C: Trace Metal stock solution

สาร	ปริมาณ (สำหรับสารละลายปริมาตร 1 ลิตร)
$CuSO_4(5H_2O)$	1.96 g
$ZnSO_4(7H_2O)$	4.40 g
$Ma_2MoO_4(2H_2O)$	1.26 g
$MnCl_2(4H_2O)$	36.0 g
$CoCl_2(6H_2O)$	2.0 g

สารละลายมาตรฐาน D: Vitamins stock solution

สาร	ปริมาณ (สำหรับสารละลายปริมาตร 1 ลิตร)
Vitamin B1	0.4 g
Vitamin B12	0.002 mg
Biotin	0.10 mg

หมายเหตุ ในการเตรียมสารละลายมาตรฐาน F/2 ให้เติมสารละลาย A และ B อย่างละ 2 mL และสารละลาย C และ D อย่างละ 1 mL ลงในน้ำทะเลที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

หลังจากนั้นจึงทำการแปรเปลี่ยนความเข้มข้นของสารอาหารหลัก 4 ตัว คือ ซิลิกา (ในรูป $Na_2SiO_3.9H_2O$) ฟอสฟอรัส (ในรูป $Na_2HPO_4.H_2O$) ไนโตรเจน (ในรูป $NaNO_3$) และ วิตามินบี 12 เพื่อศึกษาถึงความเหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเซลล์ของ *Chaetoceros calcitrans* โดยกำหนดให้ความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้นสำหรับทุกการทดลองคงที่ที่ $5x10^5$ cell/mL

1.1.2 การเพาะเลี้ยงในระบบถังปฏิกรณ์เชิงแสงแบบอากาศยก

ลักษณะของถังปฏิกรณ์เชิงแสงแบบอากาศยกที่ใช้ในการศึกษาแสดงในรูปที่ 1.1 และมีขนาดของถังปฏิกรณ์ฯ ตามแสดงในตารางที่ 1.1

รูปที่ ง 1 ถังปฏิกรณ์เชิงแสงแบบอากาศยกที่ใช้ในการศึกษา

ตารางที่ 1.1 ขนาดของถังปฏิกรณ์เชิงแสงแบบอากาศยกที่ใช้ในการศึกษา

ตัวแปร	ขนาด
ความสูงของถัง, H (ซม)	120
เส้นผ่าศูนย์กลาง, D (ซม)	15
ปริมาตร, V (ลิตร)	17
เส้นผ่าศูนย์กลางของท่อภายใน, D_T (draft tube) (ซม)	4, 8, 10
ความสูงของท่อภายใน, H_T (ซม)	100
ระยะห่างของท่อภายในถึงพื้นถัง, H_B (ซม)	5
ความสูงของน้ำก่อนให้อากาศ, H_W (ซม)	110

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตัวแปรสำหรับสำหรับการออกแบบถังปฏิกรณ์แบบอากาศยกสามารถแบ่งออกเป็น 2 ลักษณะ คือ ตัวแปรในการออกแบบ และตัวแปรในการดำเนินการ ในที่นี้ ตัวแปรในการออกแบบคือ สัดส่วนของพื้นที่ที่ให้อากาศต่อพื้นที่ที่ไม่ให้อากาศ ซึ่งในกรณีของระบบที่ใช้นี้ พื้นที่ที่ให้อากาศจะเป็นพื้นที่ส่วนท่อด้านใน (draft tube) ที่ติดตั้งอยู่ภายในท่อด้านนอก และเรียกพื้นที่ส่วนนี้ว่า "riser" (ดูรูปที่ 1.1) และพื้นที่ที่ไม่ให้อากาศจะเป็นพื้นที่ในส่วนวงแหวน และเรียกพื้นที่ส่วนนี้ว่า "downcomer" ส่วนตัวแปรในการดำเนินงานในที่นี้มีเพียงอัตราการป้อนอากาศ ซึ่งอัตราการป้อนอากาศจะส่งผลต่ออัตราการไหลวนของสารภายในระบบ

1.1.3 การตรวจวัดค่าตัวแปรควบคุม

การวัดค่าความเข้มข้นของเซลล์สามารถทำได้โดยใช้อุปกรณ์ที่เรียกว่า Haemacytometer ซึ่งมีลักษณะเป็นแผ่นแก้วที่มีช่องสำหรับเก็บสารตัวอย่าง และมีแผ่นแก้วปิดช่องเก็บตัวอย่าง โดยช่องเก็บตัวอย่างมีปริมาตรทั้งหมด 0.1 μL ทำการวัดจำนวนเซลล์ทั้งหมดที่อยู่ในช่องนี้โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ แล้วจึงแปรผลกลับไปเป็นค่าความเข้มข้นของเซลล์ (ในหน่วย cell/mL)

ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะหรือ μ สามารถคำนวณได้โดยใช้ค่าความเข้มข้นของเซลล์ก่อนและหลังการทดลอง โดยใช้สูตรการคำนวณต่อไปนี้ (Bailey and Ollis, 1986)

$$\mu = \frac{\ln(N_2) - \ln(N_1)}{t_2 - t_1} \qquad (1.1)$$

เมื่อ μ = อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (h^{-1})

N_1 = ความเข้มข้นของเซลล์ที่เวลา t_1

N_2 = ความเข้มข้นของเซลล์ที่เวลา t_2

t = เวลา

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การวัดความแข็งแรงของเซลล์จะใช้ค่าความสามารถในการสังเคราะห์แสงซึ่งวัดจากค่าการปลดปล่อยออกซิเจน (Photosynthetic oxygen evolution rate) การทดลองนี้จะต้องนำตัวอย่างเซลล์มาไล่ก๊าซออกซิเจนออกด้วยก๊าซไนโตรเจน เมื่อค่าการละลายของออกซิเจนลดลงระดับหนึ่งแล้วจึงหยุดให้ก๊าซไนโตรเจน แล้ววัดค่าออกซิเจนที่เกิดเนื่องจากการสังเคราะห์แสง โดยใช้สมการต่อไปนี้ (Stein, 1973)

$$POER = \frac{DO_S \times 60}{C \times V} \qquad (1.2)$$

โดยที่ POER = Photosynthetic oxygen evolution rate (mg O_2/mg Chlorophyll – h)

DO_S = ค่าความชันของกราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าออกซิเจนละลายเทียบกับเวลา (mg O_2/min)

C = ค่าความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ (mg Chlorophyll / mL)

V = ปริมาตรของตัวอย่างสารละลาย (mL)

ค่าความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์สามารถหาได้โดยการนำเซลล์มาสกัดด้วย Methanol แล้วจึงนำตัวอย่างสารที่สกัดได้ไปวัดค่าความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 660 nm ตามวิธีที่เสนอใน Handbook of phycological methods: culture methods and growth measurements (Cambridge University Press, London)

1.2 การวิเคราะห์สารอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยง

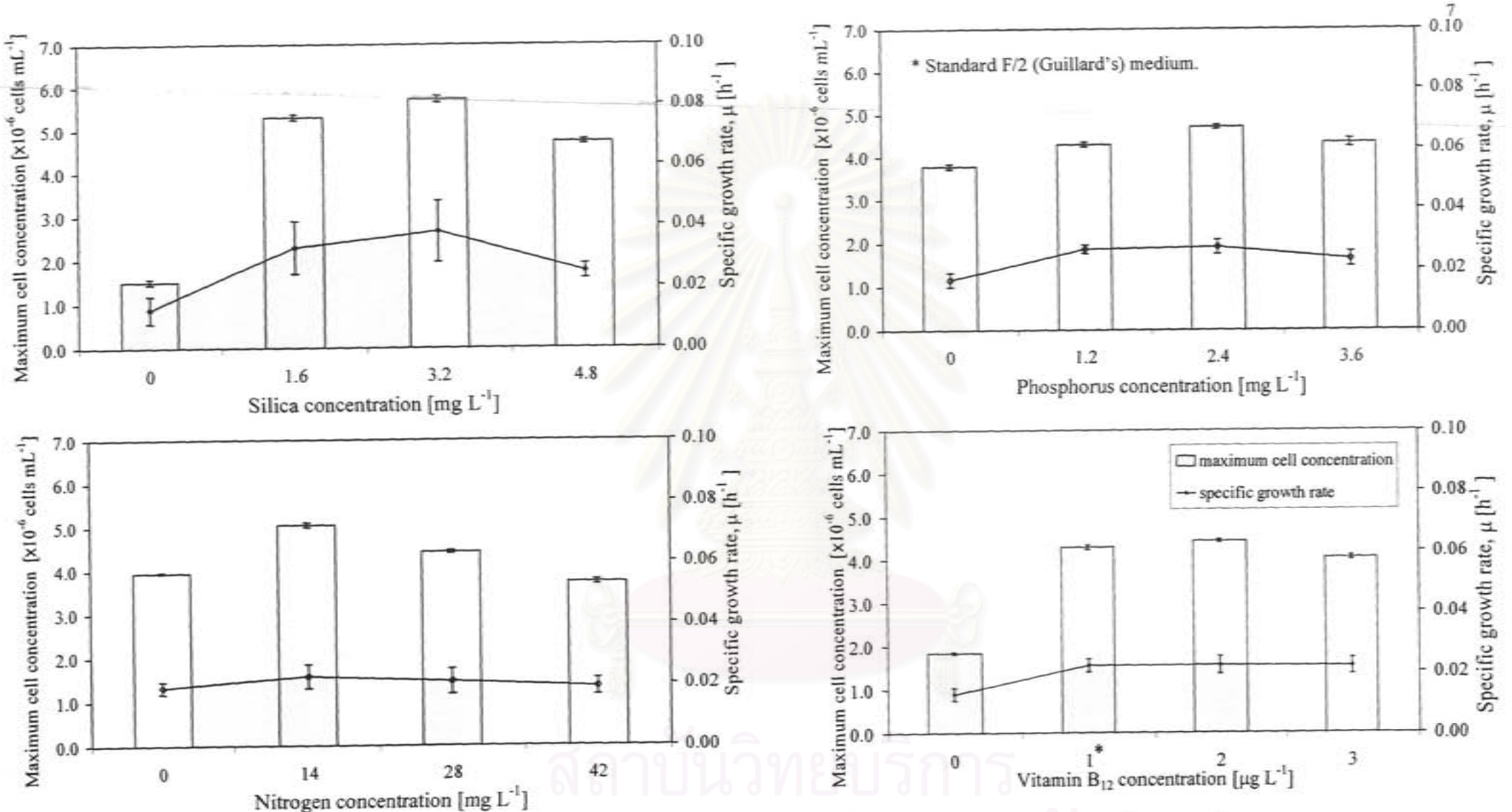
ในเบื้องต้น สารอาหารที่คัดเลือกสำหรับการเพาะเลี้ยงไดอะตอม คือ สารอาหารมาตรฐาน กิลลาต F/2 เนื่องจากเป็นสารอาหารที่มีสัดส่วนของซิลิกาสูง เหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยงไดอะตอมทั่วไปซึ่งมีความต้องการซิลิกาอันจำเป็นต้องการสร้างผนังเซลล์ โดยในการทำลองจะทำการปรับเปลี่ยนสัดส่วนของสารซิลิกา รูปที่ 1.2 แสดงให้เห็นว่าค่าความเข้มข้นเซลล์สูงสุด จะได้จากการเพิ่มสัดส่วนซิลิกาขึ้นอีก 10% ซึ่งความ

เข้มข้นสูงสุดของเซลล์ที่ได้นี้จะสูงกว่าที่ได้จากสารอาหารมาตรฐานประมาณ 10% เช่นกัน นอกจากนี้แล้ว สัดส่วนอื่น ๆ ในสารอาหารมาตรฐานให้ค่าการเจริญเติบโตที่ค่อนข้างดีแล้ว

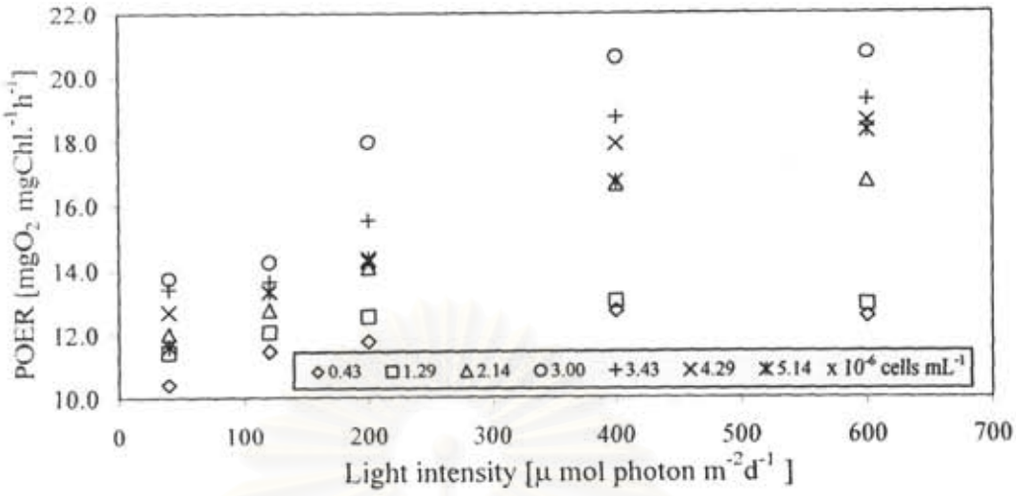
1.3 สภาวะการเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยก

