



# รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

## เรื่อง

การทำเซลล์จุลินทรีย์ประเภทสาหร่ายให้แตก

โดยอาศัยฟลูอิดิซ์เบดสามวัฏภาคแบบใช้ใบกวน

**Microalgal Cell Disruption using Three-Phase Fluidized Bed With Agitator**

โดย

ศาสตราจารย์ ดร.วิวัฒน์ ตัณฑะพานิชกุล และคณะ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายงานวิจัยนี้ได้รับเงินทุนสนับสนุนจากโครงการวิจัยร่วมภาครัฐ-เอกชน

ประจำปีงบประมาณ 2546



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์  
เรื่อง

การทำเซลล์จุลินทรีย์ประเภทสาหร่ายให้แตก  
โดยอาศัยฟลูอิดไคซ์เบดสามวัฏภาคแบบใช้ใบกวน

**Microalgal Cell Disruption using Three-Phase Fluidized Bed With Agitator**

โดย

ศาสตราจารย์ ดร.วิวัฒน์ ตัณฑะพานิชกุล และคณะ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายงานวิจัยนี้ได้รับเงินทุนสนับสนุนจากโครงการวิจัยร่วมภาครัฐ-เอกชน  
ประจำปีงบประมาณ 2546

# ใบรายละเอียดโครงการวิจัย

## 1. หัวข้อเรื่องการวิจัย การประยุกต์ใช้เทคนิคฟลูอิดไอเซชัน

หัวข้อย่อย ภาษาไทย                      การทำเซลล์จุลินทรีย์ประเภทสาหร่ายให้แตกโดยอาศัยฟลูอิดไอเซชันแบบสามวัฏภาคที่ใช้ใบกวน

ภาษาอังกฤษ                      Microalgae Cell Disruption using Three-Phase Fluidized Bed with Agitator

## 2. ชื่อผู้วิจัย

### 2.1 หัวหน้าโครงการวิจัย : ศาสตราจารย์ ดร. วิวัฒน์ ตันชะพานิชกุล

ที่ทำงาน ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะด้านเทคโนโลยีอนาคต ภาควิชาวิศวกรรมเคมี  
คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
โทร. 02-218-6894                      โทรสาร 022-218-6877  
e-mail : twiwut@pioneer.chula.ac.th

### 2.2 หัวหน้าโครงการวิจัยย่อย : รองศาสตราจารย์ ดร. ธวัชชัย ชรินพานิชกุล

ที่ทำงาน ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะด้านเทคโนโลยีอนาคต ภาควิชาวิศวกรรมเคมี  
คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
โทร. 02-218-6894                      โทรสาร 022-218-6877  
e-mail : ctawat@pioneer.chula.ac.th

### 2.3 รองหัวหน้าโครงการย่อย : รองศาสตราจารย์ ดร. ศิริกัลยา สุวจิตตานนท์

ที่ทำงาน ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

### 2.4 ที่ปรึกษาโครงการ : Assoc. Prof. Dr. Atsushi Tsustsumi

Dept. of Chemical System Engineering, Faculty of Engineering  
The University of TOKYO

### 2.5 ผู้ช่วยวิจัย นางสาวพิรติ สุนทรสถิตย์

ที่ทำงาน ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะด้านเทคโนโลยีอนาคต ภาควิชาวิศวกรรมเคมี  
คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
โทร. 02-218-6451

### 2.6 องค์กรและบริษัทที่จะให้ความร่วมมือ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

## บทคัดย่อ

โครงการวิจัยย่อยนี้เป็นผลงานส่วนหนึ่งของโครงการวิจัยการประยุกต์ใช้ฟลูอิดไอเซนเทคโนโลยี ซึ่งอยู่ในศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีอนุภาค โดยโครงการย่อยนี้มุ่งเน้นที่จะพัฒนาเทคนิคฟลูอิดไอซ์เบดสามวัฏภาคแบบใหม่ที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการทำให้เซลล์จุลชีพแตก เพื่อให้สามารถนำสารอินทรีย์มาใช้ประโยชน์ในลำดับต่อไป

ในโครงการวิจัยนี้ได้ศึกษา การทำเซลล์จุลสาหร่ายให้แตกโดยใช้ฟลูอิดไอซ์เบดสามวัฏภาคแบบใช้ใบกวนซึ่งประกอบด้วย อากาศ ของเหลวสารแขวนลอยสาหร่าย และลูกแก้ว (เส้นผ่านศูนย์กลาง 1 มม.) ซึ่งพิจารณาเป็นวัฏภาคของ อากาศ ของเหลวและของแข็งตามลำดับ จุลสาหร่ายที่ใช้ได้แก่ *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260, *Chroococcus sp.* TISTR 8625 และ *Chlorococcum sp.* TISTR 8509 โดยมีความเข้มข้นอยู่ระหว่าง  $(9-15) \times 10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ทั้งนี้ในการศึกษาได้ทำการปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ และ ความเร็วสารแขวนลอยอยู่ในช่วง 0-10 ชม.ต่อนาที และความเร็วรอบของใบกวนในช่วง 0-3000 รอบต่อนาที โดยได้พิจารณาปริมาณการแตกของเซลล์จากเปอร์เซ็นต์เซลล์ที่ถูกทำลาย อัตราการแตกของเซลล์ ปริมาตรของเซลล์และปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ที่เปลี่ยนแปลงไปต่อเวลา และยืนยันการแตกของเซลล์ด้วยภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์

จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าหากแยกศึกษาทีละปัจจัยแล้ว แต่ละปัจจัยต่างส่งผลให้ได้ปริมาณการแตกของเซลล์ใกล้เคียงกัน สำหรับความเร็วอากาศและความเร็วของเหลวค่าความเร็วที่ 10 ชม.ต่อนาทีจะให้ประสิทธิภาพการแตกของเซลล์สูงที่สุดที่ 41.8 และ 38.5% แต่เมื่อเพิ่มความเร็วดังกล่าวให้สูงขึ้น กลับพบว่าปริมาณการแตกของเซลล์กลับลดลง ในส่วนของความเร็วรอบการปั่นกวนนั้นพบว่าที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาทีให้ประสิทธิภาพการแตกของเซลล์สูงที่สุดที่ 38.5% และเมื่อนำทั้ง 3 ปัจจัยเข้าสู่ระบบพร้อมกัน กล่าวคือความเร็วอากาศ และความเร็วของเหลวเท่ากับ 10 ชม./นาที และความเร็วรอบเท่ากับ 3000 รอบต่อนาทีจะทำให้ปริมาณการแตกของเซลล์จุลสาหร่ายมีค่าสูงถึง 93.6% ทั้งนี้จากผลการทดลองสรุปได้ว่ากลไกสำคัญที่มีอิทธิพลต่อการแตกของเซลล์คือ การบดกันระหว่างลูกบด การกระทบกันระหว่างลูกบดและเซลล์ รวมถึงแรงเฉือนที่เกิดขึ้นภายในระบบ

## Abstract

This research project is a part of Fluidization Technology Application Project being conducted in Center of Excellence in Particle Technology. Aim of this sub-project is to develop novel technology of three-phase fluidized bed for application in microbial cell disruption, which in turn will lead to utilization of organic compounds available inside the cells.

In this work, microalgal cell disruption was investigated by using three-phase fluidized bed in which air, microalgal cell suspension and glass beads (diameter 1 mm) are treated as gas, liquid, and solid phases, respectively. An agitator was also employed to enhance the cell disruption performance. *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260, *Chroococcus sp.* TISTR 8625 and *Chlorococcum sp.* TISTR 8509 are used in this investigation within cell concentration range varied between  $(9-15) \times 10^6$  cell/cm<sup>3</sup>. Superficial gas and liquid velocities are varied from 0-40 cm/min, while agitation speed is varied between 0 and 3000 rpm. Percentage of cell ruptured, disruption rate, microalgal cell volume and amount of chlorophyll were measured to confirm the disruption performance of the equipment.

The experimental results show that each single variable provides almost equal influence on the disruption of all microalgae. Superficial gas and liquid velocities of 10 cm/min show the highest value of cell disruption at 41.8 and 38.5%, respectively. An increase in superficial gas or liquid velocities resulted in a decrease in the percentage of cell disruption for all species investigated. Meanwhile, agitation speed of 3000 rpm provided the highest percentage of cell disruption at 38.5%. In the systems employing all disruption factors, namely, superficial gas and liquid velocities and agitation, microalgal cell disruption could be enhanced up to 93.6%. Based on the experimental results, the dominating disruption mechanisms could be implied as; the grinding effect beads due to particle-particle interaction and particle-cell interaction, and shear stress due to the fluid flow.

## กิตติกรรมประกาศ

รายงานการศึกษาวิจัยฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของ โครงการวิจัยความร่วมมือระหว่างภาครัฐ-เอกชน (งบประมาณแผ่นดิน) ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยได้ดำเนินการในศูนย์เชี่ยวชาญด้านเทคโนโลยีอนาคต ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อการศึกษาความสามารถของฟลูอิดไดซ์เบดสามวัฏภาคไปประยุกต์ใช้ในการทำให้เซลล์จุลสาหร่ายแตก โครงการนี้ไม่อาจสำเร็จลุล่วงไปได้ หากปราศจากความร่วมมือของสถาบันวิจัยทางวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ดังนั้นในนามของคณะวิจัยจึงขอแสดงความขอบพระคุณมา ณ ที่นี้ด้วย

พร้อมกันนี้ คณะวิจัยยังขอขอบคุณการสนับสนุนบางส่วนจากโครงการเมธีวิจัยอาวุโส (ศาสตราจารย์ ดร. วิวัฒน์ ตัณฑะพานิชกุล) ของสำนักงานส่งเสริมการวิจัย (สกว.) มา ณ ที่นี้ด้วยเช่นกัน

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	
กิตติกรรมประกาศ	
สารบัญ	
สารบัญตาราง	
สารบัญภาพ	
<b>บทที่</b>	
1    บทนำ	1
1.1 มูลเหตุจูงใจ	1
1.2 วัตถุประสงค์งานวิจัย	4
1.3 ขอบเขตงานวิจัย	4
2    งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
3    ทฤษฎี	7
3.1 เซลล์ของจุลินทรีย์	7
3.2 กระบวนการทำให้เซลล์แตก	14
3.2.1 การทำให้เซลล์แตกโดยใช้ไฮโมจิโนเซอร์	15
3.2.2 การทำให้เซลล์แตกโดยหม้ออบดแบบใช้ลูกบด	16
3.3 ฟลูอิดไคซ์เบดสามวัฏภาค (three-phase fluidized bed)	17
4    วิธีทดลอง	18
4.1 กระบวนการทดลอง	18
4.2 การวิเคราะห์ผลการทดลอง	21
4.2.1 ขั้นตอนในการทดลอง	21
4.2.2 การวิเคราะห์ผลการทดลอง	22

## สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
5	ผลการทดลองและการวิเคราะห์ผล	25
	5.1 การแตกของคลอเรลลา ( <i>Chlorella ellipsoidea</i> TISTR 8260)	25
	5.1.1 อิทธิพลของความเร็วอากาศที่ป้อน.	25
	5.1.2 อิทธิพลของความเร็วของเหลวที่ป้อน	35
	5.1.3 อิทธิพลของความเร็วรอบใบกวน	42
	5.1.4 การแตกของคลอเรลลาภายใต้อิทธิพลของปัจจัยทั้งหมด	49
	5.2 การแตกของเซลล์โครโอคอกคัส ( <i>Chroococcus</i> sp. TISTR 8623)	62
	5.2.1 อิทธิพลของความเร็วอากาศที่ป้อน	62
	5.2.2 การแตกของโครโอคอกครัสภายใต้อิทธิพลของ ปัจจัยทั้งหมด	68
	5.3 การแตกของเซลล์คลอโรคอกคัม ( <i>Chlorococcum</i> sp. TISTR 8509)	69
	5.3.1 อิทธิพลของความเร็วอากาศที่ป้อน.	69
	5.3.2 การแตกของคลอโรคอกคัมภายใต้อิทธิพลของปัจจัยทั้งหมด	75
6	สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	80
	เอกสารอ้างอิง	82



## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1.1 ตัวอย่างของสารชีวภาพภายในเซลล์จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในอุตสาหกรรม	1
ตารางที่ 4.1 เงื่อนไขการทดลองที่จะใช้ในฟลูอิดไดซ์เบดสามวัฏภาคของโครงการวิจัยนี้	20
ตารางที่ 5-1 ค่าความเร็วต่ำสุดในการเกิดฟลูอิดไดเซชัน	26
ตารางที่ 5-2 แรงเฉือนที่คำนวณได้จากสมการที่ 5-4 เมื่อความเร็วของเหลวที่ป้อนและความเร็วรอบการปั่นกวนมีค่าคงที่ที่ 0 ชม./นาที และ 0 รอบ/นาที ตามลำดับ	27

## สารบัญภาพ

	หน้า
รูปที่ 3-1 รูปร่างเพลงก่ตอนของพืชสกุลต่างๆ	10
รูปที่ 3-2 ส่วนประกอบภายในของ <i>Chlamydomonas eugametos</i>	11
รูปที่ 3-3 องค์ประกอบภายในของสาหร่ายสีน้ำเงิน	12
รูปที่ 3-4 วงจรชีวิตของคลอโรคลอกครัมเมื่อมีการสืบพันธุ์แบบออโตสปอร์	13
รูปที่ 3-5 เทคนิคต่างๆ ในการทำให้เซลล์แตก	14
รูปที่ 3-6 โฮโมจิไนเซอร์	16
รูปที่ 3-7 หม้ออบคแบบใช้ลูกบด	17
รูปที่ 4-1 ชุดเครื่องมือฟลูอิดไดซ์เบคสามัญภาคแบบใช้ใบกวน	18
รูปที่ 4-2 ลักษณะภายในฟลูอิดไดซ์เบคสามัญภาคแบบใช้ใบกวน	19
รูปที่ 4.3 สไลด์สำหรับนับเซลล์ (Counting chamber) แบบ Sedgwick-Rafter	21
รูปที่ 5-1 เปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์คลอเรลลาเมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ	29
รูปที่ 5-2 อัตราการแตกของเซลล์คลอเรลลาเมื่อปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ	30
รูปที่ 5-3 อัตราส่วนระหว่างปริมาณเซลล์คลอเรลลาที่เวลาทำการทดลองต่อปริมาณคลอเรลลาที่เวลาเริ่มต้น เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ	31
รูปที่ 5-4 อัตราส่วนระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของคลอเรลลาที่เวลาทำการทดลองต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ที่เวลาเริ่มต้น เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ	32
รูปที่ 5-5 ภาพถ่ายของเซลล์คลอเรลลา (x 1000) เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ	33
รูปที่ 5-6 กลไกในการบดที่เกิดจากการชนกันระหว่างลูกบด	34
รูปที่ 5-7 เปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์คลอเรลลาเมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วของเหลว	37
รูปที่ 5-8 อัตราการแตกของเซลล์คลอเรลลาเมื่อปรับเปลี่ยนความเร็วของเหลว	38
รูปที่ 5-9 อัตราส่วนระหว่างปริมาณเซลล์คลอเรลลาที่เวลาทำการทดลองต่อปริมาณคลอเรลลาที่เวลาเริ่มต้น เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วของเหลว	39
รูปที่ 5-10 อัตราส่วนระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของคลอเรลลาที่เวลาทำการทดลองต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ที่เวลาเริ่มต้น เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วของเหลว	40
รูปที่ 5-11 ภาพถ่ายของเซลล์คลอเรลลา (x 1000) เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วของเหลว	41

## สารบัญญภาพ (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 5-12 เปร็เซ้นต์การแตกของเซลล์คลอเรลลาเมื่อทำการปรับเปลี่ยน ความเร็วรอบใบกวน	44
รูปที่ 5-13 อัตราการแตกของเซลล์คลอเรลลา เมื่อปรับเปลี่ยนความเร็วรอบใบกวน	45
รูปที่ 5-14 อัตราส่วนระหว่างปริมาตรเซลล์คลอเรลลาที่เวลาทำการทดลองต่อปริมาตร คลอเรลลาที่เวลาเริ่มต้น เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วรอบใบกวน	46
รูปที่ 5-15 อัตราส่วนระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของคลอเรลลาที่เวลาทำการทดลอง ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ที่เวลาเริ่มต้น เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วรอบ ใบกวน	47
รูปที่ 5-16 ภาพถ่ายของเซลล์คลอเรลลา (x 1000) เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความ เร็วรอบใบกวน	48
รูปที่ 5-17 เปร็เซ้นต์การแตกของเซลล์คลอเรลลาเมื่อทำการปรับเปลี่ยนความ เร็วอากาศ	51
รูปที่ 5-18 อัตราการแตกของเซลล์คลอเรลลา เมื่อปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ	52
รูปที่ 5-19 อัตราส่วนระหว่างปริมาตรเซลล์คลอเรลลาที่เวลาทำการทดลองต่อ ปริมาตรคลอเรลลาที่เวลาเริ่มต้น เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ	53
รูปที่ 5-20 อัตราส่วนระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของคลอเรลลาที่เวลาทำการ ทดลองต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ที่เวลาเริ่มต้น เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความ เร็วอากาศ	54
รูปที่ 5-21 ภาพถ่ายของเซลล์คลอเรลลา (x 1000) เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ	55
รูปที่ 5-22 เปร็เซ้นต์การแตกของเซลล์คลอเรลลาเมื่อทำการปรับเปลี่ยนความ เร็วของเหลว	57
รูปที่ 5-23 อัตราการแตกของเซลล์คลอเรลลา เมื่อปรับเปลี่ยนความเร็วของเหลว	58
รูปที่ 5-24 อัตราส่วนระหว่างปริมาตรเซลล์คลอเรลลาที่เวลาทำการทดลองต่อ ปริมาตรคลอเรลลาที่เวลาเริ่มต้น เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วของเหลว	59

## สารบัญภาพ (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 5-25 อัตราส่วนระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของคลอโรเลลาที่เวลาทำการ ทดลองต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ที่เวลาเริ่มต้น เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความ เร็วของเหลว	60
รูปที่ 5-26 ภาพถ่ายของเซลล์คลอโรเลลา (x 1000) เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วของเหลว	61
รูปที่ 5-27 เปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์โครโอคอคคัส เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความ เร็วของเหลว	63
รูปที่ 5-28 อัตราการแตกของเซลล์โครโอคอคคัส เมื่อปรับเปลี่ยนความเร็วของเหลว	64
รูปที่ 5-29 อัตราส่วนระหว่างปริมาตรเซลล์โครโอคอคคัสที่เวลาทำการทดลอง ต่อปริมาตรคลอโรคอคคัมที่เวลาเริ่มต้น เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความ เร็วของเหลว	65
รูปที่ 5-30 อัตราส่วนระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของโครโอคอคคัสที่เวลาทำ การทดลองต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ที่เวลาเริ่มต้น เมื่อทำการปรับเปลี่ยน ความเร็วของเหลว	66
รูปที่ 5-31 ภาพถ่ายของเซลล์โครโอคอคคัส (x 1000) เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความ เร็วของเหลว	67
รูปที่ 5-32 เปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์โครโอคอคคัส เมื่อทำการปรับเปลี่ยน ความเร็วอากาศ	68
รูปที่ 5-33 เปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์คลอโรคอคคัม เมื่อทำการปรับเปลี่ยน ความเร็วอากาศ	70
รูปที่ 5-34 อัตราการแตกของเซลล์คลอโรคอคคัมเมื่อปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ	71
รูปที่ 5-35 อัตราส่วนระหว่างปริมาตรเซลล์คลอโรคอคคัมที่เวลาทำการทดลองต่อ ปริมาตรคลอโรคอคคัมที่เวลาเริ่มต้น เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ	72
รูปที่ 5-36 อัตราส่วนระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของคลอโรคอคคัมที่เวลาทำ การทดลองต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ที่เวลาเริ่มต้น เมื่อทำการปรับเปลี่ยน ความเร็วอากาศ	73

## สารบัญภาพ (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 5-37 ภาพถ่ายของเซลล์คลอโรพลาสต์ (x 1000) เมื่อทำการปรับเปลี่ยน ความเร็วอากาศ	74
รูปที่ 5-38 เปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์คลอโรพลาสต์เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความ เร็วอากาศ โดยกำหนดให้ความเร็วของเหลวและความเร็วรอบใบกวนคงที่	76
รูปที่ 5-39 เปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์เมื่อทำการปรับเปลี่ยนชนิดของเซลล์ (คลอโรพลาสต์และคลอโรพลาสต์)	77
รูปที่ 5-40 การกระจายขนาดของเซลล์คลอโรพลาสต์ที่เวลา 0 และ 180 นาที	78
รูปที่ 5-41 ภาพถ่ายของเซลล์คลอโรพลาสต์ (x 400) เมื่อป้อนปัจจัยการทดลองทั้งสาม	79

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญของปัญหาและมูลเหตุจูงใจ

ปัจจุบันวิทยาการและเทคโนโลยีมีความก้าวหน้าอย่างสูง ส่งผลให้เกิดการค้นพบประโยชน์ของสารชีวภาพต่างๆ ภายในเซลล์ของพืชและสัตว์ และมีการนำสารดังกล่าวมาประยุกต์ใช้ในชีวิตประจำวัน ยกตัวอย่างเช่น เอนไซม์แอสพาราจินเนส (Asparaginase) จากเซลล์ *Escherichia coli* สามารถใช้ในการบำบัดโรคมะเร็ง เอนไซม์อินเวสเทส (Investase) จากเซลล์ *Saccharomyces cerevisiae* ใช้ในการผลิตน้ำผึ้งเทียม เนื่องจากสามารถเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรุคโตสได้ เอนไซม์คะตะเลส (Catalase) จากเซลล์ *Aspergillus niger* นำมาใช้ในกระบวนการกำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จากน้ำนมที่ผ่านกระบวนการสเตอริไรซ์แล้วในอุตสาหกรรมผลิตนม แอสตาซานทิน (Astaxanthin) จาก *Haematococcus* sp. และ เบตา-แคโรทีน ( $\beta$ -carotene) จาก *Dunaliella* sp. ใช้ในการผลิตเครื่องสำอางค์ นอกจากนี้สารประกอบไซโตไฟซิน (Scytonycin compounds) จาก *Scytonema ocellatum* ยังสามารถยับยั้งการแบ่งเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมจึงสามารถใช้ในการบำบัดโรคมะเร็งได้ สำหรับตัวอย่างโดยสังเขปได้แสดงไว้ในตารางที่ 1.1

ตารางที่ 1.1 ตัวอย่างของสารชีวภาพภายในเซลล์จุลินทรีย์ที่ใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรม

เอนไซม์	เซลล์จุลินทรีย์	การนำมาใช้ประโยชน์
อินเวสเทส (Investase)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ผลิตน้ำผึ้งเทียม
แอล-แอสพาราจินเนส (L-Asparaginase)	<i>Escherichia coli</i>	บำบัดโรคมะเร็งในโลหิตและดื่มน้ำเหลืองชั้นสาหัส
คะตะเลส (Catalase)	<i>Aspergillus niger</i>	กำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จากน้ำนมที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
คอเลสเทอรอล ออกซิเดส (Cholesterol oxidase)	<i>Nocardia rhodochrous</i>	ผลิตสารวิเคราะห์ระดับคอเลสเทอรอล

ตารางที่ 1.1 (ต่อ) ตัวอย่างของสารชีวภาพภายในเซลล์จุลินทรีย์ที่ใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรม

เอนไซม์	เซลล์จุลินทรีย์	การนำมาใช้ประโยชน์
เบต้า-กาแลกโตซิเดส ( $\beta$ -Galactosidase)	<i>Kluyveromyces fragilis</i> <i>Saccharomyces lactis</i>	ไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) น้ำตาลแลกโตสในนมและเนย
กลูโคส ไอโซเมอเรส (Glucose isomerase)	<i>Bacillus coagulans</i> <i>Streptomyces</i> sp.	ผลิตน้ำเชื่อมที่มีปริมาณ น้ำตาลฟรุกโตสและกลูโคสสูง
กลูโคสออกซิเดส (Glucose oxidase)	<i>Aspergillus niger</i> <i>Penicillium notatum</i>	ผลิตสารวิเคราะห์ระดับน้ำตาล กลูโคส กำจัดออกซิเจนออกจากอาหาร
กลูโคส-6-ฟอสเฟต ดีไฮโดร จีเนส (Glucose-6-phosphate dehydrogenase)	Yeast	ผลิตสารที่ใช้ในทางการแพทย์
เพนิซิลลิน อะไซเลส (Panacillin acylase)	<i>Escherichia coli</i>	สารดีอะไซเลชัน (Deacylation) เบนซิลเพนิซิลลิ น (Benzylpenicillin)

เนื่องจากสารชีวภาพต่างๆ ถูกผลิตขึ้นภายในเซลล์พืชและสัตว์ ถึงแม้จะมีการขับออกสู่ภายนอก แต่ในความเป็นจริงสารต่างๆ เหล่านี้ยังคงอยู่ภายในเซลล์เป็นจำนวนมาก ทำให้ไม่สามารถนำสารชีวภาพต่างๆ เหล่านี้มาใช้ประโยชน์ได้อย่างคุ้มค่า ดังนั้นสิ่งจำเป็นซึ่งต้องทำเป็นลำดับแรก คือ การแตกเซลล์นั่นเอง ด้วยเหตุนี้การผลิตโปรตีนและเอนไซม์จากเซลล์ในระดับอุตสาหกรรมจึงให้ความสำคัญกับกระบวนการทำให้เซลล์แตกเป็นอย่างมาก เนื่องจากประสิทธิภาพของกระบวนการแตกเซลล์นี้จะส่งผลต่อการแยก และการทำให้สารชีวภาพเหล่านี้บริสุทธิ์ในขั้นตอนต่อไป

ทั้งนี้กระบวนการทำให้เซลล์แตกนั้นทำได้ด้วยกันหลายวิธี เช่น เทคนิคทางชีวภาพ การใช้สารเคมี รวมถึงการใช้แรงกล เป็นต้น ในปัจจุบันเทคนิคซึ่งในการแตกเซลล์จุลินทรีย์ที่นิยมกันทั่วไป คือการใช้แรงกล และจากเทคนิคดังกล่าวอุปกรณ์ที่นิยมใช้ทั่วไปในอุตสาหกรรมมี 2 ประเภท คือ การใช้โฮโมจิไนเซอร์ (Homogenizer) และการบดโดยใช้หม้อบด (Bead Mill) แต่เนื่องจากเทคนิคทั้งสองประเภทนี้ยังมีข้อจำกัดหลายประการ และจำเป็นต้องใช้ความรู้ความสามารถขั้นสูงในการออกแบบและสร้าง ส่งผลให้ค่าใช้จ่ายในการสร้างสูง โดยเฉพาะเครื่องโฮโมจิไนเซอร์ (Homogenizer)

ในขณะที่เดียวกันฟลูอิดไดซ์เบด (Fluidized bed) เป็นอุปกรณ์ที่มีการใช้งานกันอย่างกว้างขวาง ในอุตสาหกรรมหลายประเภท เนื่องจากเป็นอุปกรณ์ที่มีจุดเด่นในด้านการมีการถ่ายเทมวลและความร้อนที่ดี มีการผสมกันของอนุภาคได้อย่างทั่วถึง สามารถทำงานได้ทั้งในลักษณะต่อเนื่องและไม่ต่อเนื่อง นอกจากนี้การออกแบบขยายขนาดเพื่อเพิ่มกำลังการผลิตยังสามารถทำได้โดยอาศัยองค์ความรู้ที่มีการทำวิจัยและพัฒนาอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นฟลูอิดไดซ์เบดจึงเข้ามามีบทบาทอย่างมากสำหรับการประยุกต์ใช้ในการกระบวนการต่างๆ ได้ จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่ามีผู้พบว่าการฟลูอิดไดซ์เบดสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการทำเซลล์เชื้อเพลิงให้แตกได้ โดยมีประสิทธิภาพในการทำให้เซลล์แตกสูงถึงร้อยละ 90 อย่างไรก็ตามก็ดีสำหรับการทำเซลล์จุลสาหร่ายให้แตกด้วยอุปกรณ์ดังกล่าวยังไม่พบว่ามีผู้ใดศึกษามาก่อนเลย

โครงการวิจัยนี้ได้เสนอการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีฟลูอิดไดซ์เบด โดยเน้นที่จะนำฟลูอิดไดซ์เบดสามวัฏภาคแบบใบกวน เพื่อเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการทำให้เซลล์จุลสาหร่ายแตก โดยการเคลื่อนที่ของอนุภาคของแข็ง (เม็ดแก้ว) เนื่องจากการไหลของก๊าซ (อากาศ) และของเหลว (สารแขวนลอยของเซลล์จุลสาหร่าย) จะก่อให้เกิดแรงเฉือนขึ้นภายในระบบ ซึ่งแรงเฉือนนี้จะส่งผลให้เซลล์จุลสาหร่ายแตกและปลดปล่อยสารที่ผลิตภายในเซลล์จุลสาหร่ายออกมา



## 1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัยนี้คือ การพัฒนาเทคนิคใหม่เพื่อให้เซลล์จุลินทรีย์แตก โดยอาศัยหลักการทำงานของฟลูอิดไดซ์เบดสามวัฏภาคแบบใช้ใบกวน ซึ่งจะเป็นเทคนิคที่น่าเชื่อถือของฟลูอิดไดซ์เบดมาใช้ร่วมกับการใช้ใบกวน ส่งผลให้สามารถทำการเดินเครื่องเพื่อทำให้เซลล์หลายประเภท อาทิเช่น ยีสต์ หรือสาหร่ายแตกได้อย่างต่อเนื่อง และมีประสิทธิภาพ

ทั้งนี้เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาเทคนิคนี้ คณะผู้วิจัยจะทำการศึกษาผลกระทบของปัจจัยการทำงานอันได้แก่ ความเร็วของเหลว ความเร็วอากาศ ความเร็วรอบในการหมุนของใบกวน รวมทั้งความหนาแน่นของเซลล์จุลินทรีย์ที่มีต่ออัตราการแตกของเซลล์ที่นำมาศึกษา รวมทั้งทำการศึกษากลไกของการทำให้เซลล์แตกด้วยเทคนิคดังกล่าว

## 1.3 ขอบเขตของโครงการทำวิจัย

ก) ดำเนินการปรับปรุงชุดอุปกรณ์ทดลองเสริมจากชุดต้นแบบที่มีอยู่เดิมเพื่อใช้ศึกษาพฤติกรรมทางอุทกพลศาสตร์ภายในคอลัมน์ โดยมีเป้าหมายที่จะใช้ชุดเครื่องมือดังกล่าวทำการทดลองทั้งในเชิงประยุกต์ และเชิงพื้นฐานเพื่อทำความเข้าใจปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการทำให้เซลล์แตก

ข) ทำการทดสอบการทำงานของชุดอุปกรณ์การสร้างขึ้น เพื่อปรับแต่งและปรับเทียบค่า จากนั้นทำการทดลอง และเก็บข้อมูล โดยทำการปรับเปลี่ยนค่าตัวแปรดำเนินการต่างๆ ดังนี้

- ชนิดของเซลล์จุลินทรีย์สาหร่าย (microalgae) มี 3 ประเภท ได้แก่

คลอเรลลา (*Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260)

โครโอคคอกครัส (*Chroococcus* sp. TISTR 8623)

และคลอโรคอกคัม (*Chlorococcum* sp. TISTR 8509)

- ความเร็วของใบกวน : 500-3000 รอบต่อนาที
- ความเร็วของของเหลวที่ป้อน : 0 - 0.4 เมตรต่อนาที
- ความเร็วของของแก๊สที่ป้อน : 0.1 - 0.4 เมตรต่อนาที

ค) เพื่อนำไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรดำเนินการ กับอัตราการแตกของเซลล์ที่ศึกษา ตลอดจนหาเงื่อนไขที่เหมาะสมในการเดินเครื่อง

## บทที่ 2

### งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เพื่อเป็นการศึกษาสถานะภาพของงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเทคโนโลยีในการทำให้เซลล์แตก และนำไปใช้ประโยชน์ คณะวิจัยได้ทำการสำรวจเอกสารบทความวิจัยต่างๆ ซึ่งสามารถสรุปได้โดยสังเขป ดังต่อไปนี้

[1] Kunas และ Papoutsakis (1990) ได้ทำการทดลองโดยใช้เซลล์พันธุ์ทางระหว่าง IgM แอนติบอดีและแอนติเจนจากไวรัสตับอักเสบ ในสภาวะที่ต่างกัน 3 สภาวะ เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของเซลล์ดังนี้ กรณีที่ 1 ในสภาวะที่เกิดการหมุนวนและฟองอากาศภายใน จะมีอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์ลดลงเมื่อเพิ่มความเร็วในการปั่นกวน โดยจะลดลงอย่างรวดเร็วที่ความเร็วรอบ 190 ถึง 200 รอบต่อนาที กรณีที่ 2 สภาวะที่ไม่มี การหมุนวนแต่มีฟองอากาศเล็กๆ มากมายภายในถึงปฏิกรณ์ พบว่าเมื่อความเร็วรอบของการปั่นกวนต่ำกว่า 700 รอบต่อนาที การปั่นกวนจะไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของเซลล์ แต่หากใช้รอบของการปั่นกวนตั้งแต่ 700 รอบต่อนาที จะเกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์โดยทันทีทันใด ในกรณีสุดท้ายที่ทำการทดลองในสภาวะที่ไม่มีทั้งการหมุนวนและฟองอากาศภายในถึงปฏิกรณ์นั้น อัตราการเจริญเติบโตของเซลล์จะมีค่าสูงกว่าในกรณีที่มีฟองอากาศปรากฏอยู่ด้วยแม้แต่ที่ความเร็วรอบมากกว่า 800 รอบต่อนาที จึงกล่าวว่าการเลี้ยงเซลล์พันธุ์ทางในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบมีใบกวนจะมี 2 กลไกที่จะส่งผลให้เกิดการแตกของเซลล์และการเจริญเติบโตของเซลล์ช้า ได้แก่ ความเสียหายเมื่อวัฏภาคของอากาศปรากฏ และความเสียหายที่เกิดจากการรวมตัวกันของฟองอากาศที่เข้าสู่ระบบและฟองอากาศที่แตกออก ทำให้การหมุนวนเกิดขึ้น

[2] Charmers (1994) พบว่าการเลี้ยงเซลล์ของสัตว์ในถึงปฏิกรณ์นั้นเซลล์อาจเกิดความเสียหายได้โดยเหตุผลหลักๆ คือ แรงไฮโดรไดนามิกส์ที่เกิดจากการปั่นกวนภายในถัง เซลล์ถูกกระทำโดยฟองอากาศที่เกิดขึ้นบริเวณตัวกระจายแก๊ส ฟองอากาศที่กำลังลอยตัว ฟองอากาศที่กำลังรวมตัวหรือแยกออกจากกัน และโดยฟองอากาศที่บริเวณรอยต่อระหว่างวัฏภาค ในกรณีนี้ศึกษาการแตกของเซลล์เนื่องจากแรงไฮโดรไดนามิกส์เท่านั้น

[3] Carlson และคณะ (1995) ศึกษาการทำให้เซลล์ของ *Escherichia coli* แตกเพื่อแยกเม็ด พลาสมิด (plasmid) ซึ่งเป็นดีเอ็นเอพาหะโดยอาศัยวิธีทางกล 5 วิธีดังต่อไปนี้ คือ 1) การใช้คลื่นเสียง 2) เทคนิคโฮโมจีไนเซชัน 3) ไมโครฟลูอิดิเซชัน (microfluidization) 4) เนบิวไลเซชัน (nebulization)

