

บทที่ 3

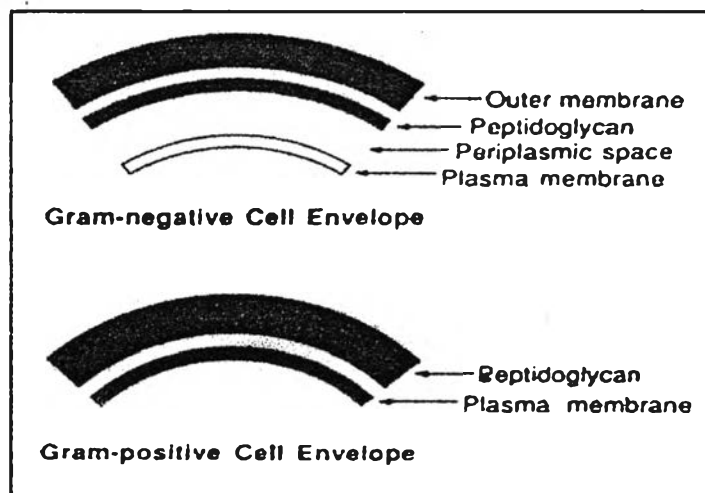
ทฤษฎี

3.1 ทฤษฎีการย่อยเซลล์ (Belter และคณะ, 1988)

3.1.1 โครงสร้างของเซลล์

โครงสร้างเซลล์แบคทีเรียแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือชนิดแกรมบวกและชนิดแกรมลบ

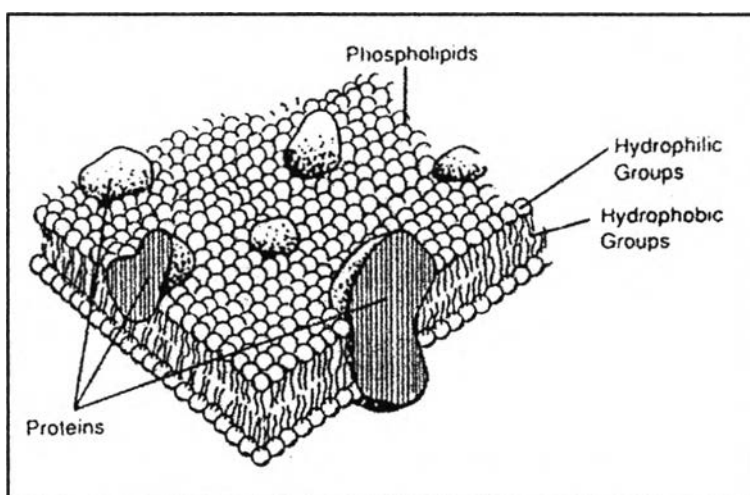
แสดงในรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 แสดงผนังเซลล์ของแบคทีเรียชนิดแกรมลบ และแกรมบวก (Belter และคณะ, 1988)

เนื่องจากแบคทีเรียที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นชนิดแกรมลบ จึงมุ่งเน้นอธิบายโครงสร้างของเซลล์ ชนิดแกรมลบดังนี้ โครงสร้างของเซลล์ประกอบด้วยชั้น 3 ชั้น ชั้นนอกสุดหนา 8 นาโนเมตร ประกอบด้วยพอลิเมอร์ของโปรตีน ไขมัน และลิพอพอลิแซคคาไรด์ (lipopolysaccharide) ชั้นที่ 2 จะเป็นชั้นบางๆของ เปปติโดไกลแคน (peptidoglycan) ถัดจากชั้นที่ 2 จะเป็นช่องว่างเรียกว่า เพอริพลาสมิก