การศึกษาในส่วนนี้เป็นการทดลองในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยกขนาด 17 ลิตร ซึ่งเป็นท่อใสทำด้วยพลาสติกอคริลิก ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 15 ซม และสูง 120 ซม มีท่อภายในจำนวน 1 ท่อ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 4 8 และ 10 ซม ซึ่งจะทำให้ได้สัดส่วนของพื้นที่หน้าตัดของ Downcomer และ Riser เท่ากับประมาณ 16.1 2.62 และ 1.79 ตามลำดับ (คิดความหนาของท่อเท่ากับ 3 มม) (ตามรายละเอียดที่ให้ไว้ในตารางที่ 1.1) สำหรับผลของสภาวะการเพาะเลี้ยงต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตของเซลล์นี้สามารถสรุปได้ดังต่อไปนี้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 1.2 ผลของสารอาหารต่อการเจริญเติบโตของ *Chaetoceros calcitrans* (A) เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของซิลิกา (B) เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของสารประกอบฟอสฟอรัส (C) เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของสารประกอบไนโตรเจน และ (D) เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนวิตามิน B12



รูปที่ 1.3 ผลของแสงต่ออัตราการสังเคราะห์แสงจำเพาะของเซลล์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

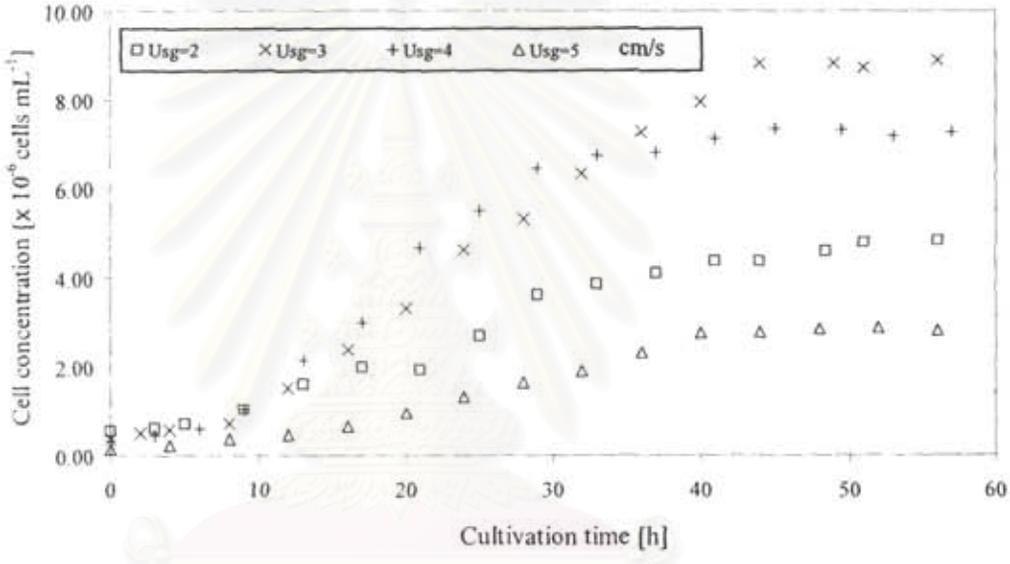
1.3.1 ผลของแสง

แสงที่ใช้ในการทดลองนี้เป็นแสงที่ขาวที่ได้จากหลอดฟลูออเรสเซนต์ขนาด 36W โดยแปรเปลี่ยนความเข้มของแสงจากการเพิ่ม/ลดจำนวนหลอดที่ใช้ และจากการเปลี่ยนระยะห่างระหว่างหลอดและถังปฏิกรณ์ ฯ ผลของแสงต่อการเจริญเติบโตของเซลล์สามารถแสดงให้เห็นได้อยู่ในรูปที่ 1.3 ซึ่งเป็นกราฟระหว่างค่าอัตราการสังเคราะห์แสงจำเพาะ หรือ Photochemical Oxygen Evolution Rate [mg O_2 mg Chl^{-1} h^{-1}] (วัดจากอัตราการปลดปล่อยออกซิเจนจากเซลล์ เทียบกับจำนวนคลอโรฟิลล์ที่อยู่ในภายในเซลล์ต่อชั่วโมง) และความเข้มแสง (วัดในหน่วยของ µmol photon m^{-2} d^{-1}) นอกจากนี้ยังได้มีการปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของเซลล์ในระบบจาก 0.43 ถึง 5.14 x 10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งผลสรุปได้ว่าค่าความเข้มแสงที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของ *Chaetoceros calcitrans* มากที่สุดคือ 400 µmol photon m^{-2} d^{-1} และความหนาแน่นเซลล์ที่ให้อัตราการเจริญเติบโตดีที่สุดอยู่ที่ประมาณ 3x10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

อย่างไรก็ตาม ความเข้มแสงที่ 400 µmol photon m^{-2} d^{-1} เป็นค่าที่ค่อนข้างสูงและต้องใช้หลอดไฟจำนวนมาก ทำให้มีปัญหาเกี่ยวกับการควบคุมอุณหภูมิภายในระบบ ดังนั้นเพื่อให้การทดลองต่อ ๆ ไปสามารถทำได้ที่สภาวะปกติ ไม่จำเป็นต้องมีการควบคุมอุณหภูมิพิเศษ จึงให้ใช้ค่าความเข้มแสงที่ 200 µmol photon m^{-2} d^{-1}

1.3.2 ผลของความเร็วก๊าซที่ป้อนเข้าสู่ระบบ

ความเร็วของก๊าซที่ป้อนเข้าสู่ระบบวัดจากอัตราการไหลของอากาศที่ป้อนเข้าทางด้านล่างของถังปฏิกรณ์และหารด้วยพื้นที่หน้าตัดของส่วน riser เท่านั้น ซึ่งเราเรียกความเร็วนี้ว่าความเร็วหอเปล่า หรือ superficial gas velocity (แทนด้วยสัญญลักษณ์ Usg) และมีหน่วยเป็น ซม/วินาที ซึ่งอากาศที่ป้อนเข้าสู่ระบบนี้จะส่งผลต่ออัตราการไหลของของเหลว และปริมาณฟองอากาศที่อยู่ภายในระบบ



รูปที่ 1.4 ผลของความเร็วก๊าซที่ป้อนเข้าสู่ระบบต่ออัตราการเจริญเติบโตของเซลล์

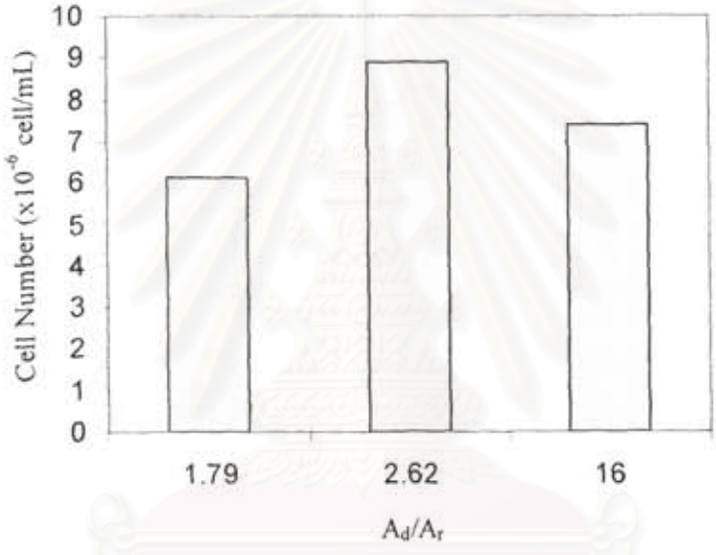
รูปที่ 1.4 แสดงให้เห็นว่าเซลล์สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดที่ความเร็วก๊าซเท่ากับ 3 ซมต่อวินาที ที่ความเร็วก๊าซต่ำกว่านี้หรือสูงกว่านี้ เซลล์จะเจริญเติบโตได้ช้าลง นอกจากนี้ ผลการทดลองยังแสดงให้เห็นว่าเซลล์เริ่มเข้าสู่ stationary phase เมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 50 นาที

1.3.3 ผลของขนาดของท่อภายใน

ขนาดของท่อภายในที่เปลี่ยนไปทำให้สัดส่วนของพื้นที่ระหว่าง Downcomer และ Riser เปลี่ยนแปลง และส่งผลต่อพฤติกรรมการไหลและปริมาณของฟองอากาศที่อยู่ภายในระบบ โดยผลของขนาดของท่อภายใน

แสดงให้เห็นในรูปที่ 1.5 โดยขนาดของท่อภายในที่เลือกใช้ในงานนี้เป็นขนาดมาตรฐานที่สามารถจัดหาได้โดยไม่ต้องสั่งทำเพิ่มเติม และตัวแปรที่ใช้บ่งชี้ขนาดของท่อภายในที่ใช้กันทั่วไปคือ สัดส่วนระหว่างพื้นที่หน้าตัดของ downcomer และ riser หรือ A_d/A_r

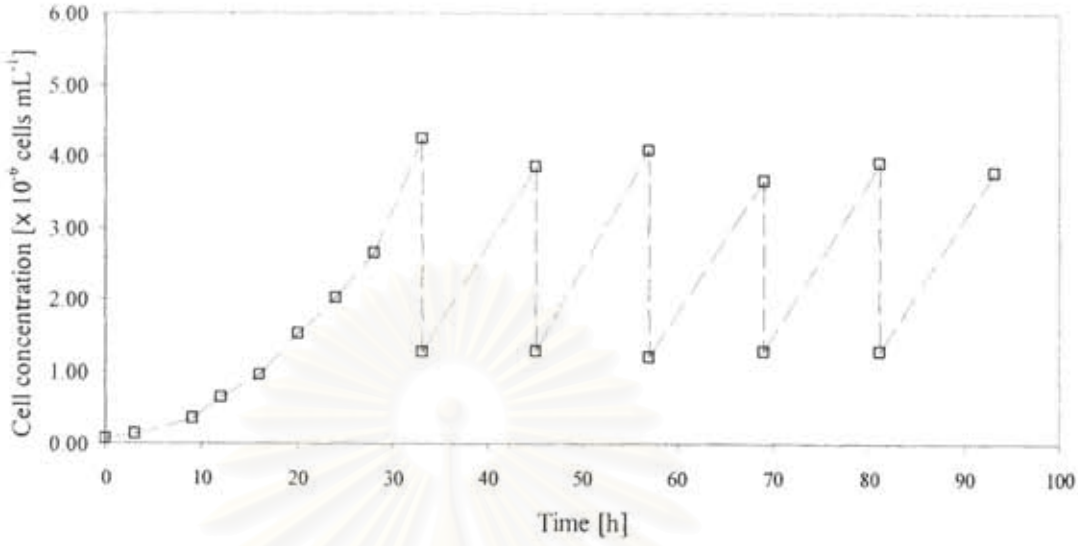
ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าขนาดสัดส่วนพื้นที่ของส่วน Downcomer และ Riser ที่ 2.62 ให้ผลการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมที่สุดสำหรับเซลล์ *Chaetoceros calcitrans*



รูปที่ 1.5 ผลของขนาดท่อภายในต่อจำนวนเซลล์ที่สามารถผลิตได้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.3.4 การเพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง



รูปที่ 1.6 การเพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง

โดยทั่วไป การเพาะเลี้ยงเซลล์จะใช้วิธีแบบกะ ซึ่งมีข้อเสียที่ให้ค่าอัตราการเจริญเติบโตต่ำ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ปรับรูปแบบของการเพาะเลี้ยงเซลล์ให้เป็นแบบกึ่งต่อเนื่อง โดยในช่วงเริ่มต้นได้ปล่อยให้เซลล์มีการเจริญเติบโตในลักษณะคล้ายกับการเพาะเลี้ยงแบบกะ แต่หลังจากนั้นจะทำการเก็บเกี่ยวประมาณ ครึ่งหนึ่งของปริมาณทั้งหมด ทุก ๆ 12 ชั่วโมง ซึ่งเป็นเวลาที่จะทำให้เซลล์อยู่ในช่วง exponential growth ตลอดเวลา จึงทำให้ได้ผลผลิตที่สูงขึ้น ผลจากการเพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องสามารถแสดงได้ดังรูปที่ 1.6 จะเห็นได้ว่าการเก็บเกี่ยวทุก 12 ชั่วโมงจะสามารถทำให้เซลล์มีการเจริญเติบโตได้เร็ว ได้ค่าความเข้มข้นเซลล์สูงสุดที่ประมาณ 4.08×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และได้ค่าผลผลิตเท่ากับ 9.45×10^9 cell/L-d

1.4 สรุปผลการเพาะเลี้ยงเซลล์ *Chaetoceros calcitrans* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยก

การเพาะเลี้ยงเซลล์ *Chaetoceros calcitrans* เป็นที่สนใจสำหรับประเทศในกลุ่มเกษตรกรรมที่สามารถมุ่งเน้นการเพิ่มผลผลิตผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำทางทะเล เช่น กุ้งกุลาดำ โดยในประเทศไทยนั้น การเพาะเลี้ยงเซลล์

ของ *Chaetoceros calcitrans* ส่วนใหญ่จะแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน คือ การเพาะเลี้ยงหัวเชื้อในขวดขนาด 1 ลิตร ซึ่งใช้เวลาประมาณ 4-5 วันเพื่อให้ได้เซลล์ที่มีความเข้มข้นประมาณ $1x10^6$ cell/mL หลังจากนั้นจึงเป็นการเพาะเลี้ยงในบ่อเปิดขนาดในช่วง 2-5 ลูกบาศก์เมตร ซึ่งจะได้ความเข้มข้นของเซลล์สุดท้ายอยู่ที่ประมาณ $1-2x10^5$ cell/mL เท่านั้น โดยใช้เวลาเลี้ยงอีกประมาณ 4-5 วัน คิดเป็นค่าผลได้อยู่ที่ $2x10^8$ cell/L-d ผลที่ได้จากการวิจัยในครั้งนี้พบว่าการใช้ถังปฏิกรณ์แบบอากาศยกนั้นจะช่วยเพิ่มศักยภาพในการเพาะเลี้ยงเซลล์ โดยในถังขนาด 17 ลิตรที่ใช้นั้น สามารถเพาะเลี้ยงเซลล์ได้ความเข้มข้นสูงถึงประมาณ $4x10^6$ cell/mL ในเวลาเพียง 12 ชั่วโมงเท่านั้น ซึ่งคิดเป็นค่าผลได้สูงถึง $9.45x10^9$ cell/L-d นั่นคือถังขนาด 17 ลิตรจะมีความสามารถในการผลิตเท่ากับบ่อขนาด 500 L เลยทีเดียว

นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบผลที่ได้กับผลการเพาะเลี้ยงที่มีรายงานในอดีต ซึ่งมีเพียง Samonte และคณะในปี 1993 เท่านั้นที่เคยรายงานผลการเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิดนี้ในประเทศฟิลิปปินส์ พบว่าค่าผลได้จากรายงานนี้อยู่ที่ $6.4x10^8$ cell/L-d คิดเป็นประมาณน้อยกว่า 10% ของค่าผลได้ที่ได้รับจากงานวิจัยนี้

1.5 เอกสารอ้างอิง

Bailey J.E. and Ollis D.F. 1986. Biochemical Engineering Fundamentals, McGraw Hill 2nd

Guillard, R.R.L. 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In W. L. Smith, M. H. Chanley (eds.), Culture of marine invertebrates animal, New York: Plenum Press.