และ 5) การบดโดยใช้หม้อบด พบว่าวิธีการบดโดยใช้หม้อบดและไมโครฟลูอิดิเคชัน ให้เปอร์เซ็นต์ของพลาสติกที่แยกได้สูงถึง 90 และ 50 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนการทำเซลล์ให้แตกด้วยวิธีการอื่นนั้นมีศักยภาพในการแยกพลาสติกต่ำมาก (ไม่เกิน 20 เปอร์เซ็นต์) เนื่องจากมีการเสื่อมสภาพของพลาสติกจากการเพิ่มของอุณหภูมิในระหว่างกระบวนการ

[4] Shimizu และคณะ (1998) ศึกษาการทำให้เซลล์ยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* แตก โดยใช้เครื่องบดแบบ Theta - composer ซึ่งใช้ลูกแก้วขนาด 1 มิลลิเมตรเป็นตัวกลางในการบดเซลล์ เครื่องบดนี้โดยปกติแล้วใช้เป็นเครื่องมือในการลดขนาดของอนุภาค ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาดังกล่าวที่มีผลต่อปริมาณของโปรตีนและเอนไซม์ที่ได้ภายหลังจากการทำให้เซลล์แตกได้แก่ ความเร็วรอบของตัวกวน (rotor) ในช่วง 1,000–4,000 รอบต่อนาที และความเร็วรอบของถัง ในช่วง 25–200 รอบต่อนาที ซึ่งพบว่าที่ความเร็วรอบของตัวกวนและของถังเป็น 2,500 และ 25 รอบต่อนาทีตามลำดับเป็นจุดวิกฤติของการทำให้เซลล์แตกโดยให้อัตราการปลดปล่อยโปรตีนเป็น 4.4 เท่าของอัตราการแตกของเซลล์ นอกจากนั้นยังได้ทำการศึกษการเปลี่ยนค่าการกระจายขนาดอนุภาคเนื่องจากการทำให้เซลล์แตกเพื่อวิเคราะห์ถึงความจำเพาะของตำแหน่งของเอนไซม์ภายในเซลล์ บ่งชี้ให้เห็นว่าเอนไซม์อินเวอร์เทส ADH, G-6-PDH มีตำแหน่งเฉพาะอยู่ที่ผนังเซลล์ รอบผนังเซลล์ด้านในและภายในไซโทพลาสซึมตามลำดับ

[5] Heim และ Solecki (1999) ทำการศึกษาการทำให้เซลล์ยีสต์แตกโดยอาศัยหม้อบดซึ่งใช้แผ่นกวน ลูกบดที่ใช้มีขนาดใหญ่ถึง 1,000 ไมครอน ทำการปรับค่าความเข้มข้นของเซลล์ที่แขวนลอย ในช่วง 0.0005 – 0.20 กรัม/ลบ.ซม. และความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นกวนในช่วง 104–366 รอบต่อวินาที จากผลการทดลองพบว่าอัตราการแตกของเซลล์ยีสต์โดยใช้อุปกรณ์ดังกล่าวแปรผันเป็นฟังก์ชันเชิงเส้นของเวลา แต่ภายใต้เงื่อนไขที่ใช้ความเร็วรอบของแผ่นกวนที่ต่ำกว่า 209 รอบต่อวินาที กลับพบว่าทำให้ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เพิ่มสูงขึ้นจะไม่มีอิทธิพลต่อค่าคงที่ของอัตราการแตกของเซลล์ (cell disruption rate constant) แต่อย่างใด

[6] Suksamai (2001) ศึกษาการแตกของเซลล์ยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* ด้วยเทคนิคฟลูอิดิเคชันแบบใช้ใบกวน โดยทำการปรับเปลี่ยนตัวแปรดำเนินการ ได้แก่ ความเร็วของใบกวน ความเร็วของของเหลวที่ปั่น และความเร็วกวแกวที่ปั่น โดยพิจารณาผลจากการกระจายขนาดของเซลล์และอัตราการปลดปล่อยโปรตีน พบว่าอัตราส่วนปริมาณเซลล์ยีสต์ที่แตกเทียบกับปริมาณเซลล์ทั้งหมดก่อนทำการแตกสูงถึง 90 ประสิทธิภาพ โดยความเร็วรอบของการปั่นกวนจะมีผลต่อก่อนเมื่อในระบบประกอบด้วยลูกแก้วและยังความเร็วรอบสูงขึ้นก็จะทำให้อัตราการแตกของเซลล์เพิ่มขึ้น ในขณะที่หากความเร็วของเหลวที่ปั่นเพิ่มขึ้นจะทำให้อัตราการแตกตัวของเซลล์ลดลง

## บทที่ 3

### ทฤษฎีพื้นฐานที่เกี่ยวข้อง

ในทำนองเดียวกันกับการสำรวจบทความวิจัยที่เกี่ยวข้อง เพื่อเป็นการสะสมองค์ความรู้พื้นฐานสำหรับการวิเคราะห์ผล และปรับปรุงการทดลองเพื่อให้สามารถบรรลุตามวัตถุประสงค์ที่กล่าวข้างต้น คณะผู้วิจัยได้ทำการค้นคว้าข้อมูลเกี่ยวกับทฤษฎีพื้นฐานที่เกี่ยวข้องกับเซลล์จุลสาหร่ายซึ่งเป็นเป้าหมายหลัก ข้อมูลของเทคโนโลยีการทำให้เซลล์แตก ตลอดจนข้อมูลของเทคโนโลยีฟลูอิดิกส์เบคสามัญภาคที่เป็นที่เข้าใจกันในปัจจุบัน โดยทั้งนี้สามารถสรุปได้โดยสังเขปดังต่อไปนี้

#### 3.1 เซลล์ของจุลินทรีย์

จุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก โดยมากสามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์ สามารถจัดกลุ่มประเภทของจุลินทรีย์ว่าเป็น แบคทีเรีย ยีสต์ รา สาหร่าย โปรโตซัวและไวรัส ฯลฯ โดยดูจากขนาด รูปร่าง องค์ประกอบภายในเซลล์และรงค์วัตถุ

เป็นที่คาดคะเนว่ามีจุลินทรีย์ในสิ่งแวดล้อมมากถึงประมาณ 500,000 ถึง 6,000,000 ชนิด จึงเชื่อกันว่าจุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีความหลากหลายในชนิดพันธุ์มากที่สุดรองลงมาจากแมลง พบว่าจุลินทรีย์ปรากฏอยู่ในระบบนิเวศโดยทั่วไป บางชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่มีความร้อนสูง สภาวะภายใต้ทะเลลึก สภาวะที่มีความกดอากาศต่ำ สภาวะที่ขาดออกซิเจน เช่น ในที่ซึ่งมีตะกอนทับถมแต่ไร้อากาศจนแม้แต่พืชและสัตว์ก็ไม่สามารถมีชีวิตอยู่ได้

#### เพลงก่ตอน

เพลงก่ตอนที่มีขนาดเล็กจัดว่าเป็นจุลินทรีย์จำพวกหนึ่งเช่นกัน โดยที่เพลงก่ตอนจะหมายถึงสิ่งมีชีวิตซึ่งล่องลอยอยู่ในน้ำสุดแต่พืชและลมจะพาไป เพลงก่ตอนประกอบด้วยสิ่งมีชีวิตหลายกลุ่ม แต่ทุกกลุ่มจะมีลักษณะเหมือนกันประการหนึ่ง คือ ไม่มีระยางค์หรือส่วนที่ช่วยในการเคลื่อนที่ เช่น ครีบของปลา แม้ว่าเพลงก่ตอนบางกลุ่มจะเคลื่อนที่ได้ก็เป็นการเคลื่อนที่อย่างช้าและยังต้องอาศัยคลื่นลมหรือกระแสน้ำช่วยให้เคลื่อนที่ไปอีกด้วย เพลงก่ตอนแบ่งตามหลักโภชนาการได้เป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

1. แพลงก์ตอนสัตว์ (Zooplankton) ได้แก่สัตว์เซลล์เดียว และสัตว์หลายเซลล์ที่ไม่มีกระดูกสันหลัง ทั้งระยะเต็มวัยและระยะวัยอ่อน

2. แพลงก์ตอนพืช (Phytoplankton) ประกอบด้วยสาหร่ายเซลล์เดียว ได้แก่ พืชกลุ่มที่มีสารสีในเซลล์ ทำให้สามารถดูดซับพลังงานแสงและใช้พลังงานแสงร่วมกับคาร์บอนไดออกไซด์ในกระบวนการสังเคราะห์แสงและสร้างสารอินทรีย์ ซึ่งส่วนใหญ่ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต แพลงก์ตอนพืชมีทั้งหมด 3 division คือ

- ไซยาโนไฟตา (Cyanophyta)
- คลอโรไฟตา (Chlorophyta)
- โครโมไฟตา (Chromophyta)

แพลงก์ตอนพืชมีความสำคัญ เพราะเป็นอาหารเบื้องต้นหรือเป็นผู้ผลิตของโซ่อาหารในแหล่งน้ำ

### แพลงก์ตอนพืชหรือจุลสาหร่าย

จุลสาหร่ายเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่จัดเป็นพืชชั้นต่ำที่มีโครงสร้างแบบง่าย ๆ ไม่มีลักษณะกำหนดแน่นอนว่าส่วนใดเป็นราก ลำต้น หรือดอก นักพฤกษศาสตร์จัดจุลสาหร่ายไว้กลุ่มเดียวกับแบคทีเรีย และราโดยอาศัยลักษณะไม่มีท่อลำเลียง ท่ออาหาร แต่จุลสาหร่ายแตกต่างจากจุลินทรีย์กลุ่มอื่นเนื่องจากมีรงควัตถุจึงสามารถสังเคราะห์แสงได้เช่นเดียวกับพืชชั้นสูงอื่นๆ นอกจากนี้ยังมีรงควัตถุอีกหลายชนิดทำให้จุลสาหร่ายแต่ละชนิดแตกต่างกันออกไป สาหร่ายชนิดใดมีรงควัตถุชนิดใดมากก็จะปรากฏเป็นสีนั้น โดยสามารถแบ่งกลุ่มสาหร่ายตามรูปร่างลักษณะได้ดังนี้

- 1 เซลล์เดี่ยว (Unicellular form) แบ่งเป็นชนิดที่เคลื่อนที่ได้และเคลื่อนที่ไม่ได้ ดังนี้
  - 1.1 เซลล์เดี่ยวที่เคลื่อนที่ได้โดยใช้หนวด (Flagellated unicell , Motile unicell) เช่น คลาไมโดโมนาส (Chlamydomonas) , คาร์ทีเรีย (Carteria) , ออกกลีนา (Euglena)
  - 1.2 เซลล์เดี่ยวที่เคลื่อนที่ไม่ได้ (Cocoid unicell) เป็นเซลล์เดี่ยวที่ไม่มีหนวด เช่น คลอเรลลา (Chlorella) , แอนคิสโตรเดสมัส (Ankistrodesmus) , ครอโคคอคคัส (Chroococcus)
- 2 กลุ่มเซลล์ (Colonial form , Colony) เป็นเซลล์ที่มีรูปร่างลักษณะเหมือนกัน ทำหน้าที่อย่างเดียวกัน กลุ่มเซลล์นี้อาจเคลื่อนไหวได้หรือไม่ได้ แบ่งออกเป็น 4 แบบ ดังนี้
  - 2.1 ซีโนเบียม (Coenobium) เป็นกลุ่มเซลล์ที่มีจำนวนเซลล์ในกลุ่มและรูปแบบการเรียงตัวแน่นอนตามลักษณะสกุลหรือชนิด รวมทั้งจำนวนเซลล์ในกลุ่มมีจำนวนที่แน่นอน ได้แก่

พวกที่เคลื่อนไหวไม่ได้ เช่น เพดไดแอสตรัม (Pediastrum) , ซีนเดสมาส (Scenedesmus) และพวกที่เคลื่อนที่ได้ เช่น โกเนียม (Gonium) , แพนดอรินา (Pandorina) , ยูคอรินา (Eudorina)

2.2 แอกริเกชัน (Aggregation) เป็นกลุ่มเซลล์ที่มีจำนวนเซลล์ในกลุ่มและรูปแบบการเรียงตัวของเซลล์ไม่แน่นอน และจำนวนเซลล์ไม่จำกัด เช่น ไมโครไซทิส (Microcystis) , ซีตินาสตรัม (Selenastrum)

2.3 แบบพาลเมลลา (Palmella form) เป็นกลุ่มเซลล์ที่ไม่มีการเคลื่อนไหว มีขนาดรูปร่างไม่แน่นอน กลุ่มเซลล์แบบนี้เกิดโดยเชื่อมเซลล์แต่ละเซลล์มาเชื่อมต่อกัน

2.4 แบบเดนดรอยด์ (Dendroid colony) เป็นกลุ่มเซลล์ที่มีกิ่งก้านมาเชื่อมโยงกัน หรือเกิดจากปลอกของแต่ละเซลล์ซึ่งเป็นรูปแจกันมาเรียงกันคล้ายช่อดอกไม้ เช่น ไดโนไบรอน (Dinobryon)

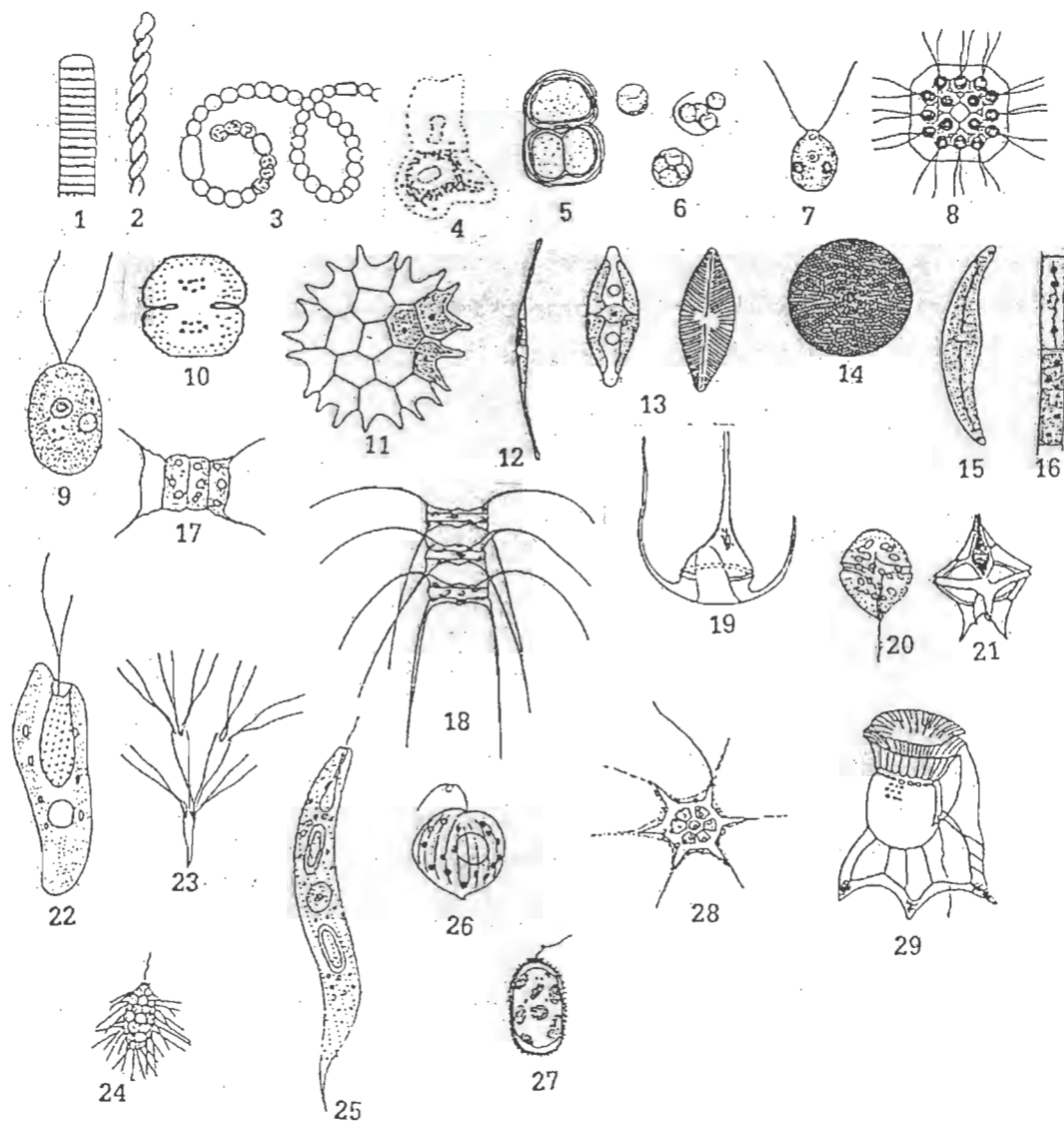
2.5 แบบไรโซโพเดียล (Rhizopodial colony) เป็นกลุ่มเซลล์ที่รวมกันโดยมีสายไซโทพลาสซึมเชื่อมโยงระหว่างเซลล์ เช่น ไครซามีบา (Chrysamoeba)

3 แบบเส้นสาย (Filamentous form , Filament) เป็นการเรียงตัวของเซลล์แบบเป็นแถว เมื่อมีการแบ่งเซลล์จะแบ่งตามขวางของแนวแกน ทำให้เส้นสายนั้นยืดยาวออกไป มี 2 แบบ ได้แก่

3.1 แบบไม่แตกแขนง (Unbranched filament) เช่น ออสซิลลาโตเรีย (Oscillatoria) , อะนาเบียนา (Anabaena) , สไปโรไจรา (Spirogyra)

3.2 แบบแตกแขนง (Branched filament) ซึ่งยังแบ่งออกเป็น 2 แบบย่อย คือ แตกแขนงแท้ (True branch) ซึ่งเป็นการแตกแขนงที่พบในสาหร่ายที่มักเกาะอยู่กับพื้น เช่น แฮพาลอสิฟอน (Hapalosiphon) และแขนงเทียม (False branch) ซึ่งพบเฉพาะสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เช่น ไชโตนีมา (Scytonema)

โดยตัวอย่างของจุลสาหร่ายสายพันธุ์ต่างๆ แสดงดังรูปที่ 3.1



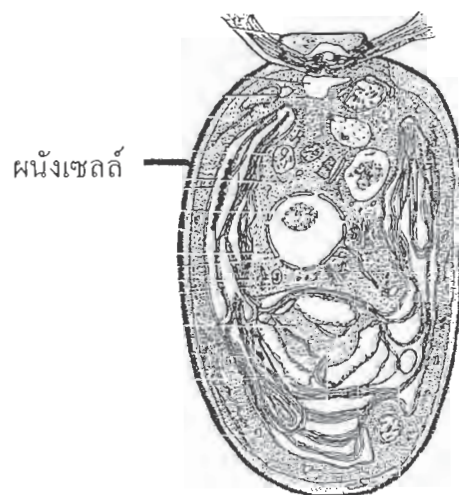
- |                    |                    |                    |                  |
|--------------------|--------------------|--------------------|------------------|
| (1) Oscillatoria   | (2) Spirulina      | (3) Anabaena       | (4) Microcystis  |
| (5) Chroococcus    | (6) Chlorella      | (7) Chlamydomonas  | (8) Gonium       |
| (9) Dunaliella     | (10) Staurastrum   | (11) Pediastrum    | (12) Nitzschia   |
| (13) Navicula      | (14) Coscinodiscus | (15) Closterium    | (16) Mougeotia   |
| (17) Scenedesmus   | (18) Chaetoceros   | (19) Ceratium      | (20) Gymnodinium |
| (21) Peridinium    | (22) Cryptomonas   | (23) Dinobryon     | (24) Mallomonas  |
| (25) Euglena       | (26) Phacus        | (27) Trachelomonas | (28) Dictyocha   |
| (29) Ormithocercus |                    |                    |                  |

รูปที่ 3.1 รูปร่างแพลงก์ตอนของพืชสกุลต่างๆ

ทั้งนี้ ดังที่ได้กล่าวไว้ในขอบเขตการวิจัย จุลสาหร่ายที่มีการนำมาทำให้แตกเพื่อแยกเอาสารชีวภาพมาใช้ประโยชน์ในเชิงอุตสาหกรรมในปัจจุบัน และเป็นที่น่าสนใจสำหรับโครงการวิจัยนี้ ประกอบด้วย จุลสาหร่าย 3 สายพันธุ์ ซึ่งจะได้อายงานผลการศึกษาค้นคว้าข้อมูลเบื้องต้นดังต่อไปนี้

#### จุลสาหร่ายสายพันธุ์คลอเรลลา (*Chlorella* sp.)

จุลสาหร่ายสายพันธุ์คลอเรลลา (*Chlorella*) มีลักษณะเป็นเซลล์อยู่เดี่ยวๆ หรืออาจอยู่รวมกันเป็นกระจุก เซลล์รูปร่างกลมรี ขนาดต่างๆ กัน คลอโรพลาสต์รูปถ้วยหรือเป็นแผ่นอยู่ริมเซลล์ อาจมีหรือไม่มีไพรินอยด์ สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการแบ่งเซลล์จนได้จำนวน 4 หรือ 8 ซึ่งยังคงรวมกันอยู่ในผนังเซลล์พ่อแม่ จัดอยู่ในแฟมิลีออ็อกไซดาซี (*Oocystaceae* Family) ในลำดับ คลอโรคอคเคลส (*Chlorococcales* Order) ซึ่งเป็นอันดับของแพลงก์ตอนพืชที่มีจำนวนสกุลหรือชนิดมาก รวมทั้งมีความหลากหลายของลักษณะรูปร่างของเซลล์และกลุ่มเซลล์อีกด้วย เซลล์ในลำดับนี้ปกติจะไม่มีผนังกั้น แต่เซลล์สืบพันธุ์จะมีผนังกั้น และคอนแทรคไทล์แวคิวโอล (*Contractile vacuole*) การแบ่งเซลล์จะแบ่งโปรโตพลาสต์เพื่อสร้างซุโอสปอร์หรือแกมีต โปรโตพลาสต์ที่แบ่งนี้อาจไม่มีผนังหุ้ม ซึ่งอยู่ในคลาสคลอโรไฟซี หรือสาหร่ายสีเขียว (*Chlorophyceae* Class or Green algae) โดยสาหร่ายสีเขียวส่วนใหญ่มีผนังเซลล์สองชั้น ผนังชั้นในเป็นพวกเซลลูโลส ส่วนผนังชั้นนอกเป็นพวกเพคติน (*Pectin*) และจัดอยู่ในดิวิชัน คลอโรไฟตา (*Chlorophyta* Division) โดยองค์ประกอบภายในของ คลาไมโดโมนัส อากามีทอส (*Chlamydomonas eugametos*) ซึ่งเป็นสาหร่ายที่อยู่ในลำดับเดียวกับคลอเรลลาจะแสดงดังรูปที่ 3.2



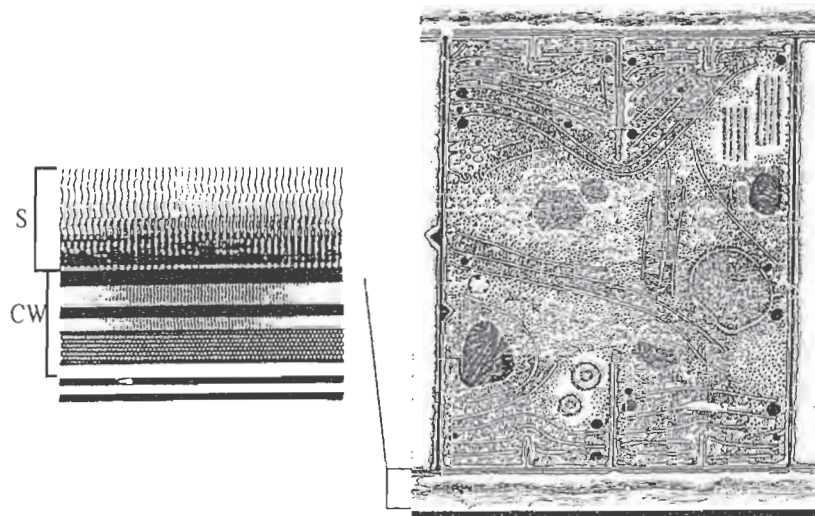
รูปที่ 3.2 ส่วนประกอบภายในของ *Chlamydomonas eugametos*



### จุลสาหร่ายสายพันธุ์โครโคคอกัส (*Chroococcus* sp.)

จัดเป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่พบอยู่ในแหล่งน้ำทุกชนิดทั่วโลก และอยู่ในลำดับของโครโคโรคอกเรต (Order Chroococales) ซึ่งเซลล์ส่วนมากเป็นรูปไข่ ทรงกระบอก หรือ รูปไข่แหลม หัวแหลมท้าย อาจอยู่เซลล์เดี่ยวหรือเป็นกลุ่ม การแบ่งเซลล์เริ่มจากเซลล์เดี่ยวแบ่งได้เซลล์ลูกอยู่ภายในผนังเซลล์ของเซลล์แม่ ในบางครั้งเซลล์ลูกจะหลุดออกจากเซลล์แม่แต่ไม่แยกจากกัน คงรวมอยู่เป็นกลุ่มภายในเมือกที่หุ้มกลุ่มเดิม

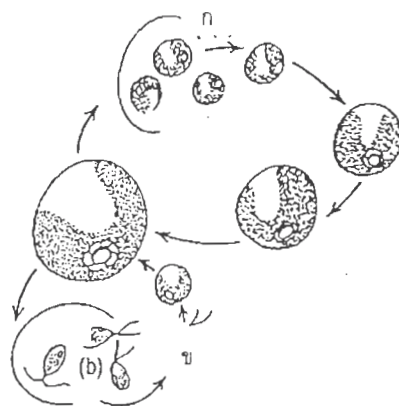
ในส่วนของโครโคคอกัสนั้น เซลล์มีลักษณะกลมหรือค่อนข้างกลม ส่วนมากเมื่อแบ่งตัวแล้ว จะอยู่รวมเป็นกลุ่มตั้งแต่ 4-16 เซลล์ เซลล์เหล่านี้จะมีเมือกเหนียวและหนาหุ้ม โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง (ไม่รวมซีท) 6-12 ไมครอน เมือกที่หุ้มเซลล์อยู่ไม่แบ่งเป็นชั้น ไม่มีสี โดยผนังเซลล์ของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินแสดงดังรูปที่ 3.3



รูปที่ 3.3 องค์ประกอบภายในของสาหร่ายสีน้ำเงิน โดย CW คือ ผนังเซลล์ และ S คือชั้นเมือก

### จุลสาหร่ายสายพันธุ์คลอโรคอกคัม (*Chlorococcum* sp.)

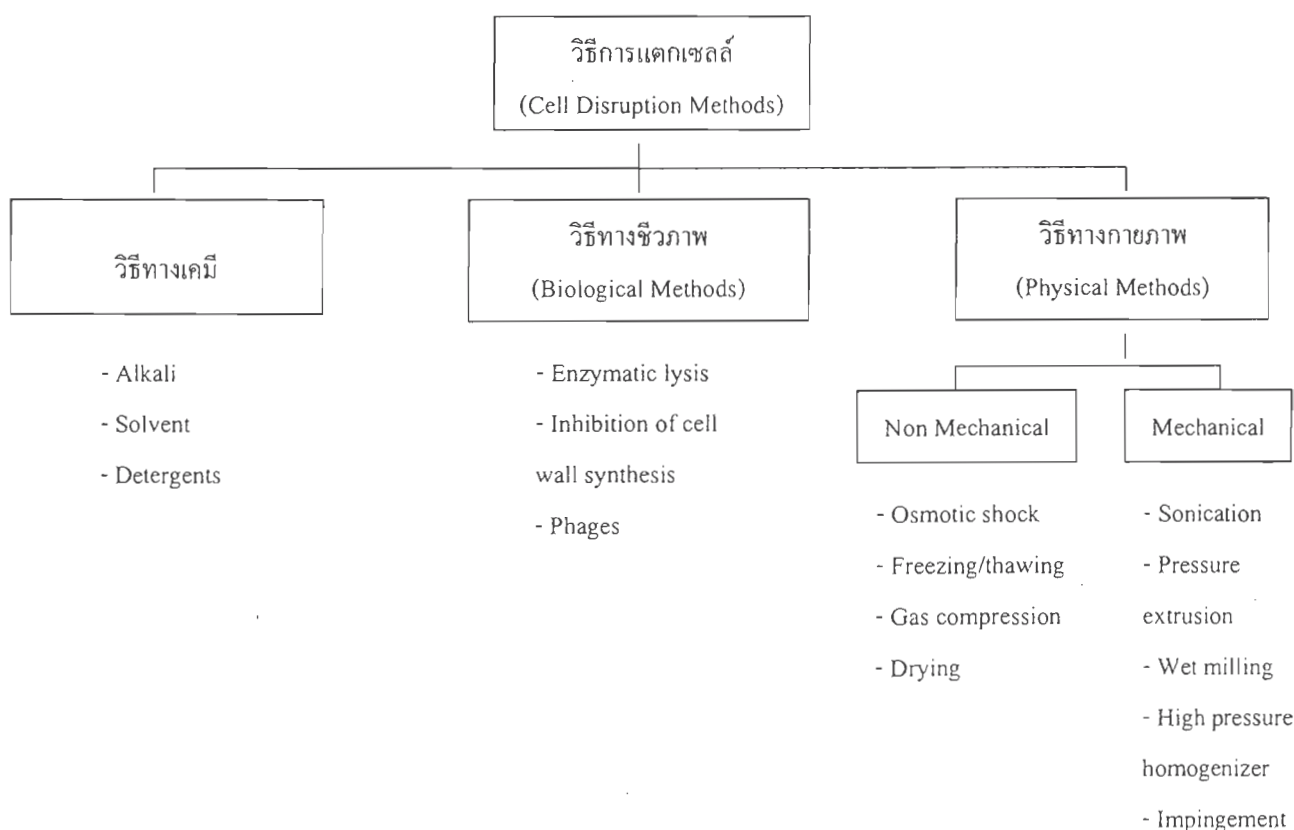
จัดอยู่ในลำดับของคลอโรคอกเคส (order Chlorococcales) ซึ่งเป็นอันดับของแพลงตอนพืชที่มีจำนวนสกุลและชนิดมาก รวมทั้งมีความหลากหลายของลักษณะรูปร่างและกลุ่มเซลล์อีกด้วย ฉะนั้น รูปร่างของเซลล์จึงเป็นเกณฑ์ในการจำแนกสกุลได้ แพลงตอนพืชในอันดับนี้เซลล์ปกติจะไม่มีผนวคแต่เซลล์สืบพันธุ์จะมีผนวค ตาและคอนแทรคไทล์แวกิวโอล การแบ่งเซลล์จะแบ่งโปรโตพลาสต์เพื่อสร้างสปอร์ในการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ หรือแกมีตในการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ โดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศนั้น สปอร์สามารถแบ่งเป็น 2 แบบได้แก่ ออโรสปอร์ที่ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้หรือพลาโนสปอร์ที่สามารถเคลื่อนที่ได้ ในส่วนของคลอโรคอกคัมนั้น สามารถสืบพันธุ์ได้ทั้งแบบอาศัยเพศเมื่อมีอาหารและสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมและแบบไม่อาศัยเพศเมื่อขาดแคลนอาหารและสภาวะแวดล้อมไม่เหมาะสม โดยวงจรชีวิตของคลอโรคอกคัมแสดงดังรูปที่ 3.4



รูปที่ 3.4 วงจรชีวิตของคลอโรคอกคัมเมื่อมีการสืบพันธุ์แบบออโตสปอร์ (วงจร ก) และการสืบพันธุ์แบบพลาโนสปอร์ (วงจร ข)

### 3.2 กระบวนการทำให้เซลล์แตก

องค์ประกอบภายในเซลล์จะถูกแยกจากสภาวะแวดล้อมโดยเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งมีความแข็งแรงและยืดหยุ่นเพียงพอ ทำให้เซลล์สามารถคงรูปร่างและทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงที่สภาวะภายนอกอยู่ได้ ในการนำสารชีวภาพ เช่น โปรตีน กรดอะมิโนและเอนไซม์มา จึงจำเป็นต้องมีกระบวนการที่ทำให้เกิดการปลดปล่อยสารชีวภาพนั้นออกมาจากเซลล์ก่อนทั้งนี้มีด้วยกันหลากหลายวิธีดังแสดงในรูปที่ 3.5 แต่วิธีที่นิยมใช้กันมากที่สุดในอุตสาหกรรม คือการอาศัยแรงกลในการทำเซลล์ให้แตก เนื่องจากสามารถประยุกต์ใช้กับเซลล์หลากหลายชนิด นอกจากนี้ยังประสบความสำเร็จในการขยายขนาดให้ใช้งานได้ในเชิงพาณิชย์



รูปที่ 3.5 เทคนิคต่างๆ ในการทำให้เซลล์แตก

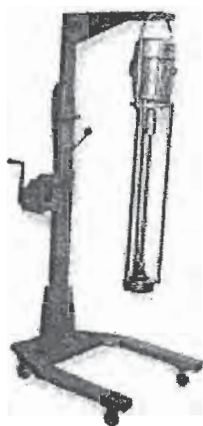
ในปัจจุบันอุปกรณ์ที่ใช้ในการแตกเซลล์ที่นำมาใช้กันมากมายหลายแบบ ซึ่งกระบวนการการแตกเซลล์ต่างๆ ไป ดังแสดงในรูป 3.5 เป็นแผนภาพกระบวนการแตกเซลล์พื้นฐานที่ใช้ในอุตสาหกรรม โดยเซลล์ที่ต้องการจะถูกเลี้ยงเก็บไว้ในเครื่องหมัก (Fermenter) แล้วถูกทำให้เข้มข้นขึ้นโดยการแยกแบบอาศัยแรงเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง (Centrifugation) หรือการกรองแบบอัลตราฟิวเดชัน (Ultrafiltration)

จากนั้นเซลล์เข้มข้นจะผ่านเครื่องแลกเปลี่ยนความร้อน (Heat exchanger) เพื่อปรับอุณหภูมิให้ลดลง จากนั้นส่งผ่านไปยังถังเก็บ ต่อมาเซลล์จะถูกป้อนไปยังหน่วยของการแตกเซลล์ด้วยแรงกล โดยหน่วยนี้ต้องมีการหล่อเย็นเพื่อลดความร้อนที่เกิดขึ้นจากพลังงานกล ซึ่งการหล่อเย็นนี้นับเป็นสิ่งสำคัญของระบบ เนื่องจากถ้าระบบมีความร้อนเกิดขึ้นมากจะทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของสารชีวภาพที่ได้ ในกรณีนี้จะมีสารส่วนหนึ่งหมุนเวียนกลับเข้าไปในถังเก็บ ส่วนที่เหลือจะส่งไปยังกระบวนการต่อไป

อย่างไรก็ตาม ในทั่วไปเทคโนโลยีในการทำให้เซลล์แตกโดยอาศัยแรงกลนับเป็นเทคโนโลยีที่ถูกนำมาใช้มากในอุตสาหกรรม ซึ่งเทคโนโลยีดังกล่าวสามารถแบ่งออกเป็น 2 เทคนิค คือ โฮโมจิไนเซชัน และการบดโดยใช้ลูกบด ซึ่งโดยพื้นฐานแล้ว แต่ละเทคนิคจะมีแรงเฉือนเป็นหลักในการทำเซลล์ให้แตก