สเปซ (periplasmic space) ซึ่งหนา 8 นาโนเมตร โดยปกติเอนไซม์มักจะอยู่ในช่องว่างนี้ เมื่อเปรียบเทียบกับแบคทีเรียชนิดแกรมบวก ดังแสดงในรูปที่ 3.1 จะเห็นว่าชนิดแกรมบวกไม่มีชั้นนอกสุดแต่จะมีชั้นเปปติโดไกลแคน และเพอริพลาสมิก สเปซ ส่วนชั้นที่ 3 เรียกว่า พลาสมา เมมเบรน (plasma membrane) หรืออินเนอร์ เมมเบรน (inner membrane) ซึ่งจะมีทั้งแบคทีเรียชนิดแกรมบวกและแกรมลบ โดยชั้นนี้ประกอบด้วยฟอสโฟไลปิด (phospholipids) เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่ไม่ชอบน้ำจะเป็นส่วนหาง เช่น กลุ่มอัลคิล ส่วนที่ชอบน้ำจะเป็นส่วนหัว เช่นกลุ่มที่มีประจุหรืออัลกอฮอล์ โดยจะหันส่วนหางเข้าหากันและหันส่วนหัวออกในลักษณะที่เป็นลามินาร์ ไบเลเยอร์ (lamellar bilayer) ดังแสดงในรูปที่ 3..2



รูปที่ 3.2 แสดงรายละเอียดของพลาสมาเมมเบรน (Belter และคณะ, 1988)

โดยทั่วไปแล้วโครงสร้างทั้ง 3 ชั้นจะมีหน้าที่แตกต่างกัน โดยชั้นนอกสุดและชั้นเปปติโดไกลแคนจะเป็นชั้นที่สร้างความแข็งแรงให้กับเซลล์ ดังนั้นสองส่วนนี้จึงเป็นส่วนที่ต้องถูกย่อยสลาย ส่วนชั้นพลาสมาเมมเบรนจะเป็นชั้นที่อ่อนแอมีหน้าที่ควบคุมการส่งผ่านสารอาหารภายในเซลล์ ซึ่งก็คือ

ส่วนของไซโทพลาสซึม ที่ประกอบด้วยสารละลายของเกลือ น้ำตาล กรดอะมิโน และไบโอพอลิเมอร์ซึ่งรวมถึงโปรตีน เอนไซม์ RNA และ DNA

การแยกผลิตภัณฑ์ในกระบวนการทางชีวภาพ ปกติมักจะเริ่มจากการแยกเซลล์ออกจากน้ำหมักโดยการกรองหรือใช้แรงเหวี่ยง ซึ่งผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่มักจะอยู่ในน้ำหมัก เช่น สารปฏิชีวนะ กรดอะมิโน และ เอนไซม์บางชนิด โดยจะทำการแยกน้ำหมักออกจากเซลล์ และทำผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ บางกรณีผลิตภัณฑ์จะอยู่ในเซลล์ เช่น โปรตีน ไขมัน และ สารปฏิชีวนะบางชนิด ดังนั้นจึงต้องทำให้เซลล์แตกออกก่อนโดยการย่อยผนังเซลล์

3.1.2 วิธีการย่อยเซลล์

การนำผลิตภัณฑ์ออกจากเซลล์โดยปกติมักจะเกี่ยวข้องกับการย่อยผนังเซลล์ ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 วิธีใหญ่ๆ ดังนี้

3.1.2.1 การย่อยเซลล์โดยวิธีทางเคมี (Chemical method) แบ่งออกเป็น

(ก) การทำปฏิกิริยากับเอนไซม์

เอนไซม์ที่ใช้จะถูกเติมลงไปในสารละลายที่มีเซลล์อยู่ โดยเอนไซม์จะทำปฏิกิริยากับผนังเซลล์และทำลายผนังเซลล์ แต่จะไม่ทำลายสารอื่นที่อยู่ในเซลล์ เนื่องจากเอนไซม์สามารถจะเลือกทำปฏิกิริยาเฉพาะผนังเซลล์ได้ การย่อยด้วยเอนไซม์นี้จะมีประสิทธิภาพสูง แต่ต้องใช้ต้นทุนที่สูงขึ้นเช่นกัน ดังนั้นจึงไม่เหมาะสำหรับกระบวนการใหญ่ๆ

(ข) การทำปฏิกิริยากับสารอัลคาไลด์

สารอัลคาไลด์ถูกเติมลงไปในสารละลายที่มีเซลล์อยู่ โดยสารอัลคาไลด์จะทำปฏิกิริยากับผนังเซลล์เช่น สaponification) โดยการเปลี่ยนองค์ประกอบผนังเซลล์เป็นดีเทอร์เจนต์ (detergent) และทำให้โปรตีนเสียสภาพ (denaturation) โดยไม่มีการเลือก