Samonte, G.P.B., Espergadera, C.C., Caturao, R.D. 1993. Economics of microalgae (Chaetoceros calcitrans) production using the multi-step method in the Philippines. Aquaculture. 112(1) 39-45.

Stein, J. 1973. Handbook of phycological methods: culture methods and growth measurements. Cambridge University Press, London. (for general algal culture).

บทที่ 2 การเพาะเลี้ยงเซลล์ *Haematococcus pluvialis* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยก

2.1 ระบบที่ใช้ในการทดลองและวิธีการทดลอง

2.1.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยง

สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงแบ่งออกเป็น 2 ลักษณะ คือ สภาวะของสารอาหาร และสภาวะของถังปฏิกรณ์ โดยการศึกษาสภาวะของสารอาหารจะทำในขวดลูกชมพู่ และมีการเปลี่ยนแปลงสารอาหารตามที่จะได้ให้รายละเอียดต่อไป

ส่วนการศึกษาสภาวะของถังปฏิกรณ์นั้น ทำการทดลองเพาะเลี้ยงเซลล์ของ *Haematococcus pluvialis* ในถังปฏิกรณ์แบบอากาศยกใสขนาด 3 ลิตรที่มีขนาดตามระบุในตารางที่ 2.1 โดยมีการควบคุมความเร็วของก๊าซและแสงในลักษณะเดียวกับการเพาะเลี้ยงเซลล์ *Chaetoceros calcitrans* นั่นคือ ใช้แสงไฟจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ (ขนาด 18W)

เนื่องจากเซลล์ของ *Haematococcus pluvialis* มีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะค่อนข้างต่ำ ดังนั้นจึงจำเป็นจะต้องให้คาร์บอนเพิ่มเติมเพื่อเร่งการเจริญเติบโต ซึ่งในที่นี้จะให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นแหล่งของคาร์บอน โดยควบคุมให้อากาศที่ป้อนเข้าสู่ถังปฏิกรณ์มีค่าสัดส่วนของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 1% และทำการทดลองในห้องปรับอากาศที่ควบคุมอุณหภูมิในช่วง 27±1°C

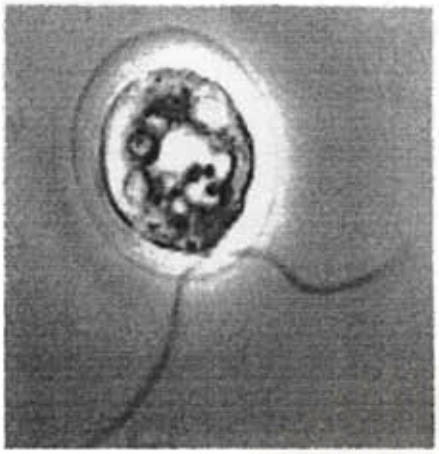
ตารางที่ 2.1 ขนาดของถังสัมผัสแบบอากาศยกที่ใช้ในการศึกษา

ตัวแปร	ขนาด
ความสูงของถัง, H (ซม)	60
เส้นผ่าศูนย์กลาง, D (ซม)	10
ปริมาตร, V (ลิตร)	3
เส้นผ่าศูนย์กลางของท่อภายใน, D_T (draft tube) (ซม)	4.6 และ 6.6
ความสูงของท่อภายใน, H_T (ซม)	40
ระยะห่างของท่อภายในถึงพื้นถัง, H_B (ซม)	4
ความสูงของน้ำก่อนให้อากาศ, H_W (ซม)	46

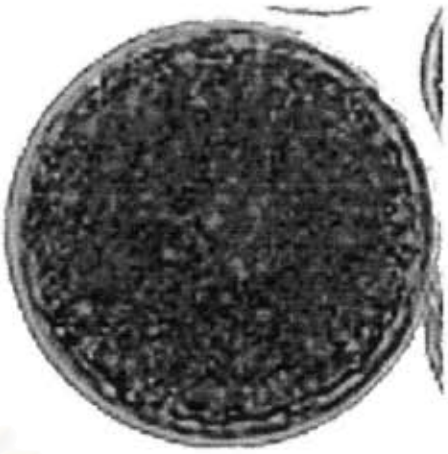
2.1.3 การตรวจวัดค่าตัวแปร

การวัดความเข้มข้นของเซลล์ *Haematococcus pluvialis* มีความซับซ้อนกว่ากรณีของ *Chaetoceros calcitrans* ทั้งนี้เนื่องจากเซลล์ของ *Haematococcus pluvialis* นั้นสามารถอยู่ในหลายรูปแบบ เช่น รูปแบบของการเจริญเติบโต (Vegetative cell) และรูปแบบของการเข้าสู่สภาวะซิส (Non-motile cell) ซึ่งแต่ละรูปแบบจะมีลักษณะแตกต่างกัน (ดูรูปที่ 2.1)

เทคนิคในการวัดค่าความเข้มข้นของ *Haematococcus pluvialis* นั้นยังคงเป็นวิธีเดียวกับที่ใช้กับ *Chaetoceros calcitrans* นั่นคือ ใช้การตรวจวัดใน Haemacytometer แต่ต้องทำการนับเซลล์ทั้ง 2 รูปแบบ



เซลล์แบบ Vegetative เป็นเซลล์ที่พร้อมสำหรับการเจริญเติบโต



เซลล์แบบซิส เป็นเซลล์ที่อยู่ในสภาวะไม่เหมาะสำหรับการเจริญเติบโต

รูปที่ 2.1 เซลล์ของ *Haematococcus pluvialis*

2.2 การคัดเลือกสารอาหารที่เหมาะสม

เช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงเซลล์ของ *Chaetoceros calcitrans* การทดลองในส่วนนี้เป็นการทดลองในขวดลูกชมพู่ขนาด 250 mL แต่เนื่องจากมีรายงานเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยง *Haematococcus pluvialis* ค่อนข้างมาก และแต่ละรายงานจะให้ข้อมูลที่แตกต่างกัน ดังนั้นขั้นตอนแรกนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์หาชนิดของสารอาหารที่เหมาะสำหรับการเจริญเติบโตของ *Haematoccocus pluvialis* มากที่สุดสำหรับสภาวะสิ่งแวดล้อมที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ และในส่วนนี้ ผู้วิจัยได้ทดลองใช้สารอาหารตามที่มีรายงานในอดีต 6 รูปแบบด้วยกัน ตามสรุปในตารางที่ 2.2 และพบว่าสารอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของ *Haematococcus pluvialis* คือ สารอาหาร F1 ดังจะเห็นได้จากรูปที่ 2.2 ว่าสารอาหาร F1 จะให้เซลล์ที่มีความเข้มข้นสูงกว่าสารอาหารประเภทอื่น ดังนั้นการทดลองต่อไปจะใช้สารอาหาร F1 เป็นสารอาหารหลักในการเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิดนี้

ตารางที่ 2.2 สัดส่วนของสารต่าง ๆ ในสารอาหาร 6 ชนิดที่ใช้ในการทดลองนี้ (ต่อ 1 ลิตรของสารอาหาร)

	M1	Basal	F1	BG-11	Hong Kong	M6
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	183.8 mg	25 mg	9.78 mg	36 mg	73 mg	3.676 g
KNO_3	0.5 g	10 mg	0.41 g		0.3 g	
$NaNO_3$				1.5 g		
Na_2HPO_4			0.03 g		30 mg	1.5 g
NaH_2PO_4	195 mg				35.5 mg	1.778 g
H_3PO_4	0.12 mg					12.37 mg
K_2HPO_4		75 mg		40 mg		
KH_2PO_4		175 mg				
NaCl		2.513 g				
KOH		30.85 mg				
H_2SO_4		0.99 mg				
$C_6H_5FeO_7 \cdot 5H_2O$			2.21 mg			
$FeSO_4 7H_2O$	20.9 mg	4.976 mg			8.3 mg	0.417 g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	61.6 mg	4 mg	16.41 mg	75 mg	24.6 mg	1.231 g
$ZnSO_4$	0.72 mg	8.827 µg			0.014 mg	71.89 mg
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.62 mg	1.572 g	0.008 mg	0.079 mg	0.012 mg	62.42 mg
$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.07 mg		0.08 mg	0.39 mg	0.001 mg	7.26 mg
$CoCl_2 \cdot 2H_2O$	0.05 mg		0.0078 mg		0.0005 mg	4.67 mg
H_3BO_3		10.948 mg		2.86 mg	0.003 mg	
Cr_2O_3			0.05 mg			
SeO_2			0.036 mg			
$EDTANa \cdot 2H_2O$	18.6 g	49.34 mg		1 mg	6.7 mg	0.372 g
Na_2CO_3				0.02 g		
$NH_4Fe(C_6H_5O_7)$				0.006 g		
$MnCl_2 \cdot 4H_2O$		1.445 mg	0.66 mg	1.81 mg		
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$				0.222 mg		
$Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$		0.389 mg		0.049 mg		
$MnSO_4 \cdot H_2O$	0.72 mg				0.001 mg	84.51 mg
$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$		15 mg				

M1: F. Chen, H. Chen, X. Gong. Mixotrophic and heterophic growth of Haematococcus lacustris and rheological behavior of the cell suspensions. Bioresource Technology 62 (1997) 19-24.

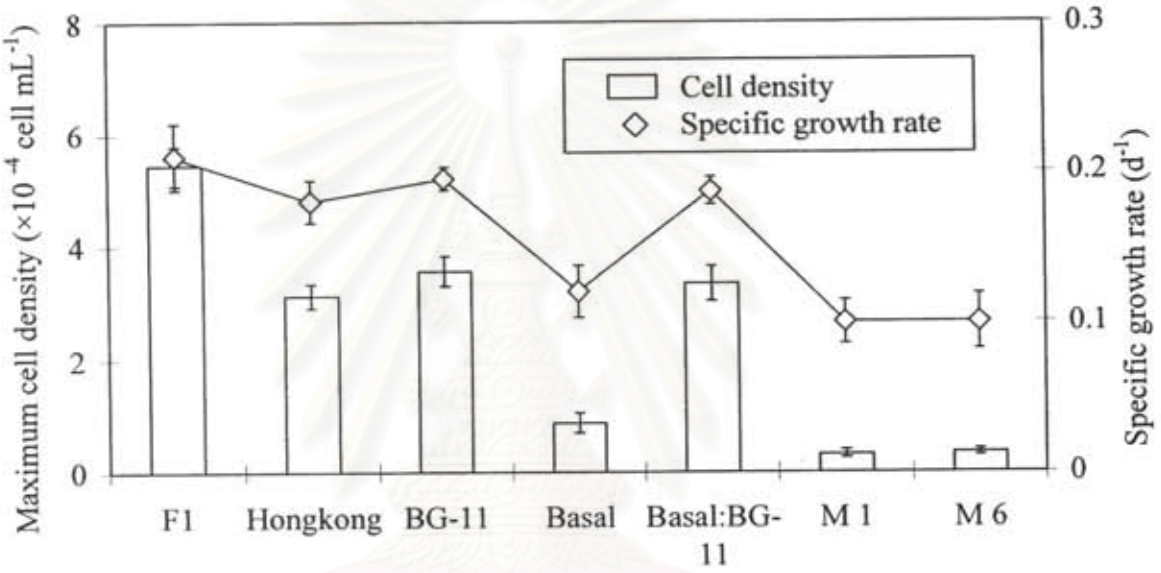
Basal: N. Hata, J.C. Ogbonna, Y. Hasegawa, H. Taroda, H. Tanaka. Production of astaxanthin by Haematococcus pluvialis in a sequential heterotrophic-photoautotrophic culture. J. Appl. Phycology 13 (2001) 395-402

F1: J. Fábregas, A. Dominguez, D.G. Alvarez, T. Lamela, A. Otero. Induction of astaxanthin accumulation by nitrogen and magnesium deficiencies in Haematococcus pluvialis. Biotechnology Letters 20(6) (1998) 623-626.

BG-11: S. Boussiba, A. Vonshak. Astaxanthin accumulation in the green alga Haematococcus pluvialis. Plant Cell Physiol. 32(7) (1991) 1077-1082.