### 3.2.1 การทำให้เซลล์แตกโดยการใช้โฮโมจิไนเซอร์

เครื่องโฮโมจิไนเซอร์ (แสดงดังรูปที่ 3.6) จะดำเนินการโดยทำให้เซลล์ที่แขวนลอยถูกดึงผ่านช่องทางออกขนาดเล็กเพื่อให้เกิดแรงดันส่งผลให้เซลล์แตก เทคนิคนี้ประกอบด้วย positive-displacement piston pump หรือ เครื่องสูบลูกสูบ ใช้ปั๊มของเหลวด้วยกำลังที่สูงมาก โดยความดันขาเข้าจะถูกควบคุมผ่านวาล์วเพื่อสร้างแรงเฉือนสูง ด้วยวิธีดังกล่าวจะทำให้เซลล์ที่แขวนลอยอยู่ได้รับแรงเฉือนและแรงอัดจนทำให้เซลล์แตก เพื่อให้บรรลุผลสูงสุดอุปกรณ์ดังกล่าวจึงมีราคาสูง เนื่องจากถูกออกแบบโดยใช้วัสดุที่ทนการสึกกร่อน ประกอบกับข้อจำกัดด้านขนาดของหัวโฮโมจิไนเซอร์ซึ่งจำเป็นต้องมีขนาดเล็ก เพื่อให้สามารถสร้างแรงดันที่ทางออกได้สูงเพียงพอ ดังนั้นกำลังการผลิตในการทำให้เซลล์แตกจึงต่ำ การขยายกำลังการผลิตทำได้ยาก จำเป็นต้องอาศัยการเพิ่มชุดอุปกรณ์ รวมทั้งจะมีการตกค้างของเซลล์ที่ถูกทำให้แตกประสิทธิภาพของเครื่องจึงลดลง

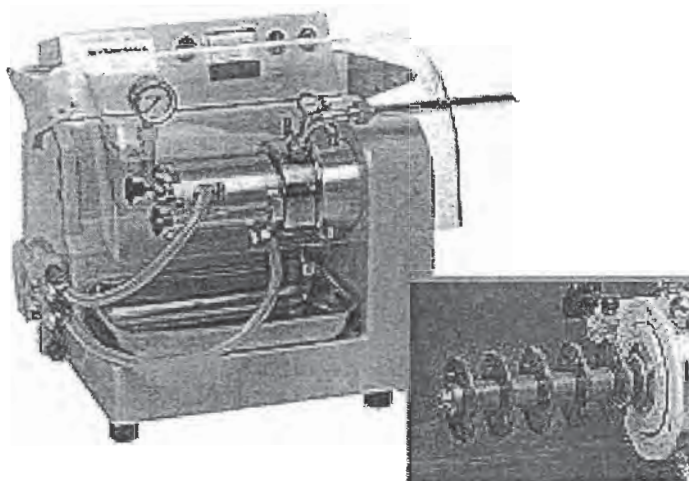


รูปที่ 3.6 โซโมจินเซอร์

### 3.2.2 การทำให้เซลล์แตกโดยหม้อบดแบบใช้ลูกบด

สำหรับเทคนิคการใช้หม้อบดแบบใช้ลูกบด (Bead mill) ประกอบด้วยคอลัมน์ 2 ชั้นรูปทรงกระบอกซึ่งมีทั้งแบบแนวตั้งและแนวนอน (แสดงดังรูปที่ 3.7) ในคอลัมน์ชั้นนอกนั้นเป็นส่วนของการหล่อเย็น ส่วนคอลัมน์ชั้นในประกอบด้วยเม็ดโลหะหรือเม็ดแก้วที่จะทำให้เกิดการบดและไบกวน เมื่อทำการหมุนหม้อบดและไบกวนลูกบดจะเคลื่อนที่และเกิดแรงเสียดสี ส่งผลให้เซลล์แขวนลอยในของเหลวที่ถูกป้อนเข้าทางด้านข้างของหม้อบดถูกทำให้แตกอย่างสม่ำเสมอ

วิธีนี้เป็นเทคนิคการแตกเซลล์ด้วยแรงกลที่มีประสิทธิภาพสูงสุด โดยประสิทธิภาพของการแตกเซลล์นั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น การเพิ่มขึ้นของความเร็วรอบของการปั่นกวน ความร้อนที่เกิดขึ้นในการปั่นกวน พลังงานที่ใช้ในการปั่นกวน ขนาดของลูกบด ความเข้มข้นของเซลล์และอุณหภูมิ แต่ในเชิงพลังงานนั้นอุปกรณ์นี้จะให้ประสิทธิภาพต่ำมาก เนื่องจากพลังงานส่วนใหญ่เสียไปกับการเคลื่อนที่และการชนกันของลูกบด นอกจากนี้อุปกรณ์นี้ยังสามารถออกแบบให้เดินเครื่องแบบต่อเนื่องได้ยากส่วนใหญ่จึงเป็นการเดินเครื่องแบบกะ (batch operation)



รูปที่ 3.7 หม้ออบดแบบใช้ลูกบด

### 3.3 ฟลูอิดไดซ์เบดสามวัฏภาค (three-phase fluidized bed)

ฟลูอิดไดซ์เบดเป็นอุปกรณ์ที่มีการใช้งานกันอย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมหลายประเภท เนื่องจากเป็นอุปกรณ์ที่มีจุดเด่นในด้านการมีการถ่ายเทมวล และการถ่ายเทความร้อนที่ดี ทั้งยังทำให้เกิดการผสมกันของอนุภาคได้อย่างทั่วถึง ทำให้เครื่องฟลูอิดไดซ์เบดเข้ามามีบทบาทอย่างมากสำหรับการประยุกต์ใช้ในกระบวนการทำเม็ด (granulation) การเคลือบผิว (coating process) ของวัสดุอนุภาคชนิดต่างๆ ที่มีมูลค่าสูง เช่น เกสซ์ภัณฑ์ เป็นต้น

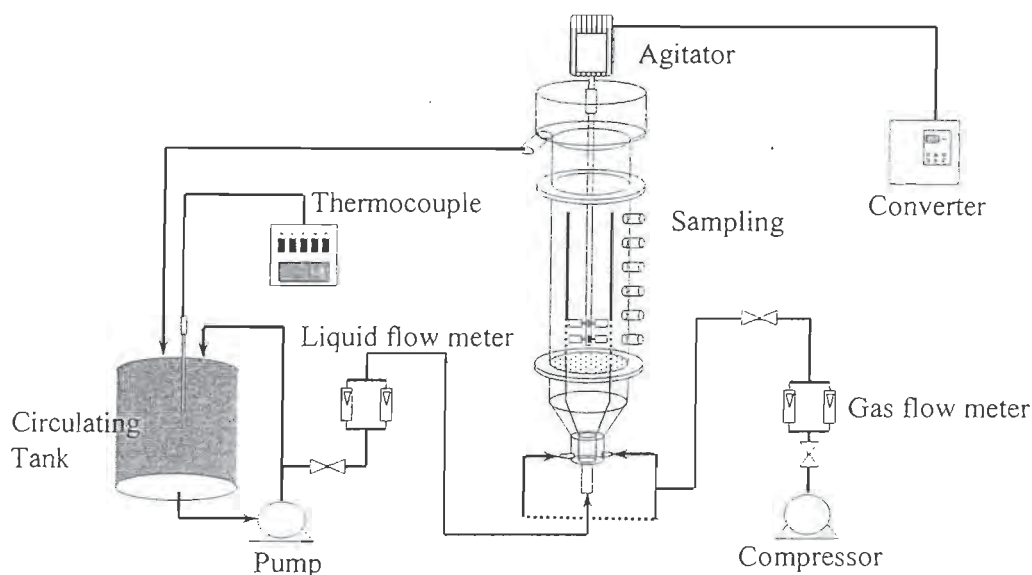
ฟลูอิดไดซ์เบดแบบสามวัฏภาค จะมีการป้อนของเหลวและแก๊สผ่านชั้นอนุภาคของแข็ง (ในกรณีนี้คือลูกแก้ว) การไหลของของเหลวจะทำให้เกิดแรงเฉือนภายในชั้นอนุภาค ส่วนแก๊สจะเกิดการรวมตัวเป็นฟองวิ่งแทรกไปในเนื้อของเหลวและชั้นอนุภาคของแข็ง ส่งผลให้เกิดแรงเฉือนที่สูงขึ้น และอนุภาคของแข็งเกิดการปะทะกันอย่างรุนแรงยิ่งขึ้น นอกจากนี้หากมีการติดตั้งท่อหมุนเวียน (draft tube) และใบกวนก็จะทำให้ประสิทธิภาพของฟลูอิดไดซ์เบดดีขึ้น ทั้งนี้เคยมีนักวิจัยรายงานว่า กระบวนการดังกล่าวมีอิทธิพลทำให้เซลล์จุลินทรีย์บางชนิด เช่น ยีสต์ สามารถแตกได้

## บทที่ 4

### การทดลอง

#### 4.1 เครื่องมือทดลอง และวัสดุ

การทำให้เซลล์จุลสาหร่ายแตกในโครงการวิจัยนี้ จะอาศัยเครื่องมือฟลูอิดไดซ์เบดแบบสามวัฏภาคและใบกวนที่พัฒนาขึ้นเอง โดยโครงสร้างพื้นฐานของชุดเครื่องมือได้แสดงไว้ในรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 ชุดเครื่องมือฟลูอิดไดซ์เบดสามวัฏภาคแบบใช้ใบกวน

ชุดเครื่องมือฟลูอิดไดซ์เบดสามวัฏภาคที่ใช้ในโครงการวิจัยนี้สามารถแบ่งออกเป็น ส่วนประกอบหลัก 3 ส่วน ได้แก่

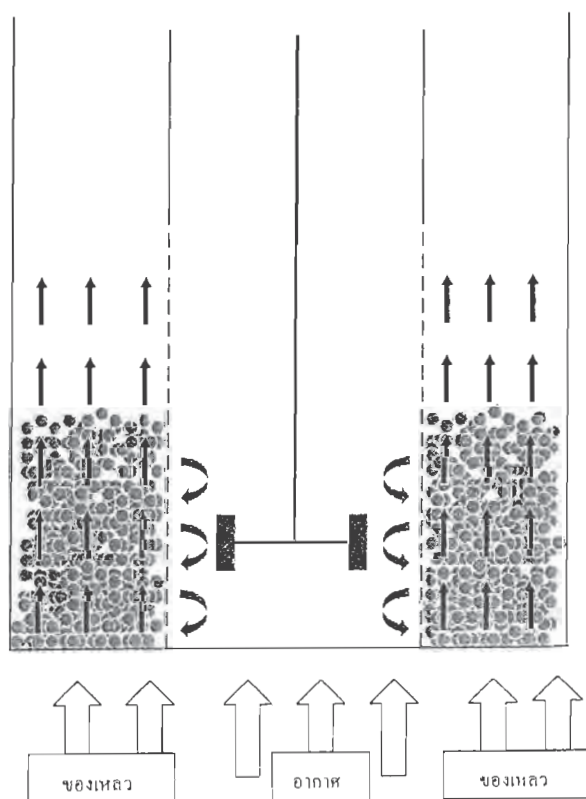
1) ส่วนฟลูอิดไดซ์เบดคอลัมน์ ประกอบไปด้วยคอลัมน์ฟลูอิดไดซ์เบด ท่อหมุนเวียนภายใน และใบกวน ตัวคอลัมน์ทำจากสแตนเลส มีความสูง 24 นิ้วและเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 5 นิ้ว มีการเจาะช่องเพื่อเก็บตัวอย่าง 5 จุดเรียงกันในแนวตั้ง ในส่วนของท่อหมุนเวียนมีความสูง 16 นิ้ว เส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 3 นิ้ว และมีการเจาะรูขนาด 1 มิลลิเมตร เพื่อให้เกิดการหมุนเวียนของของไหลภายในระบบ โดยทั้งคอลัมน์และท่อหมุนเวียนจะถูกจัดวางโดยมีจุดศูนย์กลางร่วมกัน ส่งผลให้เกิดช่องว่างระหว่างด้านนอกของท่อหมุนเวียนและด้านในของคอลัมน์ ใช้เป็นบริเวณที่บรรจุเม็ดแก้วที่จะเกิดการ

ฟลูอิดไดซ์ ขนาดเฉลี่ยของเม็ดแก้วอยู่ระหว่าง 0.9991-1.397 มิลลิเมตร นอกจากนี้ฟลูอิดไดซ์เบดคอลัมน์ยังประกอบไปด้วยใบกวนแบบ 2 ชั้น โดยแต่ละใบมีความกว้างและความยาว 1 นิ้วและ 2.5 นิ้วตามลำดับ โดยใบกวนนี้ใช้เพื่อพื้การหมุนเวียนภายในคอลัมน์นั่นเอง

2) ส่วนที่ทำให้เกิดการกระจายตัวของของเหลวและอากาศ ในส่วนนี้จะประกอบไปด้วยลูกปิด (เส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร) ซึ่งใช้เป็นตัวกระจายของไหล โดยด้านบนของส่วนนี้จะถูกปิดด้วยตะแกรงสแตนเลสซึ่งมีรูขนาด 0.5 มิลลิเมตร โดยตะแกรงนี้ติดตั้งเพื่อช่วยไม่ให้เม็ดแก้วที่ถูกบรรจุในคอลัมน์หลุดลงมายังส่วนกระจายตัวของของไหล นอกจากนี้ด้านบนของคอลัมน์ยังติดตะแกรงเอาไว้อีกเช่นเดียวกัน ทั้งนี้เพื่อป้องกันเม็ดแก้วไม่ให้หลุดออกไปนอกคอลัมน์ระหว่างทำการทดลอง

3) ส่วนที่เกิดการหมุนเวียนของของไหล โดยเมื่อของไหลหลุดออกมาจากคอลัมน์ที่เกิดการฟลูอิดไดซ์แล้วจะเคลื่อนตัวไปสู่ถังพักตัวอย่าง (circulating tank) เพื่อหมุนเวียนกลับเข้าสู่ระบบอีกครั้ง

สำหรับ ปรัชญาการไหล และสัมพันธ์กันของปัจจัยต่างๆ ภายในฟลูอิดไดซ์เบดที่ใช้ในโครงการวิจัยนี้สามารถแสดงได้โดยรูปหลักการที่เสนอในรูปที่ 4.2 และเงื่อนไขที่ใช้ในการเดินเครื่องได้สรุปไว้ในตารางที่ 4.1



รูปที่ 4.2 ลักษณะภายในฟลูอิดไดซ์เบดสามวัฏภาคแบบใช้ใบกวน



ตารางที่ 4.1 เงื่อนไขการทดลองที่จะใช้ในฟลูอิด ไคซ์เบคสามวัฏภาคของโครงการวิจัยนี้

ขนาดบรรจุของฟลูอิด ไคซ์เบค	9 ลิตร
ขนาดบรรจุของถังหมุนเวียน	20 ลิตร
เส้นผ่านศูนย์กลางของเม็ดแก้ว	0.991-1.397 มม.
ปริมาณเม็ดแก้ว	0.5 กก.
ความเร็วรอบการปั่นกวน	0-3000 รอบต่อนาที
ความเร็วอากาศ	0-40 ซม./นาที
ความเร็วของเหลว	0-40 ซม./นาที

สำหรับการเตรียมเซลล์จุลสาหร่ายนั้น โครงการวิจัยนี้ใช้ต้นสายพันธุ์ของเซลล์จุลสาหร่ายที่ได้รับการอนุเคราะห์จาก ศูนย์จุลินทรีย์ (MICREN) สถาบันวิจัยทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (TISTR) โดยจุลสาหร่ายที่ใช้มี 3 สายพันธุ์ได้แก่คลอเรลลา (*Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260) โครโอคอคคัส (*Chroococcus sp.* TISTR 8623) และคลอโรคอคคัม (*Chlorococcum sp.* TISTR 8509) โดยในการเลี้ยงจุลสาหร่ายมีขั้นตอนการดำเนินการดังนี้

1) เตรียมอาหารและอุปกรณ์ต่างๆ ในการเลี้ยงจุลสาหร่ายให้พร้อม เช่น ขวดรูปชมพู่พร้อมจุกปิด โดยทั้งอาหารและอุปกรณ์ในการเลี้ยงต้องผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ในส่วนของจุลสาหร่ายสายพันธุ์คลอเรลลานั้นทำการเลี้ยงในอาหารสูตร N-8 ส่วนจุลสาหร่ายสายพันธุ์โครโอคอคคัส และคลอโรคอคคัม นั้นเลี้ยงในอาหารสูตร BG-11

2) ทำการถ่ายเชื้อจุลสาหร่ายจากขวดเล็กๆ (vial) ไปสู่ขวดรูปชมพู่ขนาด 100 มิลลิลิตรที่มีอาหารเต็มไว้เรียบร้อยแล้ว เลี้ยงจนเซลล์จุลสาหร่ายเติบโตมากพอ โดยสังเกตจากสีเขียวเข้มของจุลสาหร่ายที่เกิดขึ้นทั่วทั้งขวดรูปชมพู่ จากนั้นทำการถ่ายจุลสาหร่ายไปสู่ขวดรูปชมพู่ที่มีขนาด 500 มิลลิลิตร

3) หลังจากจุลสาหร่ายเติบโตจนมีสีเขียวทั่วทั้งขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร นำขวดรูปชมพู่ที่มีจุลสาหร่ายเติบโตอยู่ประมาณ 2-3 ขวด ถ่ายเชื้อจุลสาหร่ายลงสู่ถังเลี้ยงสาหร่ายขนาด 10 ลิตร โดยทำการเลี้ยงที่อุณหภูมิ  $24 \pm 1$  องศาเซลเซียส

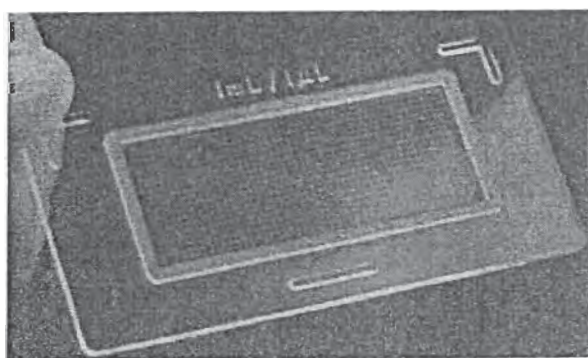
4) เนื่องจากในการทดลองต้องใช้สาหร่ายประมาณ 22 ลิตร จึงต้องนำจุลสาหร่ายจากถังเลี้ยงมาเจือจางเพื่อเพิ่มปริมาตรจาก 10 ลิตรเป็น 22 ลิตร โดยควบคุมความหนาแน่นที่ใช้ในการทดลองคือ  $(9-15) \times 10^6$  เซลล์/มิลลิลิตร ดังนั้นจึงต้องทำการเลี้ยงจุลสาหร่ายนานถึง 1.5-2 เดือน เพื่อให้ได้ความหนาแน่นของสาหร่ายประมาณ  $10^8$  เซลล์/มิลลิลิตร ซึ่งเมื่อนำมาเจือจางแล้วยังคงได้ปริมาณเซลล์อยู่ในช่วงที่ต้องการใช้ในการทดลอง

## 4.2 กระบวนการทดลอง

ในงานวิจัยนี้สามารถแบ่งรูปแบบของการดำเนินการได้ 2 แบบ คือ แบบกะ และ แบบต่อเนื่อง โดยแบบกะนั้นไม่มีการไหลของของเหลวมีเพียงการไหลของอากาศ และมีความเร็วรอบของการปั่นกวนเท่านั้น โดยปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้ในการดำเนินการด้วยวิธีนี้คือ 9 ลิตร ซึ่งต้องเติมให้เต็มคอลัมน์ก่อนทำการทดลอง ในส่วนของการดำเนินการแบบต่อเนื่องที่มีทั้งการไหลของของเหลว การไหลของอากาศ และความเร็วรอบการปั่นกวนนั้น ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้คือ 22 ลิตร และก่อนการดำเนินการทุกครั้งต้องเติมตัวอย่างลงในถังพักตัวอย่างและในคอลัมน์ให้เต็มเสียก่อนจึงจะทำการทดลองได้ ดังที่กล่าวมาข้างต้นความหนาแน่นของจุลสาหร่ายที่ใช้ในการทดลองถูกควบคุมอยู่ในช่วง  $(9-15) \times 10^6$  เซลล์/มิลลิลิตร ดังนั้นก่อนทำการทดลองทุกครั้งจึงจำเป็นต้องนับจำนวนเซลล์ให้อยู่ในช่วงที่ต้องการเสมอ

### 4.2.1 ขั้นตอนในการทดลอง

1. ประกอบหอฟลูอิดไดซ์เบด โดยใส่ลูกปิดเพื่อช่วยในการกระจายกระแสก๊าซให้ทั่วถึงทั้งหอ และใส่อนุภาคของแข็ง คือ เม็ดแก้ว (Glass beads) ไว้ภายนอกกราฟทิวปี (Draft tube)
2. เตรียมสารแขวนลอยสาหร่าย โดยนำตัวอย่างมาเจือจาง แล้วนับจำนวนเซลล์ในตัวอย่างที่เก็บมานั้นโดยใช้สไลด์นับเซลล์ (Counting slide) ซึ่งชนิดที่นิยมใช้คือ Sedgwick-Rafter counting chamber ดังรูปที่ 4.3 เพื่อควบคุมจำนวนเซลล์เริ่มต้น แล้วนำมาคำนวณเทียบความเข้มข้นโดยให้ได้สารแขวนลอยของจุลสาหร่ายเท่ากับ 21 ลิตร



รูปที่ 4.3 สไลด์สำหรับนับเซลล์ (Counting chamber) แบบ Sedgwick-Rafter

3. ดวงสารแขวนลอยของจุลสาหร่ายใส่ในถังเก็บสาร (Circulating tank) และส่วนของคอลัมน์
4. เปิดเดินเครื่องโดยตั้งค่าความเร็วในการป้อนของเหลว ความเร็วในการป้อนก๊าซ และความเร็วรอบของใบกวนตามค่าที่ต้องการศึกษา และเก็บตัวอย่างที่เวลาเริ่มต้นที่ตำแหน่งการเก็บตัวอย่างบนสุดของหอฟลูอิดไดซ์เบด
5. เก็บตัวอย่างที่ตำแหน่งการเก็บตัวอย่างบนสุดของหอฟลูอิดไดซ์เบด ที่เวลาทุกๆ 15 นาที ตั้งแต่เริ่มต้นจนถึงที่เวลา 180 นาที โดยหลอดเก็บตัวอย่างจะมีสารดอง ในที่นี้ใช้ กลูตาโรลดีไฮด์ (Glutaraldehyde) เพื่อสามารถเก็บตัวอย่างไว้ได้นานเพื่อนำไปวิเคราะห์ผลต่อไป ซึ่งสารดองที่ใช้จะใช้ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 2 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรของสารตัวอย่าง
6. ในระหว่างทำการทดลองจะทำการควบคุมอุณหภูมิของสารแขวนลอยให้อยู่ระหว่าง 10-24 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันการเสียดสภาพของสารมีประโยชน์ที่ถูกปลดปล่อยออกมา และป้องกันการตายของสาหร่ายที่อาจเกิดเมื่ออุณหภูมิที่ทำการทดลองสูงเกินไป
7. เก็บตัวอย่างทุก 15 นาที โดยทำการทดลองทั้งหมดเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ในแต่ละจุดของเวลาที่ทำการเก็บตัวอย่างนั้นจะเก็บครั้งละ 3-5 ตัวอย่าง และตัวอย่างที่ได้จะถูกนำมาวิเคราะห์ผลโดยนำมาวัดจำนวนเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ ขนาดของเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ และปริมาณคลอโรฟิลล์ที่ถูกปลดปล่อยออกมาในระหว่างทำการทดลอง ทั้งนี้จะนำผลที่ได้มาคำนวณวิเคราะห์หาประสิทธิภาพการแตก รวมถึงอิทธิพลที่มีผลต่อการแตกเซลล์จุลสาหร่าย

#### 4.2.2 การวิเคราะห์ผลการทดลอง

##### 1) การนับจำนวนเซลล์

การนับเซลล์ที่ยังคงมีชีวิตอยู่ใช้เวลาต่างๆ ระหว่างการทดลอง นับเป็นสิ่งจำเป็นที่ใช้ในการยืนยันการแตกของเซลล์ที่เกิดขึ้นจริงในระหว่างการทดลอง สิ่งจำเป็นที่ต้องใช้ในการนับเซลล์ได้แก่ สไลด์นับเซลล์ (Sedgwick-Rafter counting chamber) และกล้องจุลทรรศน์ (Olympus CX31) โดยกระบวนการนับเซลล์ทำดังนี้

1.1) เนื่องจากสไลด์นับเซลล์ที่ใช้ในกรณีนี้มีขนาดบรรจุของปริมาตรตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร โดยแบ่งพื้นที่ออกเป็น 1000 ช่อง ดังนั้นในการเตรียมสไลด์จะใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตรดูดตัวอย่างที่ทั่วทั้งปริมาตรมีความหนาแน่นของเซลล์เท่ากันหมดแล้วปลดปล่อยลงสู่สไลด์นับเซลล์ จากนั้นนำกระจกปิดสไลด์มาปิดโดยระวังไม่ให้เกิดฟองอากาศขึ้นภายในสไลด์ จากนั้นทิ้งระยะเวลาสักครู่ก่อนการนับเซลล์เพื่อให้เซลล์จมลงสู่ด้านล่างของสไลด์

1.2) สุ่มนับเซลล์จุลสาหร่ายในแต่ละช่องของสไลด์เป็นจำนวน 50 ช่อง จากนั้นคำนวณจำนวนเซลล์เฉลี่ยในแต่ละช่อง และคำนวณย้อนกลับเพื่อให้ได้จำนวนเซลล์ในปริมาตร 1 มิลลิลิตร โดยในแต่ละตัวอย่างที่ถูกนำมาวิเคราะห์นั้นจะต้องถูกนับเซลล์ 2 ครั้ง

ในที่สุดจะนำจำนวนเซลล์ที่ยังคงมีชีวิตอยู่ในแต่ละช่วงเวลา มาคำนวณหาจำนวนเซลล์ที่ถูกทำลายลงในแต่ละช่วงของเวลา โดยใช้สมการความสัมพันธ์ดังต่อไปนี้

$$\begin{aligned} & \text{จำนวนเซลล์ที่ถูกทำลายในแต่ละช่วงเวลา (amount of cells disruption)} \\ = & \text{จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่เป็นเวลาเริ่มต้น} - \text{จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ที่แต่ละเวลาทดลอง} \end{aligned} \quad 4-1$$

จากนั้นสามารถคำนวณเปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์ (Cell disruption (หน่วยเป็น %)) โดยใช้สมการต่อไปนี้

เปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์ (Percent of cell disruption)

$$\left( \frac{\text{จำนวนเซลล์ที่ถูกทำลายในแต่ละช่วงเวลา} \times 100}{\text{จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่เป็นเวลาเริ่มต้น.}} \right) \quad 4-2$$

และจากจำนวนเซลล์ที่ถูกทำลายในแต่ละช่วงเวลานั้น สามารถนำไปวิเคราะห์หาอัตราการแตกของเซลล์ (Disruption rate) เพื่อช่วยในการวิเคราะห์ผลการทดลองได้อีกทางหนึ่งด้วย

## 2) การวัดขนาดของเซลล์

เซลล์จะถูกถ่ายภาพด้วยกล้องถ่ายภาพที่ติดอยู่กับกล้องจุลทรรศน์ (SLR camera Panasonic, WV-CP240/G) จากนั้นจะทำการวัดขนาดของเซลล์ (ด้านกว้างและด้านยาว) ด้วยอิมเมจโปรเซสซิ่งโปรแกรม (Image processing program: Image Pro V. 3.0) แต่ละตัวอย่างจะทำการวิเคราะห์ 2 ครั้ง ในแต่ละครั้งจะทำการวัดขนาดเซลล์เป็นจำนวน 100 เซลล์

ลำดับต่อมาจะทำการวิเคราะห์ถึงขนาดของเซลล์ที่ยังคงมีชีวิตอยู่เมื่อเวลาในการทดลองเพิ่มขึ้น โดยใช้ปริมาตรของเซลล์ที่เวลาต่างๆ เป็นตัวแทน โดยจะนำความกว้างและยาวของเซลล์ที่ได้ในแต่ละช่วงเวลามาใช้คำนวณหาปริมาตรเซลล์ที่ยังคงมีชีวิตอยู่ในระบบ โดยใช้สูตรของปริมาตรรูปกลมไข่ จากนั้นจะทำการวิเคราะห์ผลโดยใช้อัตราส่วนระหว่างปริมาตรของเซลล์ที่ยังคงมีชีวิตอยู่ ณ เวลาทดลองต่อปริมาตรของเซลล์ที่เวลาเริ่มทำการทดลอง (Volume of cell at operating time/volume of cell at started time) ว่าแนวโน้มขนาดเซลล์ที่ยังคงมีชีวิตอยู่เมื่อเวลาในการทดลองเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ นั้นเป็นอย่างไร

### 3) การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ

การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากจุลสาหร่ายสู่ระบบจัดเป็นการยืนยันผลการทดลองในอีกทางหนึ่งว่าการแตกของเซลล์จุลสาหร่ายนั้นเกิดขึ้นจริงในระบบ โดยจะพิจารณาจากปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ที่ถูกปลดปล่อยออกมาที่เวลาใดๆ ต่อปริมาณของคลอโรฟิลล์ เอ ที่มีอยู่ ณ เวลาเริ่มต้น  $((C_t - C_0) / C_0)$  โดยสามารถหาปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ที่ถูกปลดปล่อยออกมาได้ดังนี้

นำตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์หามาในปริมาตร 1 มิลลิลิตรผสมกับอะซีโตน (Acetone) ในปริมาตร 4 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำไปแกว่งด้วยอุปกรณ์ (Shaker) เป็นเวลา 10 นาทีที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปเข้าเครื่องตกตะกอน (Centrifuge: 10 นาที, 300Xg) ซึ่งจะทำให้ตัวอย่างแยกออกเป็น 2 ชั้น คือส่วนที่ใสด้านบนและส่วนที่เป็นตะกอนของจุลสาหร่ายด้านล่าง นำส่วนที่ใสด้านบนของตัวอย่างมาวัดด้วยเครื่องสเปกโตรสโกปี (UV-Visible spectroscopy) ที่ความยาวคลื่น 664 และ 647 นาโนเมตร จะสามารถประมาณปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ได้โดยใช้สมการต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (Chlorophyll A)} = 11.93A_{664} - 1.93A_{647} \quad 4-3$$

### 4) การสังเกตด้วยกล้องจุลทรรศน์

การถูกทำลายของเซลล์จะถูกสังเกตและถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยคลอเรลลาจะถูกพิจารณาที่กำลังขยาย 1000 เท่า ส่วนโครโอคอคคัสและคลโรคอคครัมจะถูกพิจารณาที่กำลังขยาย 400 เท่า

## บทที่ 5

### ผลการทดลองและการวิเคราะห์ผล

#### 5.1 การแตกของคลอเรลลา (*Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260)

##### 5.1.1 อิทธิพลของความเร็วอากาศที่ป้อน

ดังที่ได้กล่าวชี้แจงข้างต้น ในโครงการวิจัยนี้จะทำการศึกษาอิทธิพลของความเร็วอากาศที่ป้อน โดยกำหนดให้ความเร็วของเหลวที่ป้อนมีค่าเป็น 0 ซม./นาทิจ และความเร็วรอบใบกวนที่ป้อนเข้าสู่ระบบ มีค่าเท่ากับ 0 รอบ/นาทิจ จากนั้นทำการปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ โดยความเร็วอากาศที่ใช้อยู่ในช่วง 10-40 ซม./นาทิจ

จากรูปที่ 5-1 เมื่อเพิ่มความเร็วของอากาศจาก 10 ซม./นาทิจ เป็น 20 ซม./นาทิจ พบว่าเปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์จะลดลงจาก 41.8% เป็น 18.3% และเมื่อเพิ่มความเร็วอากาศเป็น 40 ซม./นาทิจ เปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์เพิ่มขึ้นเล็กน้อยเป็น 22.6% (รูปที่ 5-1) จากนั้นผลการทดลองถูกยืนยันด้วยอัตราการแตกของเซลล์ (รูปที่ 5-2) ปริมาตรของเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไปต่อเวลา (รูปที่ 5-3) ปริมาณของคลอโรฟิลล์ เอ ที่ถูกปลดปล่อยออกมาต่อเวลา (รูปที่ 5-4) และภาพถ่ายของเซลล์ซึ่งถูกทำลายที่สภาวะต่างๆ ของการทดลอง (รูปที่ 5-5)

การป้อนอากาศเข้าสู่คอลัมน์ที่ภายในบรรจุ ลูกแก้ว และสารแขวนลอยสาหร่ายนั้น มีกลไก 2 อย่างเกิดขึ้นทำให้เซลล์แตก ได้แก่ การเคลื่อนที่ของลูกแก้วและแรงเฉือนที่เกิดขึ้น

การเคลื่อนที่ของลูกแก้วนั้น เป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นเสมอ เมื่อความเร็วอากาศที่ป้อนเข้าสู่ระบบมีค่ามากกว่าความเร็วต่ำสุดที่ทำให้ลูกแก้วเคลื่อนที่ได้ในฟลูอิดไดซ์เบดสามวัฏภาค ( $U_{\lambda mf}$ ) โดยค่าความเร็วของของเหลวต่ำสุดนี้พิจารณาจาก

$$\frac{U_{\lambda mf}}{U_{\lambda mfo}} = 1 - 376 U_g^{0.327} \mu_\lambda^{0.227} d_e^{0.213} (\rho_s - \rho_\lambda)^{-0.423} \quad 5-1$$

เมื่อ  $U_{mfo}$  สามารถคำนวณจากสมการของ Wen และ Yu (Wen and Yu's correlation) ที่ใช้สำหรับฟลูอิดไดซ์เบดสามวัฏภาค

$$Re_{mfo} = \sqrt{(33.7)^2 + 0.0408 Ar} - 33.7 \quad 5-2$$

โดยที่

$$\text{Re}_{mfo} = \frac{d_e U_{\lambda mfo} \rho_\lambda}{\mu_\lambda} \quad 5-3$$

ในที่นี้  $U_{\lambda mf}$  : ความเร็วต่ำสุดของของเหลวที่ทำให้เกิดการฟลูอิดไดซ์ในฟลูอิดไดซ์เบดสามวัฏภาค (อากาศ ของแข็ง ของเหลว) (เมตร/วินาที)

$U_{\lambda mfo}$  : ความเร็วต่ำสุดของของเหลวที่ทำให้เกิดการฟลูอิดไดซ์ในฟลูอิดไดซ์เบดสองวัฏภาค (ของแข็ง ของเหลว) (เมตร/วินาที)

$Ar$  : Archimedes number,  $d_p^3 \rho_\lambda (\rho_s - \rho_\lambda) g / \mu_\lambda^2$

$\text{Re}_{mfo}$  : Reynolds number ที่ ความเร็วต่ำสุดที่ทำให้เกิดการฟลูอิดไดซ์

$d_p$  : เส้นผ่านศูนย์กลางอนุภาค (เมตร)

$\rho_\lambda$  : ความหนาแน่นของเหลว (กิโลกรัม/เมตร<sup>3</sup>)

$\rho_s$  : ความหนาแน่นของแข็ง (กิโลกรัม/เมตร<sup>3</sup>)

$\mu_\lambda$  : ความหนืดของเหลว (กิโลกรัม/เมตร-วินาที)