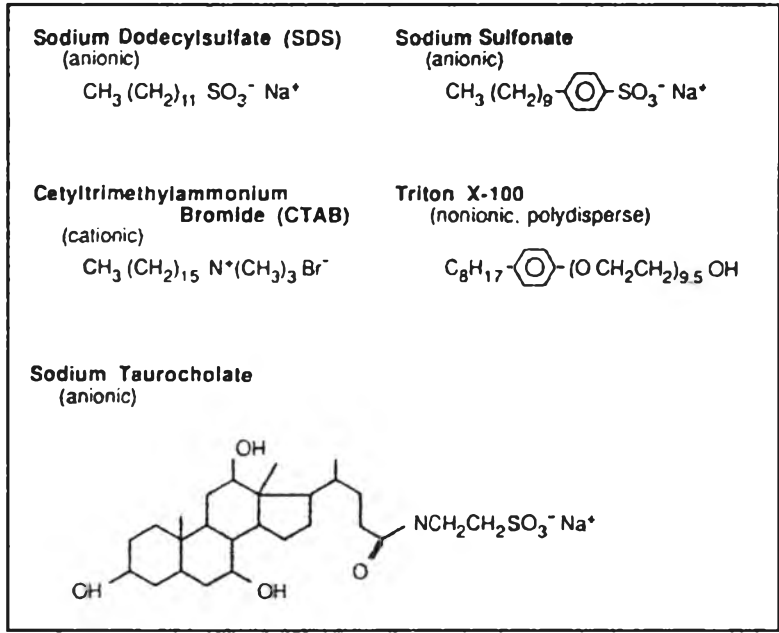
ทำปฏิกิริยา คือจะทำลายทั้งผนังเซลล์และผลิตภัณฑ์บางส่วน การทำปฏิกิริยาด้วยสารอัลคาไลด์นี้จะรุนแรงกว่าการใช้เอนไซม์ แต่จะใช้ต้นทุนที่ต่ำกว่า

(ค) การใช้ Osmotic shock

เป็นกระบวนการที่ง่ายที่สุด คือการใส่เซลล์ลงในน้ำบริสุทธิ์ ปกติใช้น้ำเป็นสองเท่าของเซลล์ จะทำให้เซลล์เกิดการบวมและแตกออกเนื่องจากการไหลของน้ำเข้าไปในเซลล์ การที่เซลล์จะแตกหรือไม่ขึ้นอยู่กับความแข็งแรงของเซลล์ เช่น เซลล์เม็ดเลือดแดงจะแตกง่าย ส่วนเซลล์พืชจะแตกยาก

(ง) การใช้สารลดแรงตึงผิว

การใช้สารลดแรงตึงผิวเป็นการละลายไขมันที่ผนังเซลล์ ประสิทธิภาพของวิธีนี้ขึ้นอยู่กับชนิดและโครงสร้างของสารลดแรงตึงผิว โครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวจะมีทั้งส่วนที่ชอบน้ำส่วนมากเป็นสารอีนิก และส่วนที่ไม่ชอบน้ำส่วนมากเป็นสารไฮโดรคาร์บอน ดังแสดงในรูปที่ 3.3 ดังนั้นสารลดแรงตึงผิวจึงสามารถทำปฏิกิริยาได้ทั้งไขมันและน้ำ