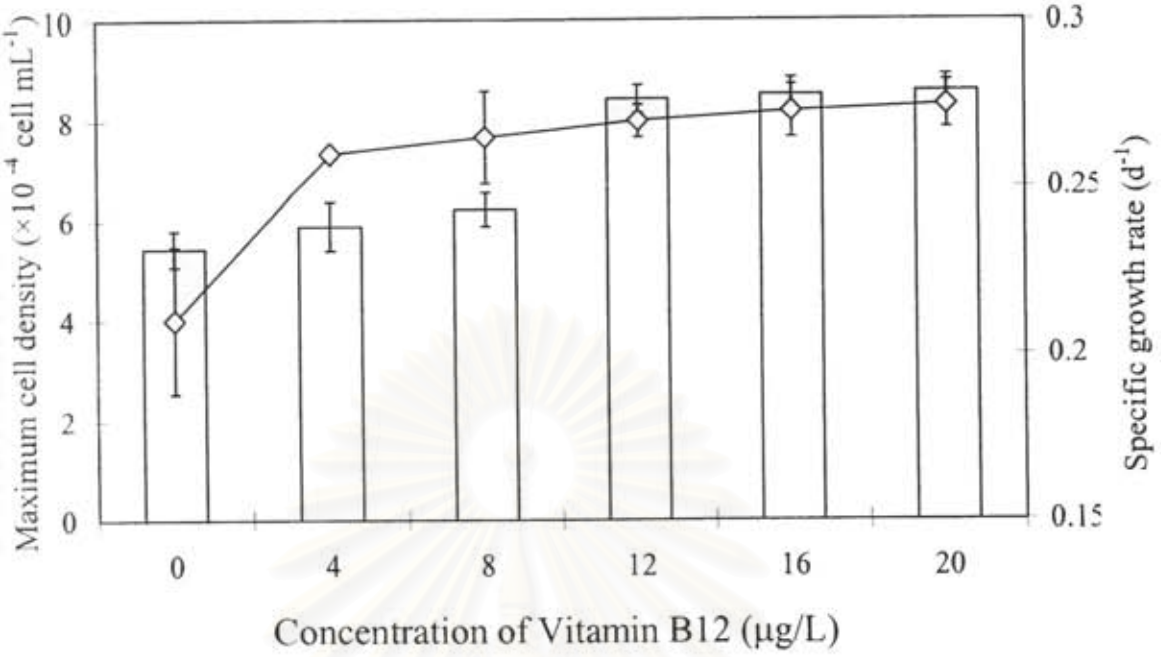
HongKong: X.W. Zhang, X.F. Gong, F. Chen. Dynamics and stability analysis of the growth and astaxanthin production system of Haematococcus pluvialis. Industrial Microbiology and Biotechnology 23 (1999) 133-137.

M6: X. Gong, F. Chen. Influence of medium components on astaxanthin content and production of Haematococcus pluvialis. Process Biochemistry 33(4) (1998) 385-391.

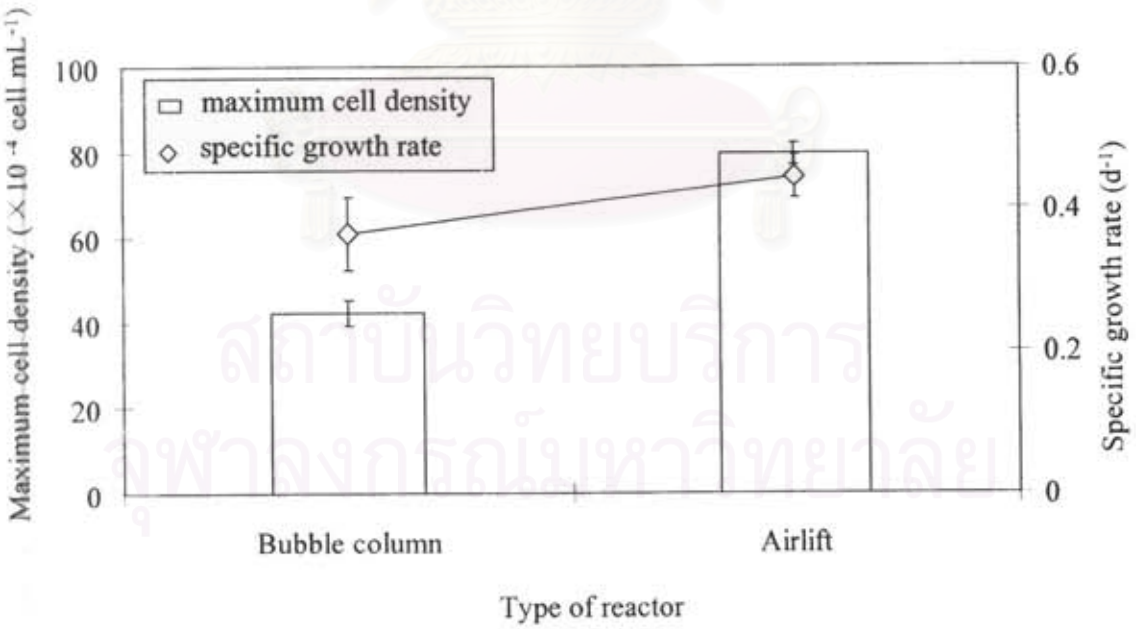


รูปที่ 2.2 ผลของสารอาหารต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตของ *Haematococcus pluvialis*

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 2.3 ผลของวิตามิน B12 ต่อค่าความเข้มข้นเซลล์สูงสุดและอัตราการเจริญเติบโตของ *Haematococcus pluvialis*



รูปที่ 2.4 ผลการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ Bubble column และแบบอากาศยก (Airlift photobioreactor)

รูปที่ 2.3 แสดงให้เห็นว่าเมื่อเติมวิตามิน B12 ลงไปในสารอาหาร จะช่วยให้เซลล์สามารถเจริญเติบโตได้ดีขึ้น โดยค่าความเข้มข้นของวิตามิน B12 ที่ควรใช้ในงานนี้อยู่ที่ 12 ไมโครกรัมต่อลิตร

2.3 ผลการดำเนินงาน

2.3.1 สภาวะการเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยก

ถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยกสำหรับการทดลองนี้ เป็นระบบขนาด 3 ลิตร ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางของคอลัมน์ด้านนอกเท่ากับ 10 ซม และสูง 60 ซม มีท่อภายในจำนวน 1 ท่อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 4.6 และ 6.6 ซม นอกจากนี้ยังได้มีการเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์แบบ Bubble column ซึ่งมีลักษณะภายนอกเหมือนกับถังปฏิกรณ์แบบอากาศยกทุกประการ ยกเว้นแต่ว่าในถังปฏิกรณ์แบบ bubble column นี้ไม่มีท่อภายในแต่อย่างใด

รูปที่ 2.4 เป็นผลเปรียบเทียบการดำเนินงานของถังปฏิกรณ์ 2 รูปแบบ ซึ่งทั้ง 2 นี้เป็นถังปฏิกรณ์เชิงลม (pneumatic reactor) ซึ่งผลการทดลองแสดงให้เห็นได้ชัดเจนว่าถังปฏิกรณ์แบบอากาศยกให้สภาวะการดำเนินงานที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของเซลล์มากกว่า โดยให้ทั้งจำนวนเซลล์และอัตราการเจริญเติบโตที่สูงกว่าถังปฏิกรณ์แบบ bubble column ทั้งนี้เป็นผลเนื่องมาจากการไหลวนของของไหลภายในระบบอากาศยก ที่ช่วยให้เซลล์มีการไหลวนมายังบริเวณ downcomer ซึ่งมีแสงส่องถึงตลอดเวลา ในขณะที่ระบบแบบ bubble column เป็นระบบที่ไม่สนับสนุนการไหลวนของของไหลที่อยู่ภายในเนื่องจากไม่มีการแบ่งส่วนชัดเจนระหว่างบริเวณที่ให้ก๊าซและบริเวณที่ไม่ให้ก๊าซ ดังนั้นเมื่อให้ก๊าซกับระบบ ฟองก๊าซจะเคลื่อนที่ขึ้นด้านบน เกิดแรงดึงพาเอาของเหลวให้ไหลขึ้นด้านบนด้วย และเมื่อของเหลวที่อยู่ติดกับฟองก๊าซไหลขึ้น ของเหลวส่วนอื่น ๆ จะต้องไหลเข้ามาแทนที่ ทำให้ผลรวมของการเคลื่อนที่

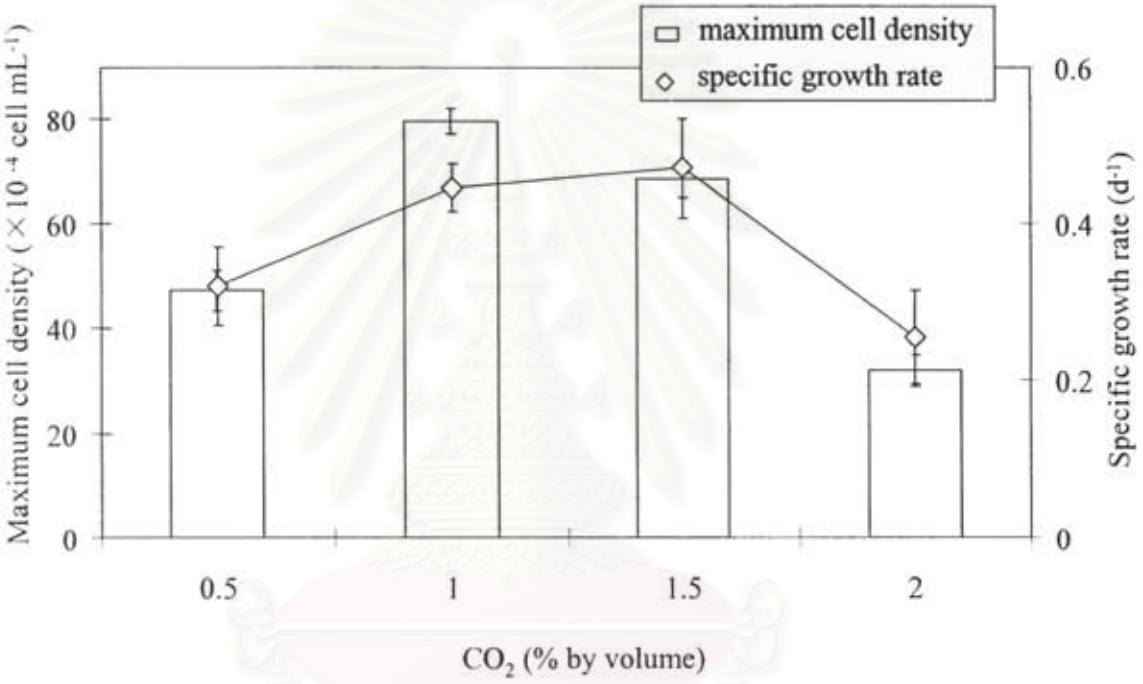
ภายในระบบมีค่าเป็นศูนย์ ทำให้เซลล์ส่วนใหญ่จะตกตะกอนทำให้ได้ค่าอัตราการเจริญเติบโตและจำนวนเซลล์น้อย ในระบบแบบอากาศยก การแบ่งส่วนการให้อากาศและส่วนไม่ให้อากาศทำให้ของเหลวจากส่วน downcomer สามารถไหลมาทดแทนของเหลวที่ไหลขึ้นในส่วน riser ได้ ทำให้ได้การเคลื่อนที่ที่เป็นแบบแผนชัดเจน (ในแนวดิ่ง) และช่วยให้เซลล์เคลื่อนที่ไปยังบริเวณที่มีแสงเพียงพอต่อการสังเคราะห์แสงได้

2.3.2 ผลของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

Haematococcus pluvialis เป็นเซลล์ที่มีอัตราการเจริญเติบโตค่อนข้างช้า (ช้ากว่าเซลล์ของ *Chaetoceros calcitrans* ประมาณ 6-8 เท่าในสภาวะการเลี้ยงปกติ) ดังนั้น เพื่อให้เซลล์มีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น การเพาะเลี้ยงจำเป็นจะต้องช่วยเร่งการเจริญเติบโตโดยให้แหล่งของคาร์บอนเพิ่มเติม ซึ่งสามารถทำได้ 2 ลักษณะคือ การเพาะเลี้ยงแบบใช้สารประกอบคาร์บอนที่เป็นสารอินทรีย์ (Heterotrophic growth) และการเพาะเลี้ยงโดยใช้สารประกอบคาร์บอนที่เป็นสารอนินทรีย์ (Autotrophic growth) โดยวิธีแรกนั้นมีลักษณะเหมือนการเพาะเลี้ยงเซลล์จุลินทรีย์ทั่วไป ทำให้เกิดการปนเปื้อนได้ง่าย ทำให้ต้องการถังปฏิกรณ์ที่มีระบบการป้องกันการปนเปื้อนอย่างดี จึงไม่นำมาใช้ในงานนี้ ส่วนวิธีที่ 2 ใช้ คาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งของคาร์บอน ซึ่งเซลล์สามารถนำคาร์บอนไปใช้ได้ผ่านทางกระบวนการสังเคราะห์แสง เป็นการเพาะเลี้ยงที่ไม่เสี่ยงต่อการปนเปื้อนมากนัก เพราะจะมีเฉพาะเซลล์ที่สังเคราะห์แสงได้เท่านั้นที่สามารถปนเปื้อนได้

ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอนที่สำคัญสำหรับการเจริญเติบโตของสาหร่าย ดังนั้นการเพิ่มก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะช่วยให้สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้เร็วขึ้น แต่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เมื่อละลายน้ำแล้วจะให้สภาวะเป็นกรด ดังนั้นถ้ามีปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มากเกินไปจะทำให้เกิดอันตรายต่อเซลล์ รูปที่ 2.5 เป็นผลการทดลองที่แสดงให้เห็นถึงความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของ *Haematococcus pluvialis* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยก โดยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 1% จะให้ค่าอัตราการเจริญเติบโต และปริมาณเซลล์สูงที่สุด ซึ่งที่อัตราการให้

ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์นี้ ค่าความเป็นกรดด่างของสารละลายจะอยู่ที่ประมาณ 6-5 – 7 ที่อัตราการให้คาร์บอนไดออกไซด์ต่ำกว่า 1% จะมีปริมาณคาร์บอนน้อยเกินความต้องการ ส่วนที่คาร์บอนได้ออกไซด์สูงกว่า 1% จะทำให้ pH ของสารละลายมีค่าต่ำเกินไป (เป็นกรด) ไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเซลล์ *Haematococcus pluvialis*