โดยอาศัยชุดสมการข้างต้น จะสามารถประมาณค่าความเร็วต่ำสุดของของเหลวในการเกิดฟลูอิดไดซ์ได้ดังตารางที่ 5-1

ตารางที่ 5-1 ค่าความเร็วต่ำสุดในการเกิดฟลูอิดไดซ์

ความเร็วอากาศ ( $U_g$ )		$U_{mfo}$ ( $\times 10^{-3}$ เมตร/วินาที)	$U_{mf}$ ( $\times 10^{-3}$ เมตร/วินาที)
(ชม./นาที่)	( $\times 10^{-3}$ เมตร/วินาที)		
10	1.7	0.9	0.75
20	3.3	0.9	0.71
40	6.7	0.9	0.66

จากตารางที่ 5-1 พบว่าลูกแก้วจะเคลื่อนที่เนื่องจากความเร็วอากาศที่เดิมในระบบสูงกว่าความเร็วต่ำสุดของของเหลวที่อนุภาคจะเคลื่อนที่ในการฟลูอิดไดซ์  $U_{\lambda mf}$  ก่อให้เกิดการบดกันระหว่างลูกแก้ว ทำให้เกิดการแตกของเซลล์จุลสาหร่ายที่อยู่ระหว่างลูกแก้ว นอกจากนี้ยังมีการชนกันระหว่างลูกแก้วและเซลล์จุลสาหร่าย ทำให้เซลล์เสียหายและแตกด้วยเช่นกัน โดยแนวคิดนี้มีความสอดคล้องกับแนวคิดจากงานวิจัยของ Heim และคณะ ที่เสนอว่าเมื่อเติมลูกบด (grinding element) ลงสู่ระบบซึ่งมีการปั่นกวบ สิ่งสำคัญซึ่งทำให้เซลล์แตกคือการถูกบดในช่องว่างระหว่างลูกบด (destruction zone) ที่

เกิดการชนกัน โดยเมื่อเซลล์เข้ามาอยู่ในช่องว่างระหว่างลูกบดจะได้รับแรง (N) ที่เกิดจากการปะทะกันของลูกบด ทำให้ผนังเซลล์ถูกทำลาย นอกจากนี้แรงจากการปะทะกันของลูกบดยังก่อให้เกิดแรงลัพธ์ (W) ที่มีทิศตั้งฉากกับทิศทางการชนกันของลูกบดขึ้นบนเซลล์ โดยเซลล์จะส่งต่อแรงลัพธ์ไปสู่เซลล์ข้างเคียงส่งผลให้เซลล์แตก (รูปที่ 5-6)

กลไกอีกกลไกที่อาจจะส่งผลให้เกิดการแตกของเซลล์ คือ แรงเฉือนที่เกิดขึ้นในระบบเมื่อมีการไหลของอากาศภายใน เมื่อพิจารณาคอลัมน์ที่มีเพียงอากาศและน้ำเป็นองค์ประกอบ สามารถหาแรงเฉือน จาก Chisti, 2001 ได้ดังนี้

$$\gamma_{av} = kU_G^a \quad 5-4$$

เมื่อ  $\gamma_{av}$  : แรงเฉือนเฉลี่ย (1/วินาที)

$U_G$  : ความเร็วอากาศ (เมตร/วินาที)

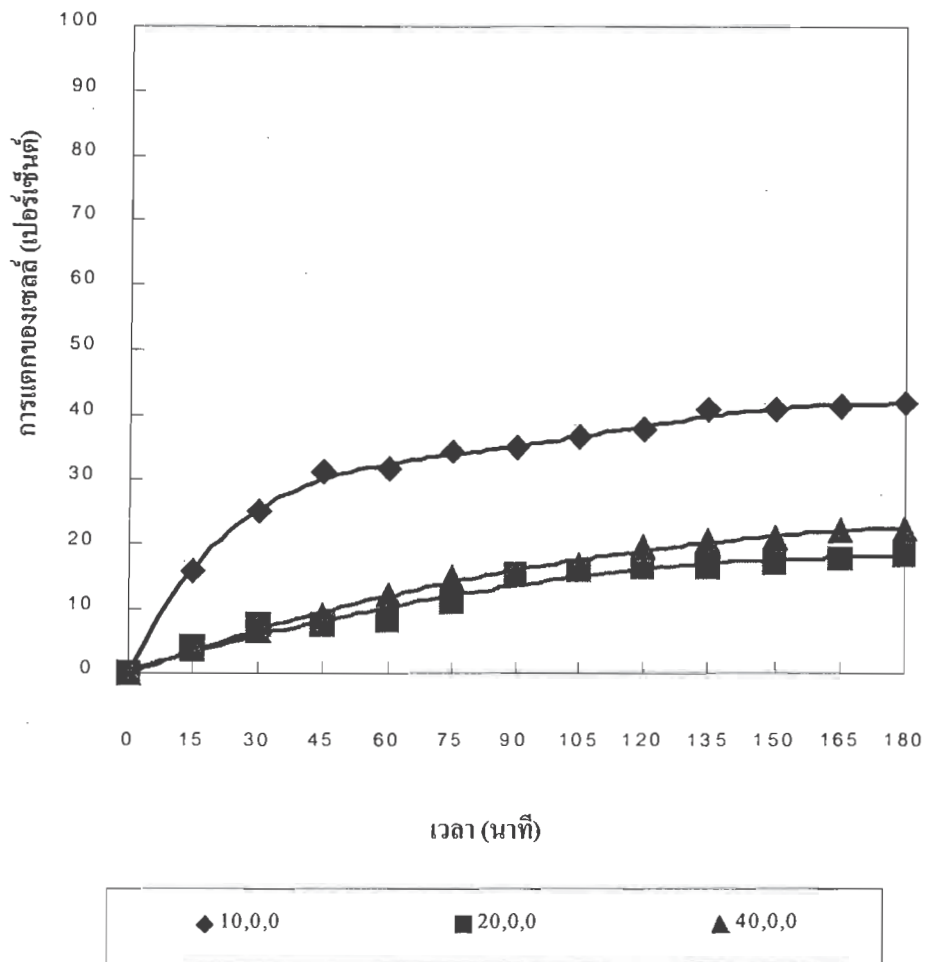
จากสมการของ Nishikawa เมื่อความเร็วอากาศต่ำกว่า 0.04 เมตร/วินาที ตัวแปร k และ a จะมีค่าเท่ากับ 1000 และ 0.5 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามหากความเร็วอากาศมีค่าเท่ากับหรือมากกว่า 0.04 เมตร/วินาที ตัวแปร k และ a จะมีค่าเท่ากับ 5000 และ 1 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามแรงเฉือนสามารถคำนวณได้ดังตารางที่ 5-2

ตารางที่ 5-2 แรงเฉือนที่คำนวณได้จากสมการที่ 5-4 เมื่อความเร็วของเหลวที่ปั่นและความเร็วรอบการปั่นกวนมีค่าคงที่ที่ 0 ชม./นาที และ 0 รอบ/นาที ตามลำดับ

ความเร็วอากาศ ( $U_g$ ชม./นาที)	ความเร็วอากาศ ( $\times 10^{-3}$ เมตร/วินาที)	$\gamma_{av}$ (1/วินาที)
10	1.7	41.2
20	3.3	57.4
40	6.7	81.8

จากตารางที่ 5-2 พบว่าภายในคอลัมน์ของน้ำและอากาศ เมื่อความเร็วอากาศเพิ่มขึ้น แรงเฉือนจะมีค่าเพิ่มขึ้นเช่นกัน โดยในฟลูอิดไดซ์เบดสามวัฏภาคจะแสดงผลในแนวโน้มเดียวกันแต่มีค่าต่ำกว่าเนื่องจากการเติมวัฏภาคของแข็งลงในระบบเป็นการหน่วงการเคลื่อนที่ของอากาศในระบบนั่นเอง





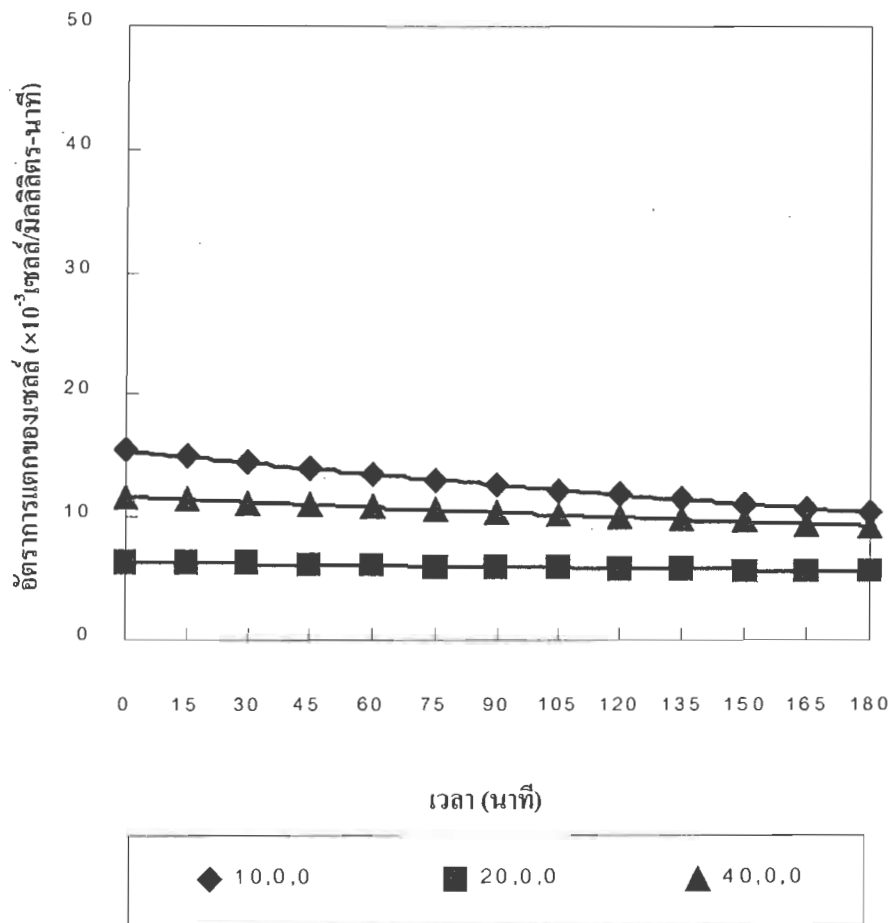
รูปที่ 5-1 เปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์คลอเรลลาเมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ

$$U_g = 10, 20, 40 \text{ ชม./นาที}$$

$$U_l = 0 \text{ ชม./นาที}$$

$$N = 0 \text{ รอบ/นาที}$$

$$(U_g, U_l, N)$$



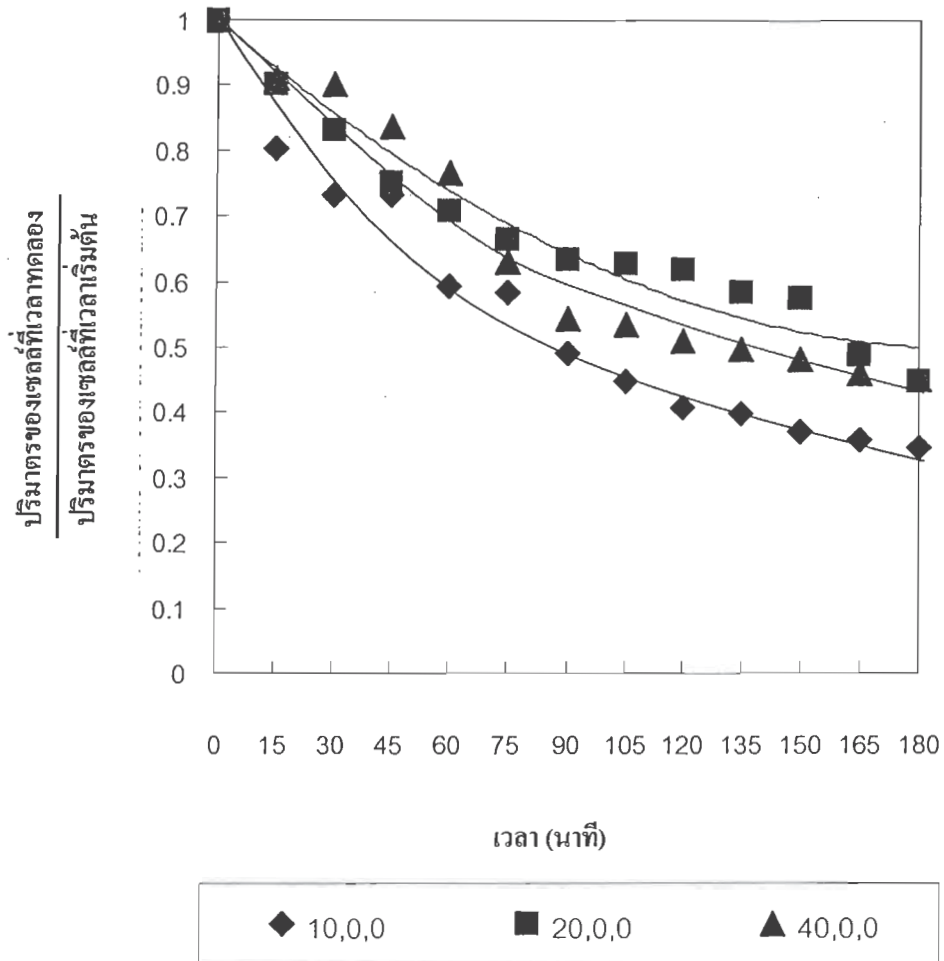
รูปที่ 5-2 อัตราการแตกของเซลล์โคลอเรลลาเมื่อปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ

$$U_g = 10, 20, 40 \text{ ซม./นาที}$$

$$U_l = 0 \text{ ซม./นาที}$$

$$N = 0 \text{ รอบ/นาที}$$

$$(U_g, U_l, N)$$



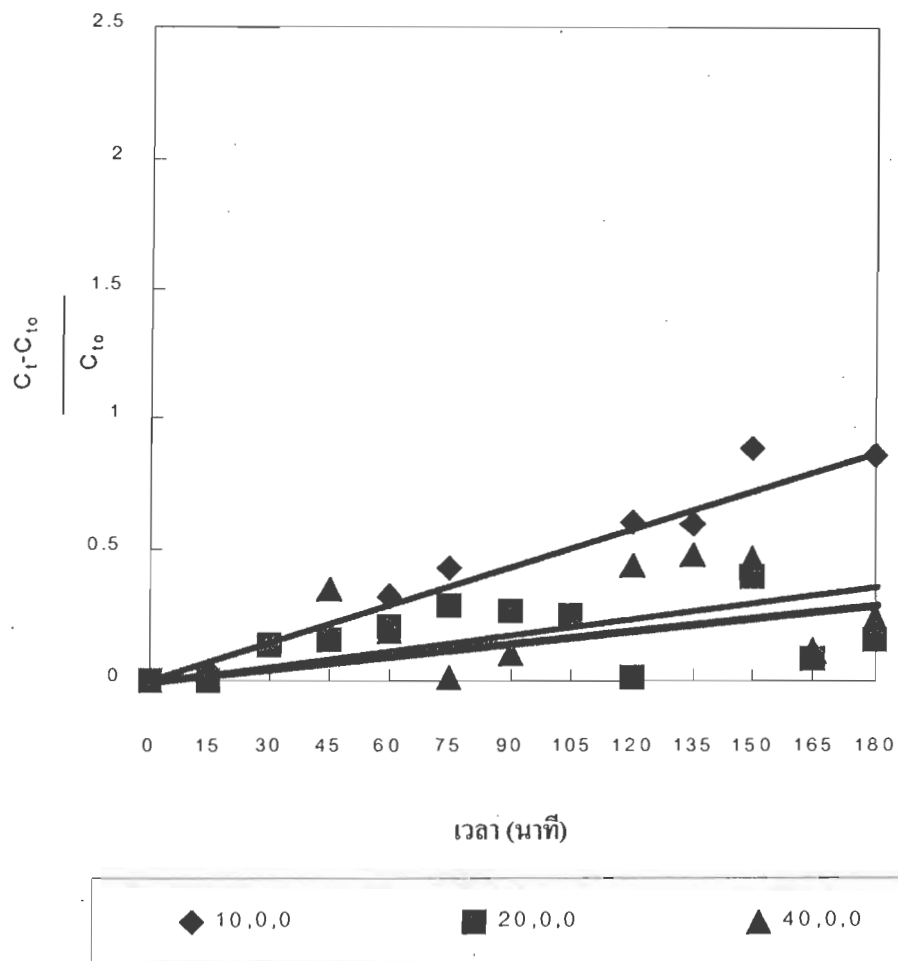
รูปที่ 5-3 อัตราส่วนระหว่างปริมาตรเซลล์คลอเรลลาที่เวลาทำการทดลองต่อปริมาตรคลอเรลลาที่เวลาเริ่มต้น เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ

$$U_g = 10, 20, 40 \text{ ซม./นาที}$$

$$U_l = 0 \text{ ซม./นาที}$$

$$N = 0 \text{ รอบ/นาที}$$

$$(U_g, U_l, N)$$



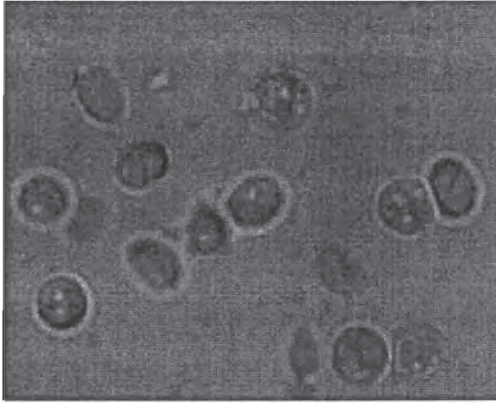
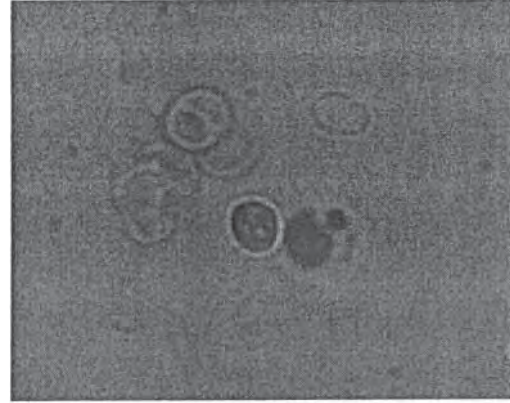
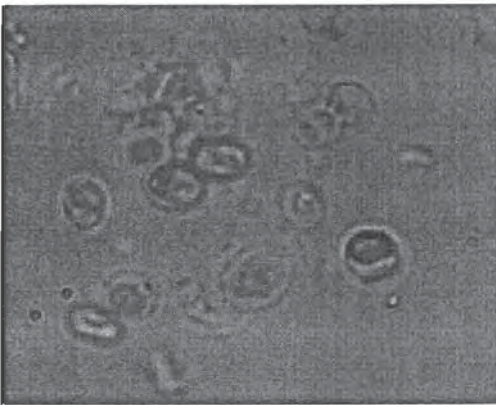
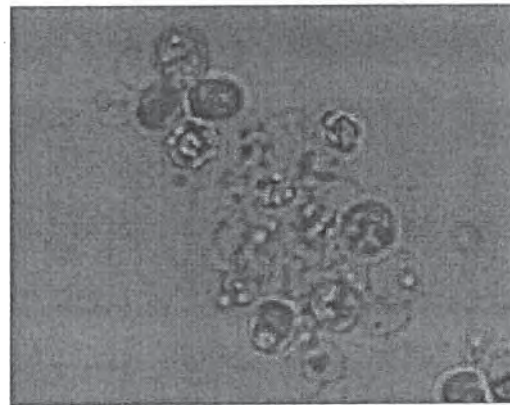
รูปที่ 5-4 อัตราส่วนระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของคลอเรลลาที่เวลาทำการทดลองต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ที่เวลาเริ่มต้น เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ

$$U_g = 10, 20, 40 \text{ ซม./นาท}$$

$$U_l = 0 \text{ ซม./นาท}$$

$$N = 0 \text{ รอบ/นาท}$$

$$(U_g, U_l, N)$$

(a)  $U_g = 0$  ชม./นาฬิกา(b)  $U_g = 10$  ชม./นาฬิกา(c)  $U_g = 20$  ชม./นาฬิกา(d)  $U_g = 40$  ชม./นาฬิกา

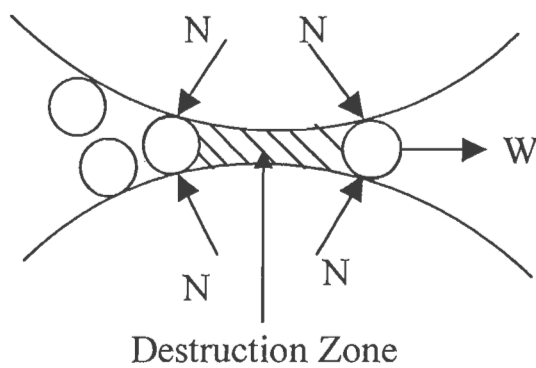
รูปที่ 5-5 ภาพถ่ายของเซลล์กลอเรลลา ( $\times 1000$ ) เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ

$$U_g = 10, 20, 40 \text{ ชม./นาฬิกา}$$

$$U_l = 0 \text{ ชม./นาฬิกา}$$

$$N = 0 \text{ รอบ/นาฬิกา}$$

$$(U_g, U_l, N)$$



รูปที่ 5-6 กลไกในการบิดที่เกิดขึ้นจากการชนกันระหว่างลูกบด

(จาก Heim et al; 1999)

### 5.1.2 อิทธิพลของความเร็วยของเหลวที่ป้อน

จากผลการทดลองเบื้องต้น พบว่าเมื่อเพิ่มความเร็วของเหลวจาก 10 เป็น 20 ซม./นาทิจ จะทำให้เปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์ลดลง จาก 38.55% เป็น 14.95% แต่เมื่อเพิ่มความเร็วจาก 20 ซม./นาทิจเป็น 40 ซม./นาทิจ กลับพบว่าเปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์จะเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเล็กน้อย (19.27%)

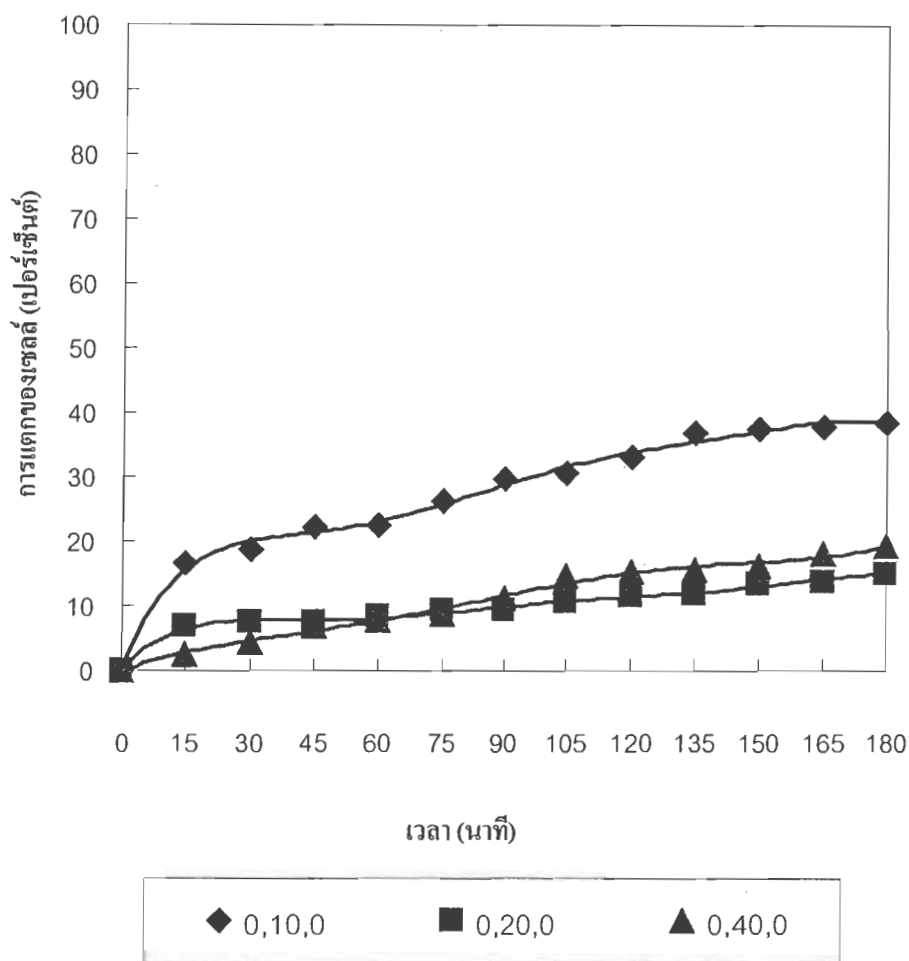
ในเวลาเดียวกันได้มีการทดลองศึกษาการแตกของเซลล์ เมื่อทำการป้อนของเหลวที่มีเซลล์แขวนลอยอยู่เข้าไปในคอลัมน์ที่ไม่มีการบรรจุลูกแก้วไว้ พบว่าแรงเฉือนจากของเหลวเพียงอย่างเดียวมีผลต่อการแตกของเซลล์น้อยมาก ดังจะเห็นได้จากการเดินเครื่องโดยการป้อนของเหลวที่มีเซลล์แขวนลอยอยู่ด้วยปั๊มเพียงอย่างเดียว พบว่าที่ความเร็วของเหลว 40 ซม./นาทิจ มีการแตกของเซลล์เพียง 1.74% เท่านั้น แต่เมื่อมีการเติมลูกแก้วลงในคอลัมน์และทำการทดลองด้วยสภาวะเดียวกัน พบว่าเปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์เพิ่มขึ้นสูงถึง 19.27% ดังนั้นจากกรณีนี้สามารถสรุปได้ว่าแรงเฉือนจากการไหลของของเหลวเพียงอย่างเดียวนั้นทำให้เซลล์จุลสาหร่ายแตกได้น้อยมาก แต่หากมีอนุภาคอยู่ในระบบ เส้นทางการไหลของของเหลวจะถูกบังคับให้ไหลในช่องว่างภายในชั้นอนุภาค ทำให้เกิดแรงเฉือนเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ J. Zhang, Y. Li และ L.S. Fans (2000) ดังนั้นเซลล์ที่ได้รับแรงเฉือนเพียงพอก็ถูกทำให้แตก ในส่วนของอนุภาคนั้นการไหลของของเหลวจะทำให้อนุภาคที่อยู่ในฟลูอิดไดซ์เบดเคลื่อนที่ และเกิดการกระทบกันระหว่างอนุภาค ส่งผลให้เซลล์ที่เคลื่อนที่อยู่ระหว่างอนุภาคได้รับแรงเฉือน และแรงกระแทกทำให้ผนังเซลล์มีโอกาสถูกทำลายได้มากขึ้น นอกจากนี้การไหลของของเหลวยังทำให้เกิดการปะทะกันระหว่างอนุภาคและเซลล์ที่สามารถทำให้เซลล์แตกได้

จากข้อมูลในรูปที่ 5-7 ถึง 5-11 เมื่อพิจารณาอิทธิพลของความเร็วยของของเหลว (U) ต่อการแตกของเซลล์ในคอลัมน์ที่มีการเติมลูกแก้ว พบว่าที่ความเร็วของเหลวเท่ากับ 10 ซม./นาทิจนั้นการแตกของเซลล์มีค่ามากถึง 38.55% ซึ่งเป็นค่าเปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์สูงสุด เนื่องจากเมื่อเพิ่มความเร็วขึ้นไปเป็น 20 ซม./นาทิจ จะทำให้เปอร์เซ็นต์การแตกลดลงเหลือเพียง 14.95% ซึ่งแสดงว่าปัจจัยสำคัญในการแตกของเซลล์ด้วยการไหลของของเหลวภายในคอลัมน์ฟลูอิดไดซ์เบด ควรจะเป็นเวลาที่เซลล์อยู่ในชั้นเบด หากเวลาที่เซลล์อยู่ในชั้นเบดไม่เพียงพอ ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเซลล์กับลูกแก้วตามกลไกที่เสนอข้างต้นก็จะไม่มาก หรือรุนแรงจนทำให้เซลล์แตกได้ แต่ทั้งนี้เมื่อทำการเพิ่มความเร็วขึ้นอีกเป็น 40 ซม./นาทิจ กลับพบว่าเปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์กลับเพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อยเป็น 19.27% ดังนั้นแสดงว่าแรงเฉือนที่เพิ่มมาควรจะมีบทบาทที่จะส่งผลให้การแตกของเซลล์มีมากขึ้น แต่เวลาที่เซลล์อยู่ในชั้นเบดก็ยังเป็นสิ่งสำคัญที่มองข้ามไปไม่ได้ เพราะถึงแรงเฉือนจะเพิ่มขึ้นจากความเร็วที่เพิ่มขึ้นแต่ปริมาณการแตกของเซลล์ยังคงน้อยกว่าที่  $U_1$  เท่ากับ 10 ซม./นาทิจอยู่นั่นเอง

ในทำนองเดียวกัน ข้อมูลอัตราการแตกของเซลล์คลอเรลลา (รูปที่ 5-8) ปริมาตรของเซลล์ (รูปที่ 5-9) และปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (รูปที่ 5-10) ที่เปลี่ยนแปลงไปเทียบกับเวลานั้นมีแนวโน้มไปใน

ทิศทางเดียวกัน โดยที่จากการยืนยันโดยใช้ภาพถ่ายตัวอย่างของเซลล์ที่สังเกตด้วยกล้องจุลทรรศน์ (รูปที่ 5-11) จะเห็นว่าเซลล์มีการแตกในระดับหนึ่งภายใต้เงื่อนไขของการป้อนของเหลวเพียงอย่างเดียว





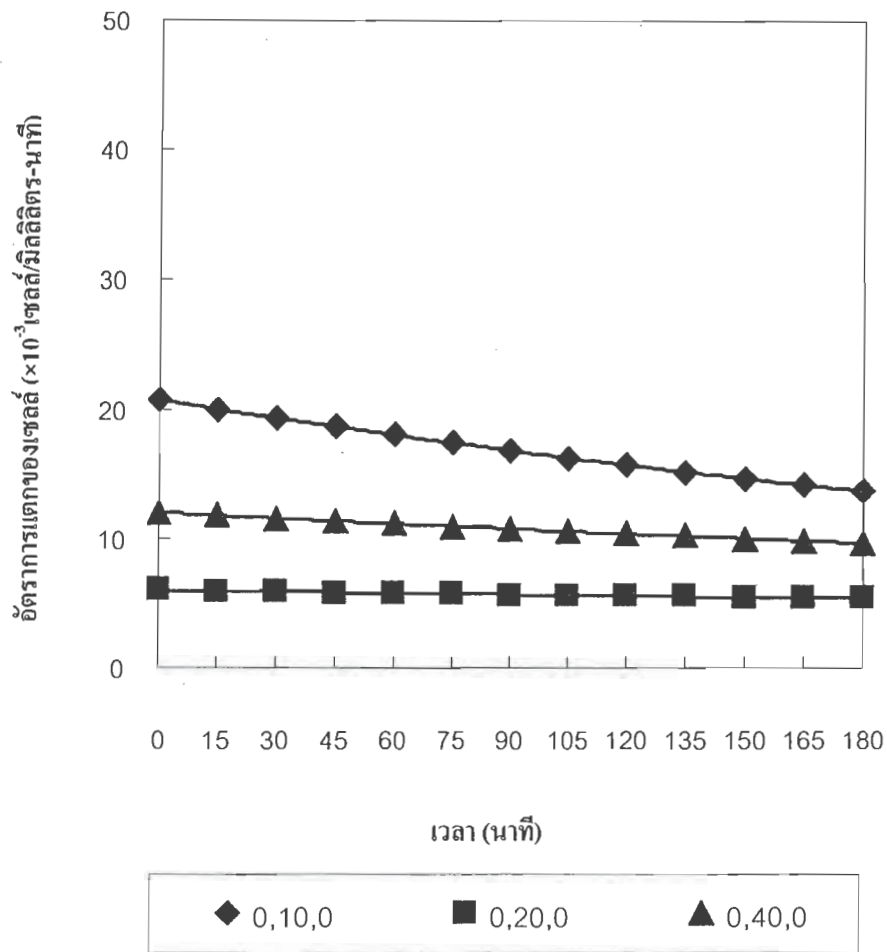
รูปที่ 5-7 เปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์คลอเรลลาเมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วของเหลว ( $U_1$ )

$$U_g = 0 \text{ ซม./นาที}$$

$$U_1 = 10, 20, 40 \text{ ซม./นาที}$$

$$N = 0 \text{ รอบ/นาที}$$

$$(U_g, U_1, N)$$



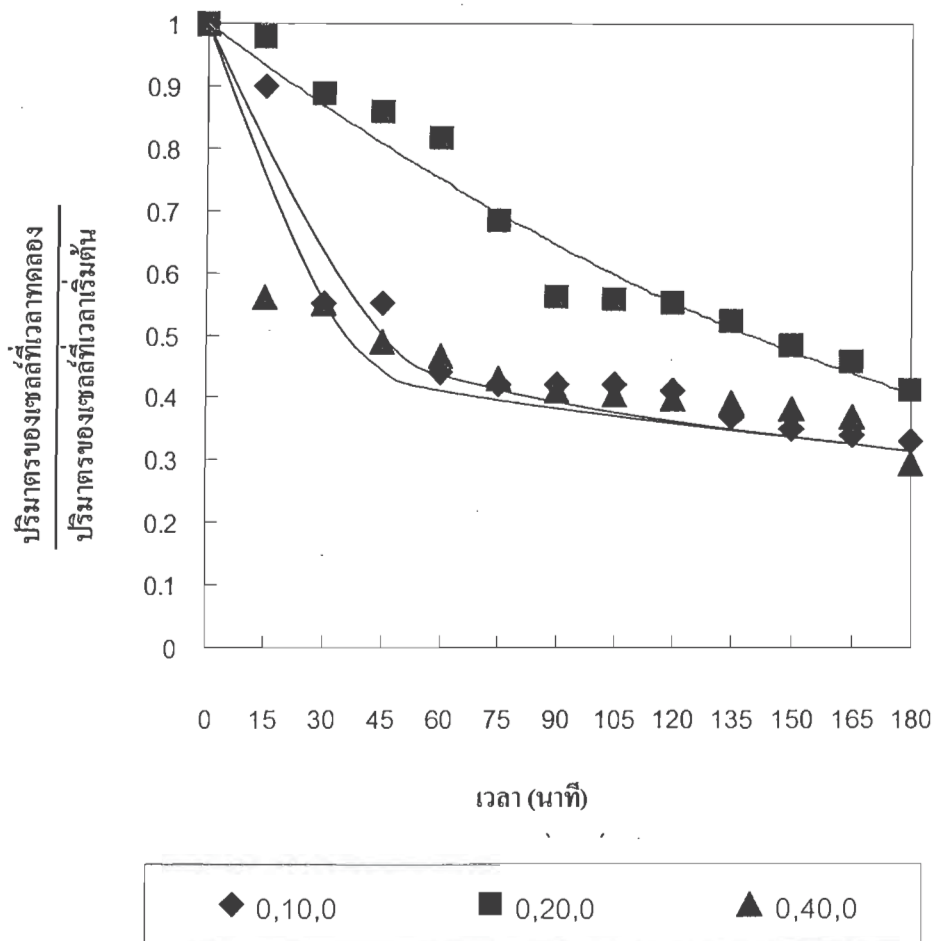
รูปที่ 5-8 อัตราการผลิตของเซลล์คลอเรลลาเมื่อปรับเปลี่ยนความเร็วของเหลว.