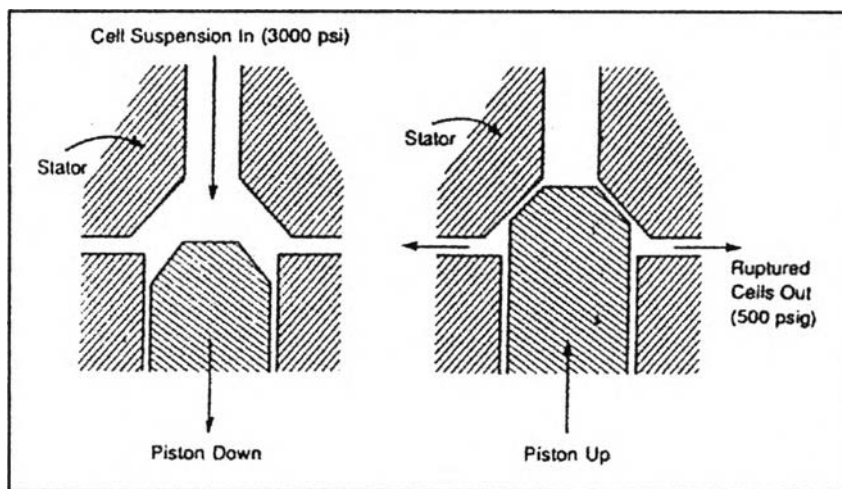


รูปที่ 3.3 แสดงโครงสร้างทางเคมีของสารลดแรงตึงผิวชนิดต่างๆ (Belter และคณะ, 1988)

3.1.2.2 การย่อยเซลล์โดยวิธีทางกล (Mechanical method) แบ่งออกเป็น

(ก) การใช้ไฮโมจิเนเซอร์

เซลล์จะถูกทำให้แตกโดยแรงเฉือนระหว่างสเตเตอร์ (stator) กับ ลูกสูบ (piston) ในไฮโมจิเนซิงวาล์ว (homogenizing valve) ดังแสดงในรูปที่ 3.4 โดยแรงเฉือนที่ได้ จะขึ้นอยู่กับความดัน ความถี่ในการขึ้นลงของลูกสูบ ความหนาแน่น และช่องว่างระหว่างลูกสูบ กับ สเตเตอร์



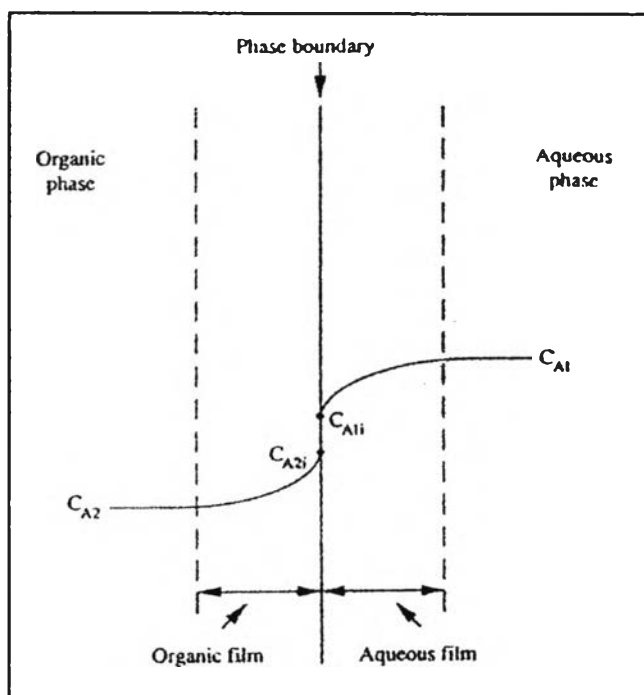
รูปที่ 3.4 แสดงไฮโมจิเนซิงวาล์ว (homogenizing valve) ในเครื่องไฮโมจิเนเซอร์

(ข) การใช้คลื่นเหนือเสียง

เป็นการใช้คลื่นเสียงที่มีความถี่มากกว่า 16 กิโลเฮิร์ต ทำให้เกิดความดันช่วงอัดและช่วงขยาย เป็นผลทำให้เกิดฟองและการแตกของฟองอย่างรุนแรงเป็นผลทำให้เซลล์แตกได้ โดยแบคทีเรียชนิดแกรมลบจะแตกง่ายกว่าชนิดแกรมบวก การทำให้เซลล์แตกโดยใช้คลื่นเหนือเสียงมักใช้กันอย่างกว้างขวางในระดับห้องปฏิบัติการ อย่างไรก็ตามการใช้ในระดับอุตสาหกรรมต้องใช้ต้นทุนสูง

3.2 ทฤษฎีการสกัด (Doran, 1995)

การถ่ายเทมวลระหว่างของเหลว 2 ชนิดที่ไม่ผสมกัน ดังแสดงในรูปที่ 3.5 พบได้บ่อยๆ ในกระบวนการสกัด และการทำให้ผลิตภัณฑ์บริสุทธิ์ ในกระบวนการทางชีวภาพ เช่น การแยกสารปฏิชีวนะ โปรตีน สเตอลอยด์ และอัลคาลอยด์ ออกจากน้ำหมัก