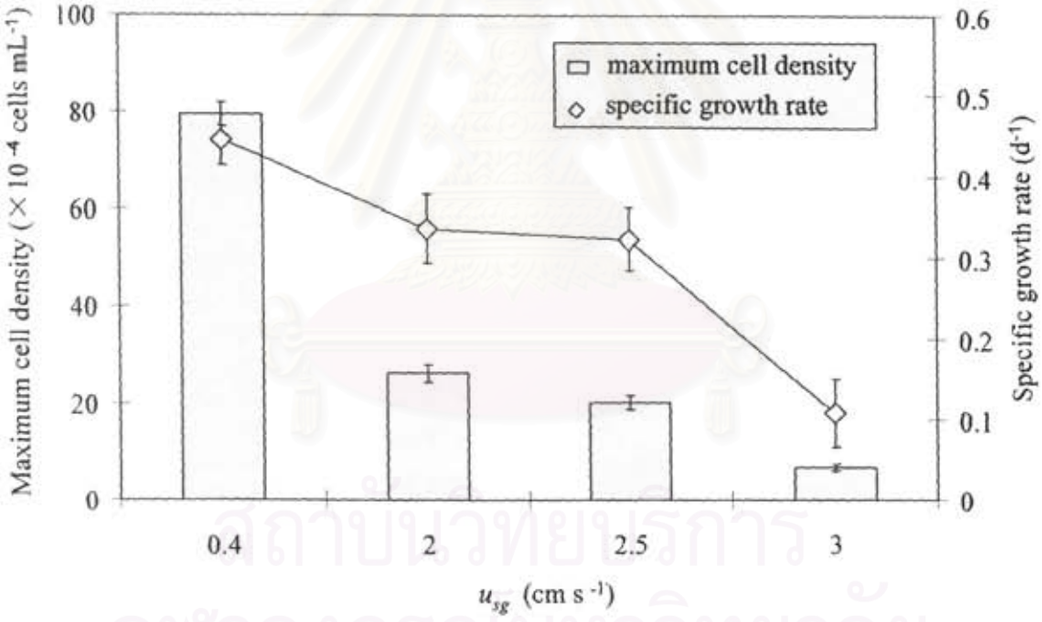
รูปที่ 2.5 ผลของความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ป้อนเข้าสู่ระบบ

2.3.3 ผลของขนาดของท่อภายใน

ท่อภายในที่ใช้ในการทดลองนี้มีขนาด 4.6 และ 6.6 ซม ซึ่งทำให้ได้สัดส่วนของพื้นที่หน้าตัดระหว่าง downcomer และ riser เท่ากับ 3.2 และ 0.9 ตามลำดับ ซึ่งการทดลองได้จัดขึ้นที่ความเร็วหอเปล่าของอากาศเท่ากับ 0.4 ซม/วินาที และที่ความเร็วนี้ ผลของท่อภายในไม่สามารถเห็นได้เด่นชัด กล่าวคือ ผลจากการทดลองเพาะเลี้ยงทั้ง 2 กรณีได้ค่าที่ใกล้เคียงกัน และถือว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ผลไม่ได้แสดงในที่นี้)

2.3.4 ผลของความเร็วลมที่ป้อนสู่ระบบ

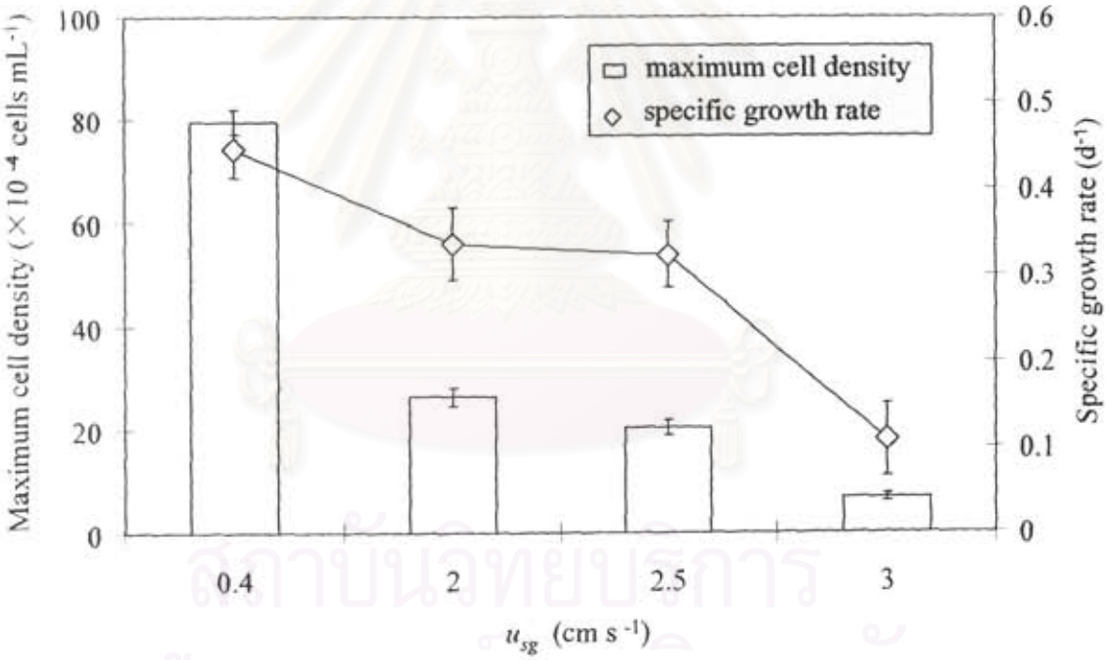
ความเร็วลมมีผลต่อการเจริญเติบโตของ *Haematococcus pluvialis* ค่อนข้างมาก เนื่องจากเซลล์ชนิดนี้โดยเฉพาะในช่วงของการเจริญเติบโตจะมีลักษณะค่อนข้างบอบบางและไม่ทนต่อแรงเฉือน ดังนั้นหากความเร็วลมมีค่าสูงเกินไป แรงเฉือนที่เกิดขึ้นเนื่องจากการไหลผ่านของเหลวของฟองอากาศจะก่อให้เกิดความเสียหายกับเซลล์ได้ โดยรูปที่ 2.6 แสดงให้เห็นว่าความเร็วลมที่ 0.4 ซมต่อวินาที ซึ่งเป็นค่าต่ำสุดที่สามารถจะควบคุมได้สำหรับระบบนี้ เป็นค่าที่ให้ผลการเจริญเติบโตที่ดีที่สุด



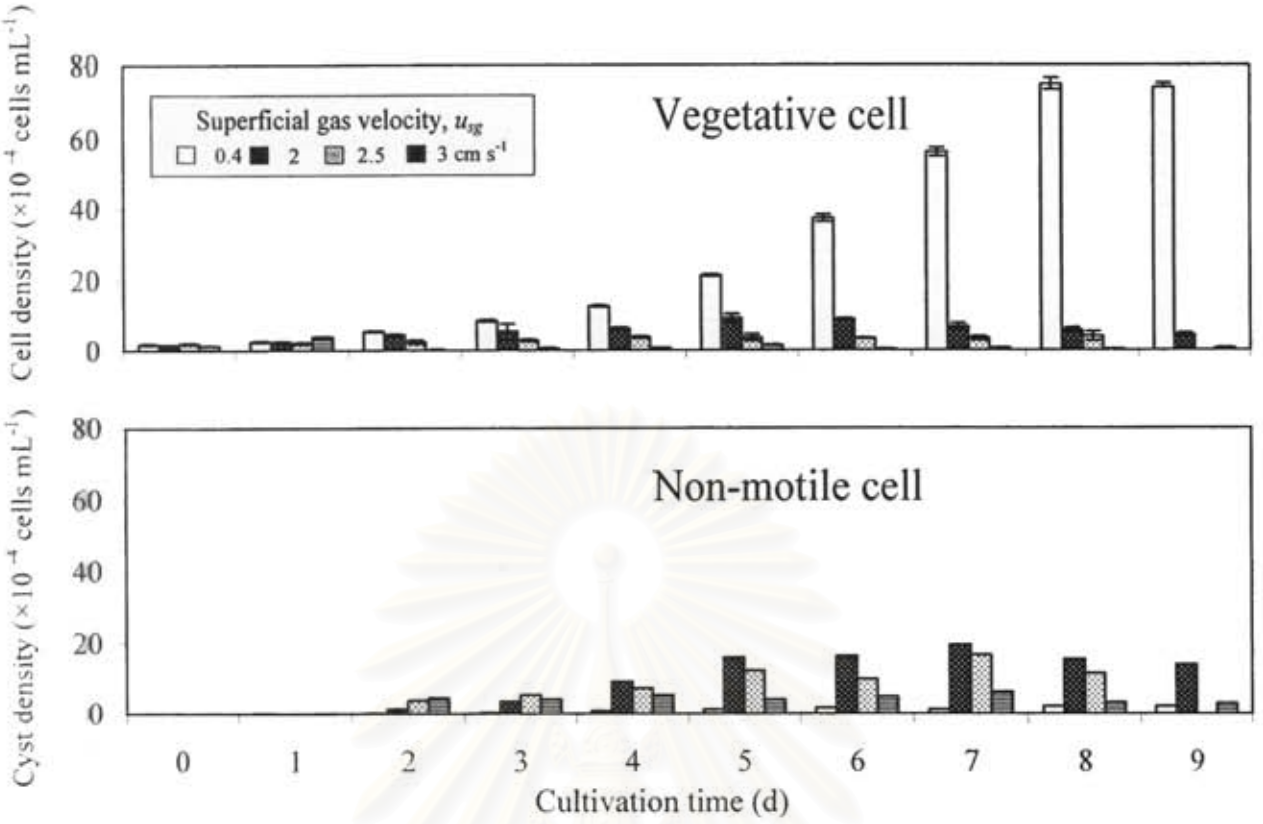
รูปที่ 2.6 ผลของความเร็วก๊าซต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยก

2.3.4 ผลของความเร็วลมที่ป้อนสู่ระบบ

ความเร็วลมมีผลต่อการเจริญเติบโตของ *Haematococcus pluvialis* ค่อนข้างมาก เนื่องจากเซลล์ชนิดนี้โดยเฉพาะในช่วงของการเจริญเติบโตจะมีลักษณะค่อนข้างบอบบางและไม่ทนต่อแรงเฉือน ดังนั้นหากความเร็วลมมีค่าสูงเกินไป แรงเฉือนที่เกิดขึ้นเนื่องจากการไหลผ่านของเหลวของฟองอากาศจะก่อให้เกิดความเสียหายกับเซลล์ได้ โดยรูปที่ 2.6 แสดงให้เห็นว่าความเร็วลมที่ 0.4 ซมต่อวินาที ซึ่งเป็นค่าต่ำสุดที่สามารถจะควบคุมได้สำหรับระบบนี้ เป็นค่าที่ให้ผลการเจริญเติบโตที่ดีที่สุด

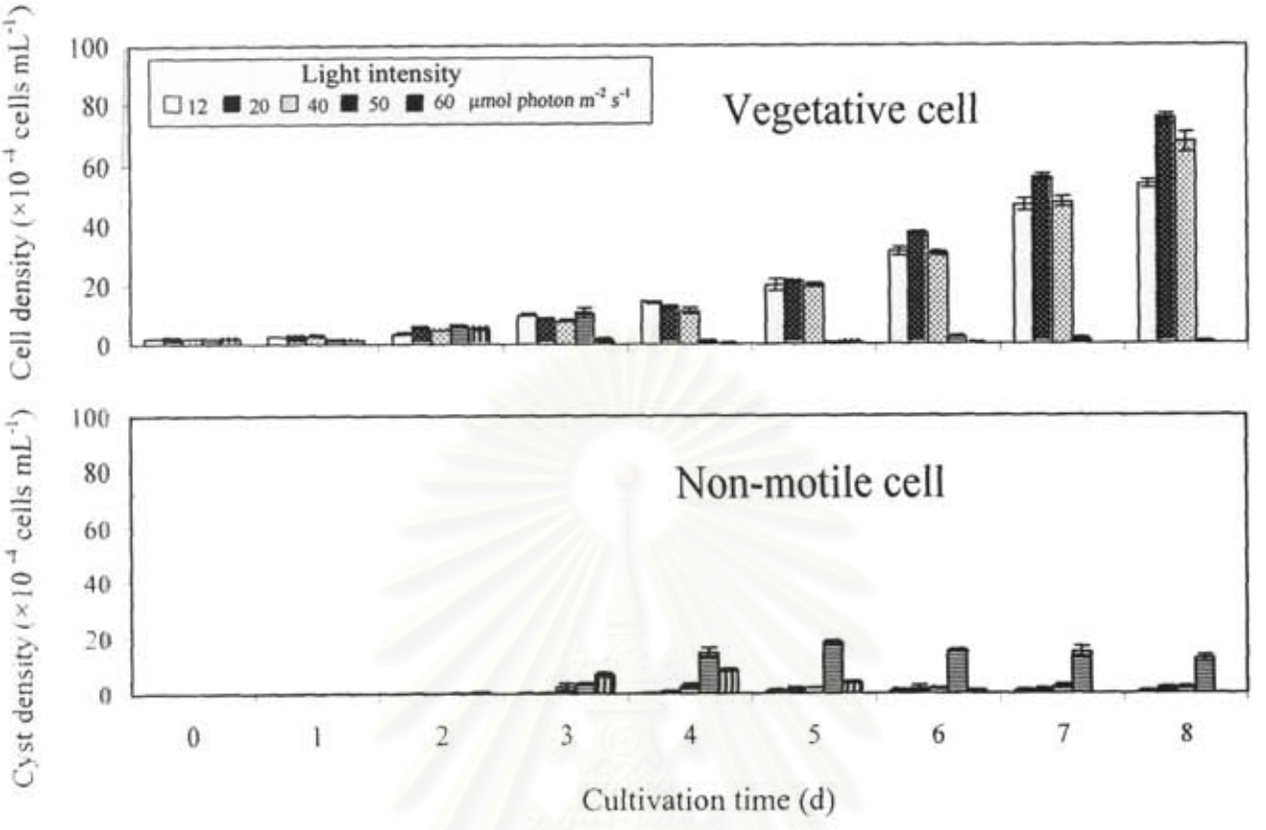


รูปที่ 2.6 ผลของความเร็วก๊าซต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยก



รูปที่ 2.7 ผลของความเร็วต่อสภาพของเซลล์ *Haematococcus pluvialis*

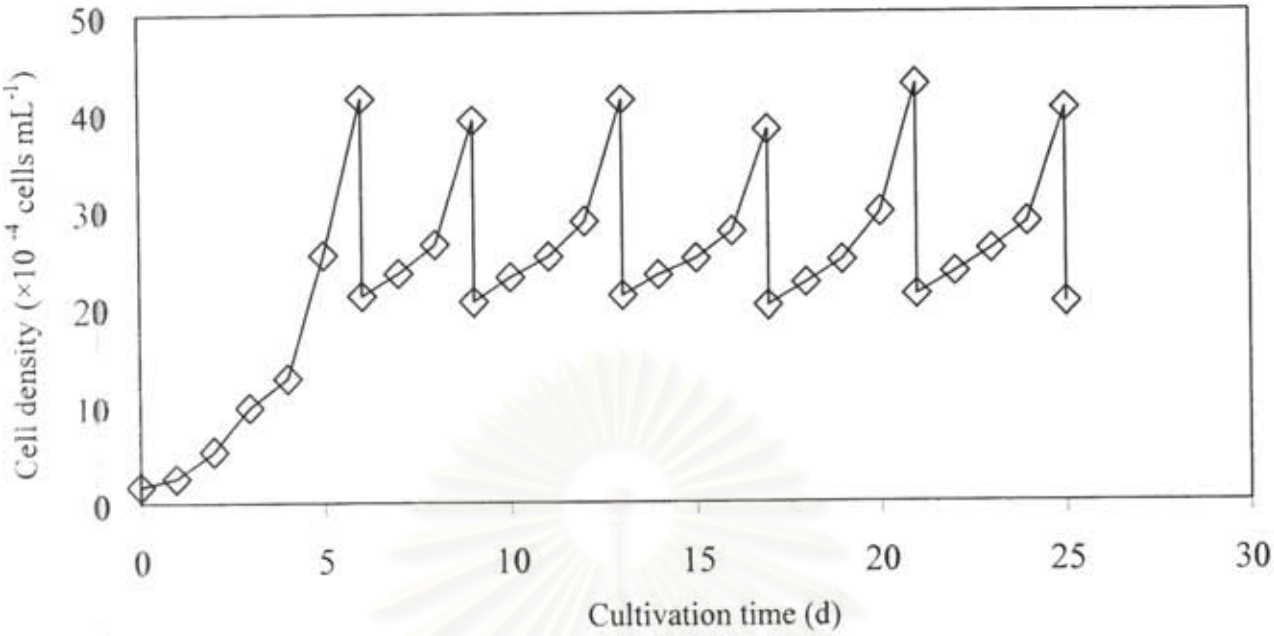
รูปที่ 2.7 แสดงให้เห็นถึงจำนวนของเซลล์แบบ Vegetative และเซลล์แบบซิส หรือ Non-motile cell โดยสาเหตุที่เรียกว่าเป็น non-motile cell เนื่องจากเมื่อเซลล์เข้าสู่ระยะซิส เซลล์จะสกัด flagella ทำให้ไม่สามารถเคลื่อนที่ในของเหลวอย่างอิสระได้ เซลล์ลักษณะนี้สามารถตกตะกอนได้ง่าย การมีเซลล์ในระยะซิสมากแสดงให้เห็นว่าสภาวะของการเพาะเลี้ยงไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโต ทำให้เซลล์ทำการสะสมอาหารและเข้าสู่ระยะซิส ซึ่งไม่เป็นสิ่งที่ต้องการสำหรับการออกแบบถังปฏิกรณ์สำหรับการเพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้จำนวนเซลล์มาก ๆ จากรูปที่ 2.7 นี้ ผลแสดงให้เห็นชัดเจนว่า สภาวะการดำเนินงานที่ Usg เท่ากับ 0.4 cm/s นั้นให้เซลล์ที่มีลักษณะ Vegetative สูงที่สุด เมื่อความเร็วอากาศสูงขึ้น ปริมาณเซลล์โดยรวมจะลดลงอย่างรวดเร็ว และในเซลล์ที่หลงเหลืออยู่ก็ยังมีสัดส่วนของเซลล์ในระยะซิสค่อนข้างมากอีกด้วย



รูปที่ 2 8 ผลของแสงต่อความเข้มข้นและสภาพของเซลล์ *Haematococcus pluvialis*

2.3.5 ผลของแสงต่อการเจริญเติบโตของ *Haematococcus pluvialis*

รูปที่ 2.8 แสดงให้เห็นชัดเจนว่า แสงที่เข้มกว่า 40 µmol photon/m^2-s ไม่ส่งผลดีต่อการเพาะเลี้ยงเซลล์ของ *Haematococcus pluvialis* นั่นคือเซลล์ชนิดนี้ชอบที่จะเจริญเติบโตในสภาวะที่ไม่มีแสงมากนัก ทั้งนี้ผลการทดลองทำให้สรุปได้ว่าความเข้มแสงที่ 20 µmol photon/m^2-s เป็นค่าที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการเจริญเติบโต รูปที่ 2.8 ยังแสดงให้เห็นอีกว่าสัดส่วนของเซลล์ระยะซิสจะเพิ่มขึ้นที่แสงเข้มสูงขึ้นกว่า 40 µmol photon/m^2s^1 แต่ในช่วงความเข้มแสงต่ำกว่านี้ สัดส่วนของเซลล์ระยะซิสมีไม่มากนัก



รูปที่ 2.9 ผลการเพาะเลี้ยงเซลล์ *Haematococcus pluvialis* แบบกึ่งต่อเนื่อง

2.3.6 การเพาะเลี้ยงแบบ Semi-continuous

หลังจากที่สามารถหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเซลล์ของ *Haematococcus pluvialis* ได้แล้ว การทดลองเพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง หรือแบบ Semi-continuous จึงได้เริ่มขึ้นเพื่อศึกษาถึงศักยภาพในการใช้ระบบถังสัมผัสแบบอากาศยกในการผลิตระยะยาวขึ้น โดยได้ผลดังแสดงในรูปที่ 2.9 ซึ่งชี้ให้เห็นว่าเซลล์ชนิดนี้สามารถนำมาเพาะเลี้ยงในรูปแบบกึ่งต่อเนื่องได้ค่อนข้างดี โดยการเพาะเลี้ยงในสภาวะนี้จะมีการเก็บเกี่ยวเซลล์ครั้งละ 50% ของปริมาตรทั้งหมด และทำการเก็บเกี่ยวในช่วงที่เซลล์กำลัง active มากที่สุด นั่นคือเมื่อเซลล์อยู่ในช่วงกลางของ Logarithmic phase หรือใช้เวลาประมาณ 4-5 วัน และให้อัตราการเจริญเติบโตที่ค่อนข้างสม่ำเสมอ โดยให้ค่าความเข้มข้นของเซลล์สูงสุดเท่ากับประมาณ 40×10^4 cell/mL

2.4 สรุปผลการเพาะเลี้ยงเซลล์ *Haematococcus pluvialis* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยก

ผลการทดลองในงานนี้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของการพัฒนาระบบถังสัมผัสแบบอากาศยกมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์ โดยค่าผลได้ที่จะได้จากงานนี้ (คือเท่ากับ 5.52 cell/mL-d) นั้นมีค่าสูงที่สุดเท่าที่เคยมีรายงาน

ในระบบถังปฏิกรณ์มาก่อน แต่ยังอาจด้อยกว่าการเพาะเลี้ยงในขวดลูกชมพู่ซึ่งมีรายงานว่าสามารถผลิตได้สูงถึง 6.8 cell/mL-d (Hata และคณะ 2001) การเพาะเลี้ยงในระบบถังปฏิกรณ์สำคัญมากต่อการพัฒนาระบบถังปฏิกรณ์ในอนาคต แต่เนื่องจากยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับพฤติกรรมของถังสัมผัสอากาศยกขนาดใหญ่มาก่อน ดังนั้นงานที่ยังคงต้องดำเนินการต่อคือการพยายามขยายผลไปสู่ระบบที่มีขนาดใหญ่ขึ้น โดยจุดเริ่มต้นของงานนี้อยู่ที่การพัฒนาระบบถังสัมผัสแบบอากาศยกขนาดใหญ่เพื่อให้มีพฤติกรรมที่ต้องการ และเป็นเนื้อหาของงานส่วนที่ 3 ของโครงการนี้ (บทที่ 3)

2.5 เอกสารอ้างอิง

Hata, N., Ogbonna, J.C., Hasegawa, Y., Taroda, H., Tanaka, H. 2001. Production of astaxanthin by *Haematococcus pluvialis* in a sequential heterotrophic-photoautotrophic culture. J. Appl. Phycology 13, 395-402.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3 การศึกษาผลของการจัดวางรูปแบบของท่อภายในสำหรับถังปฏิกรณ์แบบอากาศยกขนาดใหญ่

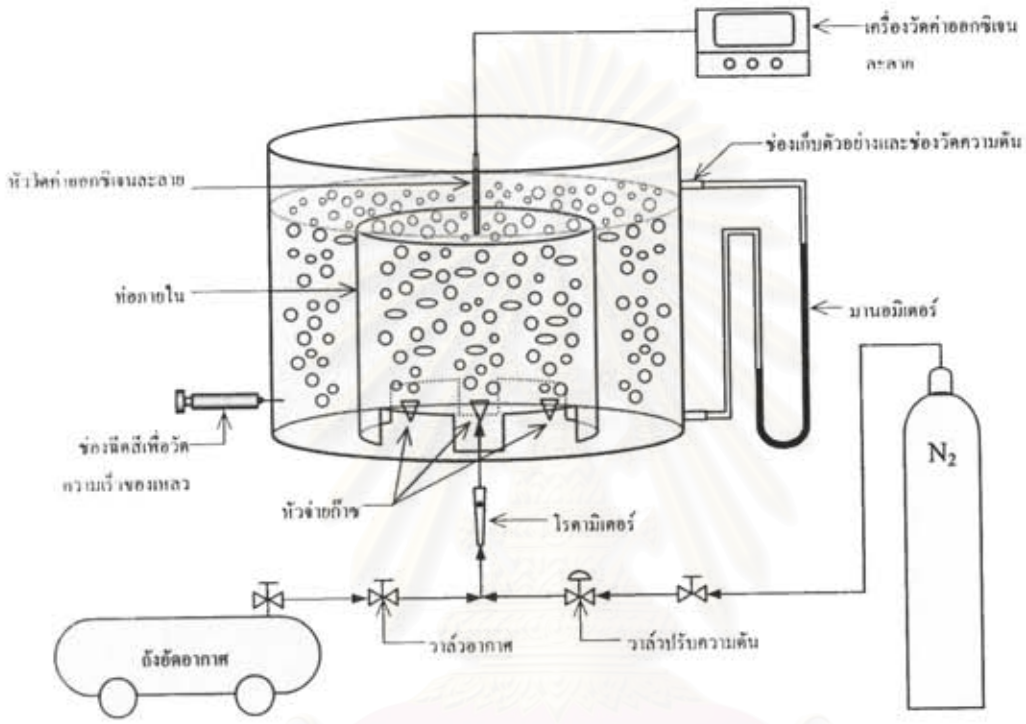
3.1 ระบบที่ใช้และวิธีการทดลอง

3.1.1 ถังสัมผัสแบบอากาศยกขนาด 170 ลิตร

การศึกษาในหัวข้อนี้จะเป็นการศึกษาถึงพฤติกรรมของระบบที่ไม่มีการเพาะเลี้ยงเซลล์ เพื่อศึกษาถึงพฤติกรรมการไหลและการถ่ายเทมวลสารระหว่างวัฏภาคของเหลวและก๊าซ ถังสัมผัสแบบอากาศยกที่ใช้ในการทดลองนี้มีลักษณะดังแสดงในรูปที่ 3.1 ซึ่งเป็นระบบที่มีปริมาตรใช้งาน 170 ลิตร โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 69 ซม และสูง 56.5 ซม ที่ด้านข้างของถังจะมีช่อง 2 ช่องที่อยู่ในแนวดิ่งเดียวกัน เพื่อใช้ในการวัดค่า pressure drop และนำไปคำนวณหาค่าสัดส่วนของก๊าซในระบบ ส่วนความเร็วของของเหลวจะวัดโดยใช้เทคนิคการฉีดสี และวัดความเร็วของการเคลื่อนที่ของกลุ่มสีภายในระบบ

ภายในถังนี้จะติดตั้งท่อภายในขนาดความสูง 40 ซม สูงจากพื้นถัง 5 ซม โดยขนาดและจำนวนของท่อภายในระบุอยู่ในตารางที่ 3.1 (ในรูปที่ 3.1 เป็นรูปที่แสดงให้เห็นถึงระบบที่มีท่อภายใน 1 ท่อเท่านั้น) รูปแบบและขนาดของท่อภายในจะมีการเปลี่ยนแปลง แต่ทุกรูปแบบจะให้ค่าสัดส่วนระหว่างพื้นที่หน้าตัดของส่วน downcomer และ riser เท่ากับ 2.03 ในเบื้องต้นกำหนดให้มีรูปแบบการติดตั้งท่อภายใน 3 แบบคือ แบบ 1 ท่อ แบบ 3 ท่อ และแบบ 4 ท่อ โดยแบบ 1 ท่อ ขนาดของท่อภายในเท่ากับ 0.4 ซม แบบ 3 ท่อ ขนาดของท่อภายในเท่ากับ 0.23 ซม และแบบ 4 ท่อ ขนาดของท่อภายในเท่ากับ 0.2 ซม (ดูรูปที่ 2.3.2 สำหรับรูปแบบการติดตั้งท่อภายใน)