$$U_c = 0 \text{ ซม./นาที}$$

$$U_l = 10, 20, 40 \text{ ซม./นาที}$$

$$N = 0 \text{ รอบ/นาที}$$

$$(U_c, U_l, N)$$



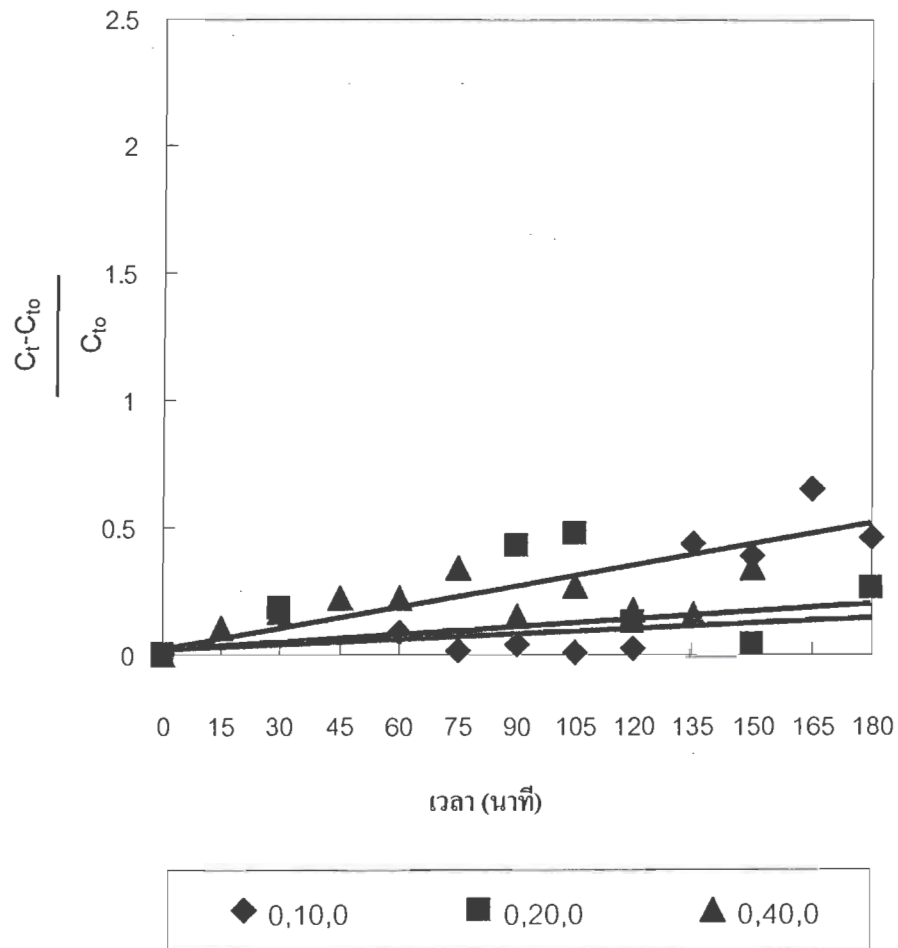
รูปที่ 5-9 อัตราส่วนระหว่างปริมาณเซลล์คลอเรลลาที่เวลาทำการทดลองต่อปริมาณคลอเรลลาที่เวลาเริ่มต้น เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วของเหลว

$$U_g = 0 \text{ ซม./นาที}$$

$$U_l = 10, 20, 40 \text{ ซม./นาที}$$

$$N = 0 \text{ รอบ/นาที}$$

$$(U_g, U_l, N)$$



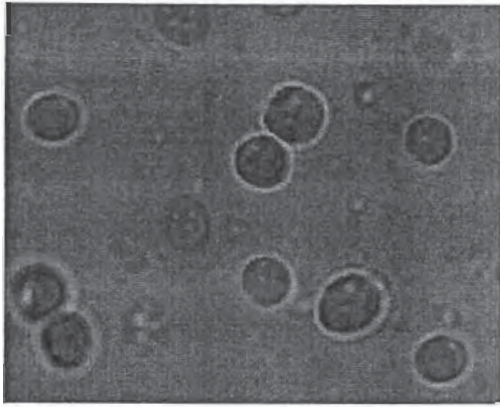
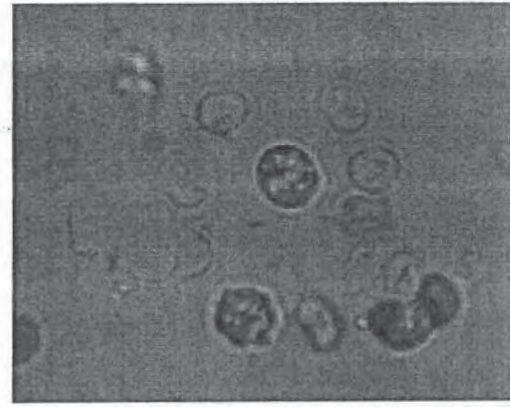
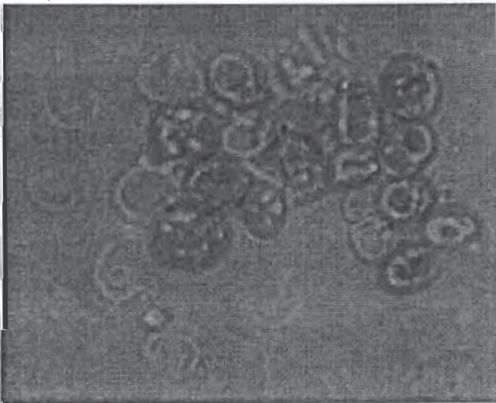
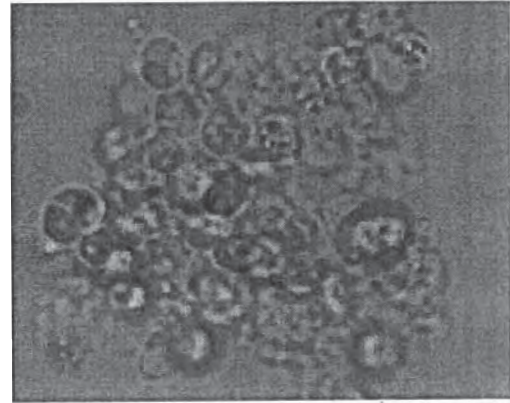
รูปที่ 5-10 อัตราส่วนระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของคลอโรเลลาที่เวลาทำการทดลองต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ที่เวลาเริ่มต้น เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วของเหลว

$$U_g = 0 \text{ ชม./นาที}$$

$$U_l = 10, 20, 40 \text{ ชม./นาที}$$

$$N = 0 \text{ รอบ/นาที}$$

$$(U_g, U_l, N)$$

(a)  $U_1 = 0$  ซม./นาที(b)  $U_1 = 10$  ซม./นาที(c)  $U_1 = 20$  ซม./นาที(d)  $U_1 = 40$  ซม./นาที

รูปที่ 5-11 ภาพถ่ายของเซลล์คลอเรลลา ( $\times 1000$ ) เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วของเหลว

$$U_g = 0 \text{ ซม./นาที}$$

$$U_1 = 10, 20, 40 \text{ ซม./นาที}$$

$$N = 0 \text{ รอบ/นาที}$$

$$(U_g, U_1, N)$$

### 5.1.3 อิทธิพลของความเร็รรอบใบกวน

ในส่วนนี้จะทำการศึกษาถึงผลของการปั่นกวนที่มีอิทธิพลต่อการแตกเซลล์ โดยจะดำเนินการในคอลัมน์ที่ประกอบด้วยลูกแก้ว และของเหลวที่มีเซลล์แขวนลอยปริมาณ 8 ลิตร เท่านั้น โดยไม่ทำการป้อนความเร็วอากาศและของเหลว จากนั้นทำการปรับเปลี่ยนความเร็รรอบของใบกวนเป็น 500, 1500, 2000 และ 3000 รอบ/นาที ตามลำดับ ดังนั้นในที่นี้ กลไกการแตกของเซลล์จะสันนิษฐานได้ว่าสามารถแบ่งเป็น 2 แบบ คือ การแตกของเซลล์ที่เกิดจากแรงเฉือนจากใบกวน และการแตกของเซลล์จากการบดของลูกแก้ว

รูปที่ 5-12 แสดงเปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์เมื่อปรับเปลี่ยนความเร็รรอบของใบกวน เป็นการวิเคราะห์ข้อมูลจากการนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่เมื่อเวลาในการทดลองผ่านไปด้วย segwich rafter countering cell ผ่านกล้องจุลทรรศน์ ซึ่งผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเมื่อปรับเปลี่ยนความเร็รรอบการปั่นกวนเปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์จะเปลี่ยนแปลงไป จากนั้นพิจารณาที่อัตราการแตกของเซลล์ในรูปที่ 5-13 อัตราส่วนระหว่างปริมาตรเฉลี่ยของเซลล์ที่เวลาใดๆ ต่อปริมาตรเฉลี่ยของเซลล์ที่เวลาเริ่มต้นในรูปที่ 5-14 ปริมาณคลอโรฟิลล์ที่ถูกปลดปล่อยออกมาในรูปที่ 5-15 และสุดท้ายเป็นการยืนยันการแตกของเซลล์ด้วยภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ซึ่งแสดงในรูปที่ 5-16

จากผลการทดลองในรูปที่ 5-12 พบว่าที่ความเร็รรอบการปั่นกวน 500 รอบ/นาที มีเปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์ 21.2 % และเมื่อเพิ่มความเร็รรอบการปั่นกวนเป็น 1500, 2000 และ 3000 รอบ/นาที มีเปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์ 21.7, 25.6 และ 38.5 ตามลำดับ จึงกล่าวได้ว่าเมื่อเพิ่มความเร็รรอบการปั่นกวน เปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน

จาก รูปที่ 5-13 พบว่าอัตราการแตกของเซลล์ที่ความเร็รรอบการปั่นกวน 500 รอบ/นาทีมีค่าต่ำที่สุด แล้วจึงมีค่าเพิ่มขึ้นตามลำดับเมื่อใช้ความเร็รรอบในการปั่นกวนเพิ่มขึ้นเป็น 1500, 2000 และ 3000 รอบ/นาที แสดงถึงประสิทธิภาพในการแตกเซลล์ที่สูงขึ้นเมื่อความเร็รรอบในการปั่นกวนเพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Currie et al, 1979 ; Chisti, 2001 และ Shamlou et al, 1994 ซึ่งชี้แจงว่ากลไกสำคัญที่ทำให้เซลล์แตก ในกรณีเช่นนี้ คือ แรงเฉือนที่เกิดขึ้นจากความเร็รรอบของใบกวน และการเคลื่อนที่ของลูกแก้วที่เกิดจากการไหลของของเหลว

เมื่อมีการปั่นกวนเข้ามาสู่ระบบจะมีการกระจายพลังงานสู่ของเหลวและเซลล์ ก่อให้เกิดความเร็วที่ไม่เท่ากันที่แต่ละจุดในระบบ (Shamlou et al.,1994) ในระบบ และเกิดความแตกต่างของความเร็วในแต่ละชั้นของของเหลว ส่งผลให้เกิดแรงเฉือนซึ่งเป็นสาเหตุให้เซลล์แตก

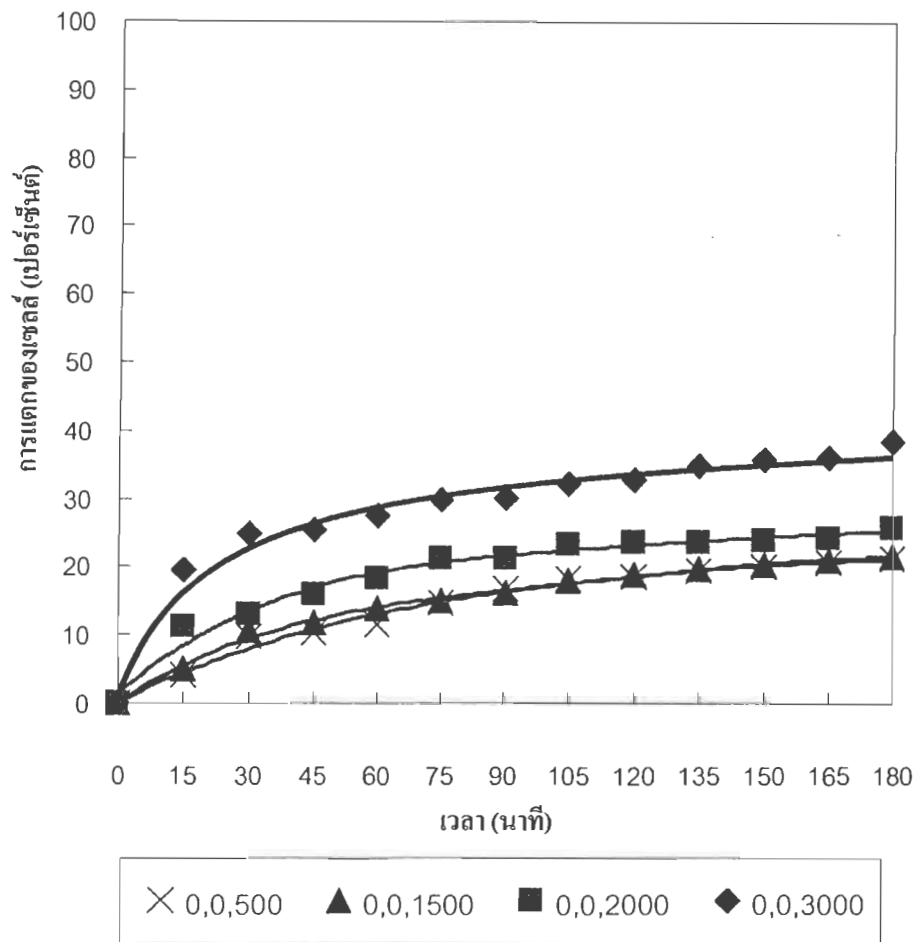
นอกจากการปั่นกวนจะทำให้เกิดการไหลของของเหลวแล้วยังก่อให้เกิดการเคลื่อนที่ของลูกแก้วภายในระบบ (Currie et al.,1979) ทำให้เกิดทั้งการบดกันระหว่างลูกแก้ว การปะทะกันระหว่างลูกแก้วและเซลล์ การปะทะกันระหว่างลูกแก้วและส่วนประกอบในถังปฏิกรณ์ ในส่วนของการบดกันระหว่างลูกแก้ว เมื่อเซลล์เข้าไปอยู่ระหว่างลูกแก้วจะถูกบดและการปะทะกันระหว่างลูกแก้วและเซลล์

ซึ่งต่างเป็นสาเหตุในการทำให้เซลล์แตก นอกจากนี้ Chisti ,2001 กล่าวว่า การชนกันระหว่างเซลล์และ ส่วนต่างๆ ในถังปฏิกรณ์เป็นส่วนหนึ่งในการทำให้เซลล์แตก เนื่องจากความรุนแรงของการชนในกรณีที่มีการปั่นกวนในระบบจะมากกว่ากรณีที่ไม่มีการปั่นกวนในระบบ นอกจากนี้โอกาสที่เซลล์จะปะทะกับลูกแก้วเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน การแตกของเซลล์จึงเพิ่มมากขึ้นเมื่อเพิ่มความเร็วรอบของการปั่นกวน

การแตกของเซลล์ที่เกิดขึ้นนี้สามารถยืนยันได้ด้วย อัตราส่วนระหว่างปริมาตรเฉลี่ยของเซลล์ที่เวลาใดๆ ต่อปริมาตรเฉลี่ยของเซลล์ที่เวลาเริ่มต้น ดังแสดงใน รูปที่ 5-14 พบว่าเมื่อเวลาในการทดลองเพิ่มขึ้น ปริมาตรเฉลี่ยของเซลล์ของเซลล์จะลดลงตามไปด้วย แสดงให้เห็นว่าเมื่อเวลาผ่านไปเซลล์ที่มีขนาดใหญ่จะถูกทำลายเหลือเพียงเซลล์ที่มีขนาดเล็กอยู่ในระบบ

นอกจากนี้ใน รูปที่ 5-15 ที่แสดงอัตราส่วนระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์ที่เพิ่มขึ้นเมื่อเวลาใดๆ ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ที่เวลาเริ่มต้นเมื่อมีเพียงการปั่นกวนในระบบ ยังแสดงให้เห็นว่าเมื่อเวลาที่ใช้ในการทดลองเพิ่มมากขึ้นจะมีปริมาณคลอโรฟิลล์ที่ถูกปลดปล่อยจากเซลล์ที่ถูกทำลายเพิ่มขึ้น เป็นการยืนยันถึงการถูกทำลายของเซลล์ภายในระบบ

จากรูปที่ 5-16 แสดงรูปถ่ายของเซลล์ที่เก็บตัวอย่างจากของเหลวที่อยู่ในคอลัมน์ ณ. เวลาที่ 180 นาทีโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ จากรูป (a) ซึ่งเป็นผลการทดลองที่ไม่มีแรงเฉือนจากใบกวนในระบบ พบว่าไม่พบเซลล์ที่มีลักษณะใสซึ่งเป็นลักษณะของเซลล์ที่ตายแล้ว แต่เมื่อให้ความเร็วรอบการปั่นกวนสู่ระบบจะเริ่มสังเกตเห็นเซลล์ที่ตายแล้วดังแสดงในรูป (b), (c) และ (d) แสดงให้เห็นว่าเมื่อให้ความเร็วรอบการกวนเข้าสู่ระบบเซลล์จะถูกบดและได้รับแรงเฉือนจนแตกจริง



รูปที่ 5-12 เปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์คลอเรลลาเมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วรอบใบกวน (N)

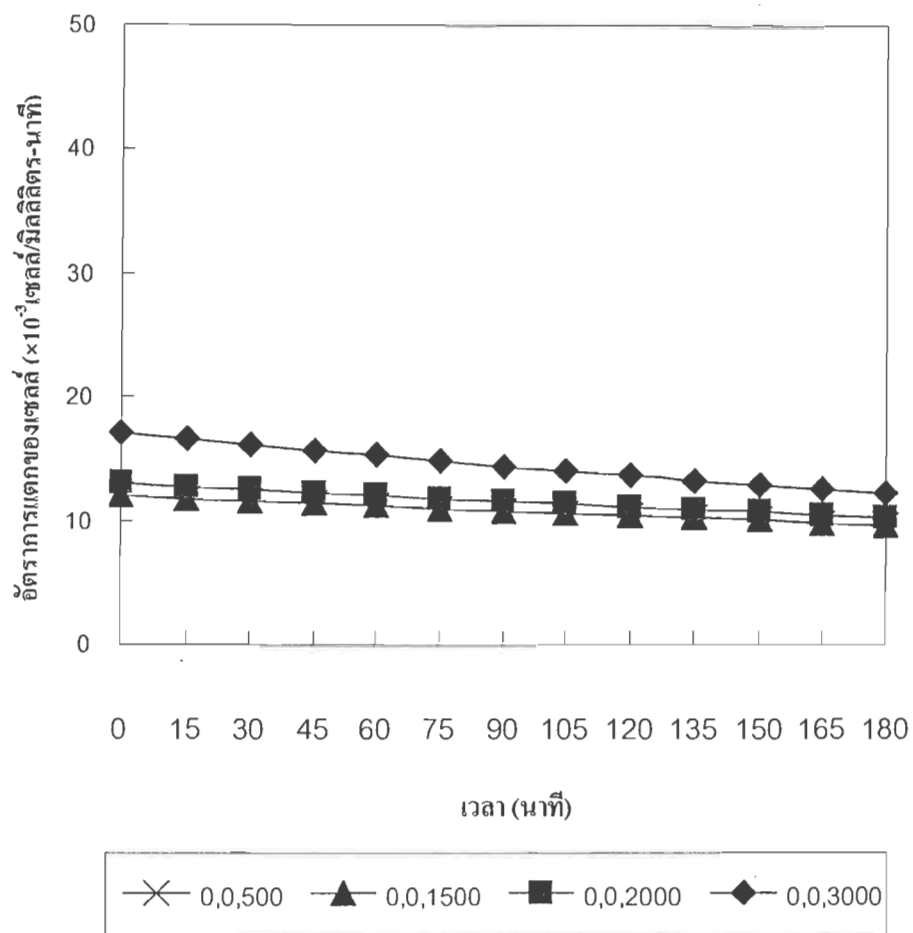
$$U_g = 0 \text{ ชม./นาที}$$

$$U_l = 0 \text{ ชม./นาที}$$

$$N = 500, 1500, 2000 \text{ และ } 3000 \text{ รอบ/นาที}$$

$$(U_g, U_l, N)$$





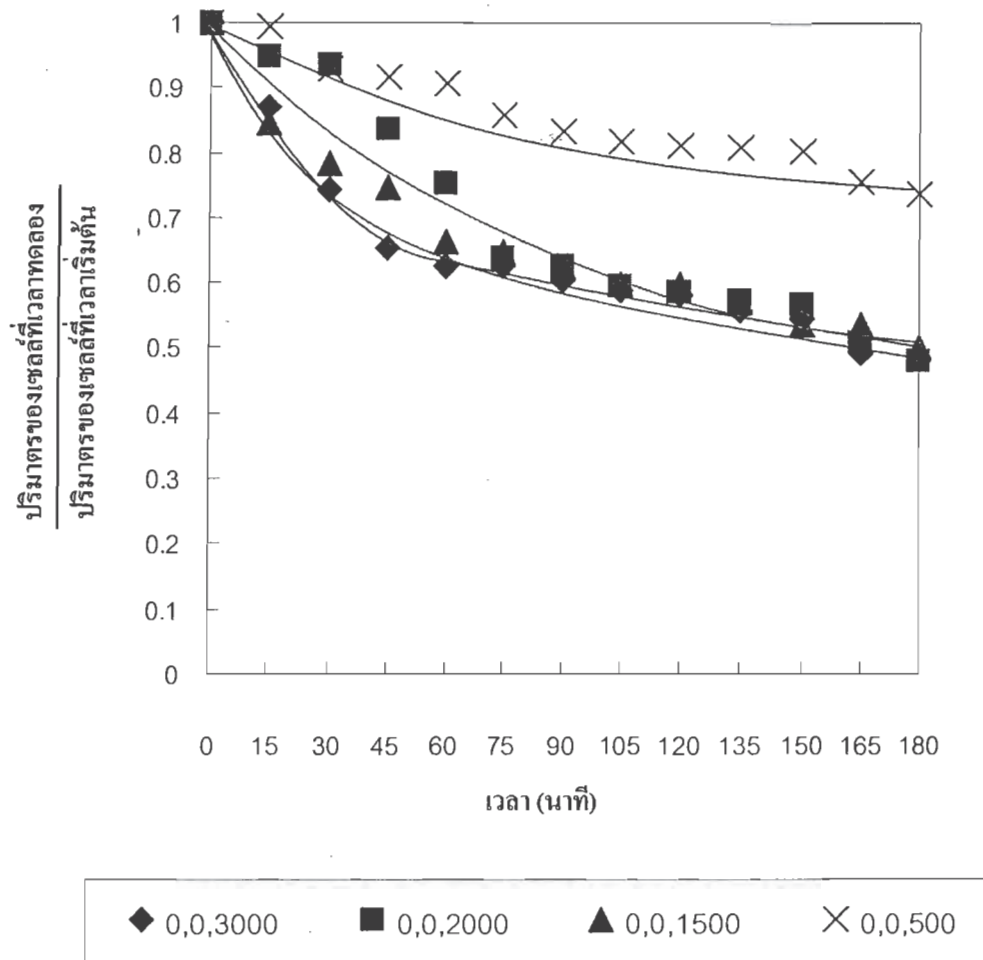
รูปที่ 5-13 อัตราการแตกของเซลล์คลอเรลลาเมื่อปรับเปลี่ยนความเร็วรอบใบกวน

$$U_g = 0 \text{ ชม./นาที}$$

$$U_l = 0 \text{ ชม./นาที}$$

$$N = 500, 1500, 2000 \text{ และ } 3000 \text{ รอบ/นาที}$$

$$(U_g, U_l, N)$$



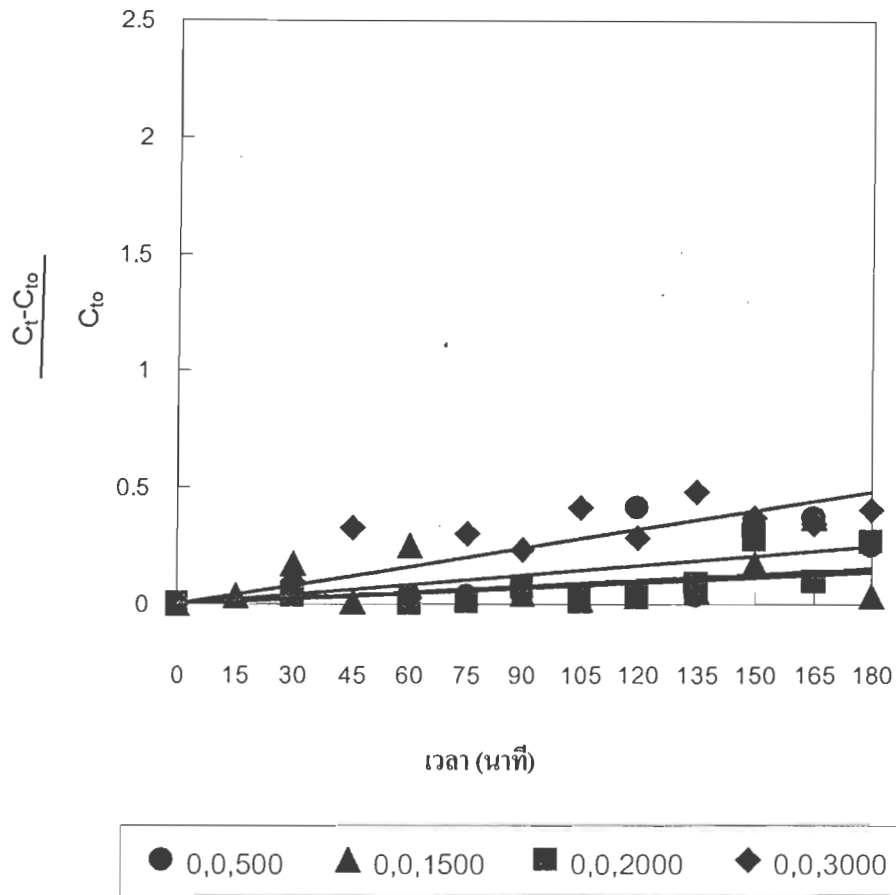
รูปที่ 5.14 อัตราส่วนระหว่างปริมาณเซลล์คลอเรลลาที่เวลาทำการทดลองต่อปริมาณคลอเรลลาที่เวลาเริ่มต้น เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วรอบใบกวน

$$U_g = 0 \text{ ซม./นาที}$$

$$U_l = 0 \text{ ซม./นาที}$$

$$N = 500, 1500, 2000 \text{ และ } 3000 \text{ รอบ/นาที}$$

$$(U_g, U_l, N)$$



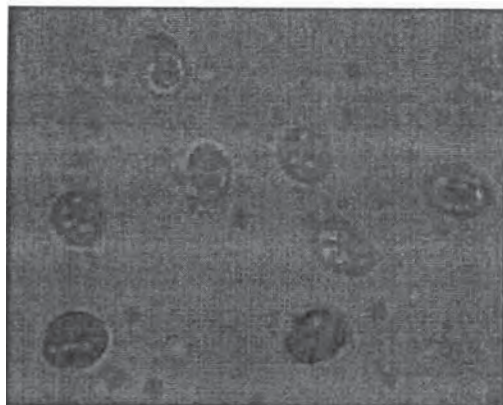
รูปที่ 5-15 อัตราส่วนระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของคลอโรเลลาที่เวลาทำการทดลองต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ที่เวลาเริ่มต้น เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วรอบใบกวน

$$U_g = 0 \text{ ชม./นาที}$$

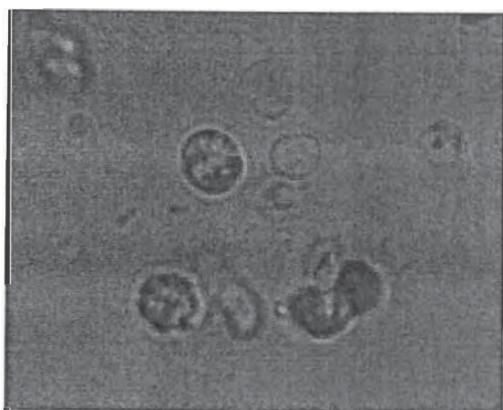
$$U_l = 0 \text{ ชม./นาที}$$

$$N = 500, 1500, 2000 \text{ และ } 3000 \text{ รอบ/นาที}$$

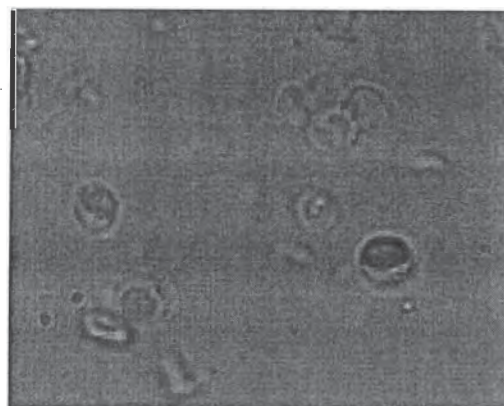
$$(U_g, U_l, N)$$



(a) 0 รอบ/นาที



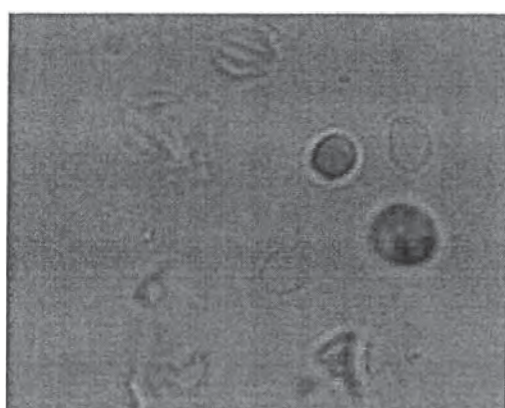
(b) 500 รอบ/นาที



(c) 1500 รอบ/นาที



(d) 2000 รอบ/นาที



(e) 3000 รอบ/นาที

รูปที่ 5-16 ภาพถ่ายของเซลล์คลอเรลลา ( $\times 1000$ ) เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วรอบใบกวน

$$U_k = 0 \text{ ซม./นาที}$$

$$U_g = 0 \text{ ซม./นาที}$$

$$N = 500, 1500, 2000 \text{ และ } 3000 \text{ รอบ/นาที}$$

#### 5.1.4 การแตกของคลอเรลลาภายใต้อิทธิพลของปัจจัยทั้งหมด

ในที่นี้จะเริ่มทำการศึกษาโดยพิจารณาถึงอิทธิพลของความเร็วของอากาศที่มีต่อการแตกเซลล์ในระบบฟลูอิดไดซ์เบดสามวัฏภาคก่อน โดยให้ความเร็วของเหลวคงที่ที่ 10 ซม./นาที่ และความเร็วรอบการปั่นกววนคงที่ที่ 3000 รอบ/นาที่ จากนั้นปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศเป็น 0, 10, 20 และ 40 ซม./นาที่ ตามลำดับ

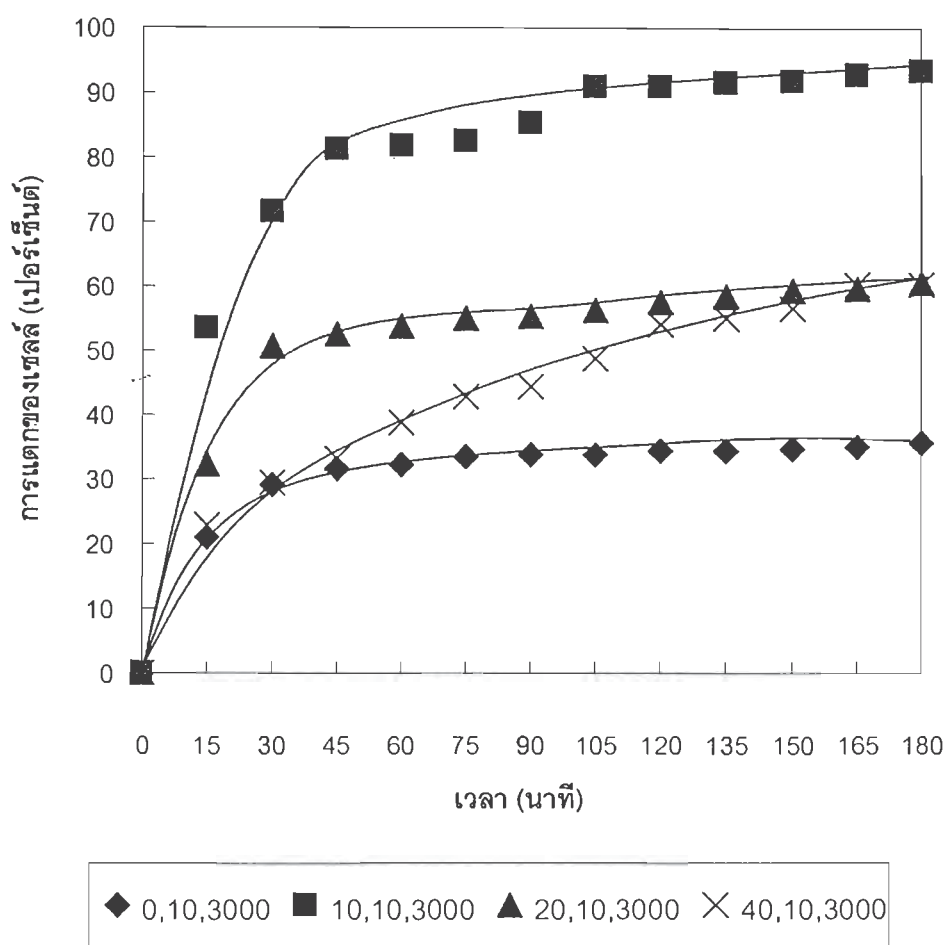
พิจารณาจาก รูปที่ 5-17 ซึ่งแสดงเปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์เมื่อปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ โดยกำหนดให้ความเร็วอากาศและความเร็วรอบการปั่นกววนคงที่ พบว่าหากไม่มีการป้อนอากาศเข้าสู่ระบบ เปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์ที่ได้จะมีเพียง 35.6% แต่เมื่อมีความเร็วอากาศเป็น 10, 20 และ 40 ซม./นาที่ จะได้เปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์เท่ากับ 93.6, 60.1 และ 60.4%ตามลำดับ

จากผลการทดลองพบว่า การเพิ่มความเร็วก๊าซที่ถูกป้อนเข้าสู่ระบบในขณะที่ความเร็วของเหลว และความเร็วรอบของใบกววนคงที่เป็นการเพิ่มปริมาณการแตกของเซลล์ เมื่อพิจารณาที่ความเร็วอากาศที่ 10 ซม./นาที่ พบว่าเมื่อมีทั้ง 3 ปัจจัยพร้อมกันจะเป็นการเสริมให้การชนกันระหว่างลูกแก้วเพิ่มมากที่สุด ทำให้เซลล์ที่อยู่ระหว่างลูกแก้วมีโอกาสถูกบดเพิ่มมากขึ้น เปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์จึงสูงที่สุด แต่เมื่อเพิ่มความเร็วก๊าซจะทำให้เกิดการขยายตัวของชั้นเบดเพิ่มมากขึ้น โอกาสของเซลล์ที่จะถูกบดด้วยลูกแก้วจึงลดลงทำให้เปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์ลดลง ข้อสันนิษฐานดังกล่าวสามารถยืนยันได้ด้วยผลการทดลองในรูปที่ 5-18 ซึ่งแสดงอัตราการแตกของเซลล์เมื่อปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศโดยให้ความเร็วของเหลวและความเร็วรอบการปั่นกววนคงที่ ภายใต้เงื่อนไขความเร็วอากาศเท่ากับ 10 ซม./นาที่ มีอัตราการแตกของเซลล์มากกว่าที่ความเร็วอากาศอื่น