รูปที่ 3.5 แสดงการถ่ายเทมวลระหว่างของเหลว 2 ชนิดที่ไม่ผสมกัน (Doran, 1995)

จากรูปที่ 3.5 อัตราการถ่ายเทมวล (N_A) ในแต่ละวัฏภาคแสดงได้ดังสมการ

$$N_{A1} = k_{L1} a (C_{A1} - C_{A1i}) \quad (3.1)$$

และ

$$N_{A2} = k_{L2} a (C_{A2i} - C_{A2}) \quad (3.2)$$

โดย

k_{L1} คือ liquid-phase mass-transfer coefficient ขึ้นกับของเหลว 1

k_{L2} คือ liquid-phase mass-transfer coefficient ขึ้นกับของเหลว 2

ที่ภาวะคงตัว อัตราการถ่ายเทมวลผ่านของเหลวชนิดที่ 1 จะเท่ากับอัตราการถ่ายเทมวลผ่านของเหลวชนิดที่ 2 คือ $N_{A1} = N_{A2} = N_A$ จัดสมการที่ (3.1) และ (3.2) ใหม่ได้

$$\frac{N_A}{k_{L1}a} = C_{A1} - C_{A1i} \quad (3.3)$$

และ

$$\frac{N_A}{k_{L2}a} = C_{A2i} - C_{A2} \quad (3.4)$$

เนื่องจากค่าความเข้มข้นที่ผิวสัมผัสระหว่างวัฏภาคหาได้ยาก ดังนั้นจึงต้องกำจัดเทอมของ C_{A1i} และ C_{A2i} โดยกำหนดให้เป็นความเข้มข้นที่สมดุลกันและสัมพันธ์กันด้วย distribution coefficient หรือ partition coefficient (m) ตามสมการ

$$m = \frac{C_{A2i}}{C_{A1i}} \quad (3.5)$$

จากสมการที่ (3.5) สามารถจัดรูป (3.3) และ (3.4) ใหม่ได้

$$\frac{N_A}{k_{L1}a} = C_{A1} - \frac{C_{A2i}}{m} \quad (3.6)$$

และ

$$\frac{N_A}{k_{L2}a} = mC_{A1i} - C_{A2} \quad (3.7)$$

สมการที่ (3.3) คูณด้วย m และ สมการที่ (3.4) หารด้วย m จะได้

$$\frac{mN_A}{k_{L1}a} = mC_{A1} - mC_{A1i} \quad (3.8)$$

และ

$$\frac{N_A}{mk_{L2}a} = \frac{C_{A2i}}{m} - \frac{C_{A2}}{m} \quad (3.9)$$

ดังนั้นสามารถกำจัดความเข้มข้นที่ผิวสัมผัสร่วมระหว่างวัฏภาคได้โดยรวมสมการที่

(3.7) กับ (3.8) และ (3.6) กับ (3.9) จะได้

$$N_A \left(\frac{1}{k_{L2}a} + \frac{m}{k_{L1}a} \right) = mC_{A1} - C_{A2} \quad (3.10)$$

และ

$$N_A \left(\frac{1}{k_{L2}a} + \frac{1}{mk_{L1}a} \right) = C_{A1} - \frac{C_{A2}}{m} \quad (3.11)$$

ดังนั้นจากสมการที่ (3.10) และ (3.11) สามารถเขียนเทอมของ overall liquid-phase mass-transfer coefficient, K_L

$$\frac{1}{K_{L1}a} = \left(\frac{1}{k_{L2}a} + \frac{m}{k_{L1}a} \right) \quad (3.12)$$

และ

$$\frac{1}{K_{L2}a} = \left(\frac{1}{k_{L1}a} + \frac{1}{mk_{L2}a} \right) \quad (3.13)$$

โดย

K_{L1} คือ overall liquid-phase mass-transfer coefficient ขึ้นกับของเหลว 1

K_{L2} คือ overall liquid-phase mass-transfer coefficient ขึ้นกับของเหลว 2

แทนสมการที่ (3.12) และ (3.13) ลงในสมการที่ (3.10) และ (3.11) ตามลำดับ จะได้

$$\frac{N_A}{K_{L1}a} = mC_{A1} - C_{A2} \quad (3.14)$$

และ

$$\frac{N_A}{K_{L2}a} = C_{A1} - \frac{C_{A2}}{m} \quad (3.15)$$

รวมสมการที่ (3.14) และ (3.15) แล้วจัดสมการใหม่ สามารถสรุปอัตราการถ่ายเทมวลในระบบของเหลวสองชนิดที่ไม่ผสมกันได้ดังนี้

$$N_A = \frac{C_{A1}(m+1) - C_{A2} \left(1 + \frac{1}{m}\right)}{\frac{1}{K_{L1}a} + \frac{1}{K_{L2}a}} \quad (3.16)$$

หรือ

$$J_A = \frac{N_A}{a} = \frac{C_{A1}(m+1) - C_{A2} \left(1 + \frac{1}{m}\right)}{\frac{1}{K_{L1}} + \frac{1}{K_{L2}}} \quad (3.17)$$

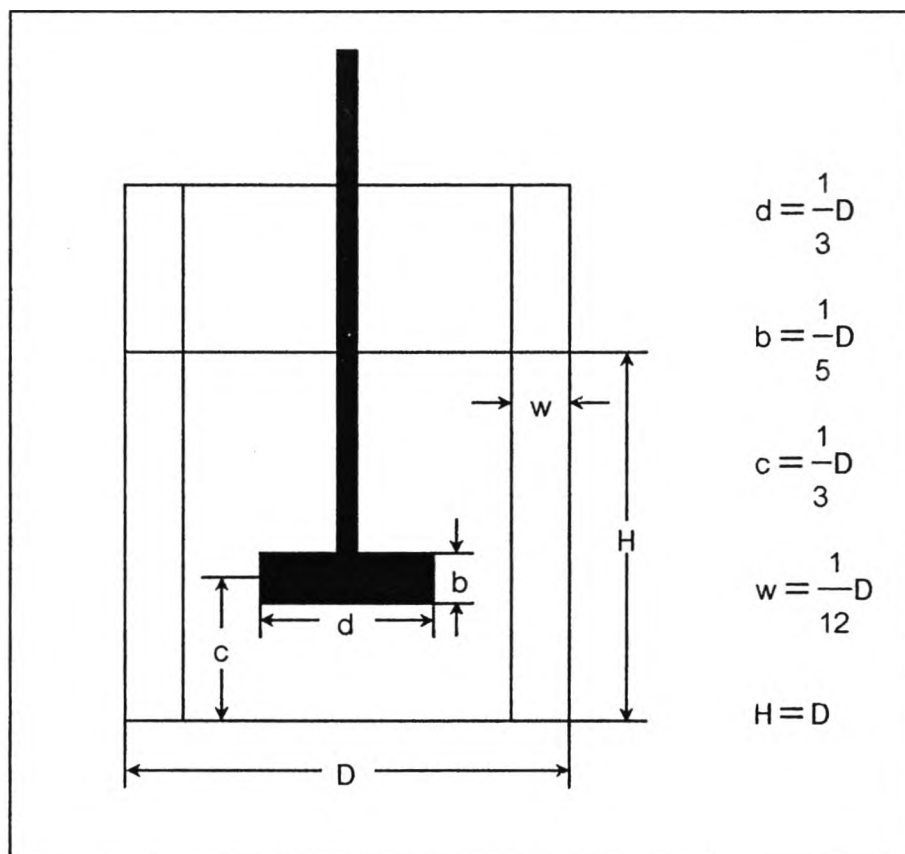
3.3 ทฤษฎีการกวนในระบบของเหลวสองชนิดที่ไม่ผสมกัน (Shinji, 1975)

3.3.1 พื้นที่ผิวสัมผัสจำเพาะ

การกวนในระบบของเหลว-ของเหลวในถังกวนแบบไม่ต่อเนื่อง ดังแสดงในรูปที่ 3.6 มี

วัตถุประสงค์เพื่อ

- เพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสจำเพาะโดยการเพิ่มการกระจายตัวของของเหลวหนึ่งในอีกของเหลวหนึ่ง
- ลดความต้านทานการแพร่ภายนอกอนุภาคที่กระจายตัว
- เพิ่มอัตราการถ่ายเทมวล
- ทำให้อนุภาคที่กระจายตัวไม่รวมตัวกัน



รูปที่ 3.6 แสดงขนาดของถังกวนตามมาตรฐาน (McCabe, 1993)

การเพิ่มอัตราการกวนจะทำให้ของเหลวหนึ่งกระจายตัวในอีกของเหลวหนึ่งได้ดีขึ้น และขนาดของเม็ดที่กระจายตัวเล็กลงเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสจำเพาะ ทำให้อัตราการถ่ายเทมวลเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นไปตามสมการสหสัมพันธ์ของ Vermeulen โดยได้เสนอสมการสำหรับหาพื้นที่ผิวสัมผัสจำเพาะ a ($=A/V \text{ cm}^{-1}$) จากการทดลองโดยใช้เทคนิคการวัดด้วยการส่งผ่านของแสง (light transmission)

$$a = \frac{6\phi}{d_{sm}} = 72 \frac{n^{1.2} d^{0.8} \rho_o^{0.6} \phi}{\sigma^{0.6} \bar{f}_\phi} \quad (3.18)$$

และ

$$\rho_o = 0.6\rho_d + 0.4\rho_c \quad (3.19)$$

โดย

a = พื้นที่ผิวสัมผัสจำเพาะ (cm^2/cm^3)

ϕ = สัดส่วนโดยปริมาตรของวัฏภาคที่กระจายตัวต่อปริมาตรทั้งหมด (-)

d_{sm} = เส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของอนุภาคที่กระจายตัว (cm)

n = อัตราการกวน (รอบต่อวินาที)

d = เส้นผ่าศูนย์กลางของใบกวน (cm)

ρ_o = ความหนาแน่นเฉลี่ยของของเหลว (g/cm^3)

ρ_d = ความหนาแน่นของของเหลว disperse phase (g/cm^3)

ρ_c = ความหนาแน่นของของเหลว continuous phase (g/cm^3)

\bar{f}_ϕ = อัตราส่วนระหว่างเส้นผ่าศูนย์กลางของอนุภาคจริงต่อเส้นผ่าศูนย์กลางของ

อนุภาคที่ $\phi=0.1$ (-) ดังแสดงในรูปที่ 3.7

σ = แรงตึงผิวที่ผิวสัมผัสร่วม (dynes/cm)

3.3.2 กำลังที่ใช้ในการกวน (Shuichi Aiba, 1973)

กำลังที่ใช้ในการกวนสามารถหาได้จากความสัมพันธ์ระหว่าง Power number กับ

Reynolds number ดังแสดงในรูปที่ 3.8 และจากสมการทั้งสอง

$$\text{Power number } (N_p) = \frac{Pg_c}{n^3 D_i^5 \rho_e} \quad (3.20)$$

โดย

$$P = \text{กำลัง (g-cm/sec)}$$

$$g_c = 981 \text{ cm/sec}^2$$

$$n = \text{อัตราการกวน (รอบต่อวินาที)}$$

$$D_i = \text{เส้นผ่าศูนย์กลางของใบกวน (cm)}$$

$$\rho_e = \text{ความหนาแน่นเฉลี่ยของของเหลว (g/cm}^3\text{)}$$

และ

$$\text{Reynolds number } (N_{Re}) = \frac{nD_i^2 \rho_e}{\mu} \quad (3.21)$$

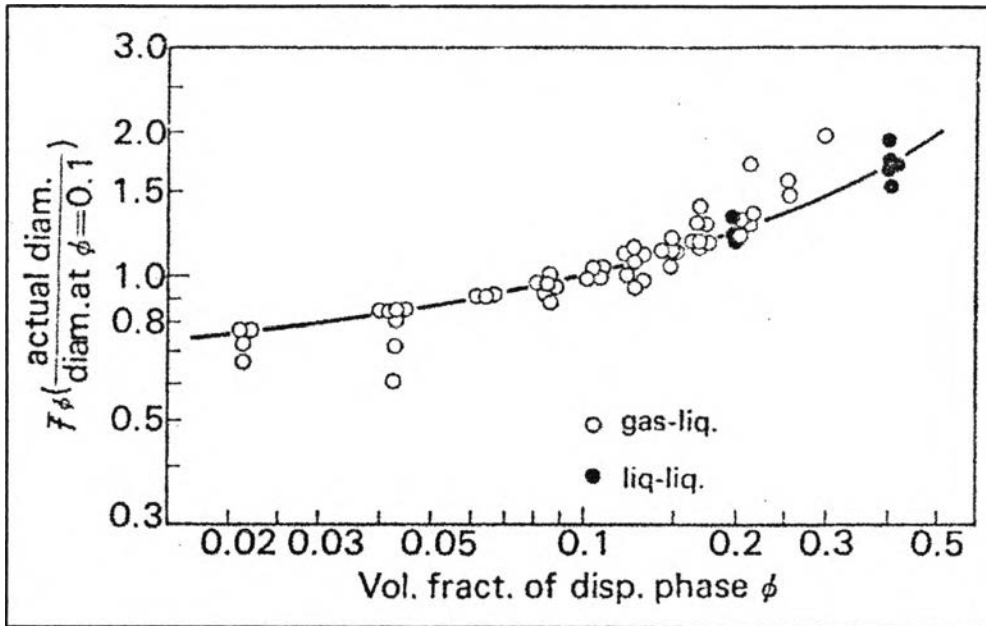
โดย

$$n = \text{อัตราการกวน (รอบต่อวินาที)}$$

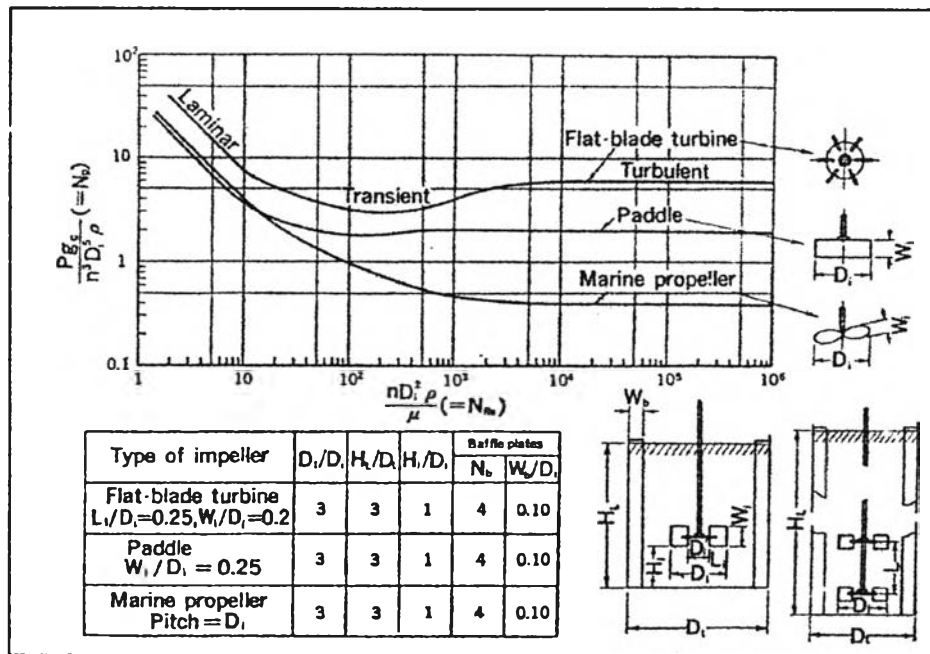
$$D_i = \text{เส้นผ่าศูนย์กลางของใบกวน (cm)}$$

$$\rho_e = \text{ความหนาแน่นเฉลี่ยของของเหลว (g/cm}^3\text{)}$$

$$\mu = \text{ความหนืด (g/cm-sec)}$$



รูปที่ 3.7 แสดงอัตราส่วนระหว่างเส้นผ่าศูนย์กลางของอนุภาคจริงต่อเส้นผ่าศูนย์กลางของอนุภาคที่ $\phi=0.1$ (Shuichi Aiba, 1973)



รูปที่ 3.8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Power number (N_p) กับ Reynolds number (N_{Re}) (Shuichi Aiba, 1973)