การทดลองเริ่มจากการเติมน้ำลงในถังเปล่าที่ไม่มีการให้อากาศ ให้ระดับน้ำสูงกว่าท่อภายในราว 7 ซม หลังจากนั้นจึงให้อากาศในช่วงความเร็วหอเปล่า (Usg) เท่ากับ 0.4-2 cm/s และทำการวัดพฤติกรรมของระบบดังรายละเอียดในหัวข้อต่อไป



รูปที่ 3.1 ถังสัมผัสแบบอากาศยกขนาดใหญ่และการติดตั้ง

ตารางที่ 3.1 สัญลักษณ์และขนาดของถังสัมผัสแบบอากาศยกขนาดใหญ่

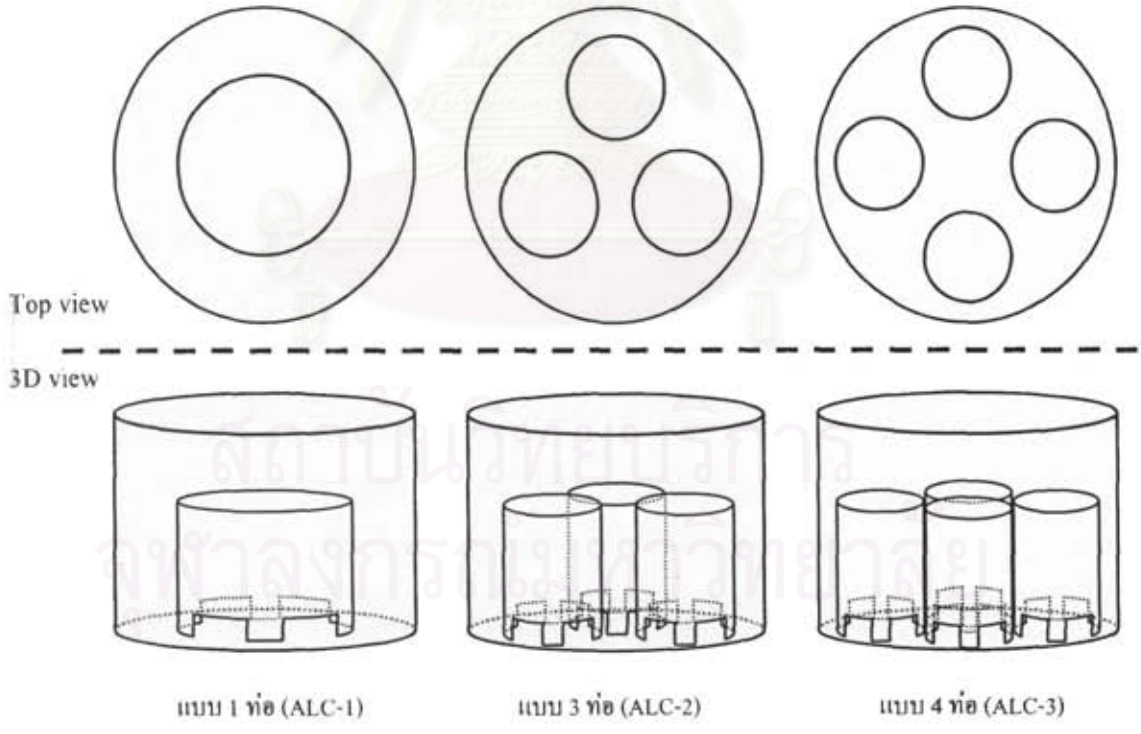
สัญลักษณ์	จำนวนท่อภายใน (N_{DT})	ขนาดของท่อภายใน (D_{DT}, m)	สัดส่วนพื้นที่ downcomer และ riser (A_d/A_r, -)	หมายเหตุ
ALC-1	1	0.40	2.03	มีท่อภายในท่อเดียว
ALC-2	3	0.23	2.03	มีท่อภายใน 3 ท่อ
ALC-3	4	0.23	1.27	มีท่อภายใน 4 ท่อ

3.1.2 การวัดค่าสัดส่วนก๊าซ

การวัดค่าสัดส่วนของก๊าซโดยรวมภายในระบบ ($\varepsilon_{g,o}$)สามารถทำได้โดยการวัดระดับของน้ำที่เพิ่มขึ้นเมื่อมีการให้อากาศเข้าสู่ระบบ (Volume expansion method) โดยคำนวณค่าสัดส่วนก๊าซรวมจากสมการ 3.1 (Wongsuchoto and Pavasant, 2004)

$$\varepsilon_{g,o} = \frac{H_D - H_L}{H_D} \qquad (3.1)$$

โดยที่ H_D คือความสูงของระดับน้ำเมื่อมีการให้อากาศ (cm) ส่วน H_L คือความสูงของระดับน้ำเมื่อไม่มีการให้อากาศ (cm)



รูปที่ 3.2 การติดตั้งระบบถังสัมผัสแบบอากาศยกขนาดใหญ่ที่มีท่อภายในหลายรูปแบบ

ค่าสัดส่วนก๊าซใน Downcomer ($\varepsilon_{g,d}$) สามารถวัดได้โดยการใช้มานอมิเตอร์ต่อเข้ากับท่อเก็บตัวอย่างทางด้านข้างของถัง และวัดระดับความแตกต่างของน้ำภายในมานอมิเตอร์ โดยค่าสัดส่วนก๊าซใน downcomer สามารถคำนวณได้จาก (Chisti, 1989)

$$\varepsilon_{g,d} = 1 - \frac{\Delta z}{\Delta h} \tag{3.2}$$

โดยที่ Δz คือค่าความแตกต่างของความสูงของระดับน้ำในมานอมิเตอร์ (cm) ส่วน Δh คือระยะห่างระหว่างท่อเก็บตัวอย่างที่ใช้ในการต่อมานอมิเตอร์ที่ข้างถัง (cm)

หลังจากที่ทำการทดลองหาค่าสัดส่วนก๊าซรวมและสัดส่วนก๊าซใน Downcomer ได้แล้ว ค่าสัดส่วนก๊าซใน Riser ($\varepsilon_{g,r}$) สามารถคำนวณได้จากการทำสมดุลมวลของฟองอากาศ

$$\varepsilon_{g,r} = \varepsilon_{g,o}\left(1 + \frac{A_d}{A_r}\right) - \varepsilon_{g,d}\frac{A_d}{A_r} \tag{3.3}$$

ค่าสัดส่วนก๊าซรวมและสัดส่วนก๊าซใน Downcomer จะมีการวัดอย่างน้อย 5 ครั้ง เพื่อให้มีความเชื่อมั่นทางสถิติ

3.1.3 การวัดค่าความเร็วของของเหลว

การวัดค่าความเร็วของของเหลวสามารถทำได้โดยใช้เทคนิคการฉีดสี และวัดความเร็วของการเคลื่อนที่ของกลุ่มสี ซึ่งการวัดค่าความเร็วของน้ำนี้จะทำการทดลองทั้งสิ้น 30 ครั้งเพื่อหาค่าเฉลี่ยและให้มีความน่าเชื่อถือทางสถิติสูงที่สุด

3.1.4 การวัดค่าอัตราการถ่ายเทมวลระหว่างวัฏภาคของเหลวและก๊าซ

อัตราการถ่ายเทมวลระหว่างวัฏภาคของเหลวและก๊าซจะวัดอยู่ในรูปของค่าสัมประสิทธิ์รวมของการถ่ายเทมวลระหว่างวัฏภาค หรือค่า Overall volumetric mass transfer coefficient ($k_L a$) โดยมีวิธีการทดลองเริ่มจาก

การให้ก๊าซไนโตรเจนผ่านทางหัวจ่ายก๊าซเพื่อให้ระดับของออกซิเจนละลายมีค่าลดลงจนใกล้ศูนย์ หลังจากนั้นจึงปิดวาล์วไนโตรเจน และให้อากาศที่อัตราไหลที่ต้องการ และวัดค่าการเปลี่ยนแปลงของระดับออกซิเจนละลายเมื่อเทียบกับเวลา และคำนวณค่า $k_L a$ จากสมการต่อไปนี้ (Merchuk และคณะ, 1998)

$$\frac{dC}{dt} = k_L a(C^* - C) \qquad (3.4)$$

โดยที่ค่า dC/dt คือค่าอัตราการเปลี่ยนแปลงระดับของออกซิเจนละลายที่เวลาใด ๆ ส่วน C คือค่าความเข้มข้นของออกซิเจนละลายที่เวลาเดียวกัน และ C^* คือค่าความเข้มข้นของออกซิเจนละลายที่อยู่ในสมดุลกับอากาศในขณะนั้น (ประมาณ 6.8 mg/L)

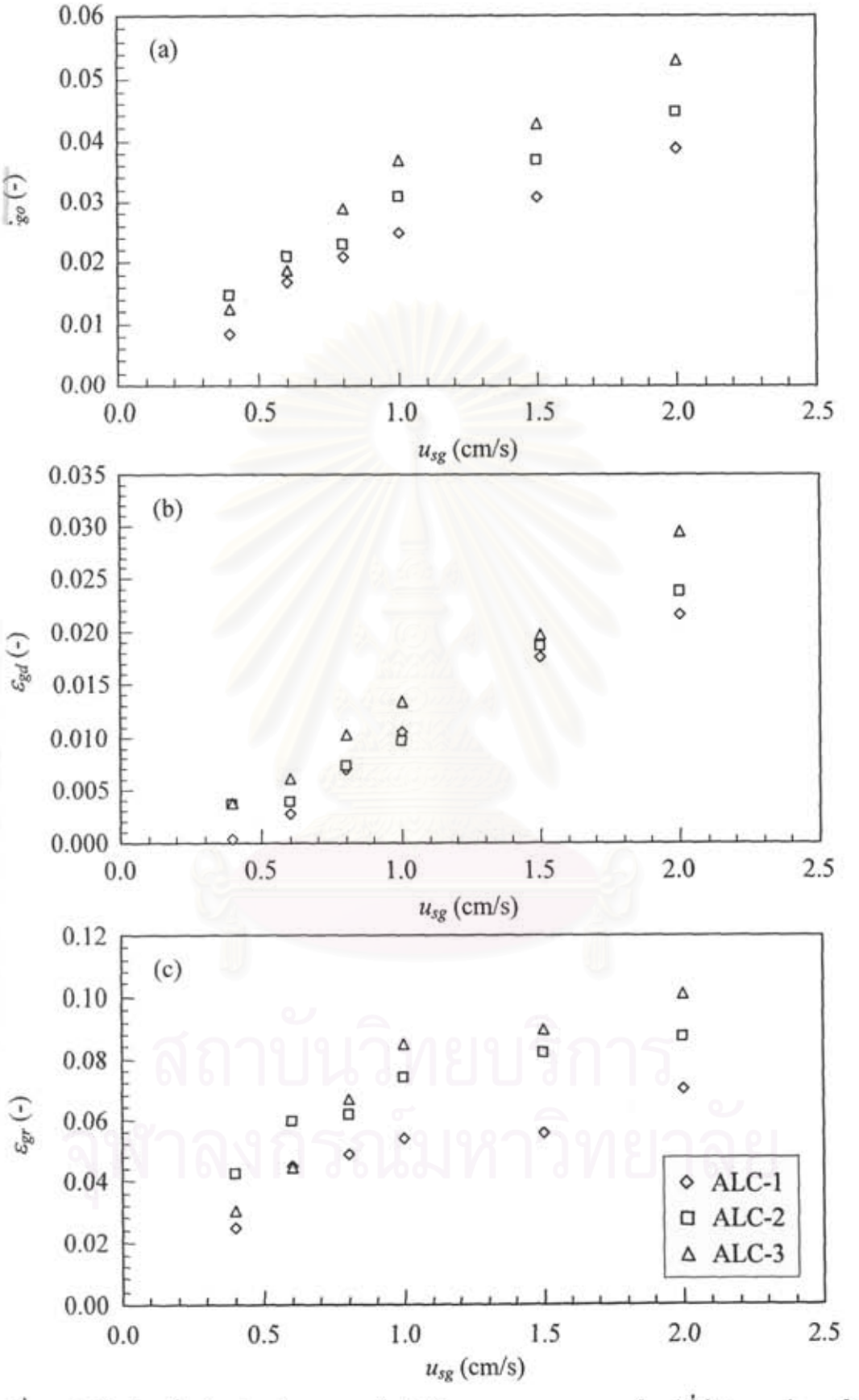
3.2 ผลและวิเคราะห์การทดลอง

3.2.1 ผลการตรวจวัดค่าสัดส่วนก๊าซภายในระบบ

รูปที่ 3.2 แสดงถึงผลการตรวจวัดและผลการคำนวณค่าสัดส่วนก๊าซภายในระบบถังสัมผัสแบบอากาศยกขนาดใหญ่ ซึ่งพบว่า เมื่อเพิ่มจำนวนท่อภายในเข้าสู่ระบบ ปริมาณสัดส่วนก๊าซในทุก ๆ ส่วนจะมีค่าเพิ่มขึ้น โดยระบบที่มีท่อภายใน 4 ท่อให้ค่าสัดส่วนก๊าซสูงที่สุดในทุก ๆ ส่วนของถังปฏิกรณ์ (ในช่วงของอัตราการป้อนอากาศที่ใช้ในการทดลองนี้)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การสังเกตด้วยตาเปล่าพบว่าฟองอากาศในถัง ALC-1 จะมีขนาดใหญ่กว่าฟองอากาศในถัง ALC-2 และ ALC-3 ทั้งนี้เนื่องจากท่อภายในของถัง ALC-1 มีขนาดค่อนข้างใหญ่ ทำให้การกระจายตัวของฟองอากาศไม่สม่ำเสมอ และก่อให้เกิดการไหลวนภายในของของเหลวเอง ซึ่งเป็นลักษณะการไหลที่คล้ายกับการเคลื่อนที่ใน Bubble column ซึ่งลักษณะเช่นนี้ทำให้โอกาสที่ฟองอากาศจะชนกันและรวมตัวกันมีค่อนข้างสูง