ลำดับต่อไปเมื่อพิจารณาขนาดของเซลล์เพื่อยืนยันปริมาณในการแตกเซลล์ รูปที่ 5-19 แสดงอัตราส่วนระหว่างปริมาตรเฉลี่ยของเซลล์ที่เวลาใดๆ เทียบกับปริมาตรเฉลี่ยของเซลล์ที่เวลาเริ่มต้น เมื่อเวลาในการทดลองเพิ่มขึ้นเซลล์ขนาดใหญ่จะถูกทำลายเหลือเพียงเซลล์ที่มีขนาดเล็กอยู่ในระบบ ปริมาตรเฉลี่ยของเซลล์ของเซลล์จึงลดลงไปตามเวลาทดลองที่เพิ่มขึ้น พบว่าภายใต้เงื่อนไขความเร็วอากาศเท่ากับ 10 ซม./นาที่ ความเร็วของเหลวเท่ากับ 10 ซม./นาที่ และความเร็วรอบเท่ากับ 3000 รอบต่อนาที มีอัตราส่วนดังกล่าวต่ำที่สุด

สำหรับรูปที่ 5-20 แสดงอัตราส่วนระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์ที่เพิ่มขึ้นที่เวลาใดๆ ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ที่เวลาเริ่มต้นเมื่อมีปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศภายในระบบ สนับสนุนผลการทดลองข้างต้น โดยเมื่อเวลาที่ใช้ในการทดลองเพิ่มมากขึ้นปริมาณคลอโรฟิลล์ที่ถูกปลดปล่อยจากเซลล์ที่ถูกทำลายมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน พบว่าภายใต้เงื่อนไขความเร็วอากาศเท่ากับ 10 ซม./นาที่ ความเร็วของเหลวเท่ากับ 10 ซม./นาที่ และความเร็วรอบเท่ากับ 3000 รอบต่อนาที จะมีปริมาณคลอโรฟิลล์ที่ถูกปลดปล่อยสูงที่สุด ดังนั้นจึงเป็นการยืนยันถึงปริมาณของการแตกเซลล์ที่สอดคล้องกับผลการวัดขนาดเฉลี่ยของเซลล์ก่อนหน้านี้นี้

จากนั้นพิจารณาที่อัตราการแตกของเซลล์ในรูปที่ 5-18 และอัตราส่วนระหว่างปริมาณเฉลี่ยของเซลล์ที่เวลาใดๆ ต่อปริมาณเฉลี่ยของเซลล์ที่เวลาเริ่มต้นในรูปที่ 5-19 และปริมาณคลอโรฟิลล์ที่ปลดปล่อยออกในรูปที่ 5-20 และทำการพิจารณารูปที่ 5-21 ซึ่งเป็นภาพถ่ายของเซลล์คลอเรลลาที่เวลา 180 นาที จะพบว่าสามารถยืนยันผลการทดลองได้ว่า ภายใต้สภาวะต่างๆ ที่ใช้ในการทดลองที่กล่าวมา ชุดเครื่องมือทดลองนี้สามารถทำให้เซลล์แตกได้จริง



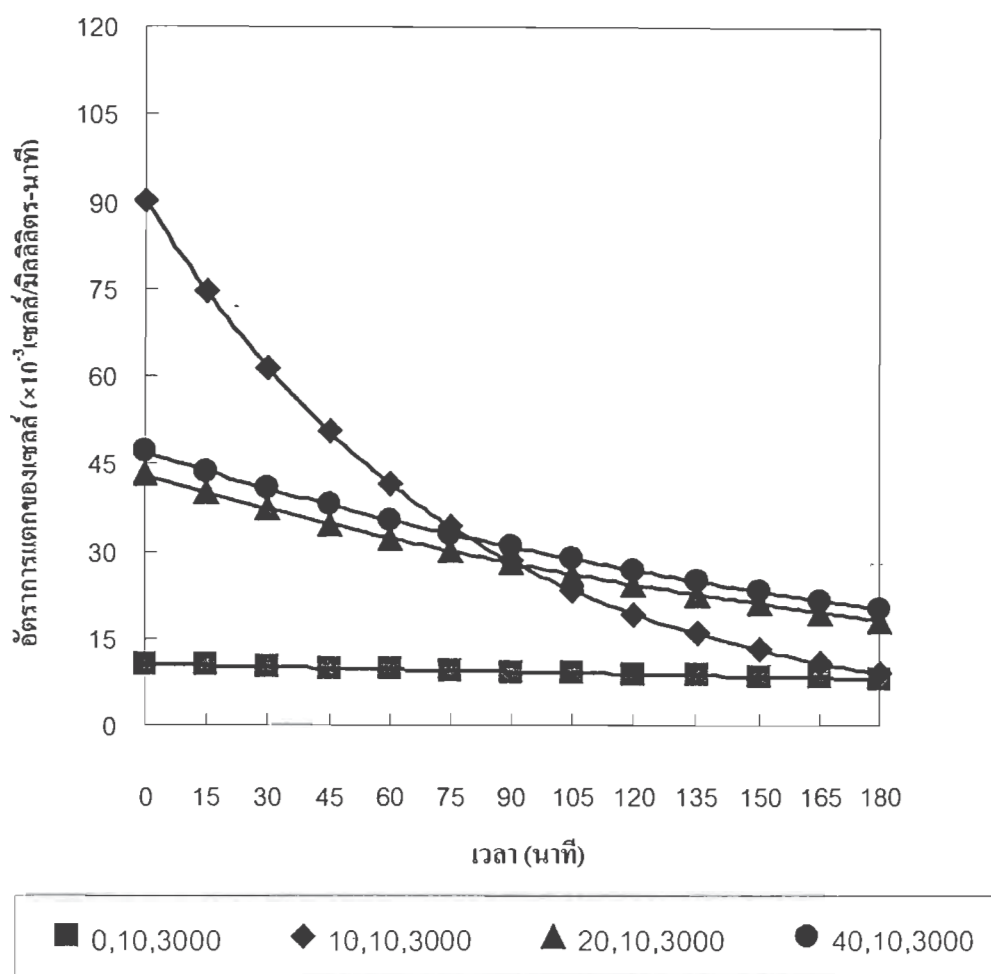
รูปที่ 5-17 เปอร์เซนต์การแตกของเซลล์คลอเรลลาเมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ โดยกำหนดให้ความเร็วของเหลวและความเร็วรอบใบกวนคงที่

$$U_g = 0, 10, 20, 40 \text{ ซม./นาที}$$

$$U_l = 10 \text{ ซม./นาที}$$

$$N = 3000 \text{ รอบ/นาที}$$

$$(U_g, U_l, N)$$



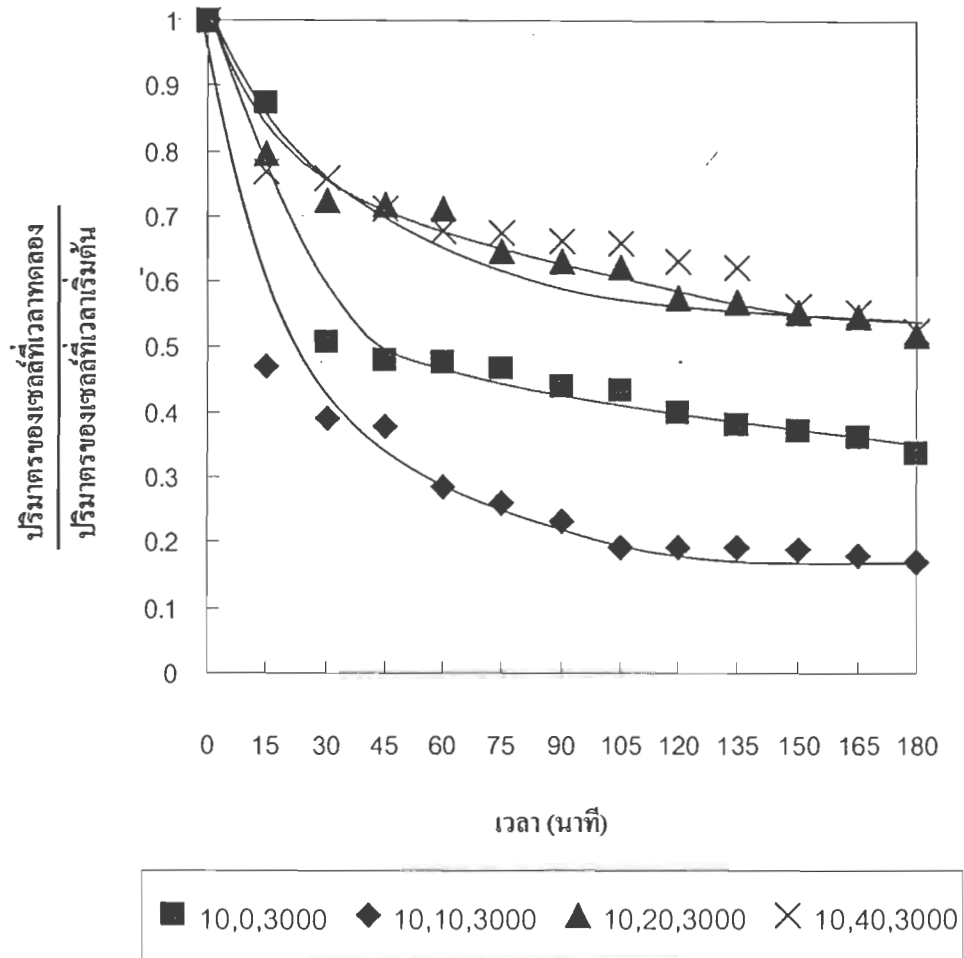
รูปที่ 5-18 อัตราการแตกของเซลล์คลอเรลลาเมื่อปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศโดยกำหนดให้ความเร็วของเหลวและความเร็วรอบการปั่นกวนคงที่

$$U_g = 0, 10, 20, 40 \text{ ชม./นาที}$$

$$U_l = 10 \text{ ชม./นาที}$$

$$N = 3000 \text{ รอบ/นาที}$$

$$(U_g, U_l, N)$$



รูปที่ 5-19 อัตราส่วนระหว่างปริมาณเซลล์คลอเรลลาที่เวลาทำการทดลองต่อปริมาณคลอเรลลาที่เวลาเริ่มต้น เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ โดยกำหนดให้ความเร็วของเหลวและความเร็วรอบใบกวนคงที่

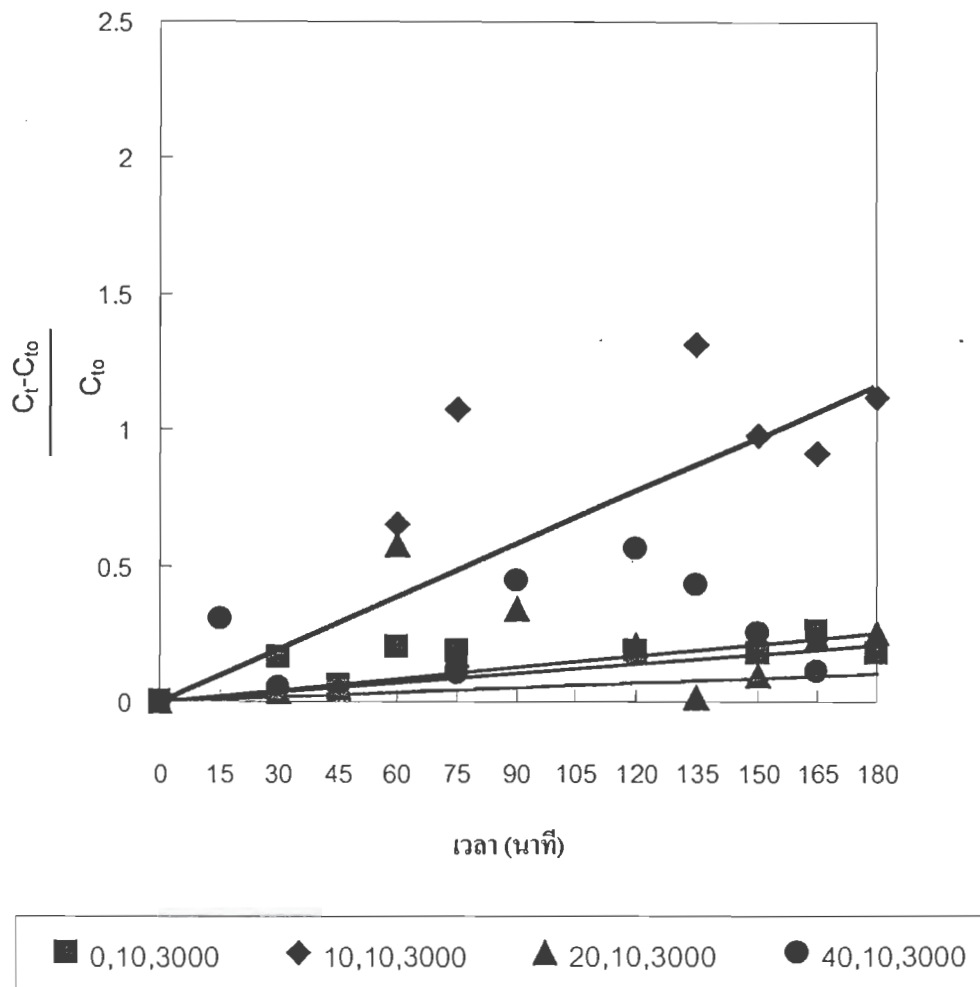
$$U_g = 0, 10, 20, 40 \text{ ซม./นาที}$$

$$U_l = 10 \text{ ซม./นาที}$$

$$N = 3000 \text{ รอบ/นาที}$$

$$(U_g, U_l, N)$$





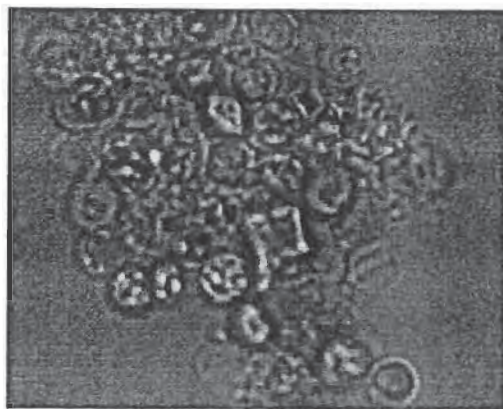
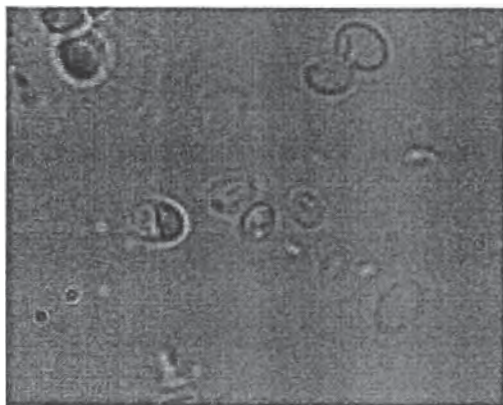
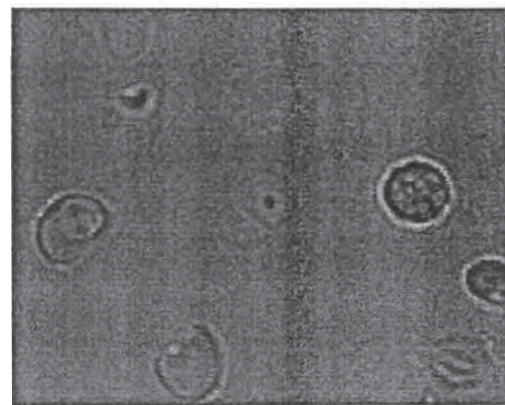
รูปที่ 5-20 อัตราส่วนระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของคลอโรเลลาที่เวลาทำการทดลองต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ที่เวลาเริ่มต้น เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ โดยกำหนดให้ความเร็วของเหลวและความเร็วรอบการปั่นกวนคงที่

$$U_g = 0, 10, 20, 40 \text{ ซม./นาที}$$

$$U_l = 10 \text{ ซม./นาที}$$

$$N = 3000 \text{ รอบ/นาที}$$

$$(U_g, U_l, N)$$

(a)  $U_g = 0$  ซม./นาทึ(b)  $U_g = 10$  ซม./นาทึ(c)  $U_g = 20$  ซม./นาทึ(d)  $U_g = 40$  ซม./นาทึ

รูปที่ 5-21 ภาพถ่ายของเซลล์กลอเรตา ( $\times 1000$ ) เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ โดยกำหนดให้ความเร็วของเหลวและความเร็วรอบใบกวนมีค่าคงที่

$$U_g = 0, 10, 20, 40 \text{ ซม./นาทึ}$$

$$U_l = 10 \text{ ซม./นาทึ}$$

$$N = 3000 \text{ รอบ/นาทึ}$$

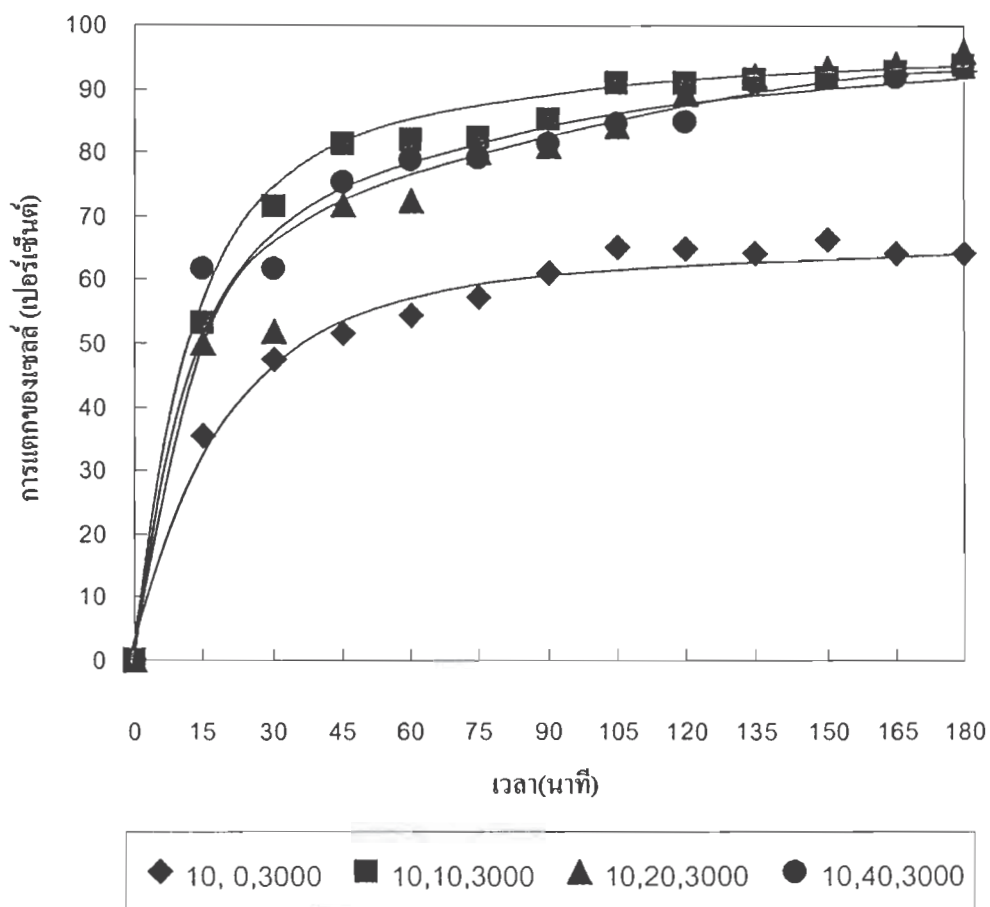
$$(U_g, U_l, N)$$

ในส่วนนี้จะทำการศึกษาถึงผลของความเร็วยของเหลวที่มีอิทธิพลต่อการแตกเซลล์ในระบบของฟลูอิดไดซ์เบดสามวัฏภาคที่ศึกษาอยู่นี้ ได้ดำเนินการในลักษณะเดียวกัน กล่าวคือปรับเปลี่ยนความเร็วของเหลวเป็น 0, 10, 20 และ 40 ซม./นาที่ ตามลำดับ โดยตรงให้ความเร็วอากาศคงที่ที่ 10 ซม./นาที่และความเร็วรอบการปั่นกววนเท่ากับ 3000 รอบ/นาที่

จากผลการทดลองที่ได้เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์ดังแสดงใน รูปที่ 5-22 พบว่าเมื่อปรับเปลี่ยนความเร็วของเหลวโดยกำหนดให้ความเร็วอากาศ และความเร็วรอบการปั่นกววนคงที่ หากไม่ป้อนความเร็วของเหลวเข้าสู่ระบบเลย จะมีเปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์เพียง 64.2% แต่เมื่อป้อนความเร็วของเหลว 10, 20 และ 40 ซม./นาที่ จะได้เปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์เท่ากับ 93.6, 95.7 และ 93.3% ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าเมื่อมีความเร็วของเหลวเข้าสู่ระบบจะมีเปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์เพิ่มขึ้น

ในทำนองเดียวกันกับผลการทดลองจากการปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ เมื่อให้ความเร็วของเหลวเข้าสู่ระบบโดยความเร็วอากาศและความเร็วรอบการปั่นกววนคงที่ พบว่าการที่มีทั้ง 3 ปัจจัยอยู่ด้วยกันจะทำให้โอกาสในการบดกันระหว่างลูกแก้ว และการชนกันระหว่างลูกแก้วกับเซลล์สูงมีมากที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากลูกแก้วในชั้นเบดมีการเคลื่อนที่มากขึ้น โดยที่ชั้นเบดไม่ขยายตัว โดยในกรณีนี้ถึงแม้จะเพิ่มความเร็วของเหลวขึ้นอีก จาก 10 ซม./นาที่ เป็น 20 and 40 ซม./นาที่ จะไม่ทำให้เปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์ลดลง ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อความเร็วของเหลวสูงขึ้นเวลาที่ของเหลวใช้ภายในระบบที่แต่ละรอบที่ของเหลวเกิดการหมุนวน (circulating time) จะลดลง ส่งผลให้จำนวนรอบที่เซลล์เข้าสู่ระบบเพิ่มขึ้น ทำให้ความถี่ที่เซลล์จะปะทะกับลูกแก้วเพิ่มขึ้น การแตกของเซลล์จึงมีปริมาณมากเท่าเดิม ถึงแม้จะเพิ่มความเร็วของเหลว

จากนั้นพิจารณาที่อัตราการแตกของเซลล์ที่ รูปที่ 5-23 อัตราส่วนระหว่างปริมาตรเฉลี่ยของเซลล์ที่เวลาใดๆ ต่อปริมาตรเฉลี่ยของเซลล์ที่เวลาเริ่มต้นใน รูปที่ 5-24 และปริมาณคลอโรฟิลล์ที่ปลดปล่อยออกมาจาก รูปที่ 5-25 ผลที่ได้ต่างสนับสนุนผลที่ได้จากเปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์ และในทำนองเดียวกันกับการศึกษาก่อนหน้า พบว่าสามารถยืนยันการแตกของเซลล์ด้วยภาพถ่ายกล้องจุลทรรศน์ดังแสดงในรูปที่ 5-26



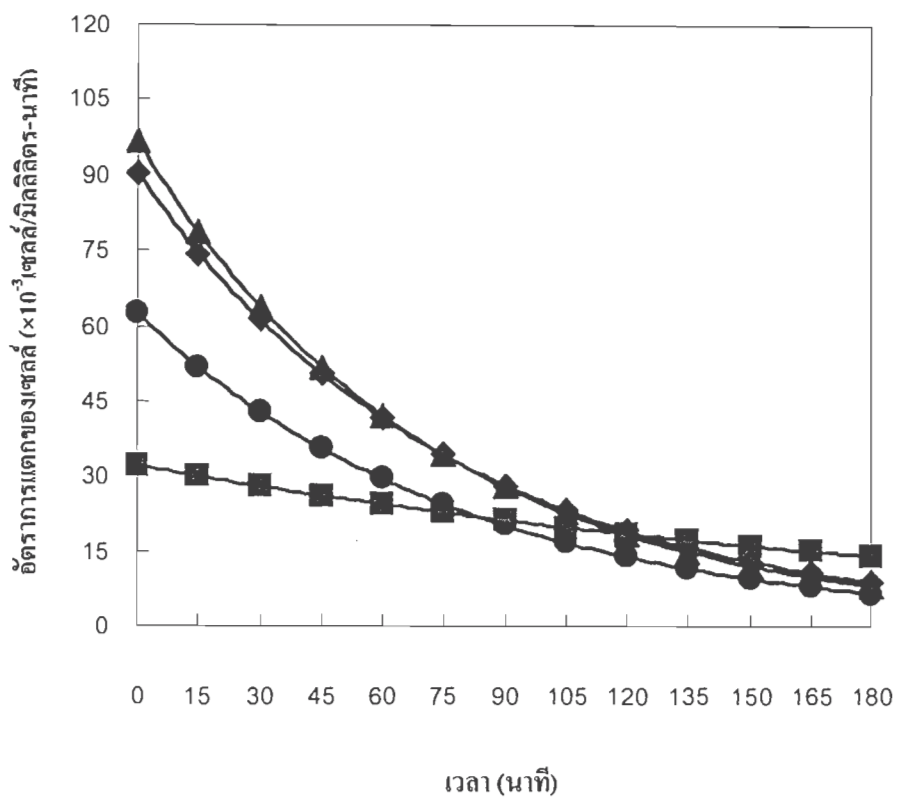
รูปที่ 5-22 เปอร์เซ็นต์การแตกของเซสล์คลอเรลลา เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วของเหลว โดยให้ความเร็วของอากาศและความเร็วรอบใบกวนคงที่

$$U_p = 0, 10, 20, 40 \text{ ซม./นาที}$$

$$U_g = 10 \text{ ซม./นาที}$$

$$N = 3000 \text{ รอบ/นาที}$$

$$(U_g, U_p, N)$$



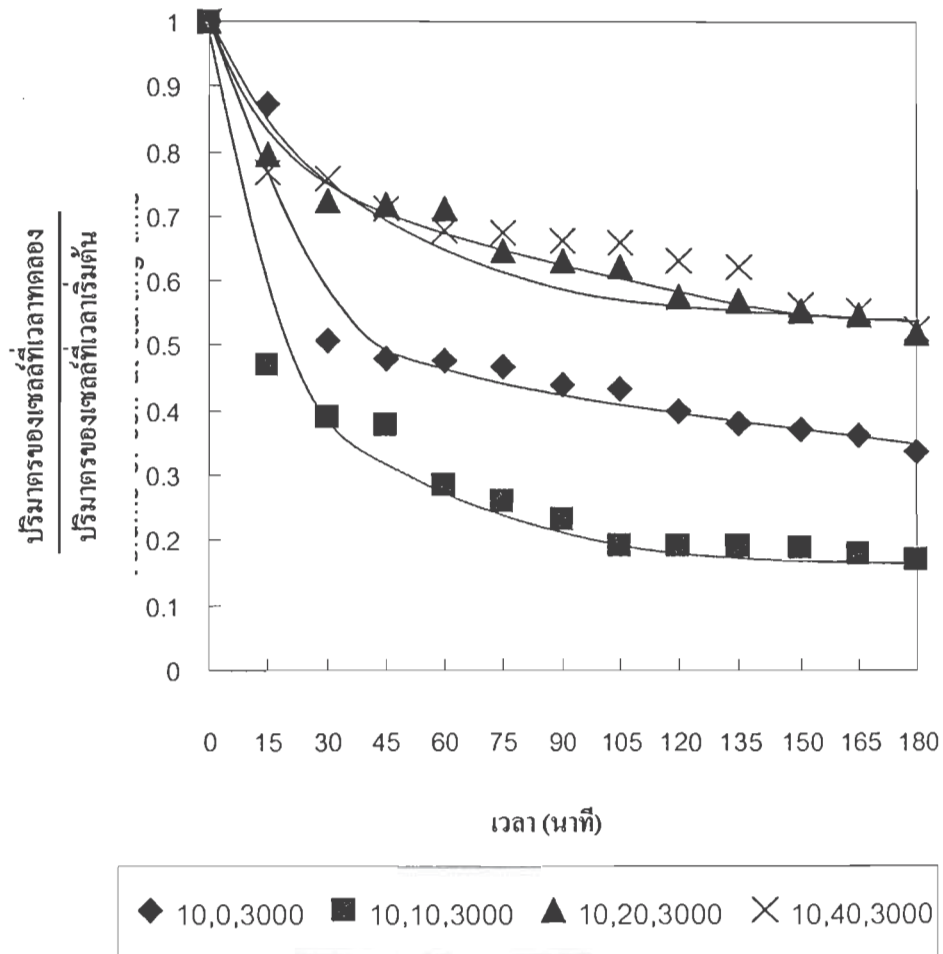
รูปที่ 5-23 อัตราการแตกของเซลล์คลอเรลลา เมื่อปรับเปลี่ยนความเร็วของเหลวโดยให้ความเร็วอากาศและความเร็วรอบการปั่นกวนคงที่

$$U_g = 10 \text{ ซม./นาที}$$

$$U_l = 0, 10, 20 \text{ and } 40 \text{ ซม./นาที}$$

$$N = 3000 \text{ รอบ/นาที}$$

$$(U_g, U_l, N)$$



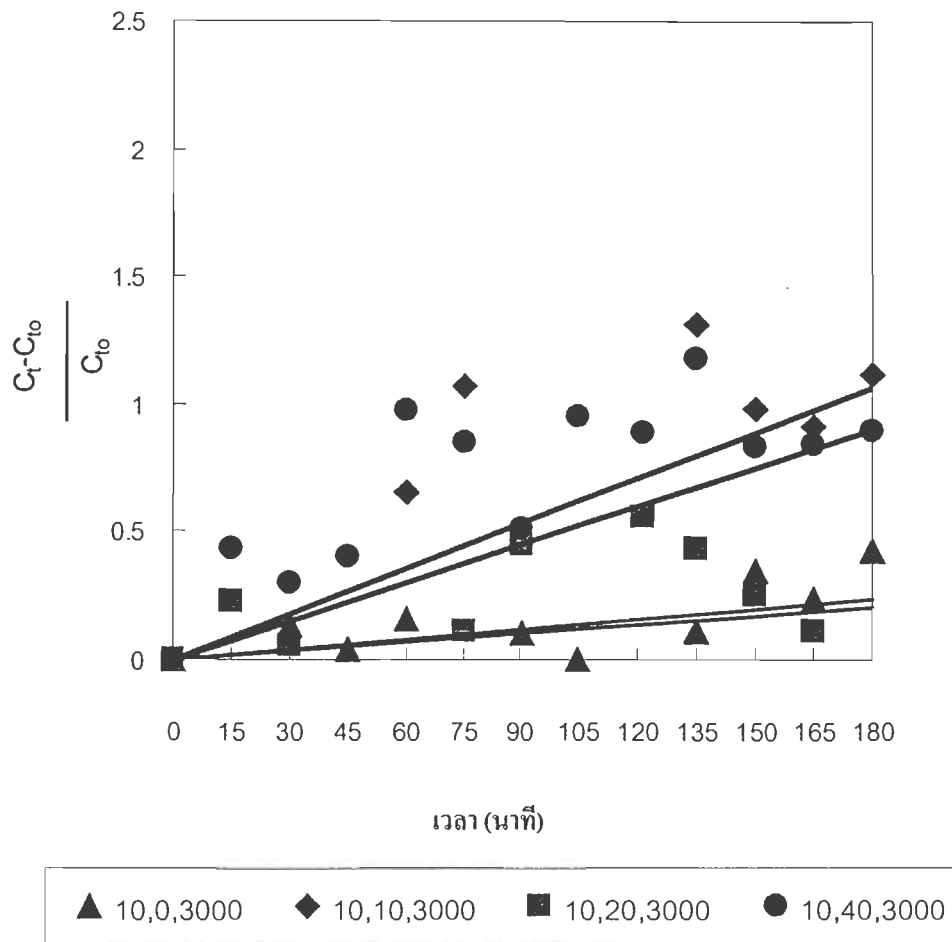
รูปที่ 5-24 อัตราส่วนระหว่างปริมาณเซลล์คลอโรเลลาที่เวลาทำการทดลองต่อปริมาณคลอโรเลลอกัมที่เวลาเริ่มต้น เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วของเหลว โดยให้ความเร็วอากาศและความเร็วรอบใบกวนคงที่

$$U_g = 10 \text{ ซม./นาที}$$

$$U_l = 0, 10, 20 \text{ และ } 40 \text{ ซม./นาที}$$

$$N = 3000 \text{ รอบ/นาที}$$

$$(U_g, U_l, N)$$



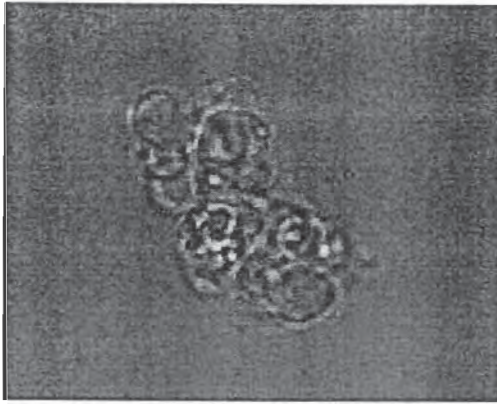
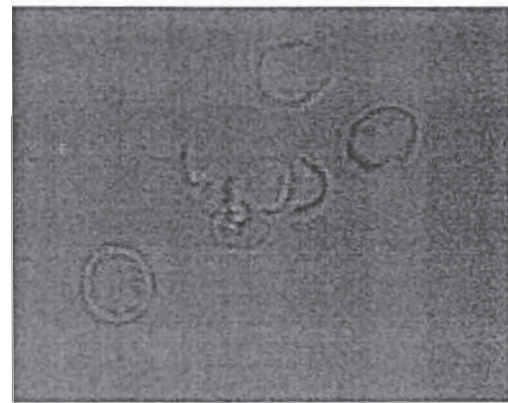
รูปที่ 5-25 อัตราส่วนระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของคลอโรเลลาที่เวลาทำการทดลองต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ที่เวลาเริ่มต้น เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วของเหลว โดยให้ความเร็วอากาศและความเร็วรอบใบกวนคงที่

$$U_g = 10 \text{ ชม./นาท}$$

$$U_l = 0, 10, 20 \text{ และ } 40 \text{ ชม./นาท}$$

$$N = 3000 \text{ รอบ/นาท}$$

$$(U_g, U_l, N)$$

(a)  $U_1 = 0$  ซม./นาทึ(b)  $U_1 = 10$  ซม./นาทึ(c)  $U_1 = 20$  ซม./นาทึ(d)  $U_1 = 40$  ซม./นาทึ

รูปที่ 5-26 ภาพถ่ายของเซลล์คลอเรลลา ( $\times 1000$ ) เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วของเหลว โดยให้  
ความเร็วอากาศและความเร็วรอบใบกวนมีค่าคงที่

$$U_g = 0, 10, 20, 40 \text{ ซม./นาทึ}$$

$$U_l = 10 \text{ ซม./นาทึ}$$

$$N = 3000 \text{ รอบ/นาทึ}$$



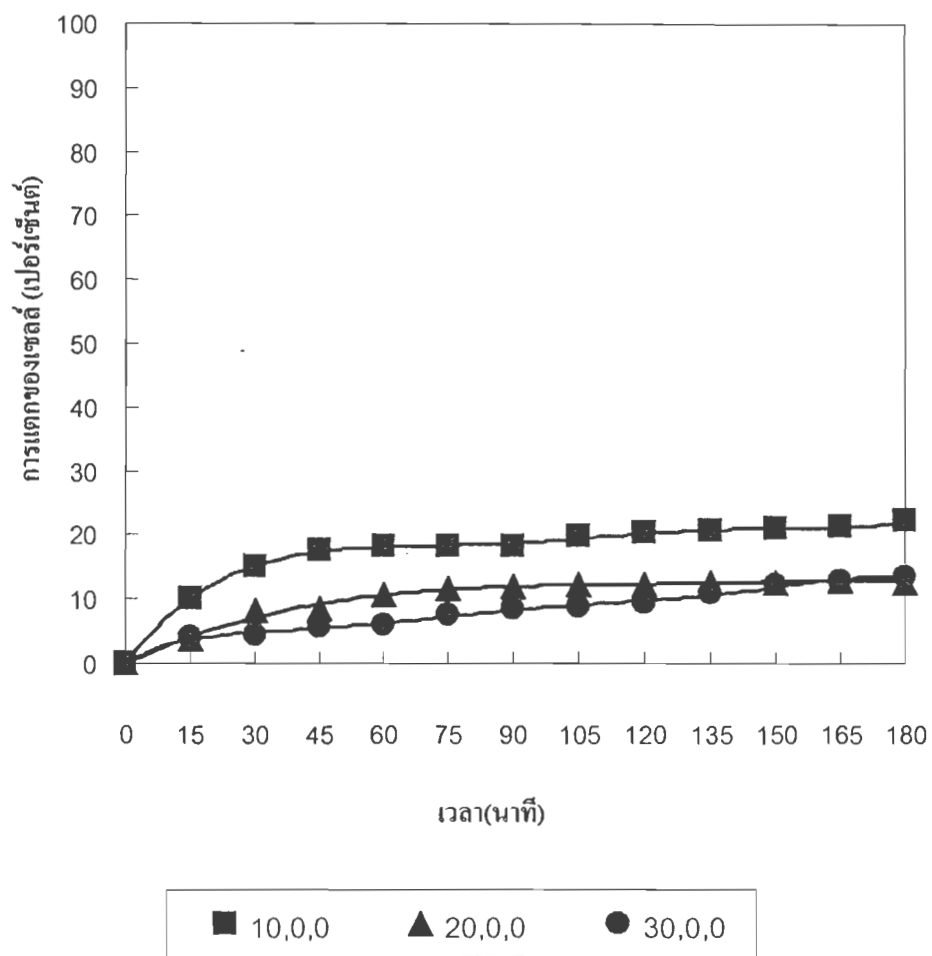
## 5.2 การแตกของเซลล์โครโคคัส (*Chroococcus* sp. TISTR 8623)

สำหรับการศึกษากการแตกของเซลล์จุลสาหร่ายโครโคคัสนั้น ในที่นี้ขั้นแรกจะเลือกศึกษาผลของความเร็วอากาศที่มีต่อการแตกเซลล์เป็นหลัก เนื่องจากผลจากการทดลองเบื้องต้น ประกอบกับข้อมูลการทดลองของกรณีคลอเรลลา พบว่าผลที่ได้มีแนวโน้มไปทางเดียวกัน ต่อจากนั้นจึงเลือกศึกษาสถานะที่ให้ประสิทธิภาพการแตกเซลล์ที่ดีที่สุดจากการทดลอง โดยที่มีทั้งการปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ การปรับเปลี่ยนความเร็วของเหลวและมีความเร็วรอบของการปั่นกววน

### 5.2.1 อิทธิพลของความเร็วอากาศที่ป้อน

ในกรณีนี้ ได้เลือกศึกษาประสิทธิภาพการแตกของเซลล์ในฟลูอิดไดซ์เบดสามวัฏภาคที่ปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศโดยไม่มีความเร็วของเหลวและความเร็วรอบการปั่นกววน ความเร็วอากาศที่ปรับเปลี่ยนในกรณีนี้คือ 10, 20 และ 40 ซม./นาที่ เช่นเดียวกับในกรณีของคลอเรลลา

เมื่อพิจารณารูปที่ 5-27 จะพบว่าเปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อใช้เวลาในการเดินเครื่องนานมากขึ้น และเปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์จะสูงที่สุดที่  $U_0$  เท่ากับ 10 ซม./นาที่ โดยมีค่าเท่ากับ 22.3% จากนั้นเมื่อเพิ่ม  $U_0$  เป็น 20 และ 40 ซม./นาที่ เปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์กลับลดลงเหลือ 12.7% และ 13.45% ตามลำดับ ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับกรณีของคลอเรลลา จึงกล่าวได้ว่าสิ่งที่มีอิทธิพลต่อการแตกของเซลล์คือการบดกันระหว่างลูกแก้ว และแรงเฉือนที่เกิดขึ้นในระบบ เช่นเดียวกับกรณีของคลอเรลลานั้นเอง โดย รูปที่ 5-28, 5-29 และ 5-30 ต่างแสดงผลสนับสนุนไปในทิศทางเดียวกัน นั่นคือจาก รูปที่ 5-28 จะพบว่าอัตราการแตกของเซลล์จะเห็นได้ว่า  $U_0$  เท่ากับ 10 ซม./นาที่ นั้นมีอัตราการแตกของเซลล์ที่มากกว่าที่ความเร็วอื่น ในส่วนของ รูปที่ 5-29 จะแสดงอัตราส่วนระหว่างปริมาตรของเซลล์ในระหว่างทำการทดลองต่อปริมาตรของเซลล์ที่เวลาเริ่มต้น ซึ่งจะพบว่าเซลล์ที่เวลาสิ้นสุดการทดลองแล้วของ  $U_0$  เท่ากับ 10 ซม./นาที่ นั้นมีขนาดเล็กกว่าเซลล์เริ่มต้นที่ใช้ในการทดลองมากกว่าที่สถานะอื่น ต่อมาจากรูปที่ 5-30 ที่แสดงอัตราส่วนระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์ที่เวลาต่างๆ ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ที่เวลาเริ่มต้นก็มีปริมาณคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้นเมื่อเวลาในการทดลองเปลี่ยนไป โดยที่  $U_0$  เท่ากับ 10 ซม./นาที่ จะมีปริมาณคลอโรฟิลล์ที่ถูกปลดปล่อยออกมาสูงที่สุด และเมื่อทำการตรวจยืนยันโดยอาศัยภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์ จะพบว่าการแตกของเซลล์เกิดขึ้นจริง ดังแสดงในรูปที่ 5-31



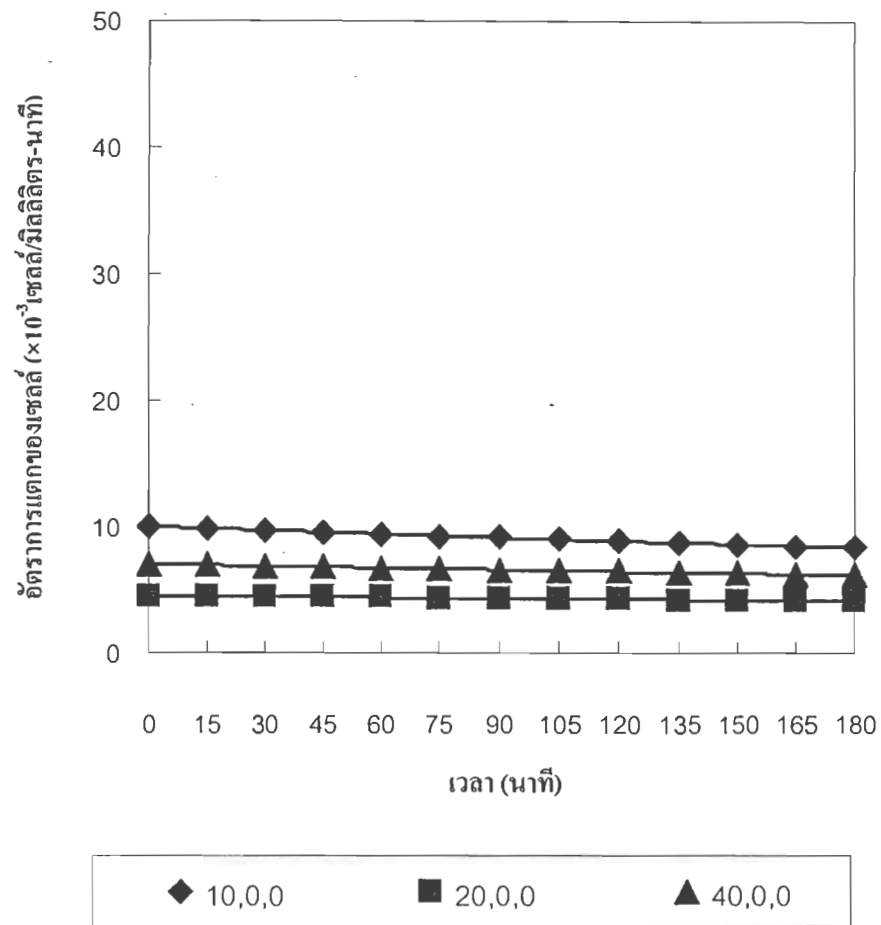
รูปที่ 5-27 เปอร์เซนต์การแตกของเซลล์โคร โอคอกคัสเมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ

$$U_g = 10, 20, 40 \text{ ชม./นาที}$$

$$U_i = 0 \text{ ชม./นาที}$$

$$N = 0 \text{ รอบ/นาที}$$

$$(U_g, U_i, N)$$



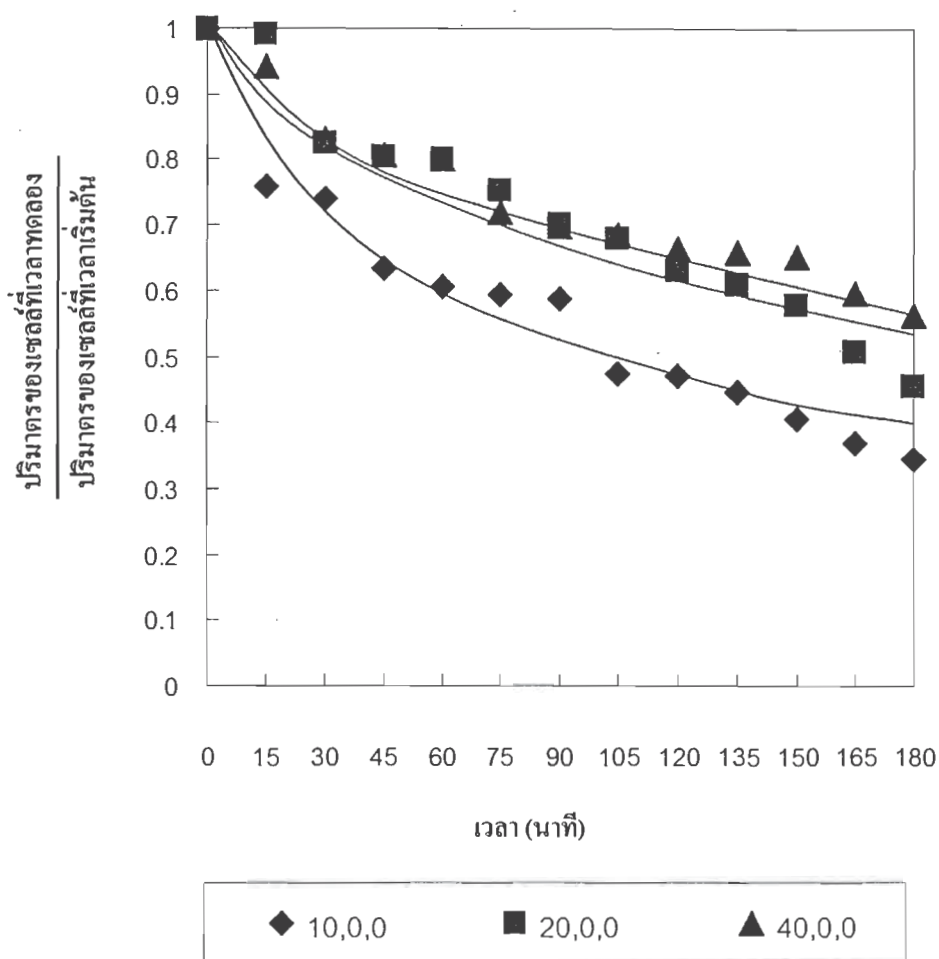
รูปที่ 5-28 อัตราการแตกของเซลล์โคร โอคอกคัสเมื่อปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ

$$U_g = 10, 20, 40 \text{ ซม./นาที}$$

$$U_l = 0 \text{ ซม./นาที}$$

$$N = 0 \text{ รอบ/นาที}$$

$$(U_g, U_l, N)$$



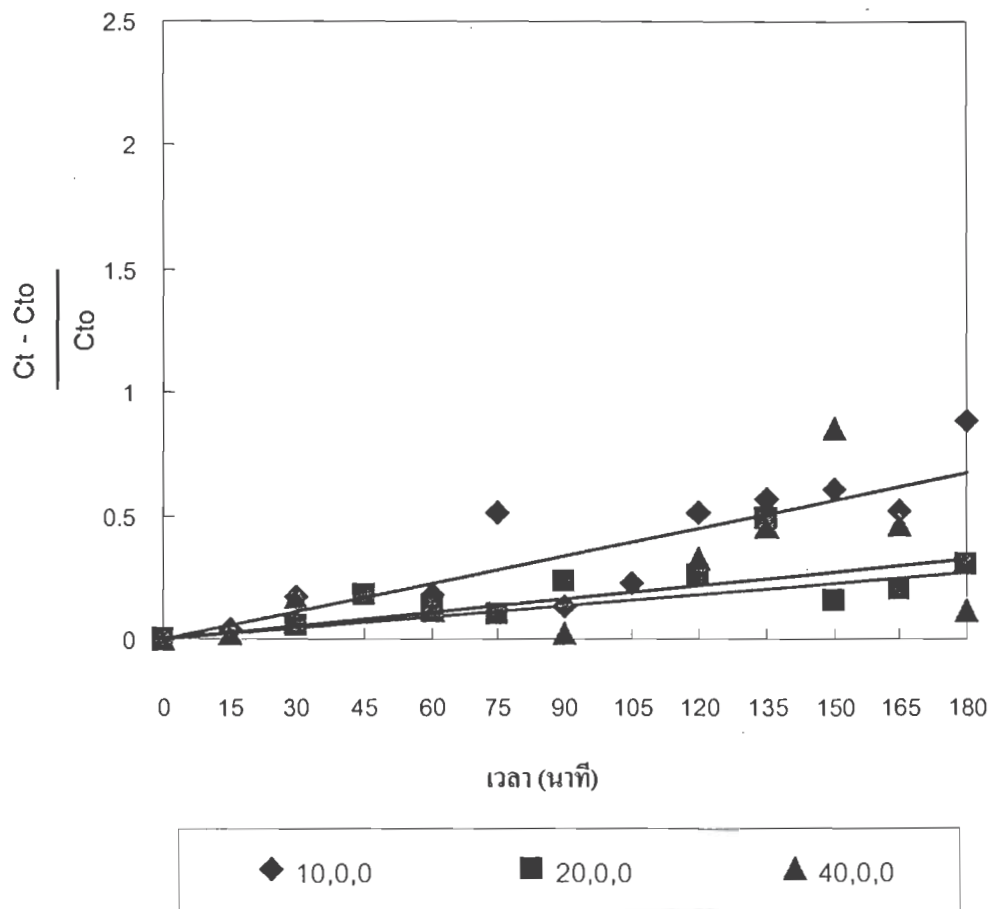
รูปที่ 5-29 อัตราส่วนระหว่างปริมาณเชลล์โคร โอคอกกัศที่เวลาทำการทดลองต่อปริมาณโคร โอคอกกัศที่เวลาเริ่มต้น เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ

$$U_g = 10, 20, 40 \text{ ซม./นาที}$$

$$U_l = 0 \text{ ซม./นาที}$$

$$N = 0 \text{ รอบ/นาที}$$

$$(U_g, U_l, N)$$



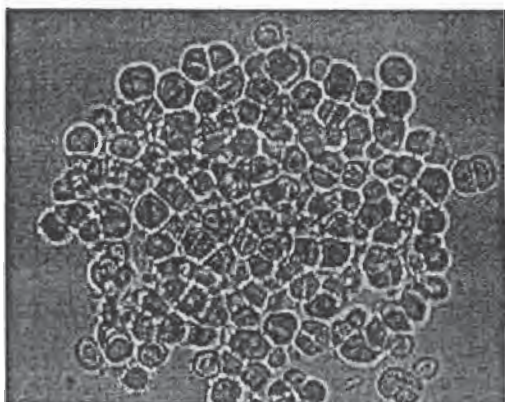
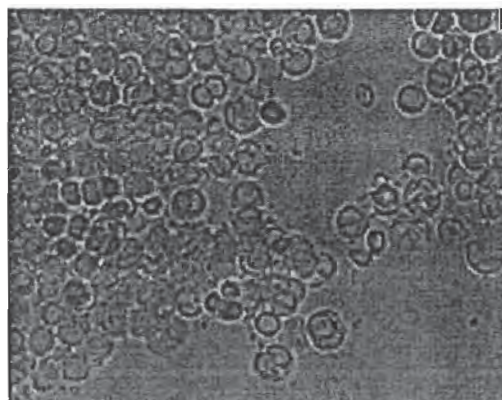
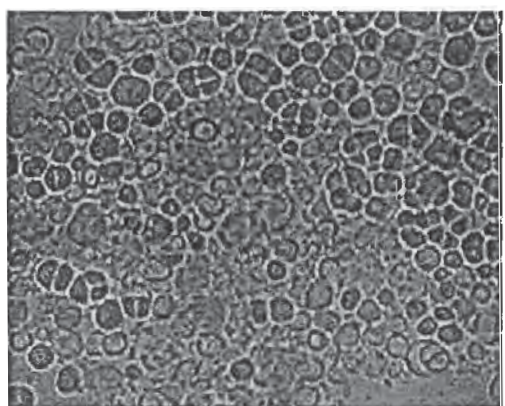
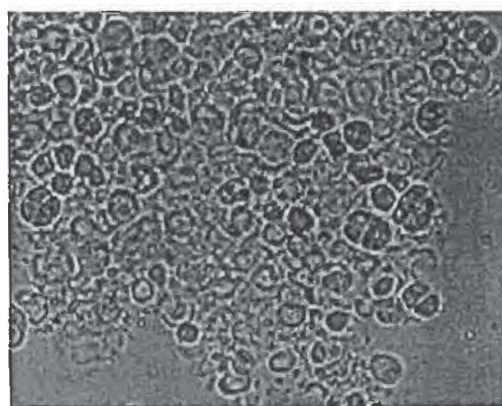
รูปที่ 5-30 อัตราส่วนระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของโครโคคอกัสที่เวลาทำการทดลองต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ที่เวลาเริ่มต้น เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ

$$U_g = 10, 20, 40 \text{ ชม./นาท}$$

$$U_l = 0 \text{ ชม./นาท}$$

$$N = 0 \text{ รอบ/นาท}$$

$$(U_g, U_l, N)$$

(a)  $U_g = 0$  ซม./นาทึ(b)  $U_g = 10$  ซม./นาทึ(c)  $U_g = 20$  ซม./นาทึ(d)  $U_g = 40$  ซม./นาทึ

รูปที่ 5-31 ภาพถ่ายของเซลล์โครโอคอกคัส ( $\times 1000$ ) เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ.

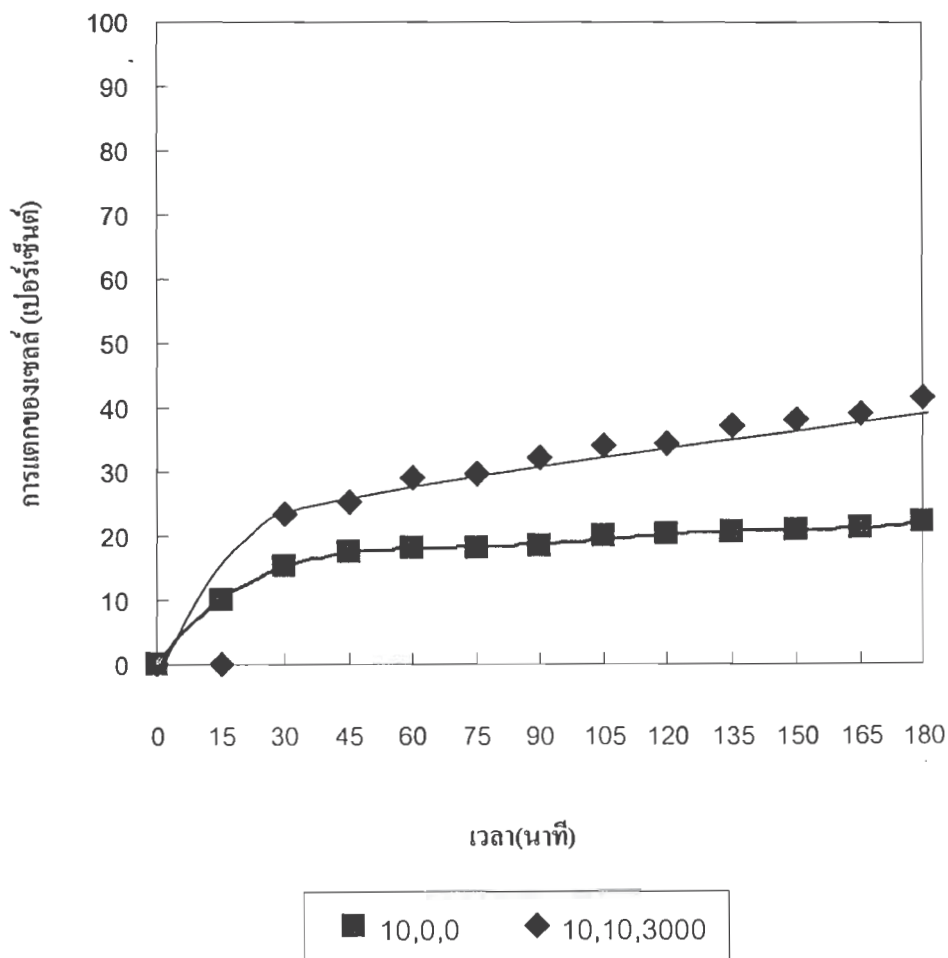
$$U_g = 10, 20, 40 \text{ ซม./นาทึ}$$

$$U_l = 0 \text{ ซม./นาทึ}$$

$$N = 0 \text{ รอบ/นาทึ}$$

### 5.2.2 การแตกของโครโอคอกคัสภายใต้อิทธิพลของปัจจัยทั้งหมด

ภายใต้เงื่อนไขที่มีการป้อนปัจจัยทั้งความเร็วอากาศ ความเร็วของเหลวและการปั่นกวนในระบบ พบว่าปริมาณการแตกของเซลล์จะเพิ่มสูงขึ้นดังแสดงใน รูปที่ 5-32 กล่าวคือเปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์สูงเพิ่มขึ้นเป็น 41.6% ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อมีทั้งการป้อนความเร็วของเหลวและการปั่นกวนสู่ระบบ ความถี่ในการชนกันระหว่างเซลล์และลูกแก้วรวมทั้งการบดกันระหว่างลูกแก้วและเซลล์จะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ซึ่งทั้งสองกลไกต่างเป็นกลไกหลักที่ช่วยในการทำให้เซลล์แตกได้



รูปที่ 5-32 เปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์โคร โอคอกคัส เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ โดยให้ความเร็วของเหลวและความเร็วรอบใบกวนคงที่

$$U_g = 10 \text{ ชม./นาที}$$

$$U_l = 0, 10 \text{ ชม./นาที}$$

$$N = 0, 3000 \text{ รอบ/นาที}$$

$$(U_g, U_l, N)$$

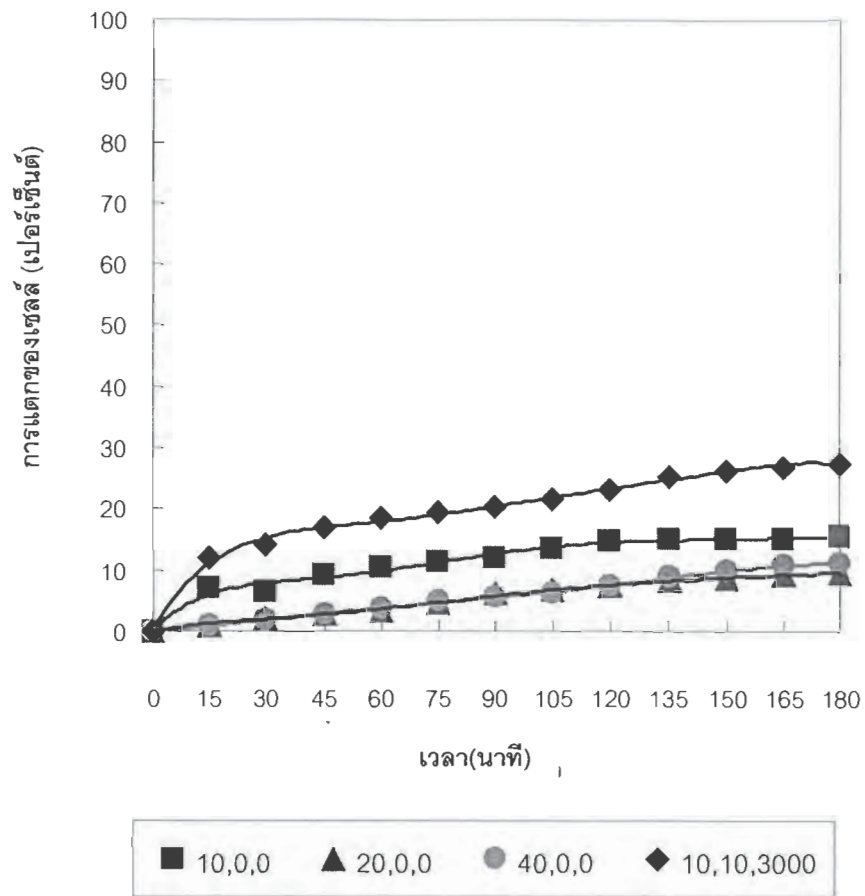
### 5.3 การแตกของเซลล์คลอโรคอกคัม (*Chlorococcum* sp. TISTR 8509)

ในส่วนของจุลสาหร่ายคลอโรคอกคัม ได้ศึกษาการแตกของเซลล์โดยปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ เมื่อปราศจากความเร็วของเหลวและความเร็วรอบการปั่นกววนเช่นเดียวกับโครโอคอกคัส ซึ่งจะพบว่าผลการทดลองที่ได้มีแนวโน้มเดียวกับคลอเรลลาและโครโอคอกคัส จากนั้นได้เลือกสภาวะที่ดีที่สุดในการทำให้เซลล์คลอโรคอกคัมแตก โดยที่มีการป้อนทั้งความเร็วอากาศ ความเร็วของเหลวและการปั่นกววน ซึ่งพบว่าที่ภายใต้เงื่อนไขที่ใช้ปัจจัยทั้งสาม จะทำให้การแตกของเซลล์ดีกว่าการให้ความเร็วอากาศเพียงอย่างเดียว

#### 5.3.1 อิทธิพลของความเร็วอากาศที่ป้อน

เพื่อศึกษาถึงอิทธิพลของความเร็วอากาศในฟลูอิดไคซ์เบดสามวัฏภาคที่มีต่อจุลสาหร่ายคลอโรคอกคัม ในกรณีนี้จึงปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศเป็น 10, 20 และ 40 ชม./นาทิตามลำดับแล้วพิจารณาเปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์เมื่อเวลาผ่านไป จาก รูปที่ 5-33 จะพบว่าที่  $U_c$  เท่ากับ 10 ชม./นาทิต จะให้ปริมาณในการแตกเซลล์มีค่าสูงสุด โดยมีค่าเท่ากับ 15.6 % ในส่วนของความเร็วอากาศเท่ากับ 20 และ 40 ชม./นาทิต นั้นให้เปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์เท่ากับ 9.6% และ 11.2% ตามลำดับ ซึ่งมีแนวโน้มไปทางเดียวกับ คลอเรลลาและโครโอคอกคัส จึงสรุปว่าสิ่งที่มีอิทธิพลต่อการแตกของเซลล์จุลสาหร่ายทั้ง 3 ชนิด คือ การถูกบดโดยลูกแก้วรวมทั้งแรงเฉือนที่เกิดขึ้นในระบบ โดยผลการทดลองที่ได้จาก รูปที่ 5-34, 5-35 และ 5-36 ต่างมีแนวโน้มเดียวกับเปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์ และ รูปที่ 5-37 เป็นภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ซึ่งสามารถยืนยันได้ว่าเกิดการแตกของเซลล์คลอโรคอกคัมในอุปกรณ์ที่พัฒนาขึ้น





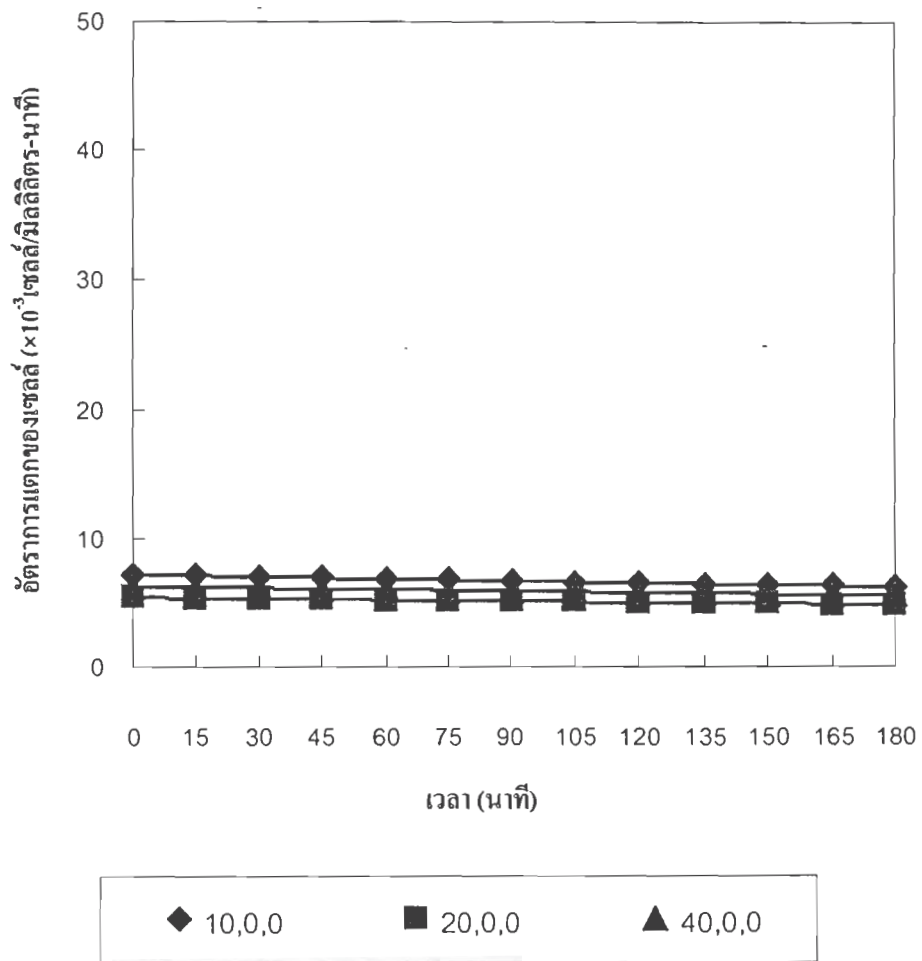
รูปที่ 5-33 เปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์คลอโรพลาสต์เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ

$U_g = 10, 20, 40$  ชม./นาที

$U_l = 0$  ชม./นาที

$N = 0$  รอบ/นาที

$(U_g, U_l, N)$



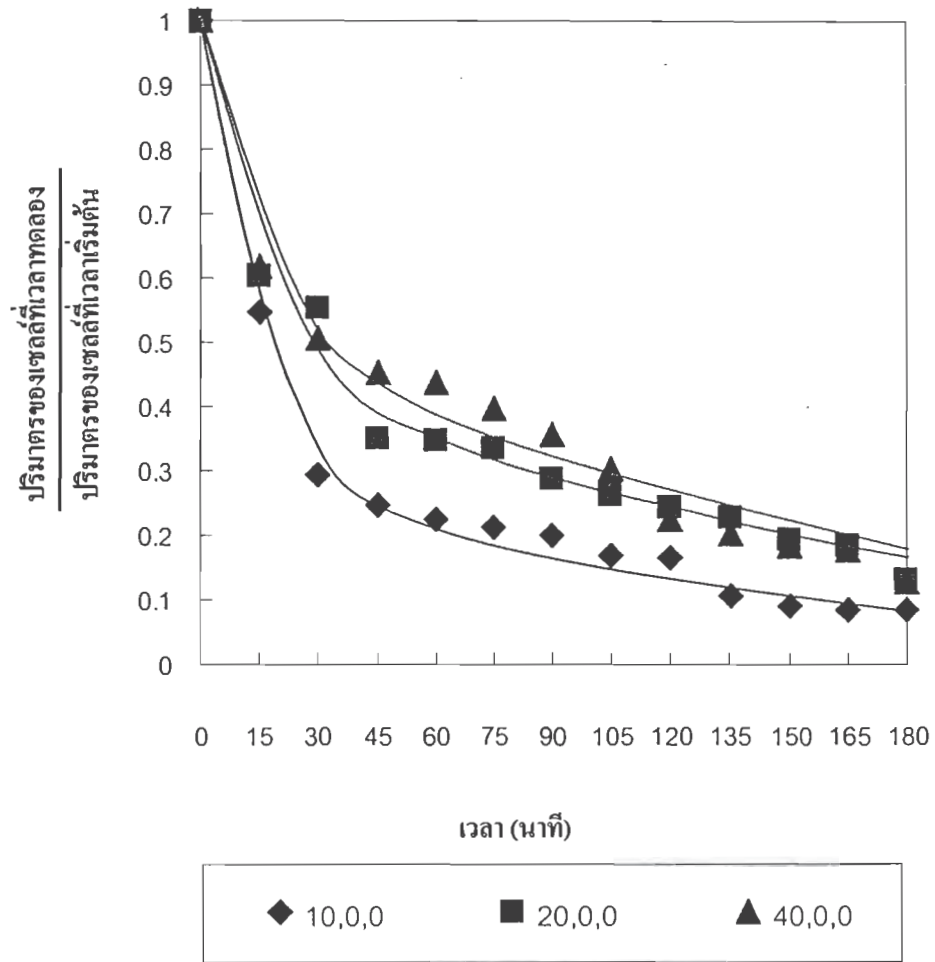
รูปที่ 5-34 อัตราการแตกของเซลล์คลอโรคอกคัมเมื่อปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ

$$U_g = 10, 20, 40 \text{ ซม./นาที}$$

$$U_l = 0 \text{ ซม./นาที}$$

$$N = 0 \text{ รอบ/นาที}$$

$$(U_g, U_l, N)$$



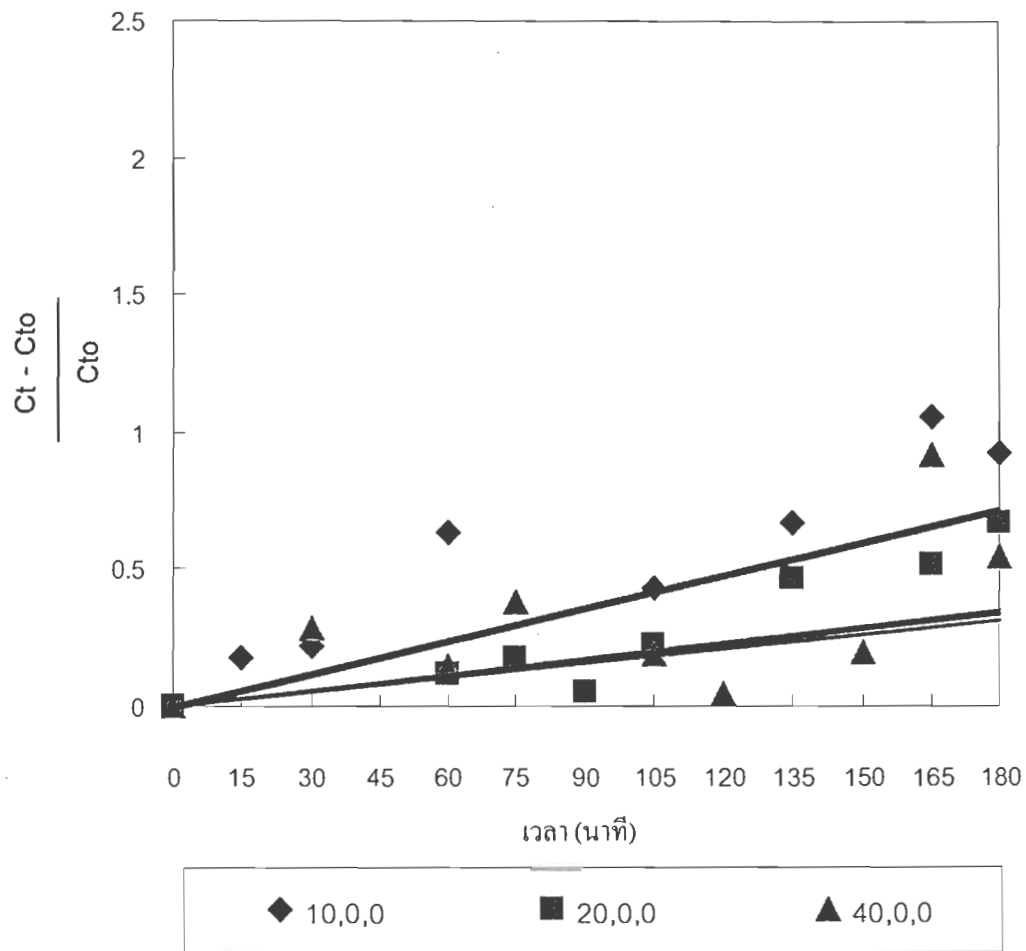
รูปที่ 5-35 อัตราส่วนระหว่างปริมาณเซลล์คลอโรคอกคัมที่เวลาทำการทดลองต่อปริมาณคลอโรคอกคัมที่เวลาเริ่มต้น เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ

$$U_g = 10, 20, 40 \text{ ชม./นาที}$$

$$U_l = 0 \text{ ชม./นาที}$$

$$N = 0 \text{ รอบ/นาที}$$

$$(U_g, U_l, N)$$



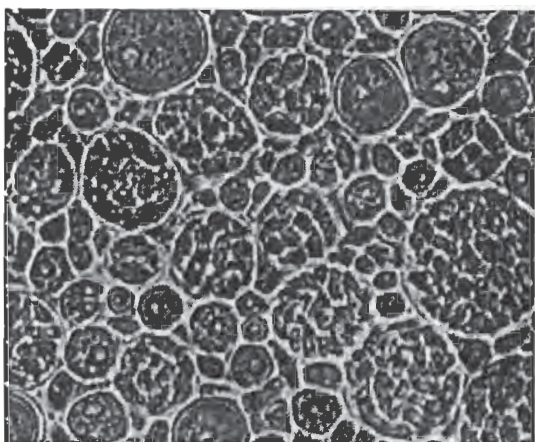
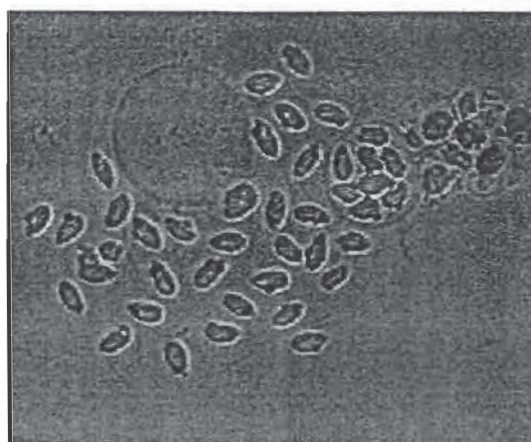
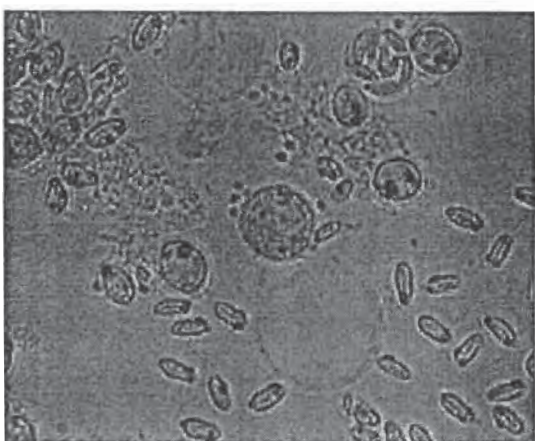
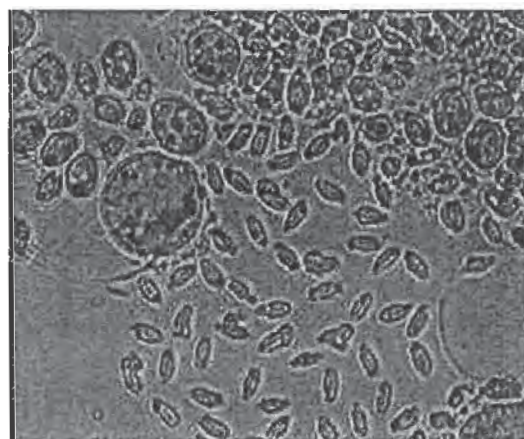
รูปที่ 5-36 อัตราส่วนระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของคลอโรคอกคัมที่เวลาทำการทดลองต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ที่เวลาเริ่มต้น เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ

$$U_g = 0, 10, 20, 40 \text{ ซม./นาที}$$

$$U_l = 10 \text{ ซม./นาที}$$

$$N = 3000 \text{ รอบ/นาที}$$

$$(U_g, U_l, N)$$

(a)  $U_g = 0$  ซม./นาทึ(b)  $U_g = 10$  ซม./นาทึ(c)  $U_g = 20$  ซม./นาทึ(d)  $U_g = 40$  ซม./นาทึ

รูปที่ 5-37 ภาพถ่ายของเซลล์คลอโรคอกกัม ( $\times 1000$ ) เมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ

$$U_g = 10, 20, 40 \text{ ซม./นาทึ}$$

$$U_l = 0 \text{ ซม./นาทึ}$$

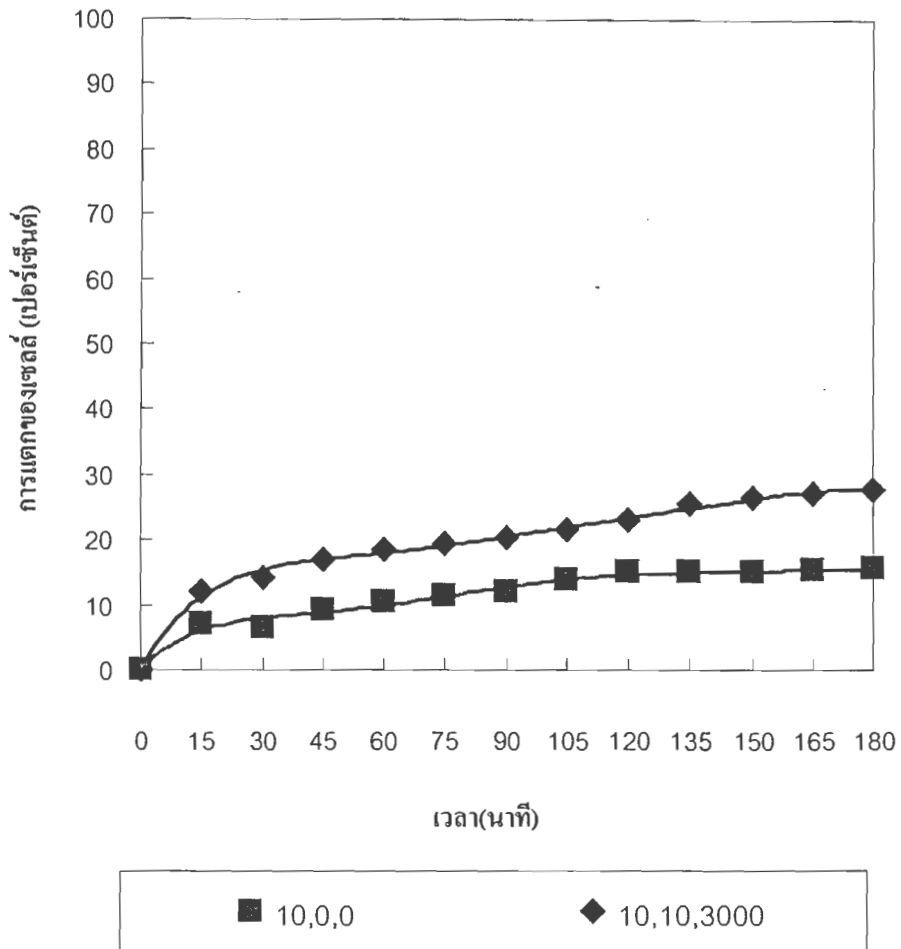
$$N = 0 \text{ รอบ/นาทึ}$$

### 5.3.2 การแตกของคลอโรพลาสต์ภายใต้อิทธิพลของปัจจัยทั้งหมด

ในทำนองเดียวกับกรณีของจุลสาหร่ายคลอเรลลาและโครโอคอคัส ปริมาณการแตกของเซลล์จุลสาหร่ายคลอโรคอคัสจะเพิ่มสูงขึ้น เมื่อมีการป้อนทั้งความเร็วอากาศ ความเร็วของเหลวและการปั่นกวนในระบบ โดยเปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์จะสูงเพิ่มขึ้นเป็น 27.7% ดังแสดงในรูปที่ 5-38 เนื่องการไหลของเหลวของเหลวภายในระบบรวมทั้งการปั่นกวน ต่างเพิ่มการบดกันระหว่างลูกแก้วรวมถึงความถี่ในการชนกันระหว่างลูกแก้วและเซลล์ มีผลให้ประสิทธิภาพในการแตกของเซลล์เพิ่มขึ้นมากกว่าการให้อากาศเพียงอย่างเดียว แต่เป็นที่น่าสังเกตว่า เมื่อเปรียบเทียบกันแล้วกรณีของจุลสาหร่ายคลอโรคอคัสมีเปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์ต่ำที่สุด

หากเปรียบเทียบความแตกต่างของการทำให้เซลล์จุลสาหร่ายคลอโรคอคัสและคลอเรลลาแตก โดยอาศัยชุดเครื่องมือฟลูอิดไดซ์เบดสามวัฏภาคแบบใช้ใบกวนที่พัฒนาขึ้นในโครงการวิจัยนี้ พบว่าภายใต้เงื่อนไขเดียวกัน คือ อัตราการไหลของอากาศเท่ากับ 10 ซม./นาทิจ อัตราการไหลของเหลว 10 ซม./นาทิจ และความเร็วในการปั่นกวน 3000 รอบต่อนาที จุลสาหร่ายคลอเรลลาจะมีปริมาณการแตกเซลล์สูงกว่าคลอโรคอคัสมากดังแสดงใน รูปที่ 5-39 โดยคลอเรลลามีเปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์ถึง 93.6% ในขณะที่โครโอคอคัสมีเปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์เพียง 41.6% ทั้งนี้เนื่องจากโครงสร้างของเซลล์ที่ต่างกัน โดยโครโอคอคัสนั้นจัดอยู่ในประเภทสาหร่ายสีน้ำเงินที่มีชั้นเมือกหนาห่อหุ้มผนังเซลล์อยู่อีกชั้น ในขณะที่คลอเรลลาจัดอยู่ในประเภท คลอโรไฟตา (chlorophyta) ที่มีเพียงผนังเซลล์ห่อหุ้มเซลล์เท่านั้น ดังนั้นถึงแม้จะได้รับแรงและการบดเท่ากันโครโอคอคัสจึงถูกทำให้แตกด้วยอุปกรณ์ได้น้อยกว่าคลอเรลลา

สำหรับกรณีของจุลสาหร่ายคลอโรคอคัสนั้น จำเป็นต้องพิจารณาถึงวิธีการขยายหรือเพิ่มจำนวนเซลล์ของจุลสาหร่ายประกอบด้วย โดยอาจกล่าวได้ว่าแม้คลอโรคอคัสจะเป็นจุลสาหร่ายแบบเซลล์เดี่ยว แต่เมื่ออยู่ในระยะสืบพันธุ์เซลล์จะแบ่งตัวเป็นเซลล์เล็กๆ มากมายภายในผนังเซลล์เดียวกัน ส่งผลให้ไม่อาจทราบจำนวนเซลล์ขนาดเล็กที่แน่นอนภายในผนังเซลล์ได้ และเมื่อผนังเซลล์แตกจะปลดปล่อยเซลล์เล็กๆ ออกมา เป็นการเพิ่มจำนวนเซลล์ขนาดเล็กภายในระบบ ดังนั้นหากพิจารณาจำนวนเซลล์มีชีวิตอยู่เมื่อเวลาในการทดลองผ่านไปจึงพบว่าเปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์ที่ได้จึงมีจำนวนไม่มากนัก โดยหากพิจารณาจากการกระจายขนาดของเซลล์อาจกล่าวได้ว่าที่เวลา 180 นาทีเซลล์ขนาดใหญ่ ( $\phi \cong 8-28$  ไมโครเมตร) ได้ถูกทำให้แตกจนหมด เหลือเพียงเซลล์ขนาดเล็ก ( $\phi \cong 2-7$  ไมโครเมตร) อยู่ภายในระบบเท่านั้น



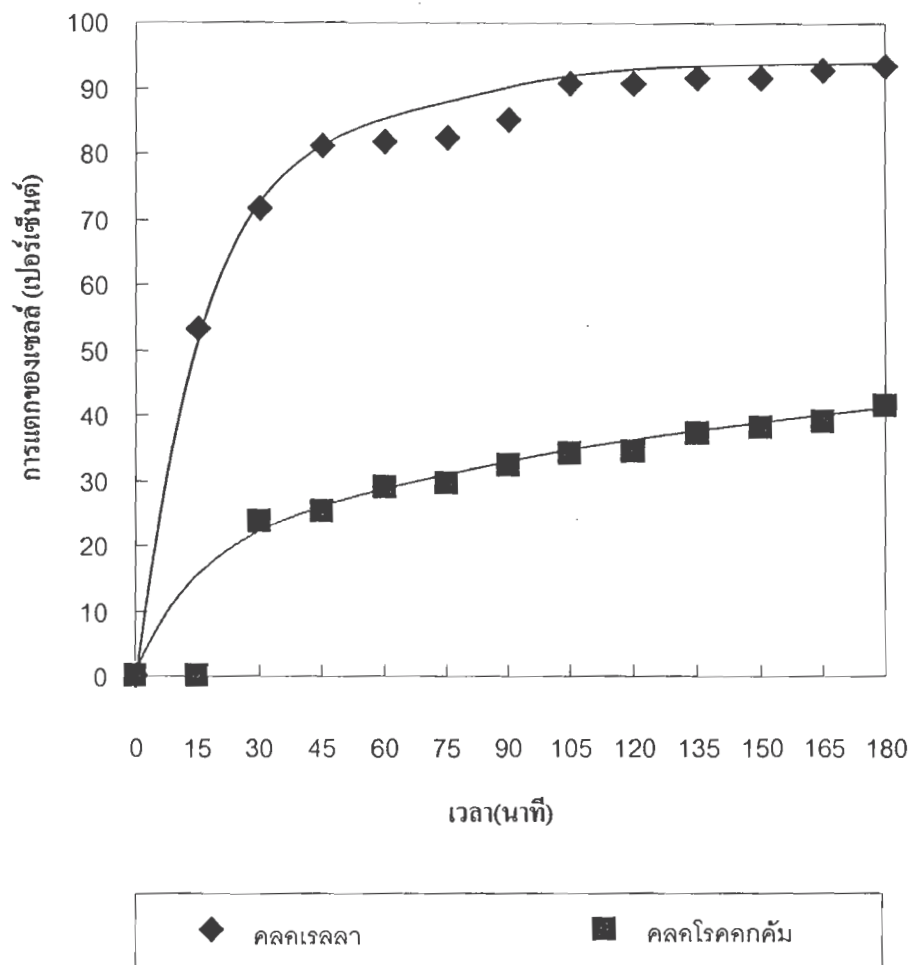
รูปที่ 5-38 เปอร์เซนต์การแตกของเซลล์คลอโรคอกคัมเมื่อทำการปรับเปลี่ยนความเร็วอากาศ โดยให้ความเร็วของเหลวและความเร็วรอบใบกวนคงที่

$$U_g = 10 \text{ ซม./นาที}$$

$$U_l = 0, 10 \text{ ซม./นาที}$$

$$N = 0, 3000 \text{ รอบ/นาที}$$

$$(U_g, U_l, N)$$



รูปที่ 5-39 เปอร์เซนต์การแตกของเซลล์เมื่อทำการปรับเปลี่ยนชนิดของเซลล์

(คอลเซลล์และคอลโรคอกคัม)

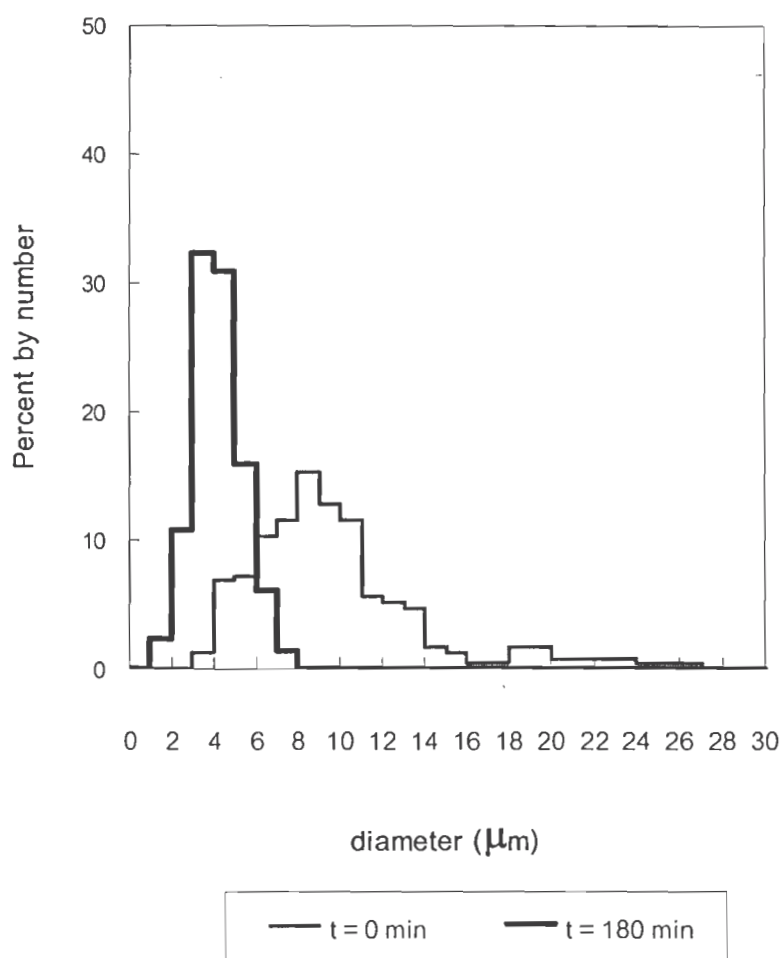
$$U_g = 10 \text{ ชม./นาที}$$

$$U_l = 10 \text{ ชม./นาที}$$

$$N = 3000 \text{ รอบ/นาที}$$

$$(U_g, U_l, N)$$





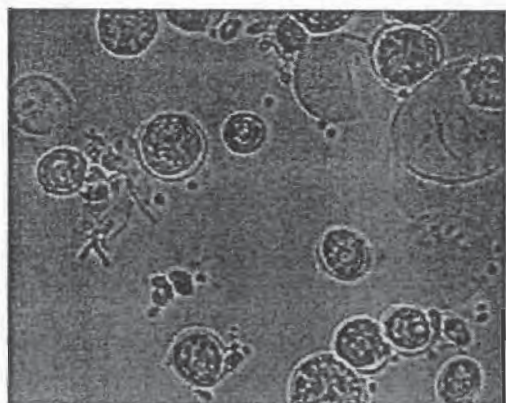
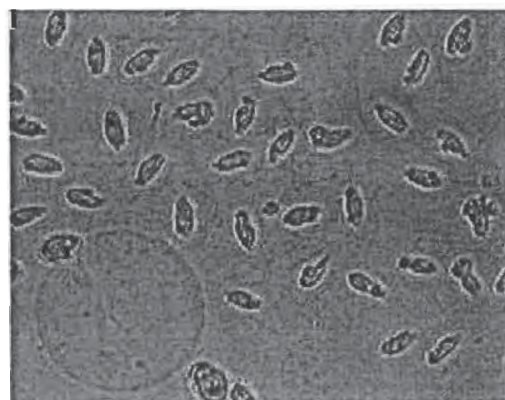
รูปที่ 5-40 การกระจายขนาดของเซลล์กลอโรคอกัมที่เวลา 0 และ 180 นาที

$$U_g = 10 \text{ ซม./นาที}$$

$$U_l = 10 \text{ ซม./นาที}$$

$$N = 3000 \text{ รอบ/นาที}$$

$$(U_g, U_l, N)$$

(a)  $t = 15 \text{ min.}$ (b)  $t = 90 \text{ min}$ (c)  $t = 135$ (d)  $t = 180 \text{ min}$ 

รูปที่ 5-41 ภาพถ่ายของเซลล์คลอโรคอกคัม ( $\times 400$ ) เมื่อป้อนปัจจัยการทดลองทั้งสาม

$$U_g = 10 \text{ ชม./นาที}$$

$$U_l = 10 \text{ ชม./นาที}$$

$$N = 3000 \text{ รอบ/นาที}$$

## บทที่ 6

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองและการวิเคราะห์ที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น สามารถสรุปในเบื้องต้นว่า โครงการวิจัยประสบผลสำเร็จตามวัตถุประสงค์ที่ชี้แจงไว้ในบทที่ 1 กล่าวคือ คณะวิจัยสามารถพัฒนาเทคนิคใหม่ซึ่งเป็นฟลูอิดไอซ์เบคสามัญภาคแบบใช้ไบบวมนที่สามารถนำมาใช้ในการทำให้เซลล์จุลสาหร่ายหลายสายพันธุ์แตกได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ในโครงการวิจัยยังได้ทำการศึกษาอิทธิพลของปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อปริมาณการแตก ตลอดจนอัตราการแตกของเซลล์จุลสาหร่ายทั้งสามสายพันธุ์ที่ใช้เป็นตัวแทนของสาหร่ายอื่นๆ ที่มีการใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรม สำหรับข้อสรุปในเชิงผลการทดลองจะได้ชี้แจงโดยสังเขปดังต่อไปนี้

#### 7.1 ข้อสรุป

จากผลการทดลองทั้งหมดข้างต้นสามารถสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจนว่า ฟลูอิดไอซ์เบคสามัญภาคที่พัฒนาขึ้นสามารถนำมาใช้ในการทำให้เซลล์จุลสาหร่ายแตกได้ โดยการปรับเปลี่ยนค่าปัจจัยทั้ง 3 อย่าง คือ ความเร็วอากาศ ความเร็วของเหลวและความเร็วรอบไบบวมน โดยพร้อมเพรียงกันจะทำให้เปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์สูง ซึ่งในเงื่อนไขที่ดีที่สุดที่สุดเปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์จุลสาหร่ายคลอเรลลาจะมีค่าสูงกว่า 93%

อย่างไรก็ดี การเพิ่มความเร็วจุดอากาศในระบบ จะส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์ลดลง ทั้งนี้เนื่องจากการเพิ่มความเร็วจุดอากาศเข้าสู่ระบบนั้น จะส่งผลให้การขยายตัวของชั้นเบคในระบบเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้การกระทบกันระหว่างอนุภาค (ลูกแก้ว) และการกระทบกันระหว่างอนุภาคและเซลล์ลดลง นอกจากนี้ การเพิ่มความเร็วจุดของเหลวภายในระบบจะส่งผลให้เวลาที่เซลล์อยู่ในระบบลดลง ซึ่งส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์ลดลงเช่นเดียวกัน แต่อย่างไรก็ดีการเพิ่มความเร็วจุดการปั่นกววนจะเป็นการเพิ่มแรงเฉือนในระบบที่ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การแตกของเซลล์เพิ่มมากขึ้น

ผลการทดลองทั้งหมดสามารถยืนยันได้จากภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยพบว่าเซลล์ของสาหร่ายคลอเรลลาจะถูกทำลายได้ง่ายที่สุด

## 7.2 ข้อเสนอแนะสำหรับสิ่งที่ควรปรับปรุงต่อไปในอนาคต

7.2.1 ควรมีการพัฒนาระบบหล่อเย็นให้มีประสิทธิภาพเพิ่มมากขึ้น สำหรับการควบคุมอุณหภูมิและป้องกันการเสียหายของสารที่ถูกปลดปล่อยจากเซลล์จุลสาหร่าย

7.2.2 ควรทำการศึกษาเพิ่มเติม โดยทำการปรับเปลี่ยนปริมาณลูกแก้วที่เดิมลงในระบบ และพัฒนาอุปกรณ์ให้สามารถใช้ศึกษาไฮโดรไดนามิกส์ของระบบได้ เพื่อนำมาใช้อธิบายหลักการหรือกลไกที่เกิดขึ้น

7.2.3 ควรทำการศึกษาเพิ่มเติม โดยการเพิ่มความเร็วของอากาศที่ป้อนให้มีค่าที่สูงขึ้น เพื่อศึกษาอิทธิพลการผสมที่เกิดขึ้นเนื่องจากอาจจะทำให้อัตราการแตกตัวได้สูงมากขึ้น

7.2.4 จากผลการวิจัยนี้ หากต้องการนำอุปกรณ์ไปใช้จริงในอุตสาหกรรม ระบบที่มีการดำเนินการแบบต่อเนื่องเป็นระบบที่มีความเป็นไปได้ที่จะนำไปใช้จริง ทั้งนี้เนื่องจากการให้ทั้งสามตัวแปรเข้าสู่ระบบจะให้ประสิทธิภาพที่สูงกว่าการมีเพียงตัวแปรใดตัวแปรหนึ่งภายในระบบ

## เอกสารอ้างอิง

- Bavarian, F.; Fan, L. S.; and Chalmers, J. J. **Biotechnol Prog.** 7(1991): 140-150.
- Carlson, A.; Signs, M.; Liermann, L.; Boor, R.; and Jem, K. J. **Biotechnol. Bioeng.** 48(1995): 303 – 315.
- Camacho, F. G.; Gomez, A. C.; Sobczuk, T. M.; and Grima, E. M. **Pro. Bio.** 35(2000): 1045-1050.
- Camacho, F.G.; Grima, E. M.; Miron A. S.; Pascual, V. G.; and Chisti Y. **Enzyme Microb Technol.** 29(2001): 602-610.
- Caulet, P. J. C.; van der Lans, R. G. J. M.; and Luyben, K. Ch. A. M. **Chem. Eng. J.** 62(1996): 193-206.
- Clarkson, A. I.; Lefevre, P.; and Titchener – Hooker, N. J. **Biotechnol. Prog.** 9(1993): 462 – 467.
- Chalmers, J. J. **Cytotechnol.** 15(1994): 311 – 320.
- Cherry, R. S.; and Papoutsakis, E. T. **Biotechnol. Bioeng.** 32(1988): 1001-1014.
- Chisti, Y.; and Moo – Young, M. **Enzyme Microb. Technol.** 8(1986): 194 – 204.
- Chisti, Y. **Crit. Rev. Biotechnol.** 21(2001): 67-110.
- Contreras, A.; Garcia, F.; Molina, E.; and Merchuk, J. C. **Enzyme Microb Technol.** 25(1999): 820-830.
- Currie, J. A.; Dunnill, P.; and Lilly, M.D. **Biotechnol. Bioeng.** 14(1972): 725 – 736.
- David, J. M.; Alen, J. M.; and Jame, C. P. **Biochem. J.** 135(1973): 19 – 30.
- Doulah, M.S.; Hammond, T.H.; and Brookman, J.S.G. **Biotechnol. Bioeng.** 17(1975): 845-858.
- Engler, C. R.; and Robinson, C. W. **Biotechnol. Bioeng.** 21(1979): 1861 - 1869.
- Fan, L.-S. **Gas-Liquid-Solid Fluidization Engineering** (1989). Butterworth, Boston, MA.
- Fan, L.-S. **AIChE SYMPOSIUM SERIES.** 91(1995): 1-23.
- Hetherington, P. J.; Follows, M.; Dunnill, P.; and Lilly, M. D. **Biotechnol. Bioeng.** 13(1971): 549 – 560.
- Gianfreda, L.; Modefferi, M.; and Guido, G. J. **Enzyme Microb. Technol.** 7(1976): 78 – 82.
- Hedenskog, G.; and Mogren, H. **Biotechnol. Bioeng.** 15(1973): 129-142.
- Heim, A.; and Solecki, M. **Powder Technol.** 105(1999): 389-395.

- Hoek, C.; and Van D. C., **Algae, An introduction**. New York: Cambridge University, 1995.
- Hunter, J. B.; and Asenjo, J. A. **Biotechnol. Bioeng.** 30(1987): 481 – 490.
- Keleman, M. V.; and Sharpe, J. E. E. **J. Cell Sci.** 35(1979): 431 – 441.
- Jobses, I.; Martens, D.; and Tramper, J. **Biotechnol. Bioeng.** 37(1991): 484-490.
- Jordan, M.; Sucker, H.; Einsele, A.; Widmer, F.; and Eppenberger, H. M. **Biotechnol. Bioeng.** 43(1994): 446-454.
- Keshavarz, M. E.; Hoare, M.; and Dunnill, P. **Enzyme Microb. Technol.** 12(1990): 764 – 770.
- Kleinig, A. R.; and Middelberg, A. P. J. **Chem. Eng. Sci.** 53(1998): 891 – 898.
- Kula, M. and Schutte, H.; **Biotechnol. App. Biochem.** 12(1990): 599 – 620.
- Kunas, K. T.; and Papoutsakis, E. T. **Biotechnol. Bioeng.** 36(1990): 467-483
- Lander, R.; Manger, W.; Scouloudis, M.; Ku, A.; Davis, C.; and Lee, A. **Biotechnol. Prog.** 16(2000): 80 – 85.
- Limon-Lasom, J.; Hoare, M; Orsborn, C. B.; Doyle, D.J.; and Dunnill, P. **Biotechnol. Bioeng.** 21(1979): 745-774.
- Liu, M.; Li, J.; and Kwauk, M. **Chem. Eng. Sci.** 56(2001): 6805-6812.
- McCabe, L. W.; Smith C. J.; and Harriott P. **Unit operation of chemical engineering.** 5<sup>th</sup> ed. Singapore: McGraw-Hill, 1993.
- Marffy, F.; and Kula, M.R. **Biotechnol. Bioeng.** 16(1974): 623-634.
- Meier, S. J.; Hatton, T. A.; and Wang, I. C. **Biotechnol. Bioeng.** 62(1999):468-478.
- Middelberge, A. P. J. **Biotechnol. Adv.** 13(1995): 491 – 551.
- Millburn, P. T.; and Dunnill, P. **Biotechnol. Bioeng.** 44(1994): 736 – 744.
- Morohashi, S.; Okada, S.; Hataya, T.; Sasaki, T.; Hoshino, K.; and Sasakura, T. **J. Chem. Eng. Jap.** 3(1997): 182 – 186.
- Mosqueira, F. G.; Higgins, J. J.; Dunnill, P.; and Lilly, M. D. **Biotechnol. Bioeng.** 23(1981): 335 – 343.
- Papoutsakis, E. T. **Tibtech December.** 9(1991) 427-437.
- Rechacek; J.; and Schaefer; J. **Biotechnol. Bioeng.** 19(1977): 1523-1534.
- Ricci-Silva, M. E.; Vitolo, M.; and Abrahao-Neto, J. **Proc. Biochem.** 35(2000): 831-835.
- Sauer, T.; Robinson, C. W.; and Gilk, B. R. **Biotechnol. Bioeng.** 33(1989): 1330 –1342.
- Schutte H. and Kula M. R. **Biotech. App. Biochem.**, 12(1990): 599-620.

- Scully, D.B.; and Wimpenny, J.W.T. **Biotechnol. Bioeng.** 16(1974): 675-687.
- Shamlou, P. A.; Makagiansar, A. P. I.; and Lilly, M. D. **Chem. Eng. Sci.** 49(1994): 2621 – 2631.
- Shamlou, P. A.; Siddiqi, S. F.; and Titchener – Hooker, N. J. **Chem. Eng. Sci.** 50(1995): 1383 – 1391.
- Shimizu, M.; Matsuyama, T.; and Yamamoto, H. Proceeding by 6<sup>th</sup> Asian Conference on Fluidized-Bed and Three-Phase Reactor, Edt. By Hai-Soo Chun and Sang-Done Kim, 1998.
- Silva, E. L.; **J. Braz. Soc. Mech. Sci.** 23(2001): 1-13.
- Smith, A. E.; Moxham, K. E.; and Middelberg, A. P. J. **Chem. Eng. Sci.** 55(2000): 2043-2053.
- Suksamai, N. **Microorganism Cells Disruption Using Three-Phase Fluidized Bed with Agitator.**  
Master's Thesis, Department of Chemical Engineering, Graduate School, Chulalongkorn University.
- Wang, N. S.; Yang, J. D.; Calabrese, R. V.; and Chang, K. C. **J. Biotechnol.** 33(1994): 107-122.
- Wang, T.; Wang, J.; Yang, W.; and Jin, Yong. **Chem. Eng. Comm.** 00(2001): 1-13
- Wong, H. H.; O'Neill, B. K.; and Middelberg, A. P. J. **Chem, Eng. Sci.** 52(1997): 2883-2890.
- Wu, J.; and Goosen, F. A. **Enzyme Microb Technol.** 17(1995): 1036-1042.
- Yang, J.-D.; and Wang, N. S. **Biotechnol. Bioeng.** 40(1992): 806-816.
- Zhang, Z; Blewett, J.M.; and Thomas, C.R. **J. Biotechnol.** 71(1999): 17-24.
- Zhang J. Li Y.; and Fan L. S. **Powder Technol** 2000; 112: 46-56.