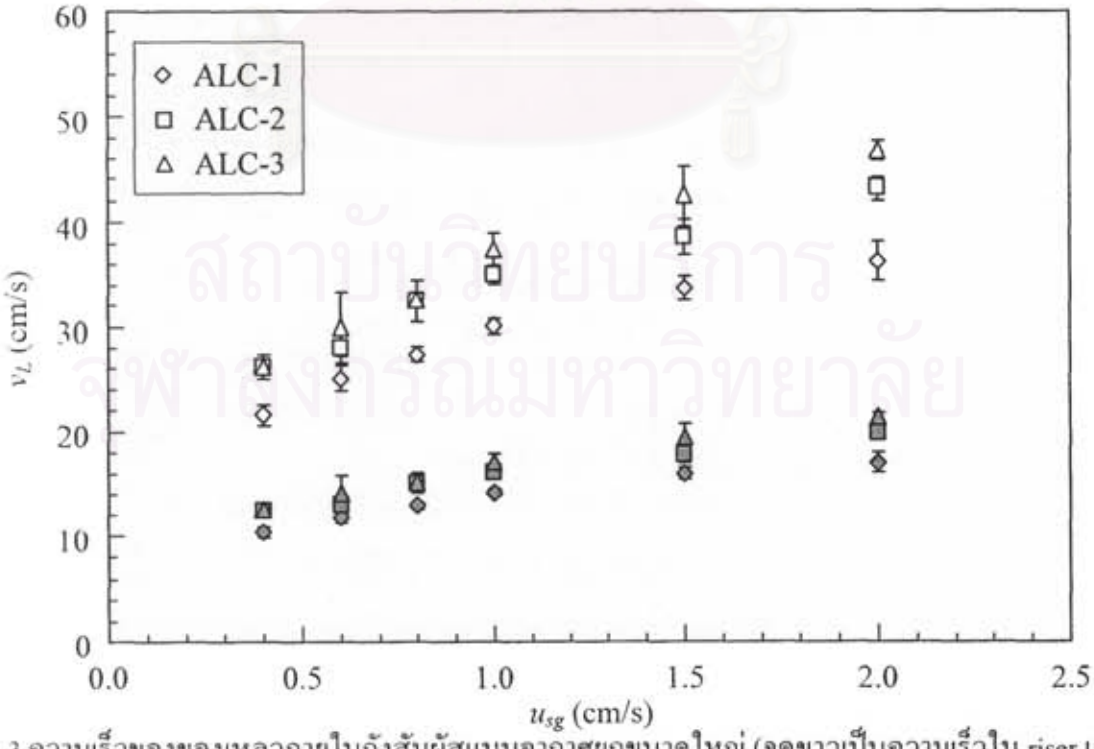


รูปที่ 3.2 ค่าสัดส่วนก๊าซในส่วนต่าง ๆ ของถังสัมผัสแบบอากาศยกขนาดใหญ่ที่มีจำนวนท่อภายในต่างกัน

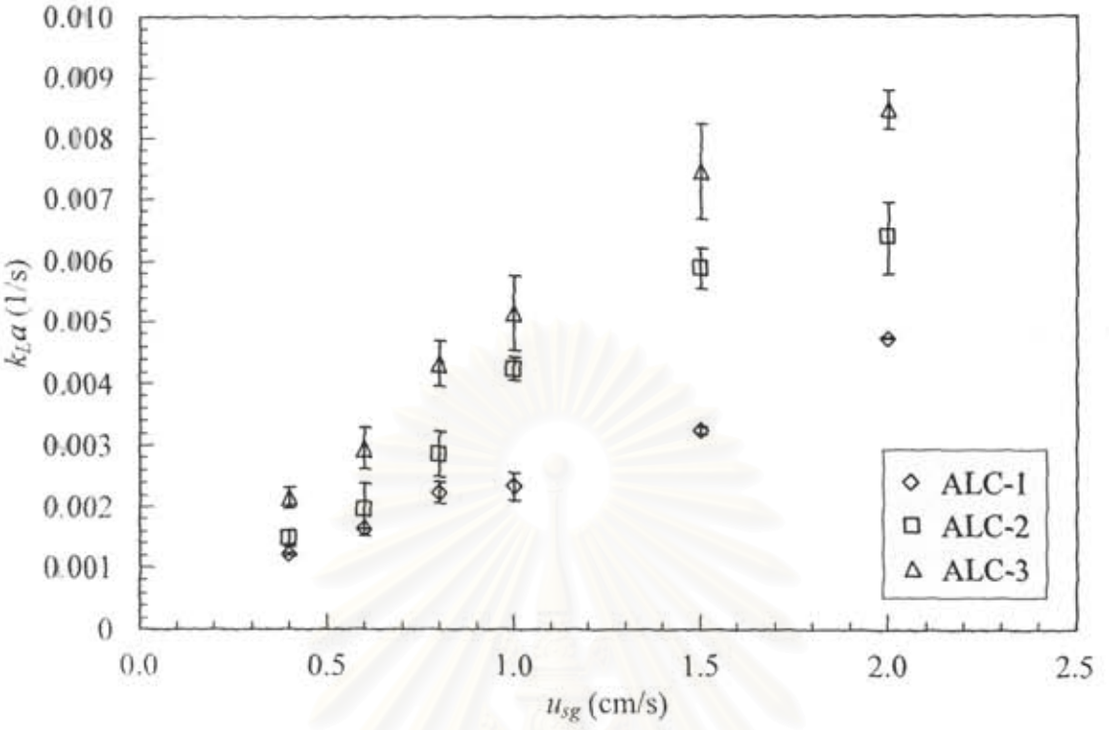
และเมื่อฟองอากาศมีขนาดค่อนข้างใหญ่ ทำให้ความเร็วของฟองเพิ่มขึ้น และหลุดออกจากระบบเร็วขึ้น (แทนที่จะไหลลงไปยังส่วน Downcomer) ในขณะที่ระบบอื่นที่มีท่อภายในขนาดเล็กลง การไหลของของไหลภายในท่อภายในจะเป็นระเบียบมากขึ้น พฤติกรรมจึงไม่คล้ายกับการไหลใน Bubble column ทำให้ได้ค่าสัดส่วนของก๊าซสูงขึ้น

3.2.2 ผลการตรวจวัดความเร็วของของเหลว

รูปที่ 3.3 แสดงผลการตรวจวัดค่าความเร็วของของเหลวภายในระบบถังสัมผัสแบบอากาศยกขนาดใหญ่ โดยในรูปเดียวกันนี้มีข้อมูลทั้งในส่วนความเร็วใน Riser และความเร็วใน Downcomer โดยจะพบว่าค่าความเร็วทั้งสองส่วนนี้มีค่าสูงขึ้นในระบบที่มีจำนวนท่อภายในมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากสาเหตุที่ได้กล่าวถึงข้างต้น นั่นคือ ในระบบ ALC-1 นั้นเนื่องจากท่อภายในมีขนาดค่อนข้างใหญ่ ทำให้เกิดการไหลวนภายในส่วนที่เป็น Riser เอง ทำให้ความเร็วโดยรวมของระบบมีค่าค่อนข้างต่ำ และเมื่อความเร็วในส่วน Riser มีค่าต่ำ ความเร็วใน Downcomer จึงมีค่าต่ำ เนื่องจากความเร็วทั้งสองส่วนนี้ต้องสัมพันธ์กันตามหลักของสมดุลมวลสาร



รูปที่ 3.3 ความเร็วของของเหลวภายในถังสัมผัสแบบอากาศยกขนาดใหญ่ (จุดขาวเป็นความเร็วใน riser และจุดเทาเป็นความเร็วใน downcomer)



รูปที่ 3.4 ค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลสารระหว่างวัฏภาคก๊าซและของเหลวภายในถังสัมผัสแบบอากาศยกขนาดใหญ่

3.2.3 การถ่ายเทมวลสารระหว่างวัฏภาคของเหลวและก๊าซ

รูปที่ 3.4 แสดงให้เห็นถึงค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลสารระหว่างวัฏภาคก๊าซและของเหลวภายในถังสัมผัสแบบอากาศยกขนาดใหญ่ ซึ่งในที่นี้ใช้เป็นตัวแทนของค่าอัตราการเทมวลระหว่างวัฏภาคของเหลวและก๊าซ โดยผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นชัดเจนว่า ระบบที่มีท่อภายในจำนวน 4 ท่อนั้นให้อัตราการถ่ายมวลระหว่างวัฏภาคสูงกว่าระบบที่มีท่อภายในแบบ 1 และ 3 ท่อ ทั้งนี้เป็นผลเนื่องจากค่าสัดส่วนก๊าซที่สูงขึ้น ทำให้มีปริมาณอากาศอยู่ในระบบมากขึ้น นอกจากนี้ การที่ฟองอากาศมีขนาดเล็กกว่า (จากการสังเกตด้วยตาเปล่า) ทำให้น่าจะมีพื้นที่ในการแลกเปลี่ยนมวลเพิ่มขึ้นด้วย ส่งผลให้ค่าอัตราการถ่ายเทมวลระหว่างวัฏภาคมีค่าสูงขึ้น

3.3 สรุปผลการทดลอง

การทดลองในบทนี้แสดงให้เห็นถึงความสำคัญของการออกแบบระบบถังสัมผัสแบบอากาศยกสำหรับระบบขนาดใหญ่ ซึ่งมีโอกาสที่การไหลของของเหลวจะมีลักษณะไม่เป็นอุดมคติ คือ มีการไหลวนเฉพาะที่โดยเฉพาะการไหลวนในส่วน Riser ค่อนข้างมาก ทำให้มีพฤติกรรมที่ด้อยลงกว่าถังสัมผัสขนาดเล็กทั่วไป การเพิ่มจำนวนท่อภายในช่วยสร้างสภาวะที่เหมาะสมต่อการไหลและการถ่ายเทมวลสาร แต่เนื่องจากการออกแบบทดลองครั้งนี้จำกัดอยู่ที่จำนวนของท่อภายใน และพบว่าจำนวนท่อภายในที่ดีที่สุดคือ 4 ท่อ ซึ่งอยู่ที่ขอบเขตของการศึกษาครั้งนี้ ดังนั้นการทดลองในช่วงต่อไปจะเป็นการเพิ่มเติมองค์ความรู้ในส่วนนี้โดยทำการเพิ่มจำนวนท่อเพื่อศึกษาหาจำนวนท่อที่เหมาะสมที่สุดต่อไป

3.4 เอกสารอ้างอิง

Chisti M. Y., 1989. Airlift bioreactors. NY: Elsevier Science Publishing.

Merchuk J. C., Contreras A., Garcia F., and Molina E., 1998. Studies of Mixing in a Concentric Tube Airlift Bioreactor with Different Spargers. Chemical Engineering Science 53: 709-719.

Wongsuchoto, P. and Pavasant, P. 2004. Internal Liquid Circulation in Annulus Sparged Internal Loop Airlift Contactors. Chemical Engineering Journal 100: 1-9.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4 แนวทางการดำเนินการต่อไป (ปีที่ 2)

4.1 การเพาะเลี้ยงเซลล์

4.1.1 การศึกษาปัจจัยที่จำกัดการเจริญเติบโตของเซลล์ เช่น การบดบังแสงด้วยตนเอง และการบดบังแสงด้วยฟองอากาศ

การทดลองในปีที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่าเซลล์ทั้งสองชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ดีในระบบถังปฏิกรณ์แบบอากาศยก โดยได้ผลการออกแบบและการดำเนินงานเป็นที่น่าพอใจ ในปีที่ 2 การดำเนินงานจะเน้นไปที่การเพิ่มขีดจำกัดของระบบถังปฏิกรณ์ โดยคาดการณ์ว่าการเจริญเติบโตของเซลล์ *Chaetoceros calcitrans* นั้นถูกจำกัดด้วยปัจจัยสำคัญ 2 ประการคือ

1. การบดบังแสงด้วยตนเอง เป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นเมื่อเซลล์มีความเข้มข้นสูง ทำให้แสงไม่สามารถส่องผ่านเข้าไปในระบบได้ง่าย ทำให้เกิดการบังแสงและลดอัตราการเจริญเติบโต
2. การบดบังแสงด้วยฟองอากาศ เป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นเมื่อมีฟองจำนวนมากถูกดึงลงไปใน Downcomer ซึ่งเป็นบริเวณของการให้แสง ทำให้แสงไม่สามารถส่องผ่านได้อย่างมีประสิทธิภาพ และทำให้อัตราการเจริญเติบโตของเซลล์ลดลง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.1.2 การศึกษาการเพาะเลี้ยงเซลล์ในระบบขนาดใหญ่

การศึกษาในส่วนนี้จะได้ทดลองกับเซลล์ทั้ง 2 ชนิด คือ เซลล์ *Chaetoceros calcitrans* จะทดลองเลี้ยงในระบบขนาด 170 ลิตร และส่วน *Haematococcus pluvialis* จะได้ทดลองเลี้ยงในระบบแบบ 17 ลิตร เพื่อศึกษาถึงพฤติกรรมการเจริญเติบโตในระบบที่มีขนาดใหญ่เปรียบเทียบกับระบบขนาดเล็ก

4.2 การออกแบบระบบขนาดใหญ่

การศึกษาในช่วงต่อไปจะเป็นการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับลักษณะการจัดเรียงตัวของท่อภายในต่อพฤติกรรมของระบบ โดยจัดให้ระบบมีจำนวนท่อภายในมากขึ้น และมีการจัดเรียงตัวของท่อภายในหลายรูปแบบ เพื่อหาลักษณะของรูปแบบและจำนวนของท่อภายในที่ดีที่สุดที่ให้ค่าอัตราการถ่ายเทมวลสารสูงที่สุด

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย