

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การพัฒนาถังสัมผัสแบบอากาศยกเพื่ออุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

โดย นายประเสริฐ ภาวนันต์

สิงหาคม 2550

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การพัฒนาถังสัมผัสแบบอากาศยกเพื่ออุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

โดย

นายประเสริฐ ภาสันต์

ภาควิชาวิศวกรรมเคมี

คณะวิศวกรรมศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย
(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย
สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

Abstract

This work is the extension of the author's previous work supported by TRF on the investigation of hydrodynamic behavior, gas-liquid mass transfer and the design of airlift contactors. In this work, the focuses were given on the examination of various aspects of the airlift systems both fundamental and application wise. Large scale airlift contactors were examined for their performance both in terms of hydrodynamic behavior and mass transfer between gas and liquid phases. Multiple draft tube system was suggested as options which could, to some extent, dampen the effect of non-ideality occurred as the system was enlarged. Next, the influence of salinity on the operation of the airlift system was investigated as, in several circumstances, the airlift was applied for the aquaculture applications where sea water was used as medium. Sea water reduced the size of bubbles considerably and the full examination of the gas-liquid mass transfer in these airlift systems was carried out. The airlift was employed as a photobioreactors for the cultivation of two types of single cell algae, i.e. *Chaetoceros calcitrans* (marine diatom) and *Haematococcus pluvialis* (fresh water alga). The first one was commonly used as a feed for marine hatchery such as shrimp or fish whereas the later was known to be one of the best sources of the antioxidant astaxanthin. It was shown that the airlift systems could offer several advantages over conventional culture systems for both cell cultures.

Key word: airlift contactor, mass transfer, cell cultivation, diatom, single cell algae, antioxidant

บทคัดย่อ

โครงการวิจัยนี้เป็นงานวิจัยต่อเนื่องมาจากการเดิมที่สกว.ได้ให้การสนับสนุน คือ งานทางด้านการพัฒนาความรู้พื้นฐานทางด้านพฤติกรรมอุทกพลศาสตร์และการถ่ายเทมวลสารเพื่อช่วยในการออกแบบถังสัมผัสระหว่างก๊าซและของเหลวแบบอากาศยก โดยโครงการวิจัยนี้ได้ศึกษาเพิ่มเติมทั้งในส่วนที่เป็นความรู้พื้นฐานและการนำไปใช้ประโยชน์ ในส่วนของความรู้พื้นฐาน การวิจัยได้เน้นการศึกษาผลของการขยายขนาดต่อพฤติกรรมของถังสัมผัสแบบอากาศยก เมื่อถังสัมผัสแบบอากาศยกมีขนาดใหญ่ขึ้น จะเกิดลักษณะการไหลแบบไม่อุดมคติ ทำให้ความเร็วของการไหลวนของของเหลวลดลง และทำให้การดำเนินงานเชิงการถ่ายเทมวลสารระหว่างวัฏภาคของเหลวและก๊าซต่ำลงด้วย ปัญหาที่สามารถแก้ไขได้บางส่วนโดยการเปลี่ยนโครงสร้างของถังสัมผัส ฯ เป็นแบบท่อภายในหลายท่อ งานวิจัยลำดับต่อไปเป็นการศึกษาถึงผลของความเค็มต่อพฤติกรรมของถังสัมผัส ฯ ทั้งนี้เนื่องจากการใช้งานของถังสัมผัส ฯ ส่วนหนึ่งจะต้องเกี่ยวข้องกับการใช้น้ำทะเลเป็นวัฏภาคของเหลว ซึ่งความเค็มนี้จะมีผลทำให้ฟองอากาศมีขนาดเล็กลง ผลจากงานวิจัยได้แสดงถึงผลของความเค็มต่อพฤติกรรมทั้งทางด้านอุทกพลศาสตร์และการถ่ายเทมวลสารระหว่างวัฏภาคของระบบ งานทางด้านการใช้งานจริงนั้นเป็นการแสดงให้เห็นถึงศักยภาพในการพัฒนาระบบถังสัมผัสแบบอากาศยกเป็นถึงปฏิกรณ์ทางชีวภาพสำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียว โดยยกตัวอย่างเซลล์ 2 ประเภท คือ เซลล์ของ *Chaetoceros calcitrans* และเซลล์ของ *Haematococcus pluvialis* ซึ่งเซลล์ชนิดแรกเป็นไดอะตอมที่เจริญเติบโตในน้ำทะเล และใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมการอนุบาลสัตว์น้ำ เช่น ลูกกุ้ง ลูกปลา ในขณะที่เซลล์ชนิดที่สองเป็นเซลล์สาหร่ายน้ำจืดที่สามารถผลิตสาร *astaxanthin* ซึ่งเป็น antioxidant ที่ดีที่สุดชนิดหนึ่ง โดยผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าระบบแบบอากาศยกนั้นมีพฤติกรรมที่เหนือว่ารูปแบบการเพาะเลี้ยงแบบดั้งเดิม (เช่นการเพาะเลี้ยงในระบบ bubble column) สำหรับเซลล์ทั้งสองประเภท

คำสำคัญ: ถังสัมผัสแบบอากาศยก, การถ่ายเทมวล, ระบบการเพาะเลี้ยงเซลล์, ไดอะตอม, สาหร่ายเซลล์เดียว, สารต้านอนุมูลอิสระ

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณในความกรุณาของสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยที่การสนับสนุนงานวิจัยประยุกต์ทางด้านการออกแบบระบบถังสัมผัสแบบอากาศยกอย่างต่อเนื่องตลอดเวลา 6 ปีที่ผ่านมา ทำให้งานวิจัยดำเนินการไปได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณความร่วมมือจาก รศ.ดร.รัชชัย ชรินทร์พานิชกุล ผศ.ดร.อาทิวรรณ โชติพิฤกษ์ อาจารย์ประจำภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และ ดร.สรวิศ เผ่าทองสุข จากศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทาง ด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล ณ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ที่ได้ให้ความสนใจและความสนับสนุนทางด้านการใช้งานระบบถังสัมผัสแบบอากาศยกในเทคโนโลยีชีวภาพ และที่ลืมไม่ได้คือความช่วยเหลือทางด้านการทดลองของทีมีวิจัย ดังนี้ ดร.พรทิพย์ วงศ์สุโขโต ดร. สนธยา กริชนวรักษ์ น.ส. วรพรรณี เหล่าทวีทรัพย์ น.ส.ดวงกมล เรือนงาม น.ส.นลินี ตันตฤกุล น.ส.กมลวรรณ แก้วปิ่นทอง น.ส. อภิรดี ลิ้มปานภาพ นายกীরติ อีสระพ่ายัพ นายเจนวิทย์ ลั่นทอง และนายภูซงค์ ศรีอ่วม

ประเสริฐ ภาวสันต์

สารบัญ

Abstract	1
บทคัดย่อ	2
กิตติกรรมประกาศ	3
สารบัญ	4
Executive Summary	5
 <u>เนื้อหางานวิจัย</u>	
บทที่ 1 การศึกษาเกี่ยวกับการขยายขนาดของถังหมัสดังแบบอากาศยก	8
บทที่ 2 ผลของความเค็มต่อพฤติกรรมของถังหมัสดังแบบอากาศยก	14
บทที่ 3 ระบบถังปฏิกรณ์เชิงแสงแบบอากาศยกสำหรับการเพาะเลี้ยงเซลล์	23
บทที่ 4 การพัฒนาระบบสำหรับการเลี้ยง Haematococcus pluvialis และการผลิตสาร Astaxanthin	35
บทที่ 5 สรุป	43
 Output ที่ได้จากโครงการนี้	 44
ภาคผนวก 1	45
ภาคผนวก 2	54
ภาคผนวก 3	62
ภาคผนวก 4	74
ภาคผนวก 5	83

Executive Summary

โครงการวิจัยนี้เน้นศึกษาทั้งทางด้านความรู้พื้นฐานทางการออกแบบระบบถังสัมผัสแบบอากาศยก และการปรับใช้งานจริงกับงานด้านอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยมีวัตถุประสงค์ 4 ประการดังนี้

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาผลของการขยายขนาด (Scale-up) ของถังสัมผัสแบบอากาศยกแบบไหลวนภายในต่อพฤติกรรมทางด้านอุทกพลศาสตร์และการถ่ายเทมวลสารระหว่างวัฏภาคก๊าซและของเหลว
2. ศึกษาผลของน้ำทะเลต่อพฤติกรรมทางด้านอุทกพลศาสตร์และการถ่ายเทมวลสารระหว่างวัฏภาคของเหลวและก๊าซภายในถังสัมผัสแบบอากาศยก
3. ออกแบบระบบถังปฏิกรณ์ทางชีวภาพแบบอากาศยกเพื่อการเพาะเลี้ยงเซลล์ของไดอะตอม *Chaetoceros calcitrans*
4. ออกแบบระบบการเลี้ยงสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* เพื่อการผลิตสาร Astaxanthin

1. ผลของการขยายขนาดของถังสัมผัสแบบอากาศยกแบบไหลวนภายในต่อ

ถังสัมผัสแบบอากาศยกที่มีขนาดใหญ่มักจะเกิดปัญหาเกี่ยวกับการไหลวนภายในส่วน riser ซึ่งทำให้ความเร็วรวมในการไหลวนมีค่าลดลง และส่งผลให้สัดส่วนก๊าซลดลงและค่าความเร็วในการถ่ายเทมวลสารระหว่างวัฏภาคของเหลวและก๊าซลดลงด้วย ปัญหาสำหรับถังสัมผัสแบบอากาศยกขนาดใหญ่สามารถแก้ไขได้โดยการปรับปรุงรูปแบบการจัดวางของท่อภายใน ซึ่งทำได้ 2 ลักษณะ คือ การเพิ่มจำนวนท่อภายใน (โดยควบคุมให้สัดส่วนพื้นที่ระหว่าง downcomer และ riser ให้คงที่) และการปรับลักษณะการจัดวางของท่อภายใน ในการวิจัยครั้งนี้ ผลของการขยายขนาดแสดงให้เห็นโดยใช้พฤติกรรมของถังสัมผัสแบบอากาศยกขนาด 170 ลิตร ที่มีจำนวนท่อภายในแตกต่างกัน พบว่า เมื่อเพิ่มจำนวนท่อภายใน ทำให้มีการกระจายตัวของพื้นที่ส่วน riser อย่างสม่ำเสมอภายในพื้นที่หน้าตัดของถังสัมผัส ฯ จึงช่วยลดการไหลวนภายในส่วน riser นั่นคือ ทำให้ของเหลวไหลได้เร็วขึ้น ซึ่งในที่นี้การที่ของเหลวไหลได้เร็วจะมีส่วนช่วยเพิ่มปริมาณก๊าซในส่วน downcomer และช่วยเพิ่มค่าสัมประสิทธิ์รวมเชิงปริมาตรของการถ่ายเทมวลสารระหว่างวัฏภาคของเหลวและก๊าซ โดยระบบที่มีจำนวนท่อภายใน 4 ท่อให้ค่าสัมประสิทธิ์รวมเชิงปริมาตรของการถ่ายเทมวลสารระหว่างวัฏภาคของเหลวและก๊าซสูงกว่าระบบที่มีท่อภายในเพียงท่อเดียวถึงเกือบ 2 เท่า

2. ผลของน้ำทะเลต่อพฤติกรรมทางด้านอุทกพลศาสตร์และการถ่ายเทมวลสารระหว่างวัฏภาคของเหลวและก๊าซภายในถังสัมผัสแบบอากาศยก

การใช้งานถังสัมผัสแบบอากาศยกรูปแบบหนึ่ง คือ การใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์ ซึ่งในงานวิจัยครั้งนี้ การเพาะเลี้ยงเซลล์มีทั้งเซลล์ที่เจริญเติบโตในน้ำจืดและในน้ำทะเล งานวิจัยพื้นฐานส่วนใหญ่ศึกษาพฤติกรรมของถังสัมผัสแบบอากาศยกโดยใช้น้ำจืดเป็นวัฏภาคของเหลว ทำให้ขาดข้อมูลพฤติกรรมของระบบเมื่อดำเนินงานกับของเหลวที่เป็นน้ำทะเล งานวิจัยในส่วนนี้ได้ทำการศึกษาพฤติกรรมของถังสัมผัสแบบอากาศยกที่ใช้กับน้ำทะเล โดยสารละลายอิเล็กโตรไลต์เช่นน้ำทะเลมีคุณสมบัติในการส่งเสริมการแตกตัวของฟองอากาศ ทำให้ฟองที่เกิดขึ้นในระบบมีขนาดค่อนข้างเล็ก และช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวในการถ่ายเทมวลสารระหว่างวัฏภาคของเหลวและก๊าซ แต่เมื่อเปรียบเทียบผลการดำเนินงานกับระบบที่ใช้น้ำจืด พบว่าค่าสัมประสิทธิ์รวมเชิงปริมาตรของการถ่ายเทมวลสารระหว่างวัฏภาคของเหลวและก๊าซในน้ำทะเลมีค่าต่ำกว่าในน้ำจืด ทั้งนี้เนื่องจากน้ำเค็มจะมีผลในการสร้างชั้นความต้านทานการถ่ายเทมวลสารที่ผิวของฟองอากาศทำให้การเคลื่อนผ่านของออกซิเจนเกิดขึ้นได้ยากขึ้น นอกจากนี้การวิเคราะห์เชิงทฤษฎีพบว่าค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลสารระหว่างวัฏภาคของเหลวและก๊าซมีค่าต่ำลงในน้ำเค็มเมื่อความเร็วของอากาศที่ป้อนเข้าสู่ระบบเพิ่มขึ้น

3. การออกแบบระบบถังปฏิกรณ์ทางชีวภาพแบบอากาศยกเพื่อการเพาะเลี้ยงเซลล์ของไดอะตอม *Chaetoceros calcitrans*

ถังสัมผัสแบบอากาศยกได้ถูกนำมาใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงเซลล์ของไดอะตอม *Chaetoceros calcitrans* โดยมีการเพาะเลี้ยงในระบบแบบ 17 ลิตร เพื่อเปรียบเทียบผลการดำเนินงาน พบว่าเซลล์สามารถเจริญเติบโตได้ด้วยอัตราการผลิตจำเพาะเท่ากับ 5.54×10^4 เซลล์ต่อลิตรต่อวินาที และได้จำนวนเซลล์สูงสุดเท่ากับ 8.88×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ที่ความเร็วไหลเปล่าของอากาศเท่ากับ 3 เซนติเมตรต่อวินาที โดยที่ผลของสัดส่วนพื้นที่ส่วน downcomer และ riser ไม่ส่งผลต่อการดำเนินงานของระบบอย่างมีนัยสำคัญ ระบบนี้มีประสิทธิภาพสูงกว่าระบบดั้งเดิมในการเพาะเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* ซึ่งเป็นการเพาะเลี้ยงในระบบแบบ bubble column รวมทั้งการเพาะเลี้ยงในบ่อปูนขนาดใหญ่ ที่ได้เซลล์ที่มีความเข้มข้นสูงสุดเพียง 2×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงทั้งหมดเท่ากับ 4-5 วัน ดังนั้นระบบถังปฏิกรณ์แบบอากาศยกขนาด 17 ลิตร จำนวน 2 ถังจะสามารถให้ประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงเท่ากับระบบบ่อเพาะเลี้ยงขนาด 5 ตัน จำนวน 1 บ่อ จึงเป็นระบบที่มีศักยภาพในการขยายผลสำหรับเกษตรกรรายย่อยต่อไปได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ *Chaetoceros calcitrans* มี 2 ข้อสำคัญ คือ การบดบังแสงเนื่องจากฟองอากาศที่อยู่ใน downcomer และการบดบังแสงเนื่องจากเซลล์ที่เจริญเติบโตจนเข้มข้น ซึ่งการออกแบบถังปฏิกรณ์ที่เหมาะสมสามารถช่วยลดผลจากปัจจัยทั้งสองนี้ได้ โดยการออกแบบระบบให้มีส่วน gas-liquid separator ใหญ่ขึ้นจะช่วยให้ออกซิเจนหลุดออกจากระบบได้ดีขึ้น และมีฟองอากาศ

ไหลวนลงมาในส่วน downcomer น้อยลง ช่วยลดผลจากการบดบังแสงจากฟองอากาศได้ และการออกแบบให้เป็นระบบแบบต่อเนื่อง โดยมีการไหลจากถังปฏิกรณ์หนึ่งไปยังถังปฏิกรณ์ต่อไป ซึ่งการออกแบบลักษณะนี้จะทำให้ถังปฏิกรณ์แบบอากาศยกแต่ละถังมีความหนาแน่นน้อยลง ช่วยให้แสงสามารถส่องผ่านได้ดีขึ้น และจำกัดให้เซลล์ที่เข้มข้นมีอยู่ในถังปฏิกรณ์ถึงหลังเท่านั้น จึงช่วยลดผลจากการบดบังแสงของเซลล์ที่เข้มข้นได้

4. การออกแบบระบบถังปฏิกรณ์ทางชีวภาพแบบอากาศยกเพื่อการเพาะเลี้ยงเซลล์ของไค

อะตอม *Haematococcus pluvialis*

Haematococcus pluvialis เป็นสาหร่ายเซลล์เดียวที่มีศักยภาพในการผลิตสาร antioxidant astaxanthin ในปริมาณสูง จึงมีโอกาสในการขยายผลเชิงธุรกิจภายในประเทศได้ ในปัจจุบันยังไม่มีระบบการเพาะเลี้ยงในประเทศที่ประสบความสำเร็จ งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพในการใช้ถังผสมแบบอากาศยกในการเพาะเลี้ยงเซลล์สาหร่ายนี้ โดยสารอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเป็นแบบ F1 ซึ่งพบว่าให้ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด และการเพาะเลี้ยงในระบบถังปฏิกรณ์แบบอากาศยกสามารถให้ค่าการเจริญเติบโตสูงสุดที่ 0.31 ต่อวัน ซึ่งเมื่อเทียบกับค่าที่มีรายงานในอดีต พบว่าเป็นระดับการเจริญเติบโตที่ค่อนข้างสูง และให้ปริมาณเซลล์สูงสุดที่ 4×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตรเมื่อดำเนินการที่ค่าความเร็วรอบเปล่าของอากาศเท่ากับ 0.4 เซนติเมตรต่อวินาที การวิจัยแสดงให้เห็นว่า ระบบนี้สามารถดำเนินการในลักษณะกึ่งต่อเนื่อง คือ ให้ตั้งผลิตภัณฑ์เซลล์ออกจากระบบได้ทุก ๆ 7-8 วัน และทำการเพาะเลี้ยงได้อย่างต่อเนื่อง

เนื้อหางานวิจัย

บทที่ 1 การศึกษาเกี่ยวกับการขยายขนาดของถังสัมผัสแบบอากาศยก

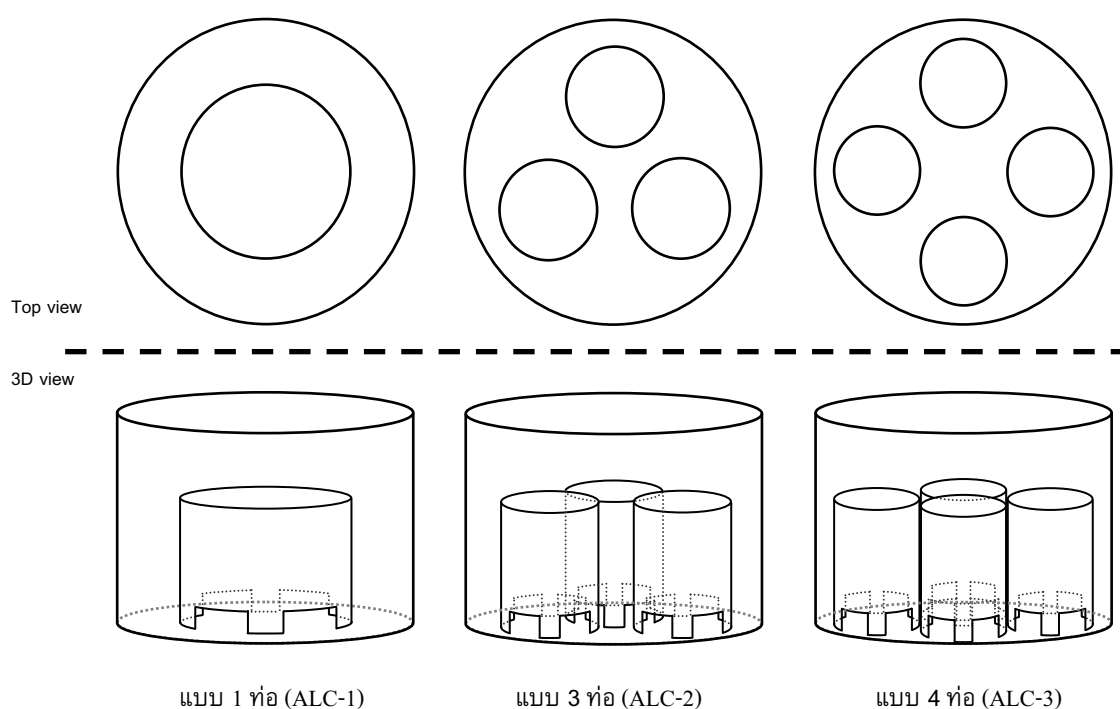
1.1 ที่มา

ถังสัมผัสแบบอากาศยก (Airlift contactor) ที่มีขนาดใหญ่มักจะมีปัญหาที่เกิดขึ้นเนื่องจากความไม่เป็นอุดมคติของระบบ ดังที่ได้เคยรายงานไว้ใน Wongsuchoto and Pavasant (2004) ซึ่งปรากฏการณ์นี้ทำให้เกิดการไหลวนภายในแต่ละส่วนของถังสัมผัส ฯ เอง แทนที่จะเป็นการไหลวนระหว่าง riser และ downcomer ทำให้ความเร็วโดยรวมของการไหลวนของสารค่อนข้างต่ำ และไม่สามารควบคุมได้ การศึกษาผลงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าส่วนใหญ่การขยายขนาดถังสัมผัส ฯ ทำได้โดยเพิ่มความสูงแต่ให้มีขนาดความกว้างและขนาดของท่อภายในคงที่ (Koide et al., 1984; Merchuk et al., 1994; Russell et al., 1994; Shamlou et al., 1995; Choi et al., 1996) ข้อมูลที่จำกัดเหล่านี้ทำให้เกิดปัญหาในการปรับใช้ถังสัมผัสแบบอากาศยกในระบบที่มีขนาดใหญ่ขึ้น ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการให้ข้อมูลสำคัญเบื้องต้นเกี่ยวกับพฤติกรรมของถังสัมผัสแบบอากาศยกที่มีขนาดใหญ่ โดยเน้นที่การปรับเปลี่ยนรูปแบบการติดตั้งท่อภายใน (draft tube) เพื่อปรับปรุงพฤติกรรมการทำงานของระบบ

1.2 การทดลอง

ถังสัมผัสแบบอากาศยกที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นถังทรงกระบอกขนาดความจุสูงสุด 170 ลิตร (ปริมาตรในการใช้งานจริงประมาณ 150 ลิตร) มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 69 ซม. และมีความสูง 56.5 ซม. ภายในมีการติดตั้งท่อภายในซึ่งเป็นท่อทรงกระบอกขนาดเล็กกลวง และทำให้ได้ค่าสัดส่วนระหว่างพื้นที่หน้าตัดของส่วน downcomer และ riser ตามที่ต้องการ ที่ด้านข้างของถังจะมีช่อง 2 ช่องที่อยู่ในระนาบแนวตั้งเดียวกัน เพื่อใช้ในการวัดค่า pressure drop และนำไปคำนวณหาค่าสัดส่วนของก๊าซในระบบ ส่วนความเร็วของของเหลวจะวัดโดยใช้เทคนิคการฉีดสี และวัดความเร็วของการเคลื่อนที่ของกลุ่มสีภายในระบบ

ท่อภายในที่ใช้ภายในระบบนี้มีหลายรูปแบบ โดยในเบื้องต้นกำหนดให้มี แบบ 1 ท่อ แบบ 3 ท่อ และแบบ 4 ท่อ โดยแต่ละรูปแบบจะให้ค่าสัดส่วนระหว่างพื้นที่หน้าตัดของ downcomer และ riser เท่ากันที่ 2.03 โดยแบบ 1 ท่อ ขนาดของท่อภายในเท่ากับ 0.4 เมตร แบบ 3 ท่อ ขนาดของท่อภายในเท่ากับ 0.23 เมตร และแบบ 4 ท่อ ขนาดของท่อภายในเท่ากับ 0.2 เมตร (ดูรูปที่ 1.1 สำหรับรูปแบบการติดตั้งท่อภายใน)



รูปที่ 1.1 การติดตั้งระบบถังสัมผัสแบบอากาศยกดขนาดใหญ่ที่มีท่อภายในหลายรูปแบบ

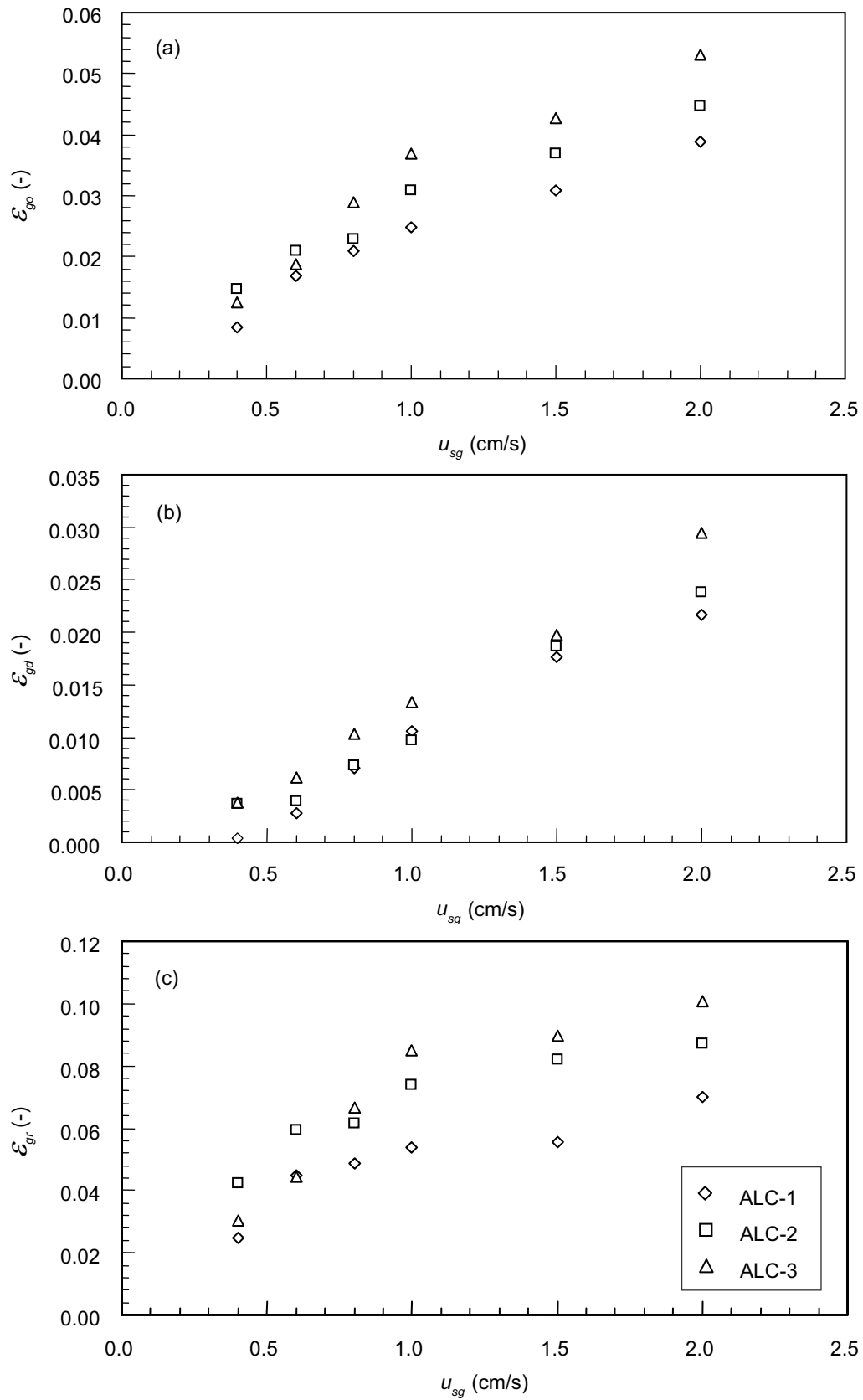
1.3 ผลการทดลองและการวิเคราะห์ผล

1.3.1 ผลการตรวจวัดค่าสัดส่วนก๊าซภายในระบบ

รูปที่ 1.2 แสดงให้เห็นถึงค่าสัดส่วนก๊าซภายในระบบถังสัมผัสแบบอากาศยกดขนาดใหญ่ที่มีรูปแบบของถังภายในแตกต่างกันดังที่ได้กล่าวถึงข้างต้น โดยการตรวจวัดค่าสัดส่วนก๊าซทำได้ 2 รูปแบบ คือ การตรวจวัดค่าสัดส่วนก๊าซรวมภายในระบบทั้งหมด (ε_{go}) โดยดูจากระดับน้ำที่เปลี่ยนไปเมื่อป้อนอากาศเข้าสู่ระบบ และค่าสัดส่วนก๊าซในส่วน downcomer (ε_{gd}) ซึ่งวัดได้จากค่าผลต่างความสูงของระดับน้ำในมานอมิเตอร์ที่ติดอยู่กับบริเวณด้านข้างของถังสัมผัส ฯ ส่วนพอลิต (C) ซึ่งเป็นสัดส่วนก๊าซใน riser (ε_{gr}) นั้นสามารถหาได้จากการคำนวณตามสมการต่อไปนี้

$$V_T \varepsilon_{go} = V_d \varepsilon_{gd} + V_r \varepsilon_{gr} \quad (1.1)$$

เมื่อ V_T คือ ปริมาตรรวมภายในถัง
 V_d คือ ปริมาตรในส่วน Downcomer
 V_r คือ ปริมาตรในส่วน Riser



รูปที่ 1.2 ค่าสัดส่วนก๊าซในถังสัมผัสแบบอากาศยกขนาดใหญ่ที่มีจำนวนท่อภายในต่างกัน (a) สัดส่วนก๊าซรวม (b) สัดส่วนก๊าซใน downcomer และ (c) สัดส่วนก๊าซใน riser

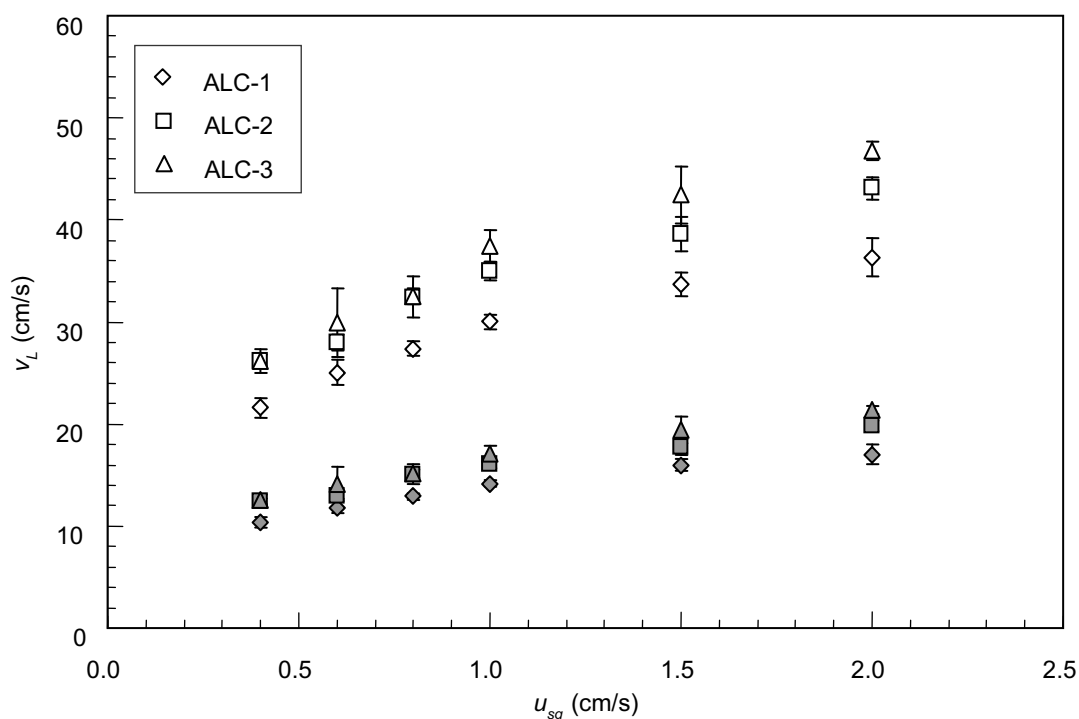
จะเห็นได้ว่า เมื่อเพิ่มจำนวนท่อภายในเข้าสู่ระบบ ปริมาณสัดส่วนก๊าซจะมีค่าเพิ่มขึ้น โดยระบบที่มีท่อภายใน 4 ท่อให้ค่าสัดส่วนก๊าซสูงที่สุดในทุก ๆ ส่วนของถังปฏิกรณ์

หมายเหตุว่า ในรูปที่ 1.2 นี้ แกนนอนเป็นค่าความเร็วห่อเปล่าของก๊าซ (Superficial gas velocity, u_{sg}) ที่อยู่ในระบบ ซึ่งหาได้จากการหารอัตราการไหลของอากาศที่ป้อนเข้าสู่ระบบด้วยขนาดพื้นที่หน้าตัดของ Riser

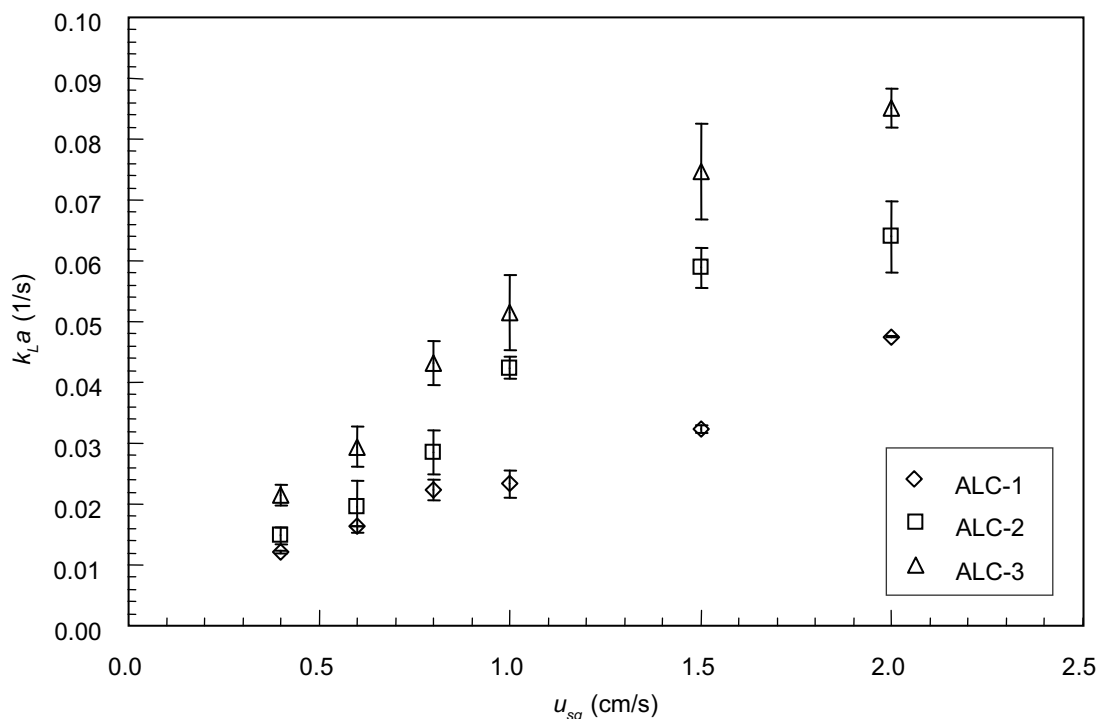
1.3.2 ผลการตรวจวัดค่าความเร็วของของเหลวภายในระบบ

รูปที่ 1.3 แสดงให้เห็นว่าความเร็วของของเหลวภายในถังสัมผัสแบบอากาศยกมีค่าสูงขึ้นเมื่อเพิ่มจำนวนท่อภายใน (โดยกำหนดให้สัดส่วนพื้นที่หน้าตัดของ Downcomer และ Riser คงที่)

ผลจากรูปที่ 1.2 และ 1.3 มีความสอดคล้องกัน นั่นคือ เมื่อความเร็วของของเหลวมากขึ้น ปริมาณฟองก๊าซที่ถูกดึงให้ไหลลงในส่วน Downcomer มีค่ามากขึ้น และทำให้ได้ค่าสัดส่วนของก๊าซมากขึ้น ซึ่งเหตุการณ์นี้จะทำให้ได้ค่าพื้นที่แลกเปลี่ยนการถ่ายเทมวลระหว่างวัฏภาคของของเหลวและก๊าซสูงขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 1.4



รูปที่ 1.3 ผลของความเร็วลมต่อความเร็วของของเหลวที่ได้ภายในถังสัมผัสแบบอากาศยกขนาดใหญ่



รูปที่ 1.4 ค่าอัตราการถ่ายเทมวลสารรวม (overall volumetric mass transfer coefficient) ภายในถังสัมผัสแบบอากาศยกขนาดใหญ่ที่มีจำนวนท่อภายในต่างกัน

จากการศึกษาของผู้วิจัยที่ผ่านมาพบว่ระบบที่มีท่อภายในเพียงท่อเดียวนั้นมีปัญหาเกี่ยวกับการไหลวนของของเหลวในส่วนของ Riser เอง (แทนที่การไหลวนใน Downcomer ตามที่พบในถังขนาดเล็กกว่า) ทำให้ความเร็วของของเหลวโดยรวมในส่วน Riser มีค่าน้อย ซึ่งการไหลวนเฉพาะที่นี้เป็นสิ่งที่ควรหลีกเลี่ยงในถังสัมผัสแบบอากาศยก การศึกษาครั้งนี้พบว่า เมื่อทำให้ขนาดของท่อภายในเล็กลง (แต่พื้นที่ของ Riser เท่าเดิม) จะช่วยลดปัญหาลง

1.3.3 ผลการตรวจวัดค่าอัตราการถ่ายเทมวลสารระหว่างวัฏภาคของเหลวและก๊าซ

ผลเปรียบเทียบพฤติกรรมการถ่ายเทมวลสารระหว่างวัฏภาคของเหลวและก๊าซในถังสัมผัสแบบอากาศยกทั้ง 3 รูปแบบแสดงอยู่ในรูปที่ 1.4 ซึ่งพบว่าระบบ ALC-3 ซึ่งมีการจัดเรียงตัวของท่อภายในแบบกระจายตัวสม่ำเสมอทั่วพื้นที่หน้าตัดของถังสัมผัส จะสามารถช่วยยกระดับสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลสารระหว่างวัฏภาค (K_La) ให้มีค่าสูงขึ้นกว่าในกรณีที่ท่อภายในเพียงท่อเดียวถึงเกือบ 2 เท่า ซึ่งผลที่ได้นี้ได้จากการที่ของเหลวมีอัตราการไหลที่เร็วขึ้น (รูปที่ 1.3) สามารถดึงเอาฟองอากาศลงไปในส่วน downcomer ได้มากขึ้น (สัดส่วนก๊าซสูงขึ้นตามรูปที่ 1.2) ทำให้มีพื้นที่สำหรับการถ่ายเทมวลสารระหว่างวัฏภาคมากขึ้น จึงได้ค่า K_La สูงขึ้นตามที่สังเกตได้จากผลการทดลองครั้งนี้

1.4 สรุปผลการดำเนินการ

การทดลองนี้แสดงให้เห็นถึงความสำคัญของการออกแบบถังสัมผัสแบบอากาศยก โดยเฉพาะระบบขนาดใหญ่ที่มีพื้นที่หน้าตัดมาก เพราะการกระจายตัวของฟองอากาศและการไหลของของเหลวมีความไม่สม่ำเสมอ ทำให้พฤติกรรมของถังสัมผัส ๓ ขนาดใหญ่ไม่เป็นไปตามที่ศึกษาในระบบขนาดเล็ก อย่างไรก็ตามการทดลองนี้ยังมีตัวแปรอิสระอีกจำนวนมากที่จะเป็นจะต้องมีการศึกษาเพิ่มเติม โดยเฉพาะผลจากหัวจ่ายอากาศ เช่น จำนวน ชนิด ขนาด และตำแหน่งการติดตั้งของหัวจ่ายอากาศ การติดตั้งหัวจ่ายอากาศในปัจจุบันทำโดยการกระจายท่ออากาศเหล่านี้อย่างสม่ำเสมอในถังสัมผัส ๓ และควบคุมให้มีขนาดและจำนวนรูที่หัวจ่ายอากาศสม่ำเสมอ นอกจากนี้ระบบที่ศึกษายังเป็นระบบที่มีความสูงไม่มาก ทำให้การมีฟองอากาศใน downcomer มีส่วนช่วยในการถ่ายเทมวลสารระหว่างวัฏภาคของเหลวและก๊าซ แต่ในระบบที่มีความสูงมาก ๆ การมีฟองอากาศใน downcomer ในลักษณะที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้อาจไม่มีผลมากนักต่อการถ่ายเทมวลสารระหว่างวัฏภาคดังปรากฏในที่นี้ เนื่องจากฟองอากาศใน downcomer จะมีปริมาณออกซิเจนค่อนข้างน้อย และขาดแรงผลักดันในการถ่ายเทมวลสาร ซึ่งวิธีการแก้ไขอาจสามารถทำได้โดยการกำหนดตำแหน่งของการให้อากาศในส่วน downcomer เพื่อเพิ่มออกซิเจนในส่วนนี้ต่อไป

การทดลองครั้งนี้นำไปเขียนเป็นบทความวิชาการเรื่อง “Hydrodynamics and mass transfer behavior in multiple draft tube airlift contactors” ตีพิมพ์ใน Korean Journal of Chemical Engineering ดังรายละเอียดในภาคผนวก 2

1.5 เอกสารอ้างอิง

- Choi, K.H., Chisti, Y., Moo-Young, M., 1996, “Comparative evaluation of hydrodynamic and gas-liquid mass transfer characteristics in bubble column and airlift slurry reactors”, Chem. Eng. J. 62 223-229.
- Koide, K., Iwamoto, S., Takasaka, Y., Matsura, S., Takahashi, E., Kimura, M., 1984 “Liquid circulation, gas holdup and pressure drop in bubble column with draught tube”, J. Chem. Eng. Jpn. 17(6) 611-619.
- Merchuk, J.C., Ladwa, N., Cameron, A., Bulmer, M., Pickett, A., 1994, “Concentric-tube airlift reactors: effects of geometrical design on performance”, AIChE J. 40(7) 1105-1117.
- Russell, A.B., Thomas, C.R., Lilly, M.D., 1994, “The influence of vessel height and top-section size on the hydrodynamic characteristics of airlift fermentors”, Biotech. Bioeng. 43 69-76.
- Shamlou, P.A., Pollard, D.J., Ison, A.P., 1995, “Volumetric mass transfer coefficient in concentric-tube airlift bioreactors”, Chem. Eng. Sci. 50(10) 1579-1590.
- Wongsuchoto, P., Pavasant, P., 2004, “Internal liquid circulation in annulus sparged internal loop airlift contactors”, Chem. Eng. J. 100 1-9.

บทที่ 2 ผลของความเค็มต่อพฤติกรรมของถึงสัมผัสแบบอากาศยก

2.1 ที่มา

การใช้งานถึงสัมผัสแบบอากาศยกในทางอุตสาหกรรมสัตว์น้ำมีส่วนเกี่ยวข้องกับการใช้น้ำทะเลเป็นตัวกลางเนื่องจากเซลล์หลายชนิดเจริญเติบโตในน้ำทะเล โดยเฉพาะเซลล์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเค็มต่าง ๆ เช่น กุ้ง หอย ปลา ฯลฯ ตัวอย่างของการใช้งานกับน้ำเค็มเช่น การพัฒนาระบบถึงปฏิกรณ์เชิงแสงแบบอากาศยกสำหรับการเพาะเลี้ยงเซลล์ของ *Chaetoceros calcitrans* (Krichnavaruk et al. 2005, 2007) ดังนั้นการศึกษาผลของความเค็มต่อพฤติกรรมของถึงสัมผัสแบบอากาศยกจึงสามารถให้ข้อมูลที่มีประโยชน์ต่อการพัฒนาระบบที่ทำงานโดยใช้น้ำเค็มต่อไปในอนาคต โดยในเรื่องนี้ งานวิจัยจะเน้นไปที่การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของขนาดของฟองอากาศภายในระบบ และเชื่อมโยงกับการเปลี่ยนแปลงทางด้านอุทกพลศาสตร์อื่น ๆ เช่น ค่าความเร็วของของเหลว ค่าสัดส่วนก๊าซภายในส่วนต่าง ๆ ของระบบ เพื่ออธิบายพฤติกรรมการถ่ายเทมวลระหว่างวัฏภาคของเหลวและก๊าซ ซึ่งงานลักษณะนี้มีการรายงานอยู่บ้าง แต่เป็นของเหลวชนิดอื่น ๆ เช่น น้ำเปล่า (Wongsuchoto et al., 2003) หรือสารละลายที่มีความหนืดสูง เช่น CMC (carboxymethyl cellulose) (Guo-Qing et al., 1995; Vasconcelos et al., 2003)

2.2 การทดลอง

ถึงสัมผัสแบบอากาศยกที่ใช้ในการทดลองนี้เป็นถึงขนาด 20 ลิตร เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 14 ซม สูง 1.2 เมตร (ปริมาตรของของเหลวที่ใส่บรรจุประมาณ 17 ลิตร) และมีท่อภายในสูง 1 เมตร และมีขนาดสัดส่วนพื้นที่ส่วน Downcomer ต่อ Riser เท่ากับ 0.66 การวัดขนาดของฟองทำได้โดยการใช้กล้องจับภาพด้วยความเร็วสูง โดยติดตั้งแถบวัดขนาดไว้ภายในถึงสัมผัส และตั้งระดับไฟก๊สของกล้องให้ใกล้กับแถบวัดขนาดนี้ เพื่อให้สามารถคำนวณผลของความเค็มของผิวน้ำที่ท่อได้ และจะวัดขนาดของฟองในบริเวณที่ใกล้กับแถบวัดขนาดนี้เท่านั้น หลังจากนั้นจึงเปลี่ยนตำแหน่งของแถบวัดขนาดเพื่อให้สามารถวัดขนาดที่ตำแหน่งต่าง ๆ กันภายในถึงสัมผัสได้ โดยจำนวนฟองที่ทำการวัดในแต่ละสภาวะมีจำนวนไม่น้อยกว่า 200 ฟอง และได้ทำการทดลองวัดขนาดฟองที่ตำแหน่งความสูงต่าง ๆ กัน 3 ระดับ คือ ระดับที่อยู่ติดกับปลายด้านล่างของท่อภายใน ระดับตรงกลางท่อ และระดับที่ปลายด้านบนของท่อภายใน และทำการวัดที่ความเร็วของก๊าซต่าง ๆ กัน

สารละลายที่ใช้ในการทดลองในส่วนนี้คือน้ำเกลือ ซึ่งได้จากการละลายเกลือทะเลที่ได้จากบริเวณนาเกลือ จ.สมุทรสงคราม ให้มีความเค็มของน้ำทะเลเท่ากับ 15 ppt และ 45 ppt โดยน้ำทะเลโดยทั่วไปจะมีค่าความเค็มราว 30 ppt การวัดค่าความเค็มใช้อุปกรณ์การวัดเชิงแสง (Refractometer)

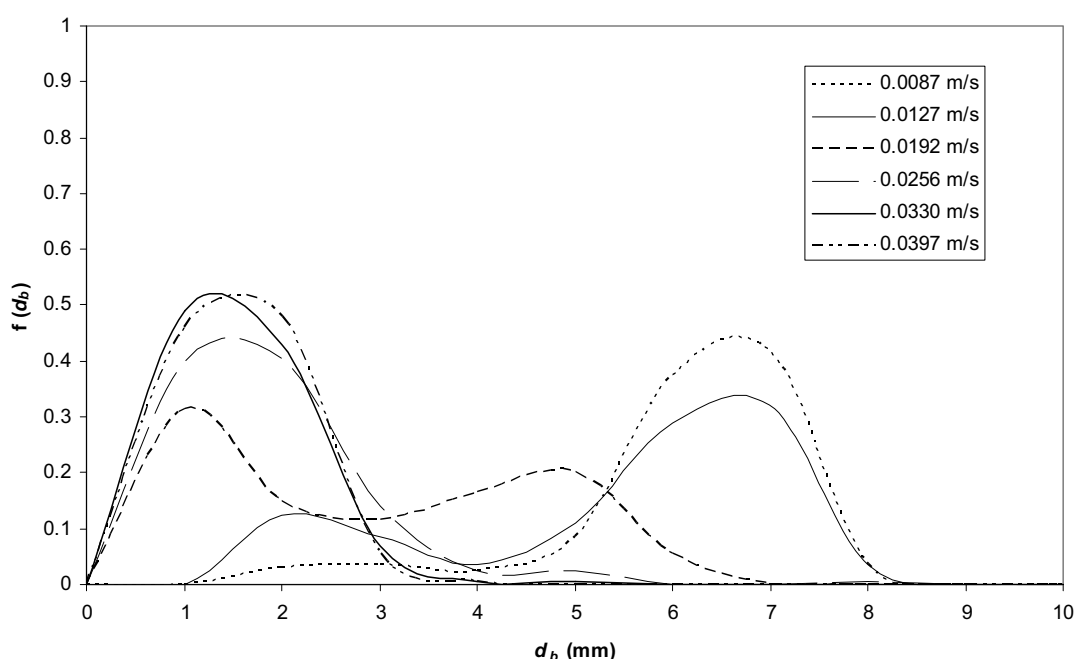
หมายเหตุว่า การวัดค่าสัดส่วนก๊าซและของเหลวใช้วิธีเดียวกับที่ให้รายละเอียดในบทที่ 1

2.3 ผลการทดลองและวิเคราะห์ผล

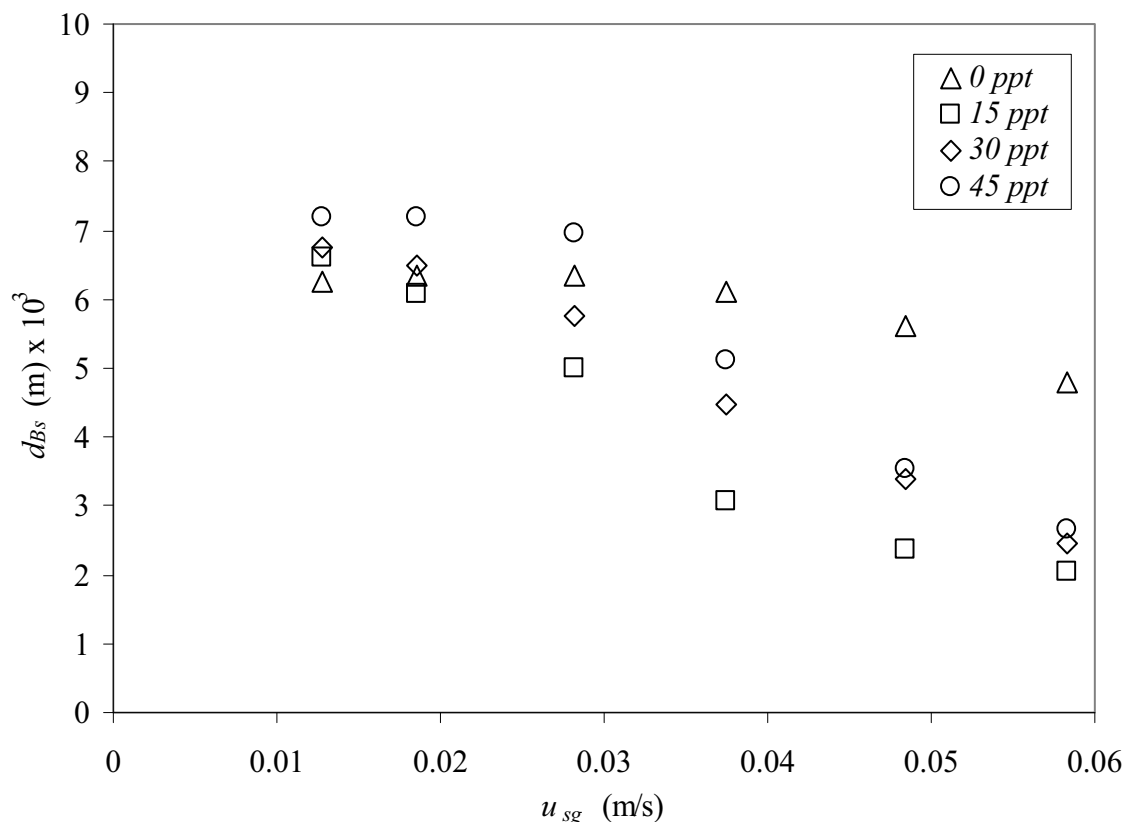
2.3.1 ผลของความเร็วก๊าซต่อขนาดของฟองอากาศในระบบ

โดยทั่วไป ขนาดของฟองจะลดลงเมื่อความเร็วของการป้อนอากาศสูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อฟองอากาศมีการสัมผัสกันจะเกิดการแตกตัวและได้ฟองขนาดเล็กลง โดยที่ความเร็วการป้อนอากาศต่ำ จะได้ฟองขนาดเล็กอยู่ในช่วง 5-7 มม. และเมื่อความเร็วการป้อนอากาศสูงขึ้น ขนาดฟองจะเล็กลงอยู่ในช่วง 1-2 มม. (ดูรูปที่ 2.1 ซึ่งเป็นขนาดฟองที่ความเค็มเท่ากับน้ำทะเล คือ 30 ส่วนในพันส่วน หรือ 30 ppt) ขนาดของฟองที่ได้จะมีค่าน้อยกว่าขนาดที่ได้เมื่อใช้น้ำจืดโดยเฉพาะเมื่อความเร็วการป้อนอากาศมีค่าสูง เช่น ขนาดฟองขนาดเล็กในน้ำจืดอยู่ในช่วง 5-8 มม. ซึ่งไม่ต่างกับระบบน้ำเค็มมากที่ความเร็วในการป้อนอากาศต่ำ ($u_{sg} < 1.5$ cm/s) แต่จะให้ค่าขนาดฟองในช่วง 5-6 มม. ในช่วงความเร็วในการป้อนอากาศสูง ($u_{sg} > 1.5$ cm/s)

ผลที่ได้นี้ตรงข้ามกับผลที่คาดว่าจะได้ในแง่ที่ว่า สารละลายน้ำเกลือมีความหนืดสูงกว่าน้ำจืด ดังนั้นจึงให้ค่าแรงตึงผิวสูง และควรจะให้ฟองอากาศที่มีขนาดใหญ่กว่าฟองในน้ำจืด อย่างไรก็ตาม ผลความหนืดนี้มีค่อนข้างน้อย เนื่องจากความหนืดของสารละลายเกลือที่ความเข้มข้นเท่ากับน้ำทะเลนั้นแตกต่างจากน้ำจืดน้อยมาก ดังนั้นผลต่อขนาดของฟองจึงไม่เด่นชัด นอกจากนี้ เนื่องจากน้ำเค็มเป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์ ซึ่งมีแรงกระทำต่อฟองอากาศ ทำให้ฟองอากาศมีความไม่เสถียร ป้องกันการรวมตัวของฟองอากาศ นอกจากนี้อีกด้วย ผลของความเค็มจะได้กล่าวเพิ่มเติมในหัวข้อต่อไป



รูปที่ 2.1 การกระจายตัวของขนาดฟองอากาศในถังสัมผัสแบบอากาศยกขนาด $A_o/A_r = 0.66$ และความเค็ม 30 ppt



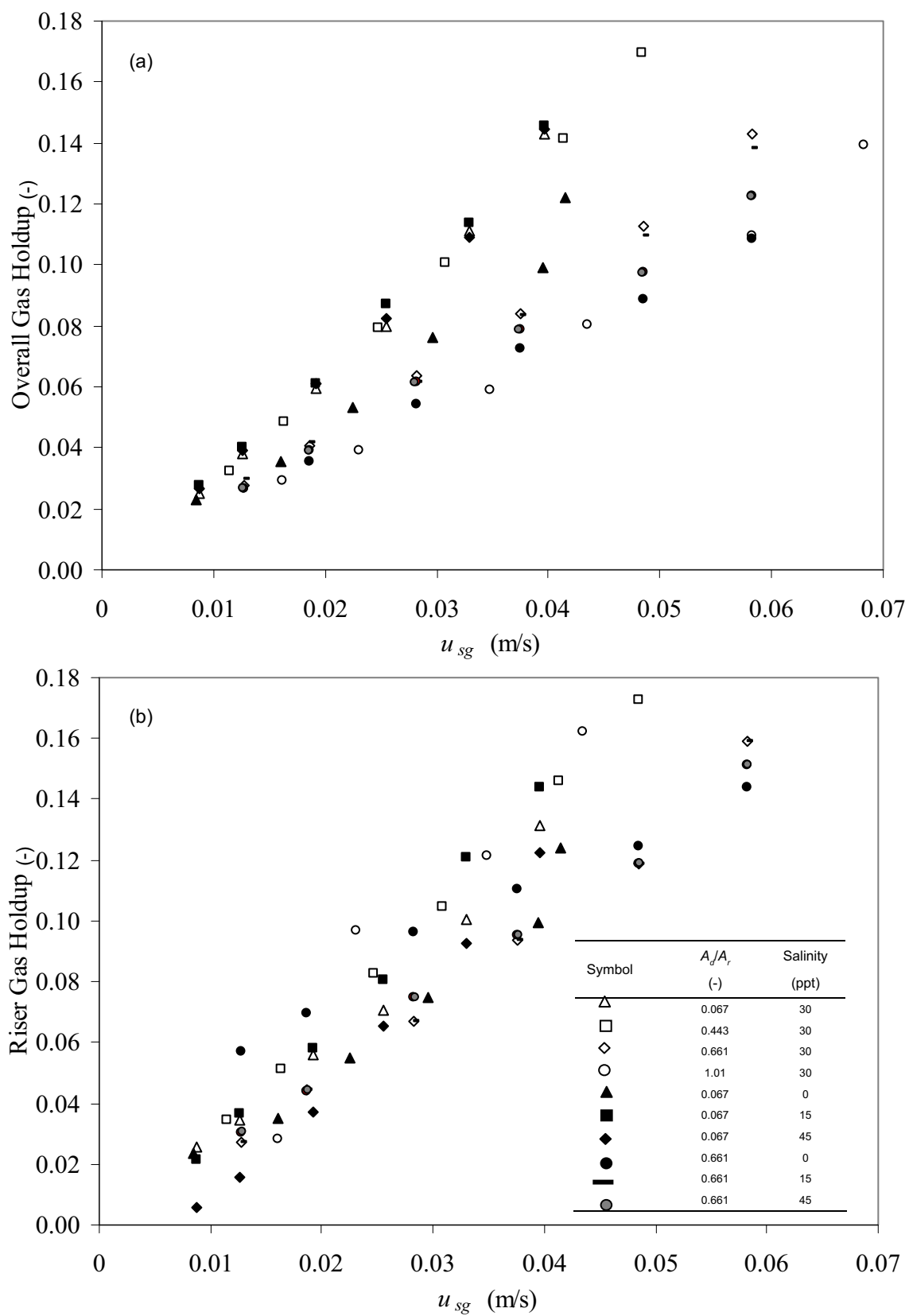
รูปที่ 2.2 ขนาดเฉลี่ยของฟองอากาศ (d_{32}) ในถังผสมแบบอากาศยกขนาด $A_g/A_r = 0.66$ ที่ความเค็มต่าง ๆ กัน

2.3.2 ผลของความเค็มของก๊าซต่อขนาดของฟองอากาศในระบบ

รูปที่ 2.2 เป็นขนาดเฉลี่ยของฟองอากาศที่ความเค็มต่าง ๆ กัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าที่ความเร็วการป้อนอากาศต่ำ ขนาดของฟองอากาศในระบบที่มีความเค็มต่างกันมีค่าไม่ต่างกันมากนัก ผลของความเค็มเห็นเด่นชัดขึ้นเมื่อระบบดำเนินงานที่ความเร็วการป้อนอากาศสูงขึ้น โดยที่ฟองอากาศในน้ำจืดจะมีค่าใหญ่ที่สุด ส่วนฟองที่เล็กที่สุดเกิดในระบบที่มีขนาดความเค็มเท่ากับ 15 ppt รองลงมาคือระบบที่มีความเค็ม 30 ppt และ 45 ppt ตามลำดับ ผลการทดลองนี้ยังไม่สามารถอธิบายได้อย่างชัดเจนว่าเกิดขึ้นเนื่องจากสาเหตุใด แต่คาดการณ์ว่าความเค็มน่าจะส่งผล 2 ประการต่อการรวมตัวและแตกตัวของฟองอากาศ โดยที่ความเค็มต่ำ ๆ นั้น การรวมตัวกันของฟองอากาศจะถูกยับยั้ง ทำให้ได้ฟองขนาดเล็ก ในขณะที่เมื่อความเค็มสูงขึ้น ฟองอากาศจะเกิดการรวมตัวและแตกตัวออกอีกครั้งหนึ่ง ทำให้ฟองที่ได้มีขนาดใหญ่ขึ้นกว่าขนาดฟองที่ความเค็มต่ำ ซึ่งสาเหตุทั้งสองประการนี้ยังคงต้องพิสูจน์เชิงทฤษฎีเพื่อยืนยันผลต่อไป

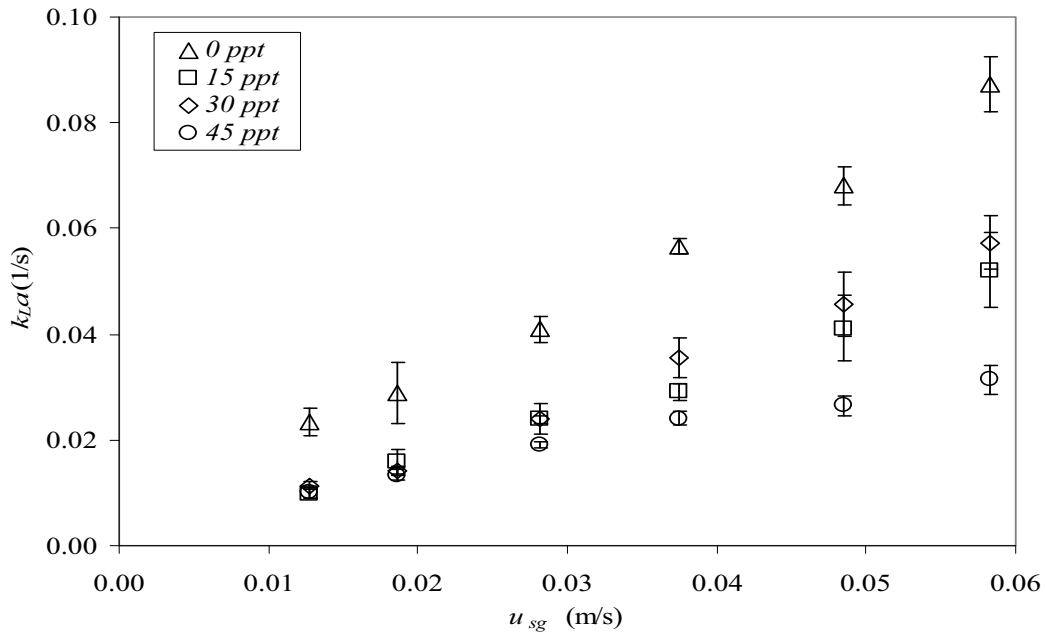
2.3.3 ค่าสัดส่วนก๊าซในถังผสมแบบอากาศยกในสถานะที่ใช้ในงานนี้

ค่าสัดส่วนก๊าซที่ได้จากระบบที่ดำเนินการในสถานะต่าง ๆ สามารถสรุปได้ดังรูปที่ 2.3 โดยจากรูป พบว่าสัดส่วนก๊าซมีค่าอยู่ในช่วง ๆ หนึ่ง ไม่ขึ้นกับค่าความเค็มอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนใหญ่ขนาดจะขึ้นกับค่าความเร็วในการป้อนอากาศเข้าสู่ระบบมากกว่าที่จะเป็นฟังก์ชันของความเค็ม



รูปที่ 2.3 ค่าสัดส่วนก๊าซในถังสัมผัสแบบอากาศยกที่สภาวะการดำเนินงานต่าง ๆ

2.3.4 ผลของความเค็มต่อการถ่ายเทมวลสารระหว่างวัฏภาคของเหลวและก๊าซ



รูปที่ 2.4 ค่าสัมประสิทธิ์รวมเชิงปริมาตรของการถ่ายเทมวลสารระหว่างวัฏภาคของเหลวและก๊าซในถังสัมผัสแบบอากาศยกที่ดำเนินการในสภาวะความเค็มต่างกัน

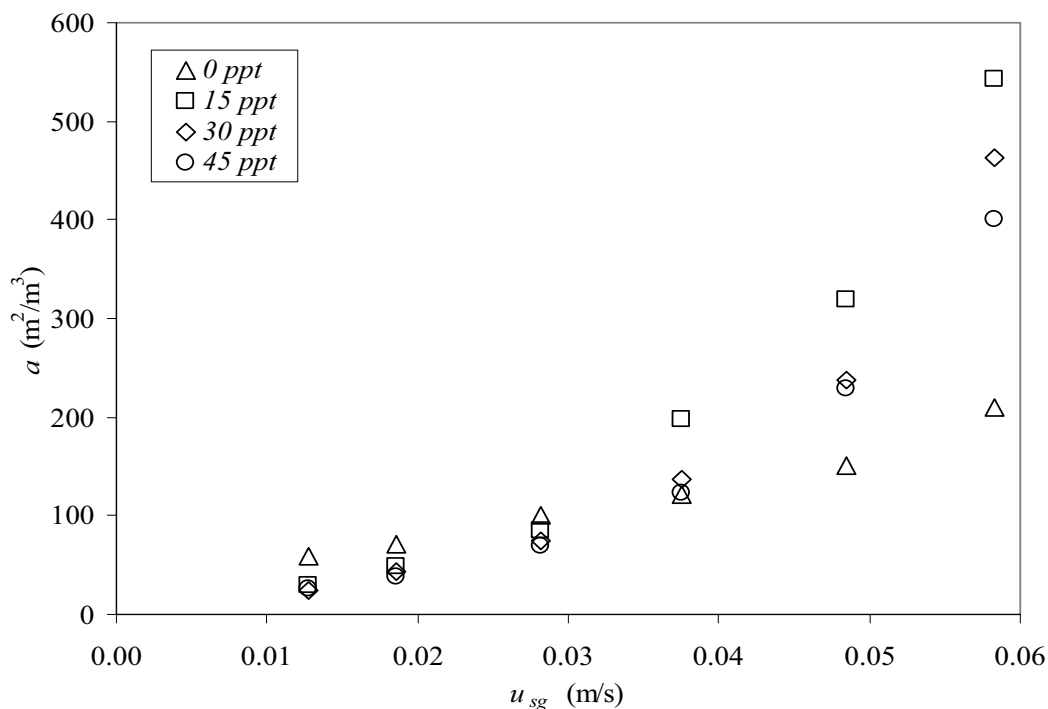
ค่าสัมประสิทธิ์รวมเชิงปริมาตรของการถ่ายเทมวลสารระหว่างวัฏภาคของเหลวและก๊าซ หรือค่า k_La เป็นค่าที่ใช้ในการบ่งบอกถึงอัตราเร็วในการถ่ายเทมวลของออกซิเจนจากอากาศสู่ของเหลว ซึ่งผลที่ได้จากข้อ 2.4 แสดงว่าค่า k_La ในน้ำจืดมีค่าสูงกว่าค่า k_La ในน้ำเค็มค่อนข้างชัดเจน โดยเฉพาะที่สภาวะความเร็วไหลเปล่าของอากาศสูง ข้อมูลจากการวัดขนาดของฟองอากาศ แสดงให้เห็นว่าฟองอากาศในระบบที่มีความเค็มจะสูงกว่าระบบน้ำจืด โดยเมื่อใช้ค่าขนาดเฉลี่ยของฟองอากาศมาคำนวณหาปริมาณพื้นผิวจำเพาะของฟองอากาศที่ใช้ในการถ่ายเทมวลสารระหว่างวัฏภาค (a) โดยใช้สมการต่อไปนี้

$$a = \frac{6\varepsilon_g}{d_{Bs}(1-\varepsilon_g)} \quad (2.1)$$

เมื่อ $\varepsilon_{g,r}$ เป็นค่าสัดส่วนก๊าซใน riser และ d_{Bs} เป็นขนาดเฉลี่ยของฟอง หรือที่เรียกว่า Sauter mean diameter ซึ่งหาได้จาก

$$d_{Bs} = \frac{\sum n_i d_{B,i}^3}{\sum n_i d_{B,i}^2} \quad (2.2)$$

เมื่อ n_i แทนจำนวนฟองที่มีขนาด d_{Bi} และเมื่อทำการคำนวณค่าพื้นผิวจำเพาะแล้วจะได้ผลดังแสดงในรูปที่ 2.5



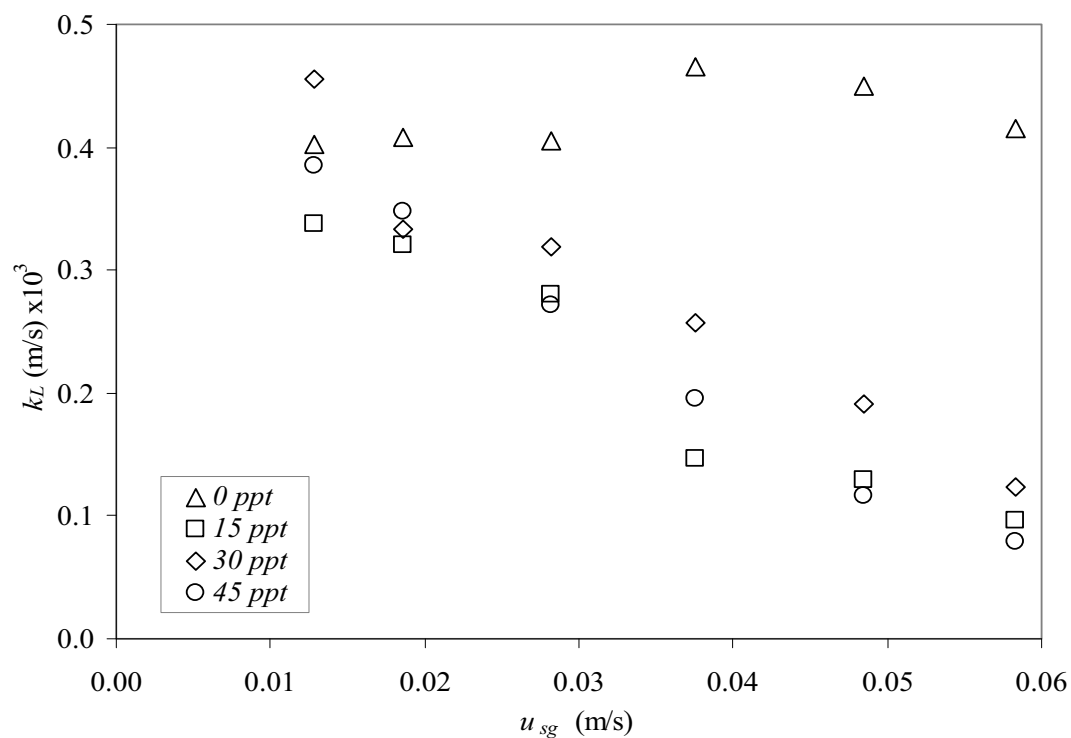
รูปที่ 2.5 ค่าพื้นที่ผิวจำเพาะสำหรับการถ่ายเทมวลระหว่างวัฏภาคของเหลวและก๊าซ

รูปที่ 2.5 แสดงให้เห็นว่า แท้จริงแล้ว พื้นที่ผิวจำเพาะในการถ่ายเทมวลของออกซิเจนจากก๊าซไปสู่ของเหลวในระบบน้ำเค็มมีมากกว่าระบบน้ำจืด ทั้งนี้เนื่องจากฟองมีขนาดเล็กกว่าและค่าสัดส่วนก๊าซมีปริมาณใกล้เคียงกัน แต่ที่ค่าสัมประสิทธิ์รวมเชิงปริมาตรสำหรับการถ่ายเทมวลสารระหว่างวัฏภาคของเหลวและก๊าซ ($k_L a$) ในระบบน้ำจืดสูงกว่าระบบน้ำเค็มนั้น เนื่องมาจากผลของค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลระหว่างวัฏภาคของเหลวและก๊าซ (k_L) ดังแสดงในรูปที่ 2.6 ซึ่งเป็นข้อมูลที่ได้จากการประมวลผลที่ได้ในรูปที่ 2.4 และ 2.5 โดยรูปที่ 2.6 นี้ แสดงให้เห็นชัดเจนว่าค่า k_L ในน้ำจืดมีค่าสูงกว่าค่าที่ได้จากน้ำทะเลมาก ทั้งนี้ น่าจะเป็นผลเนื่องมาจากการที่น้ำเค็มมีคุณสมบัติในการสร้างชั้นฟิล์มที่ผิวของฟองอากาศ ทำให้เกิดความต้านทานต่อการถ่ายเทมวลสาร และทำให้ได้ค่า k_L ต่ำ โดยรูปที่ 2.6 ยังแสดงให้เห็นด้วยว่าค่า k_L ที่ได้จากระบบที่มีค่าความเค็มต่าง ๆ กันนั้นมีค่าใกล้เคียงกัน ไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และนอกจากนี้ ที่ความเร็วการป้อนอากาศต่ำ ๆ ยังให้ค่า k_L ที่ใกล้เคียงกันทั้งในระบบน้ำจืดและระบบน้ำเค็ม โดยไม่ขึ้นกับค่าความเค็มอีกด้วย

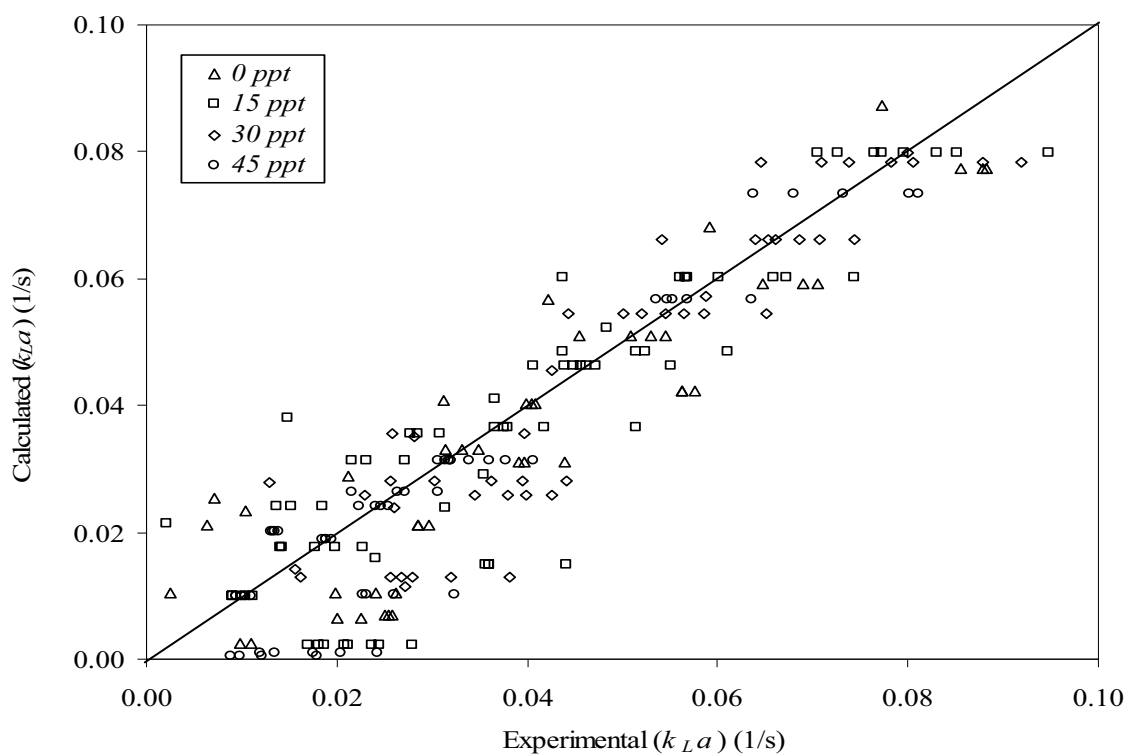
ค่า k_L ที่ได้จากการทดลองครั้งนี้สามารถนำไปสร้างสมการความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรการดำเนินงานอื่น ๆ ได้ดังนี้

$$Sh = a + bGr^c Sc^d + eRe^f Sc^h \quad (2.3)$$

เมื่อ Sh = Sherwood number, Gr = Grashof number, Re = Reynolds number, Sc = Schmidt number ส่วนตัวแปรอื่น ๆ เป็นค่าคงที่ที่สามารถสรุปได้ดังตารางที่ 2.1



รูปที่ 2.6 ค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลสารระหว่างวัฏภาคของเหลวและก๊าซ



รูปที่ 2.7 กราฟแสดงระดับความถูกต้องของการคำนวณค่าสัมประสิทธิ์รวมเชิงปริมาตรของการถ่ายเทมวลสารระหว่างวัฏภาคของเหลวและก๊าซ

ตารางที่ 2.1 สรุปค่าคงที่สำหรับสมการ 2.3

ความเค็ม (ppt)	ตัวแปร (ค่าคงที่จากสมการที่ 2.3)							R^2
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>e</i>	<i>f</i>	<i>h</i>	
0	0.41	1.05	0.48	0	0	0	0	0.91
15 – 45	0.41	1.04	0.16	0.3	0.13	0.46	0.06	0.81
0 (Wongsuchoto et al., 2003)	0.5	1.07	0.47	0	0	0	0	0.92

ค่าประมาณค่า $k_L a$ จากการใช้สมการที่ 2.3 พร้อมทั้งค่าคงที่ต่าง ๆ ในตารางที่ 2.1 ให้ผลเชิงเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากการทดลองดังแสดงในรูปที่ 2.7 ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความน่าเชื่อถือของข้อมูลและศักยภาพในการนำผลการค้นพบไปใช้ในการอธิบายงานในอนาคตต่อไป

2.4 สรุปผลการดำเนินการ

งานวิจัยชิ้นนี้แสดงให้เห็นถึงพื้นฐานสำคัญของการดำเนินการของถังสัมผัสแบบอากาศยกที่ดำเนินการด้วยตัวกลางที่เป็นของเหลวชนิดต่างจากเดิมที่ศึกษาเพียงตัวกลางที่เป็น “น้ำ” เท่านั้น อย่างไรก็ตามผลการศึกษาศึกษาสามารถเสริมกันได้เป็นอย่างดี และทำให้สามารถสรุปผลของความเค็มต่อพฤติกรรมของถังสัมผัสแบบอากาศยก และอธิบายปรากฏการณ์ต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นได้ โดยเฉพาะสถานะทางด้านการถ่ายเทมวลสารระหว่างวัฏภาคของเหลวและก๊าซภายในถังสัมผัสแบบอากาศยก

ผลการวิจัยในส่วนนี้ได้นำไปเขียนเป็นบทความวิชาการเรื่อง “Influence of salinity on bubble size distribution and gas-liquid mass transfer in airlift contactors” ส่งไปเพื่อขอตีพิมพ์ใน Chemical Engineering Journal ดังรายละเอียดในภาคผนวก 5

2.5 เอกสารอ้างอิง

- Krichnavaruk, S., Loataweesup, W., Powtongsook, S., Pavasant, P., 2005, “Optimal growth conditions and the cultivation of *Chaetoceros calcitrans* in airlift photobioreactor”, Chem. Eng. J. 10 91-98.
- Krichnavaruk, S., Powtongsook, S., Pavasant, P., 2007, “Enhanced productivity of *Chaetoceros calcitrans* in airlift photobioreactors”, Bioresour. Technol. 98 2123-2130.
- Wongsuchoto, P., Charinpanitkul, T., Pavasant, P., 2003, “Bubble size distribution and gas-liquid mass transfer in airlift contactors”, Chem. Eng. J. 92 81-90

Guo-Qing, L., Shou-Zhi, Y., Zhao-Ling, C., Jia-Yong, C., 1995, "Mass transfer and gas-liquid circulation in an airlift bioreactor with viscous non-newtonian fluid", The Chemical Engineering Journal and The Biochemical Engineering Journal 56 B101-B107.

Vasconcelos, J.M.T., Rodrigues, J.M.L., Orvalho, S.C.P., Alves, S.S., Mende, S.R.L., Reis, A., 2003, "Effect of contaminants on mass transfer coefficients in bubble column and airlift contactors", Chem. Eng. Sci. 58 1431 – 1440.

บทที่ 3 ระบบถังปฏิกรณ์เชิงแสงแบบอากาศยกสำหรับการเพาะเลี้ยงเซลล์ *Cheatoceeros calcitrans*

3.1 ที่มา

โดยทั่วไปการเพาะเลี้ยงไดอะตอมเพื่อการพาณิชย์นั้นอยู่ในรูปแบบกะ (Batch cultivation) ซึ่งเริ่มจากการนำหัวเชื้อของเซลล์มาเพาะเลี้ยงในสารอาหารเพื่อให้มีความเข้มข้นสูงขึ้น และเก็บเกี่ยวเมื่อได้ระดับความเข้มข้นที่ต้องการ การเพาะเลี้ยงในลักษณะนี้มีข้อดีที่สามารถควบคุมระดับการปนเปื้อนของเซลล์อื่นในระบบได้ง่าย เนื่องจากต้องทำการเพาะเลี้ยงใหม่ทุกครั้ง การปนเปื้อนจากการเพาะเลี้ยงครั้งที่ผ่านมาจึงไม่รบกวนการดำเนินงานในกะต่อ ๆ ไป แต่มีข้อเสียที่เกี่ยวข้องกับการเสียเวลาในการดำเนินงาน ต้องการแรงงานที่ค่อนข้างมากเพราะมีการทำงานซับซ้อน มีปัญหาการล้างถังปฏิกรณ์ทุกครั้งเมื่อใช้งานเสร็จสิ้นแล้ว และยังเสียเวลาในการรอเซลล์เจริญเติบโตในช่วง Lag phase อีกด้วย ดังนั้นงานในส่วนนี้จึงได้ศึกษาเปรียบเทียบการดำเนินงานในรูปแบบต่าง ๆ ประกอบไปด้วย การดำเนินงานแบบกะ (Batch culture) การดำเนินงานแบบกึ่งต่อเนื่อง (Semi-continuous culture) และการดำเนินงานแบบต่อเนื่อง (Continuous culture) โดยสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเซลล์นี้ได้จากการทดลองที่ผ่านมา (ดูรายละเอียดใน Krichnavaruk et al. 2005) และได้ผลการดำเนินงานโดยสรุปดังนี้

3.2 การทดลอง

การทดลองนี้ทำในถังสัมผัสแบบอากาศยก หรือเรียกในส่วนนี้ว่าถังปฏิกรณ์เชิงแสงแบบอากาศยก (เนื่องจากมีปฏิกิริยาทางชีวภาพเกิดขึ้นในระบบ และเป็นระบบที่ต้องการแสงเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา – ปฏิกิริยาสังเคราะห์แสง) ขนาด 17 ลิตร โดยเป็นท่อพลาสติกอะคริลิกใสขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 15 ซม สูง 120 ซม มีท่อภายใน (Draft tube) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 ซม สูง 1 เมตร โดยให้อากาศที่ความเร็วไหลเท่ากับ 3 ซมต่อวินาที ให้แสงด้วยหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ขนาด 36 วัตต์ทางด้านข้างของถัง โดยกำหนดให้ความเข้มแสงเฉลี่ยรอบถังปฏิกรณ์เท่ากับ $200 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ หรือเท่ากับประมาณ 10,000 ลักซ์ ไม่มีการควบคุมอุณหภูมิ แต่มีการตรวจวัดอุณหภูมิ ซึ่งพบว่าอยู่ในช่วง $27-35^{\circ}\text{C}$

เนื่องจากไดอะตอม *Chaetoceros calcitrans* เจริญเติบโตในน้ำทะเล จึงต้องเตรียม medium โดยใช้น้ำทะเลเป็นตัวกลาง และเตรียมให้มีสารอาหารตามสูตรของ F/2 Guillard (Guillard, 1975) ซึ่งมีองค์ประกอบของสารต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 3.1 ในตอนเริ่มการทดลองจะควบคุมให้มีปริมาณเซลล์เริ่มต้นในถังปฏิกรณ์เท่ากับ 1×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตรทุกครั้ง เพื่อให้สะดวกในการเปรียบเทียบข้อมูล และการนับปริมาณเซลล์ใช้เครื่องมือที่เรียกว่า Haemocytometer ซึ่งเป็นอุปกรณ์มาตรฐานที่มีลักษณะคล้ายแผ่นแก้วที่มีร่องขนาดเล็กเพื่อใส่ตัวอย่างสารละลาย และทำการนับเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์

ตารางที่ 3.1 ส่วนประกอบของสารอาหาร F/2 Guillard

Nutrients	Final concentration (mg L ⁻¹)	Stock solution preparations
NaNO ₃	75	<i>Nitrate/Phosphate solution</i>
NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	10	<i>Working stock:</i> add 75 g NaNO ₃ + 10 g NaH ₂ PO ₄ to 1 L distilled water (DW)
Na ₂ SiO ₃ ·9H ₂ O	60	<i>Silicate solution</i> : add 60 g NaSiO ₃ to 1 L DW
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.01	<i>Trace metal/EDTA solution</i>
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.01	<i>Primary stocks:</i> make 5 separate
MnCl ₂ ·4H ₂ O	0.18	1 L stocks of (g L ⁻¹ DW) 10.0 g CoCl ₂ , 9.8 g CuSO ₄ ,
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.006	180 g MnCl ₂ , 6.3 g Na ₂ MoO ₄ , 22.0 g ZnSO ₄
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.022	<i>Working stock:</i>
Na ₂ EDTA	4.36	add 1 mL of each primary stock solution +
FeCl ₃ ·6H ₂ O	3.15	4.35 g Na ₂ EDTA + 3.15 g FeCl ₃ to 1 L DW
Thiamin HCl	0.1	<i>Vitamin solution</i>
Biotin	0.0005	<i>Primary stocks:</i>
B ₁₂	0.0005	add 20 g thiamin HCl + 0.1 g biotin + 0.1 g B ₁₂ to 1 L DW
		<i>Working stock:</i> add 5 mL primary stock to 1 L DW
add 1 mL each of the four working stock solutions per liter of seawater		

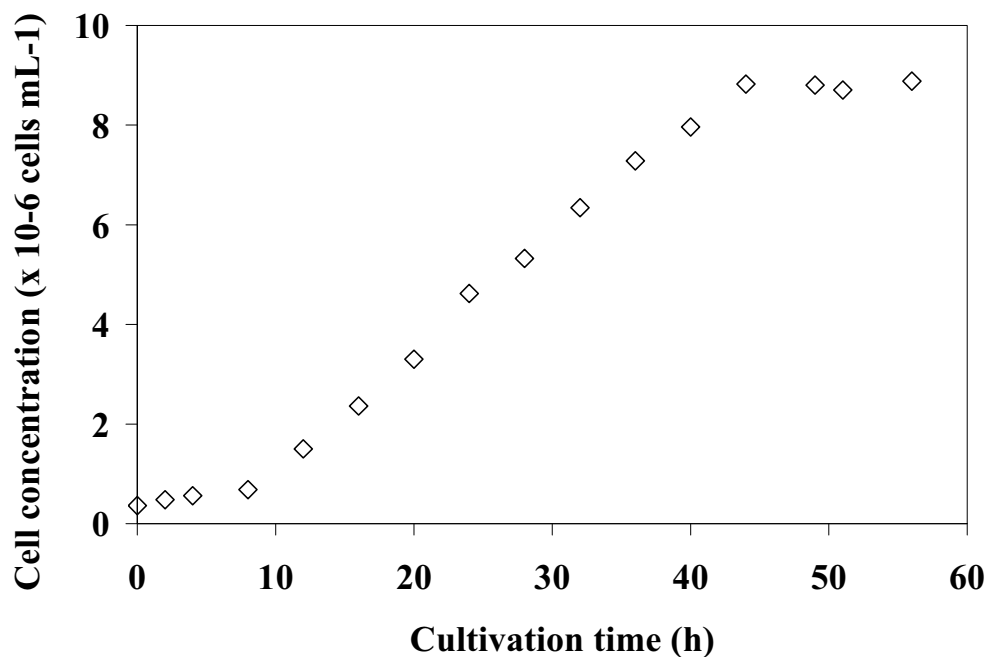
3.3 ผลการทดลองและวิเคราะห์ผล

3.3.1 การดำเนินงานแบบกะ (Batch culture)

การดำเนินงานแบบกะให้ลักษณะการเจริญเติบโตดังรูปที่ 3.1 โดยในช่วง 10 ชั่วโมงแรกของการเจริญเติบโตเป็นช่วงที่เซลล์ทำการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อม (Lag phase) ก่อนที่จะเข้าสู่ช่วงการเจริญเติบโตแบบ exponential และเมื่อสารอาหารถูกใช้หมดไป เซลล์จะเข้าสู่ช่วงการเจริญเติบโตแบบหยุดนิ่ง (Stationary phase) ซึ่งจะเป็นช่วงที่สามารถเก็บเกี่ยวเซลล์ได้ การเพาะเลี้ยงลักษณะนี้ใช้เวลาทั้งหมดประมาณ 44 ชั่วโมง และได้ความเข้มข้นของเซลล์สูงสุดเท่ากับ 8.88×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และมีค่าอัตราการผลิตจำเพาะเท่ากับ 5.54×10^4 เซลล์ต่อลิตรต่อวินาที

ระบบการเพาะเลี้ยงแบบกะนี้สามารถอธิบายได้ด้วยสมการทางคณิตศาสตร์ที่ใช้จลนพลศาสตร์ในรูปแบบของ Logistic law (สมการ 3.1)

$$\mu = \mu_m \left(1 - \frac{x(t)}{x_m}\right) \quad (3.1)$$



รูปที่ 3.1 กราฟแสดงการเจริญเติบโตของเซลล์ *Chaetoceros calcitrans*

เมื่อ μ = อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (h^{-1})
 $x(t)$ = ความเข้มข้นของเซลล์ที่เวลา t (g mL^{-1})

โดยมีค่าคงที่ของสมการ 2 ค่าดังนี้

μ_m = อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด = 0.14 h^{-1}
 x_m = ความเข้มข้นเซลล์สูงสุด = $6.64 \times 10^6 \text{ g mL}^{-1}$

เมื่อทำสมดุลมวลสารรอบระบบจะได้สมการทางคณิตศาสตร์ที่สามารถใช้อธิบายการทำงานของถังหมัก ๖ นี้ได้ดังนี้

$$V \frac{dx(t)}{dt} = \mu_m \left(1 - \frac{x(t)}{x_m}\right) x(t) V \quad (3.2)$$

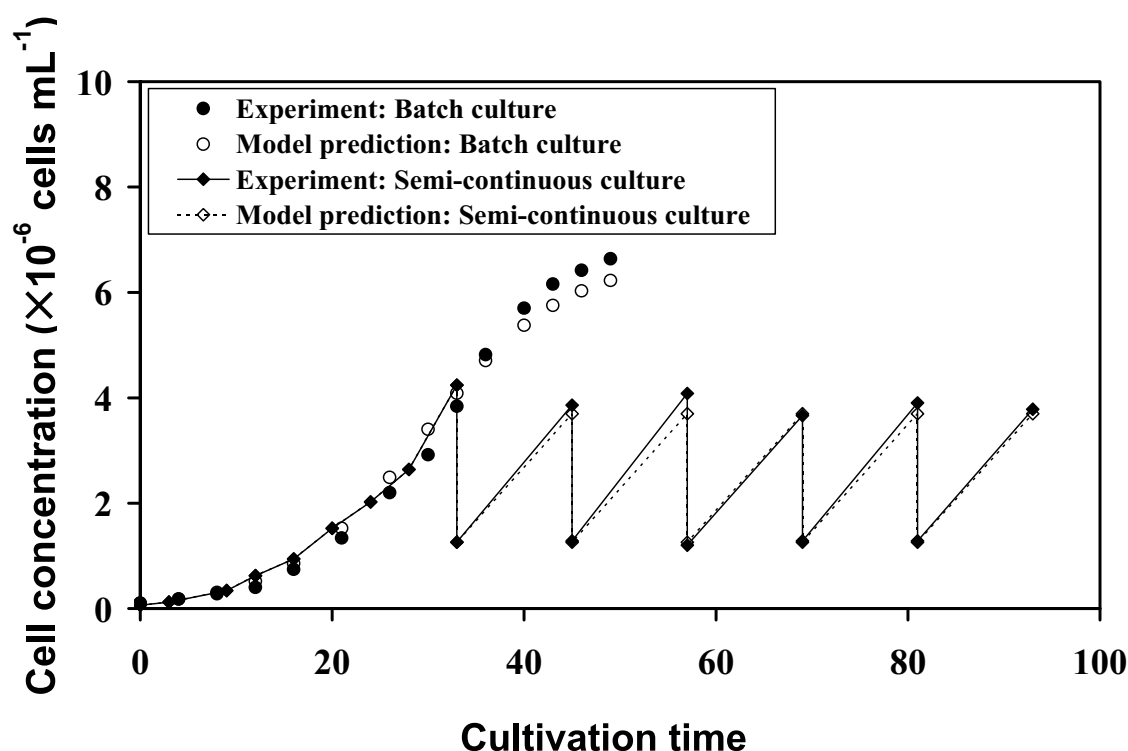
หรือสามารถทำการอินทิเกรตให้ได้สมการสำหรับคำนวณหาค่าความเข้มข้นของเซลล์ที่เวลาต่าง ๆ ดังนี้

$$x(t) = \frac{x_o x_m e^{\mu_m t}}{x_m - x_o + x_o e^{\mu_m t}} \quad (3.3)$$

และเมื่อนำมาใช้ทำนายผลการดำเนินงานจะได้กราฟที่เป็นจุดสีดำ (เปรียบเทียบกับผลการทดลองที่เป็นจุดสีขาว) ดังแสดงในกราฟส่วนทางซ้ายมือของรูปที่ 3.2 ซึ่งเป็นส่วนของการเจริญเติบโตก่อนที่จะเริ่มเก็บเกี่ยว (ช่วงเวลาที่ 0 – 44)

3.3.2 การดำเนินงานแบบกึ่งต่อเนื่อง (Semi-continuous culture)

ระบบนี้เริ่มดำเนินงานโดยปล่อยให้เซลล์มีการเจริญเติบโตจนกระทั่งเข้าสู่สภาวะการเจริญเติบโตแบบ exponential จากนั้นจึงทำการเก็บเกี่ยวเซลล์ ทำการเติมสารอาหารเพื่อชดเชยกับปริมาณที่เก็บเกี่ยวไป และปล่อยให้เซลล์เจริญเติบโตใหม่ และเก็บเกี่ยวอีกครั้งเมื่อมีจำนวนเซลล์ตามต้องการ และดำเนินงานสลับเช่นนี้ต่อไปเรื่อย ๆ จนกว่าระบบจะไม่สามารถเดินต่อไปได้ (อาจเกิดเนื่องจากปัญหาการปนเปื้อน หรือมีปัญหาเกี่ยวกับอุปกรณ์ที่ใช้) โดยจะต้องมีความเข้มข้นของเซลล์ที่เหลือในแต่ละรอบของการเก็บเกี่ยวจะต้องพอเพียงสำหรับการเจริญเติบโตในช่วงต่อไป ในที่นี้ความเข้มข้นของเซลล์หลังจากที่เก็บเกี่ยวแล้วจะกำหนดให้เท่ากับประมาณ 1×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ผลการดำเนินงานสามารถสรุปได้ดังรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 ผลการดำเนินการในระบบแบบกึ่งต่อเนื่อง

การดำเนินงานในลักษณะกึ่งต่อเนื่องทำให้สามารถเก็บเกี่ยวเซลล์ได้ทุก ๆ 12 ชั่วโมง (โดยประมาณ) และได้ค่าความเข้มข้นเซลล์สูงสุดเท่ากับประมาณ 3.86×10^6 เซลล์ต่อลิตร และมีค่าอัตราการผลิตจำเพาะเท่ากับ 6×10^4 เซลล์ต่อลิตรต่อวินาที

สมการจลนศาสตร์ที่ใช้ในการอธิบายการดำเนินงานของระบบแบบกึ่งต่อเนื่องนี้ยังคงอยู่ในรูปแบบของ Logistic law หรือสมการที่ 3.3 โดยจะต้องมีการคำนวณใหม่ทุกครั้งเมื่อมีการเก็บเกี่ยว และผลจากการคำนวณแสดงได้ดังเส้นประในรูปที่ 3.2 (ในส่วนด้านขวาเมื่อมีการดำเนินงานแบบกึ่งต่อเนื่อง)

ค่าอัตราการผลิต (Productivity) สำหรับระบบนี้สามารถคำนวณได้จาก

$$P = \left(\frac{x_2 - x_1}{t_2 - t_1} \right) \times \frac{V \times 1000}{3600} \quad (3.4)$$

เมื่อ	P	=	อัตราการผลิต (cells s ⁻¹)
	x_1	=	ความเข้มข้นเซลล์ที่เวลา t_1 (cells mL ⁻¹)
	x_2	=	ความเข้มข้นเซลล์ที่เวลา t_2 (cells mL ⁻¹)
	V	=	ปริมาตรที่เก็บเกี่ยว (L)
	t	=	เวลาในการดำเนินงาน (h)

เพื่อให้ได้อัตราการผลิตสูงสุด ค่า Differentiation ของสมการที่ 3.4 เมื่อเทียบกับเวลาจะต้องเท่ากับศูนย์

$$\frac{d}{dt} \left(\frac{x(t) - x_o}{t - t_o} \right) (V_o - V(t)) = 0 \quad (3.5)$$

เมื่อ	V_o	=	ปริมาตรเริ่มต้น (L)
	$V(t)$	=	ปริมาตรที่เหลือหลังจากการเก็บเกี่ยว (L)

สมการสมดุลมวลของเซลล์แสดงให้เห็นความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาตรที่คงเหลือหลังเก็บเกี่ยวกับความเข้มข้นของเซลล์ที่เวลาใด ๆ ดังนี้

$$V(t) = \frac{V_o x_o}{x(t)} \quad (3.6)$$

เมื่อแทนค่าจากสมการ 3.3 และ 3.6 ลงในสมการ 3.5 จะสามารถหาค่าเวลาที่เหมาะสมสำหรับการเก็บเกี่ยวเพื่อให้ได้ค่าอัตราการผลิตสูงสุดได้ โดยในที่นี้ได้ว่าเวลาที่เหมาะสมสำหรับการเก็บเกี่ยวคือทุก ๆ 19 ชั่วโมง และจะได้ค่าอัตราการผลิตสูงสุดเท่ากับ 7.22×10^5 เซลล์ต่อวินาที

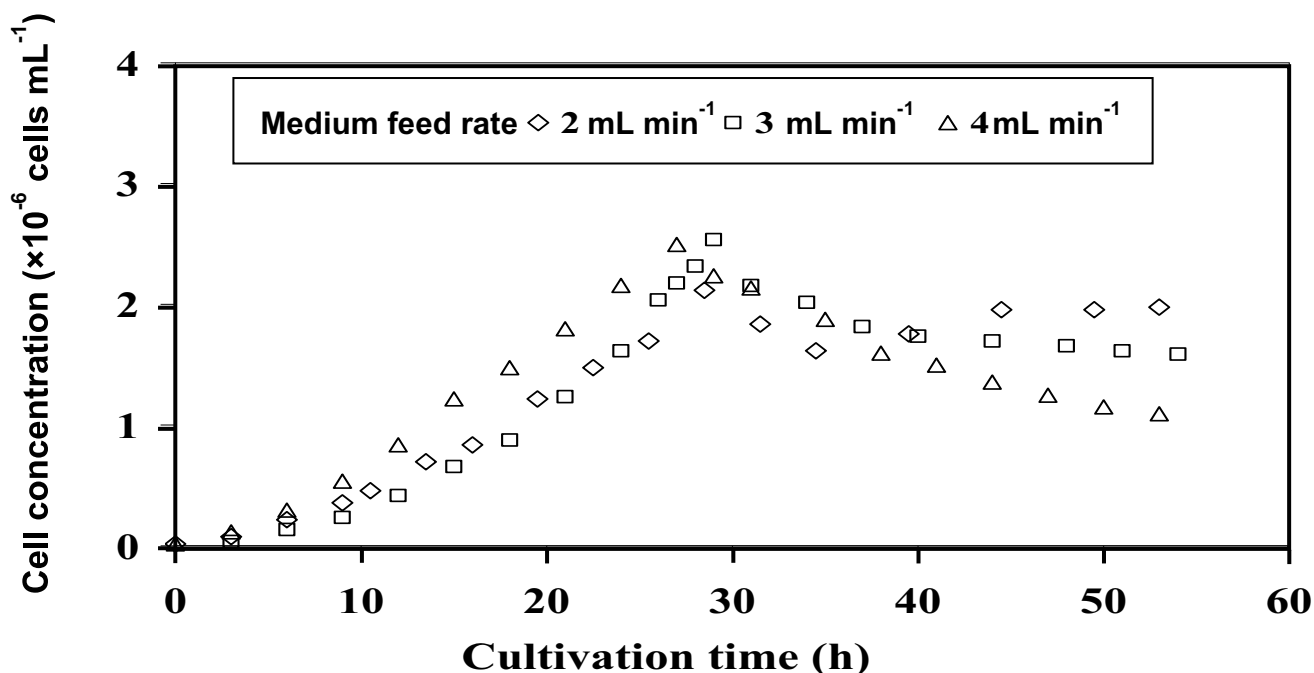
3.3.3 การดำเนินงานแบบต่อเนื่อง (Continuous culture)

การดำเนินงานแบบต่อเนื่องเป็นการดำเนินงานที่มีการเก็บเกี่ยวเซลล์ตลอดเวลา และมีการป้อนสารอาหารตลอดเวลาเช่นกัน ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ใช้ระบบถังผสมแบบอากาศยกที่มีปั๊มสำหรับป้อนสารอาหารเข้าสู่ระบบ และมีท่อไหลล้นให้เซลล์ที่เจริญเติบโตแล้วไหลล้นออกจากระบบไปอยู่ตลอดเวลา ระบบการดำเนินงานแบบต่อเนื่องจะช่วยลดขั้นตอนในการทำงาน เนื่องจากระบบสามารถทำงานได้เองตลอดเวลา จึงเป็นการลดค่าใช้จ่าย และช่วยลดปัญหาเกี่ยวกับการล้างระบบ แต่จำเป็นจะต้องเป็นระบบที่มีการควบคุมการติดเชื้อที่ค่อนข้างดี เนื่องจากการปนเปื้อนอาจก่อให้เกิดปัญหาการดำเนินงานและส่งผลกระทบต่อหยุดระบบได้

ผลการดำเนินงานให้ถังผสมแบบอากาศยกในงานนี้สามารถสรุปได้ดังรูปที่ 3.3 การดำเนินงานของระบบนี้เริ่มต้นจากการให้เซลล์มีการเจริญเติบโตแบบกะจกกระทั่งเข้าสู่การเจริญเติบโตแบบ exponential จึงเริ่มทำการป้อนสารอาหารเข้าสู่ระบบ และเริ่มทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตตลอดเวลา (จากการไหลล้นทางยอดหอ) ความเข้มข้นของเซลล์จะตกลงในช่วงการป้อนสารอาหารก่อนจะเข้าสู่ค่าคงที่หลังจากเวลาผ่านไประยะหนึ่งแล้ว ทั้งนี้เป็นผลเนื่องมาจากการเจือจางของสารอาหารนั่นเอง ซึ่งเป็นสภาพปกติของการดำเนินงานลักษณะนี้ ระบบแบบต่อเนื่องนี้สามารถให้ค่าความเข้มข้นเซลล์สูงสุดเท่ากับ 1.62×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และอัตราการผลิตจำเพาะเท่ากับ 2.89×10^4 เซลล์ต่อลิตรต่อวินาที ที่อัตราการป้อนสารอาหารเท่ากับ 3 มิลลิลิตรต่อวินาที

3.3.4 การเปรียบเทียบผลการดำเนินงานของการเพาะเลี้ยง 3 รูปแบบ

ถึงแม้ว่าการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องจะให้ค่าอัตราการผลิตจำเพาะต่ำที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับเพาะเลี้ยงแบบกะและแบบกึ่งต่อเนื่อง แต่เมื่อพิจารณาทางด้านเศรษฐศาสตร์ควบคู่ไปกับการประเมินทางด้านเทคนิคแล้วพบว่า การดำเนินงานแบบต่อเนื่องนั้นจะให้ค่าการลงทุนจำเพาะต่ำที่สุด คืออยู่ที่ประมาณ 0.49 บาทต่อชั่วโมง ในขณะที่การดำเนินงานแบบกึ่งต่อเนื่องจะให้ค่าการลงทุนจำเพาะสูงสุดคือที่ประมาณ 3.16 บาทต่อชั่วโมง ส่วนการดำเนินการแบบกะจะให้ค่าการลงทุนจำเพาะที่ 2.51 บาทต่อชั่วโมง

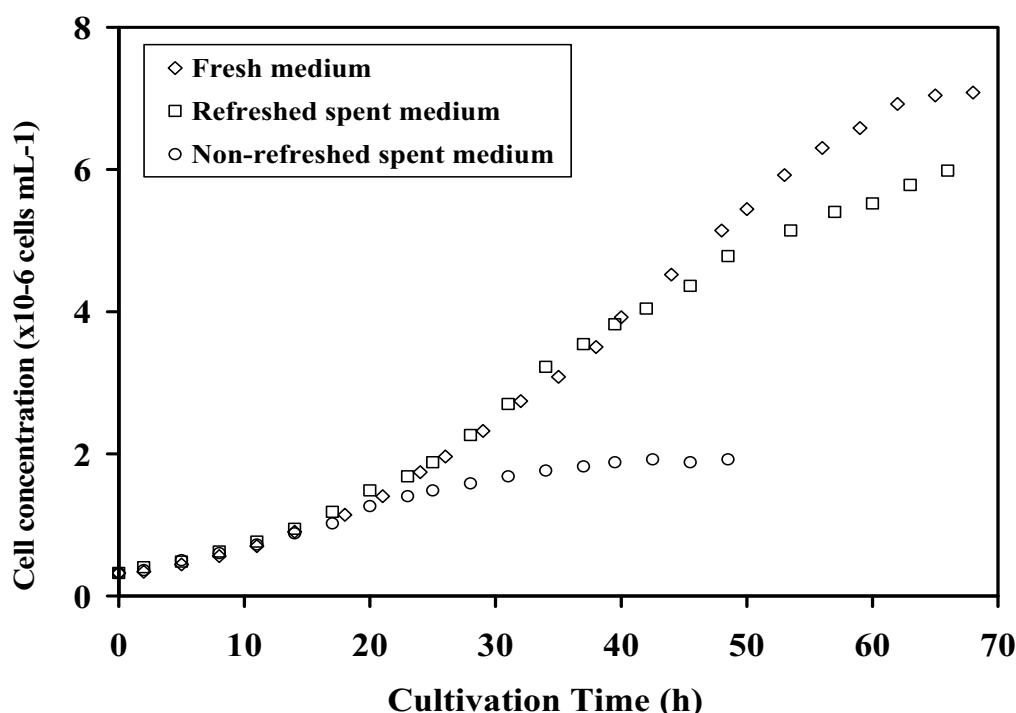


รูปที่ 3.3 ผลการดำเนินงานในถังสัสมัผสมแบบอากาศยกที่ดำเนินงานแบบต่อเนื่อง

3.3.5 ปัจจัยที่จำกัดสำหรับการเพาะเลี้ยงเซลล์ *Chaetoceros calcitrans*

3.3.5.1 ปัจจัยทางด้านสารอาหาร

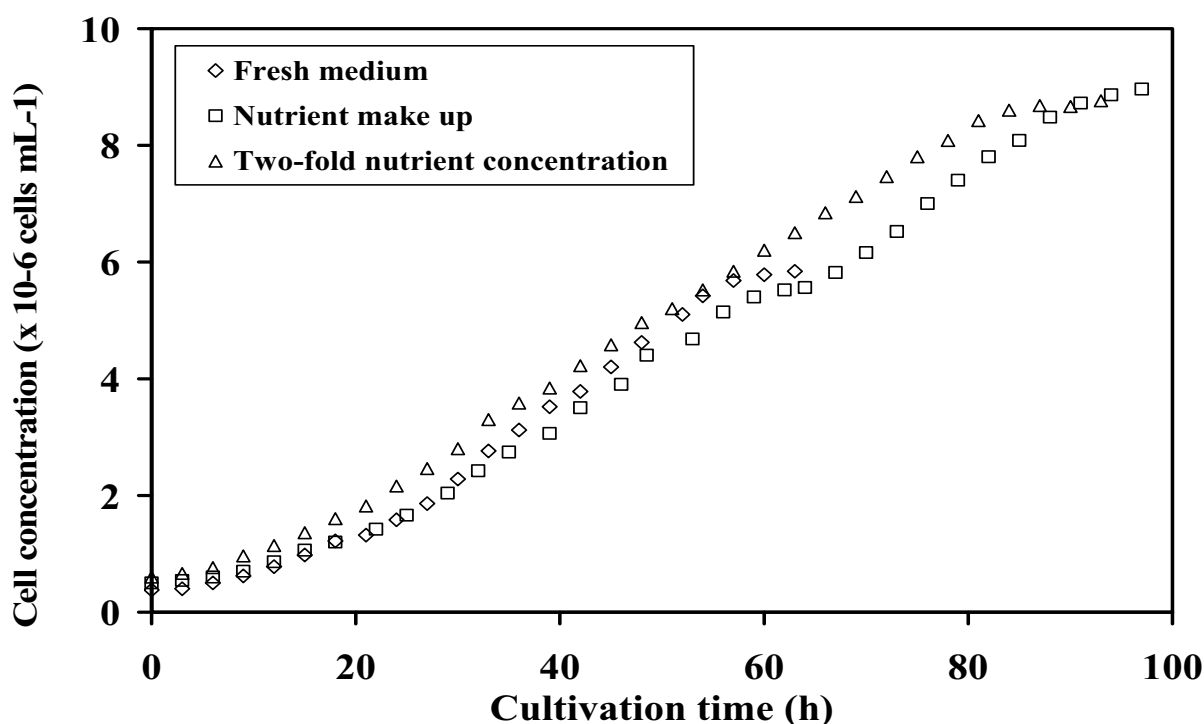
ผลจากการวิเคราะห์การเจริญเติบโตของเซลล์ *Chaetoceros calcitrans* ในสารอาหารรูปแบบต่าง ๆ พบว่าเมื่อนำสารอาหารเก่า (ที่ผ่านการเลี้ยงเซลล์ในระบบแบบกะมาแล้ว 1 รอบ) มาแยกเอาเซลล์ออกและนำไปเพาะเลี้ยงเซลล์ใหม่ เซลล์จะไม่สามารถเจริญเติบโตได้ดีนัก (ตามแนวจุดทรงกลมในรูปที่ 3.4) แต่ถ้านำสารอาหารเก่านี้ไปเติมหัวเชื้อของสารอาหารใหม่มีความเข้มข้นเท่ากับสารอาหารใหม่ เซลล์จะสามารถเจริญเติบโตได้ดีใกล้เคียงกับสารอาหารใหม่ (จุดสี่เหลี่ยมในรูปที่ 3.4 เป็นกราฟแสดงการเจริญเติบโตของเซลล์ในสารอาหารเก่าที่เติมหัวเชื้อสารอาหาร และจุดรูปเพชรเป็นกราฟการเจริญเติบโตในสารอาหารใหม่) สรุปได้ว่าเซลล์ที่เจริญเติบโตไม่ได้มีการสร้างสารที่เป็นพิษต่อการเจริญเติบโตขึ้น และสามารถนำสารอาหารมาเพาะเลี้ยงใหม่ได้หากทำการแยกเซลล์ออกไปแล้ว



รูปที่ 3.4 กราฟแสดงการเจริญเติบโตของเซลล์ในสารอาหารรูปแบบต่าง ๆ

รูปที่ 3.5 แสดงให้เห็นต่อไปว่า หากทำการเพาะเลี้ยงเซลล์จนถึงช่วง Stationary แล้วทำการเติมสารอาหารให้มีความเข้มข้นเท่ากับความเข้มข้นเริ่มต้น เซลล์จะสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้อีก โดยให้การเจริญเติบโตเทียบเท่ากับการเพาะเลี้ยงในสารอาหารที่มีความเข้มข้นเป็น 2 เท่าของความเข้มข้นเริ่มต้นปกติ แสดงให้เห็นว่าการที่เซลล์หยุดการเจริญเติบโตในช่วง Stationary เป็นเพราะขาดสารอาหาร และการเติมสารอาหารทำให้เซลล์เจริญเติบโตต่อไปได้ แต่ความเข้มข้นของสารอาหารที่เพิ่มขึ้นไม่ได้ทำให้เซลล์เจริญเติบโตเร็วขึ้นแต่อย่างใด อย่างไรก็ตาม เมื่อเซลล์เข้าสู่ช่วง Stationary ครั้งที่ 2 แล้ว ทำการเติมสารอาหารอีกครั้งหนึ่ง เซลล์จะไม่เจริญเติบโตอีกต่อไป ทั้งนี้เป็นเพราะเซลล์ในช่วงนี้มีความเข้มข้นสูงมาก และทำให้การส่องผ่านของแสงเป็นไปได้ยาก ทำให้เซลล์ได้รับแสงไม่ทั่วถึงและการเจริญเติบโตจึงช้าลง

ผลจากรูปที่ 3.4 และ 3.5 ทำให้ข้อสรุปว่า การเจริญเติบโตของเซลล์ตามปกติในสารอาหาร F/2 นั้นจะถูกจำกัดโดยปริมาณสารอาหารในระบบ แต่เมื่อเซลล์มีความเข้มข้นสูงมาก ๆ การเจริญเติบโตจะถูกจำกัดด้วยปริมาณแสงที่ส่องผ่าน

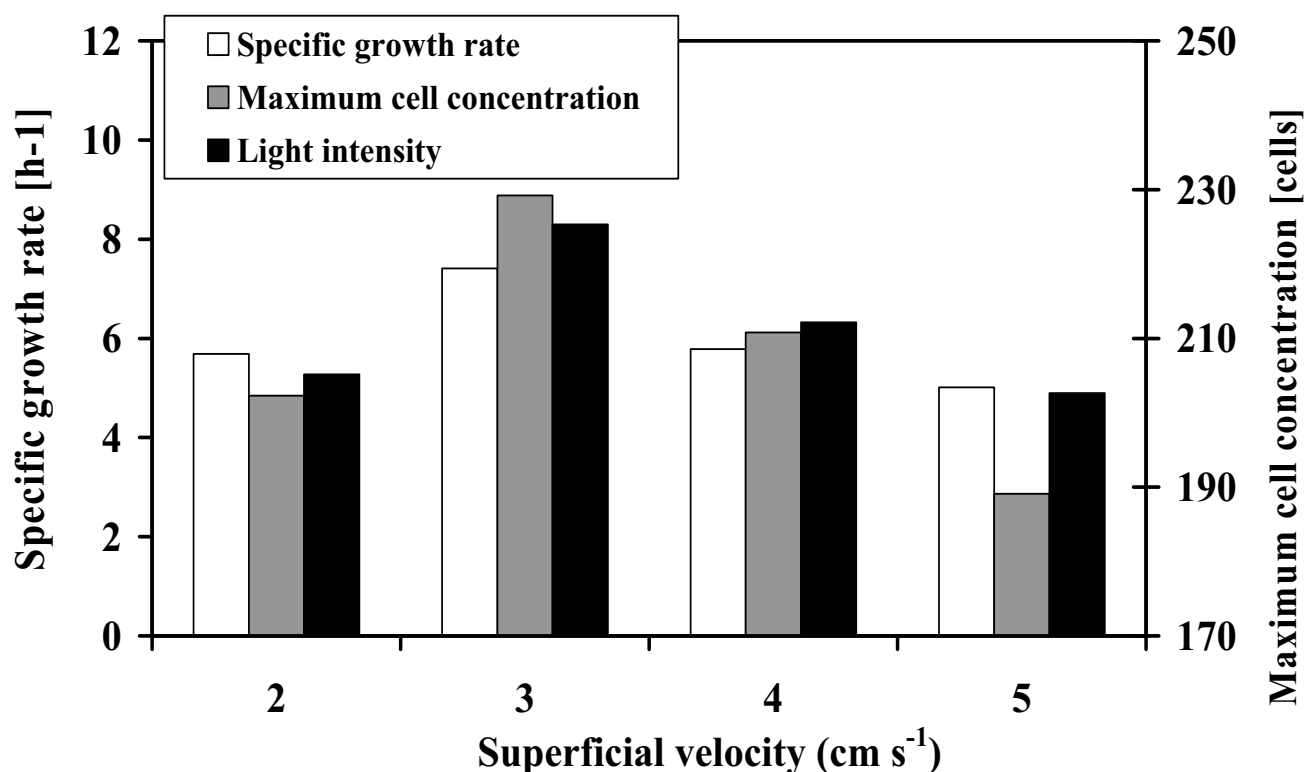


รูปที่ 3.5 กราฟแสดงการเจริญเติบโตในสารอาหารความเข้มข้นต่างกัน

3.3.5.2 การบ่งแสงด้วยฟองอากาศในส่วน Downcomer

การส่องผ่านของแสงในระบบถังผสมแบบอากาศยกยังถูกบังคับได้โดยปริมาณฟองก๊าซที่อยู่ในส่วน Downcomer ซึ่งฟองก๊าซใน Downcomer นั้นจะเกิดขึ้นเนื่องจากการไหลของของเหลวที่สามารถดึงเอาฟองก๊าซส่วนหนึ่งให้ไหลลงไปในส่วน Downcomer ได้ โดยฟองที่ถูกดึงลงไปในส่วน Downcomer นี้จะเป็นฟองขนาดเล็กที่มีค่า Terminal velocity ต่ำกว่าความเร็วของของเหลวเท่านั้น รูปที่ 3.6 แสดงให้เห็นว่า ค่าความเข้มแสงในถังผสม ๙ จะมีค่าสูงขึ้นเมื่อเพิ่มความเร็วของลมในถังผสม ๙ จาก 2 เป็น 3 เซนติเมตรต่อวินาที ทั้งนี้เนื่องจากที่ความเร็ว 2 นั้นฟองก๊าซจะมีขนาดค่อนข้างเล็กและสามารถถูกดึงลงไปใน Downcomer ได้ง่าย แต่สภาวะที่ความเร็วสูงขึ้น ขนาดของฟองก๊าซจะใหญ่ขึ้นและถูกดึงลงไปใน Downcomer ได้น้อยลง จึงบ่งแสงน้อยลงและให้ค่าความเข้มแสงในระบบสูงขึ้น การเจริญเติบโตของเซลล์ในถังผสม ๙ ที่ความเร็วลมเป็น 3 เซนติเมตรต่อวินาทีจึงสูงกว่าที่ 2 เซนติเมตรต่อวินาที

แต่เมื่อเพิ่มความเร็วลมต่อจาก 3 เป็น 4 และ 5 เซนติเมตรต่อวินาทีตามลำดับ ขนาดฟองก๊าซจะไม่ใหญ่ขึ้นมากนัก แต่ความเร็วของของเหลวจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ทำให้สามารถดึงฟองก๊าซลงไปในส่วน Downcomer ได้มากขึ้นที่ความเร็วลมมากขึ้น ส่งผลให้ค่าความเข้มแสงลดลง และผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าค่าอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์จะลดลงตามค่าความเข้มแสง (รูปที่ 3.6)

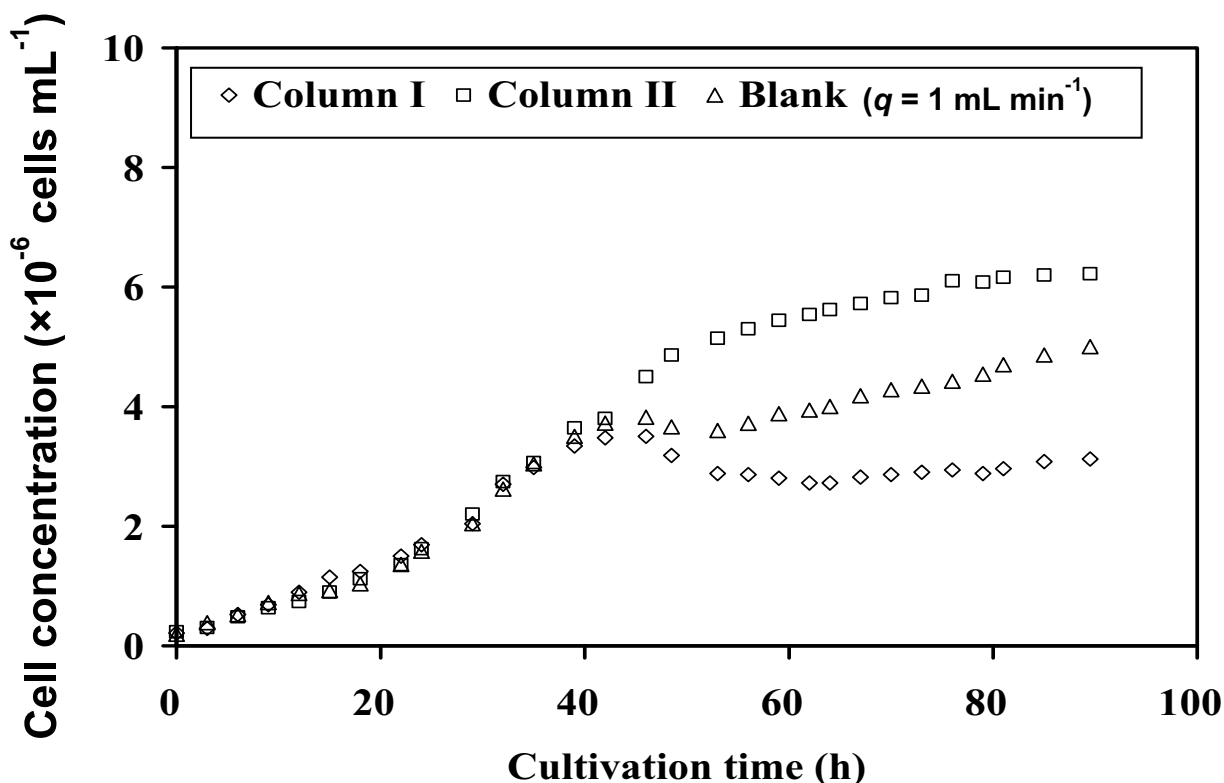


รูปที่ 3.6 ผลของความเข้มแสงต่อการเจริญเติบโตของ *Chaetoceros calcitrans*

3.3.5.3 การบ่งแสงด้วยเซลล์ที่มีความเข้มข้นสูง

เซลล์ที่มีความเข้มข้นสูงสามารถมีผลการบ่งแสงและยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ได้ การทดลองในระบบถังผสมที่ต่อกันแบบอนุกรมช่วยชี้ให้เห็นถึงปัญหานี้อย่างชัดเจน โดยการทดลองนี้ทำการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเซลล์ในระบบถังผสม ๒ รูปแบบ คือ รูปแบบปกติที่ใช้ถังผสม ๒ ใบ และรูปแบบที่ใช้ถังผสม ๒ ใบต่อกันแบบอนุกรม โดยมีการดำเนินงานที่กำหนดให้ค่า Retention time ของเซลล์ของทั้งสองระบบนี้เท่ากัน นั่นคือ ในระบบที่มี 1 ถัง ให้มีสารอาหารไหลผ่านด้วยอัตราการไหลเท่ากับ 1 มิลลิตรต่อนาที ส่วนในระบบถัง 2 ใบ ให้สารอาหารไหลผ่านด้วยอัตราการไหลเท่ากับ 2 มิลลิตรต่อนาที และได้ผลดังแสดงในรูปที่ 3.7 ซึ่งผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของเซลล์ที่ได้จากระบบถัง 2 ใบจะสูงกว่าระบบถัง 1 ใบ

การที่มีถัง 2 ใบในระบบทำให้ความเข้มข้นของเซลล์ในถังที่ 1 มีค่าค่อนข้างต่ำ และยอมให้แสงส่องผ่านได้ง่ายกว่าถังเพาะเลี้ยงในระบบที่มีเพียงถังเดียว ทำให้เซลล์ในถังที่ 1 นี้เจริญเติบโตได้ดียิ่งขึ้นตาม ความเข้มข้นของเซลล์ในถังที่ 2 จะค่อนข้างสูง และยอมเกิดผลการบดบังแสงเช่นเดียวกับที่เกิดขึ้นในระบบถังเดียว แต่การเพิ่มจำนวนถัง ทำให้จำกัดบริเวณที่มีแสงจำกัดอยู่ที่ถังหลังในอนุกรมเท่านั้น จึงเป็นการเพาะเลี้ยงที่มีประสิทธิภาพสูงขึ้น



รูปที่ 3.7 การดำเนินงานของระบบถังสัมผัสแบบอากาศยก 1 ถัง และ 2 ถังที่ต่อกันแบบอนุกรม

3.4 สรุปผลการดำเนินการ

การเพาะเลี้ยงเซลล์ของ *Chaetoceros calcitrans* ภายในถังสัมผัสแบบอากาศยก ได้ถูกศึกษา ค่อนข้างละเอียดและทำให้เห็นว่าการใช้ถังสัมผัสแบบอากาศยกนั้นมีศักยภาพสูงมากในการเพาะเลี้ยง เซลล์ชนิดนี้ และผลการดำเนินการจากการวิจัยครั้งนี้เพียงพอต่อการนำไปปรับใช้จริงในอุตสาหกรรม การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้ทันที เนื่องจากถังปฏิกรณ์ขนาด 17 ลิตรที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องใน การวิจัยนี้ให้เซลล์ในความเข้มข้นประมาณ 4×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในเวลา 12 ชั่วโมง ซึ่งเมื่อเทียบกับ การเพาะเลี้ยงที่ใช้กันอยู่ปัจจุบันคือการเพาะเลี้ยงในบ่อปูนขนาดใหญ่ราว 2-5 ลบ.ม ซึ่งได้ผลผลิต ประมาณ 2×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตรภายในเวลา 4-5 วัน คิดเป็นผลผลิตประมาณ 1×10^{12} เซลล์ภายใน เวลา 5 วัน แสดงว่าถังขนาด 17 ลิตรถ้าดำเนินการ 5 วันจะได้ผลผลิตประมาณ 5.6×10^{11} เซลล์ นั่นคือ ใช้ถังขนาด 17 ลิตรจำนวน 2 ถังจะได้ผลผลิตเท่ากับการเพาะเลี้ยงในบ่อขนาด 5 ลบ.ม ซึ่งเกษตรกร นอกจากจะใช้เนื้อที่ในการเพาะเลี้ยงน้อยลงแล้ว ยังสามารถควบคุมการผลิตได้ง่ายขึ้นอีกด้วย แต่อาจจะ ต้องเปลืองค่าใช้จ่ายในการใช้ไฟฟ้ามากขึ้นเนื่องจากต้องใช้แสงในการเพาะเลี้ยง แต่การควบคุมความ เข้มแสงอาจทำให้เกษตรกรสามารถดัดแปลงการผลิตให้สอดคล้องกับความต้องการของตลาดมากขึ้น นั่นคือ เมื่อมีความต้องการมาก ให้ใช้ความเข้มแสงสูง ในขณะที่เมื่อมีความต้องการต่ำ ก็ให้ใช้แสงที่

ความเข้มต่ำลง จะช่วยให้สามารถออกแบบการผลิตของตนเองได้อย่างมีประสิทธิภาพ และสามารถเปลี่ยนแปลงแผนการผลิตได้อย่างรวดเร็วเนื่องจากใช้เวลาการเพาะเลี้ยงเพียง 12 ชั่วโมงเท่านั้น

ผลการวิจัยในส่วนนี้ได้ตีพิมพ์บทความวิชาการ 2 เรื่อง คือ “Optimal growth conditions and the cultivation of *Chaetoceros calcitrans* in airlift photobioreactor” ใน Chemical Engineering Journal ดังรายละเอียดในภาคผนวกที่ 1 และ “Enhanced productivity of *Chaetoceros calcitrans* in airlift photobioreactors” ใน Bioresource Technology ดังรายละเอียดในภาคผนวกที่ 4

นอกจากนี้ยังอยู่ในระหว่างการดำเนินการเพิ่มเติมเพื่อเขียนเป็นบทความวิชาการเรื่อง “Operating constraints for the cultivation of *Chaetoceros calcitrans* in airlift photobioreactors” และจะได้แจ้งความคืบหน้าต่อสกว.ต่อไป

3.5 เอกสารอ้างอิง

- Krichnavaruk, S., Loataweesup, W., Powtongsook, S., Pavasant, P., 2005, “Optimal growth conditions and the cultivation of *Chaetoceros calcitrans* in airlift photobioreactor”, Chem. Eng. J. 10 91-98.
- Guillard, R.L., 1975. Culture of Phytoplankton for Feeding Marine Invertebrates (For general algae culture techniques) in W.L. Smith, M.H. Chanley (eds.), Culture of Marine Invertebrates Animal, Plenum Press, New York, 15-41.

บทที่ 4 การพัฒนาระบบสำหรับการเลี้ยง *Haematococcus pluvialis* และการผลิตสาร *Astaxanthin*

4.1 ที่มา

astaxanthin เป็นสาร carotenoid ประเภทหนึ่งที่ได้รับคามนิยมใช้ในผลิตภัณฑ์หลายประเภท เช่น อาหารเสริม อาหารสัตว์ ยา ฯลฯ (Lorenz and Cysewski, 2000) เนื่องจากสารนี้มีคุณสมบัติเป็นสารเร่งสี และยังมีคุณสมบัติเป็นสาร antioxidant อีกด้วย (Kobayashi et al., 1991) สาร astaxanthin สามารถผลิตได้ด้วยกรรมวิธีเคมีและชีวภาพ ซึ่งกรรมวิธีทางเคมีจะให้โครงสร้างที่ไม่เหมือนธรรมชาติ และให้คุณสมบัติต่าง ๆ ต่อกว่า astaxanthin ที่ได้จากธรรมชาติ นักวิจัยจำนวนมากจึงเน้นการผลิต astaxanthin ด้วยกระบวนการทางธรรมชาติ โดยวิธีหนึ่งที่มีศักยภาพในการให้ผลที่ดีคือการใช้สาหร่ายเซลล์เดี่ยว *Haematococcus pluvialis* เนื่องจากสาหร่ายชนิดนี้มีความสามารถในการผลิต astaxanthin ในปริมาณสูงเมื่อเทียบกับน้ำหนักรากเหง้า (Kobayashi et al., 1991; Harker et al., 1996; Gong and Chen, 1997) แต่ปัญหาสำคัญของวิธีการนี้ คือ การที่สาหร่ายชนิดนี้เจริญเติบโตค่อนข้างช้า และถูกรบกวนง่ายจากการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อม ทำให้จำเป็นต้องมีการพัฒนาระบบถึงปฏิกรณ์ทางชีวภาพเพื่อการเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิดนี้

ระบบถึงปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยกมีสภาวะที่น่าจะเหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของเซลล์ของ *Haematococcus pluvialis* เนื่องจากเป็นระบบที่มีแรงเฉือนต่ำ ไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์ และยังสามารถดูแลได้ง่าย งานวิจัยนี้จึงได้ตั้งเป้าหมายในการศึกษาการเพาะเลี้ยงเซลล์ของ *Haematococcus pluvialis* ในถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก เพื่อวิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของสาหร่ายชนิดนี้

4.2 การทดลอง

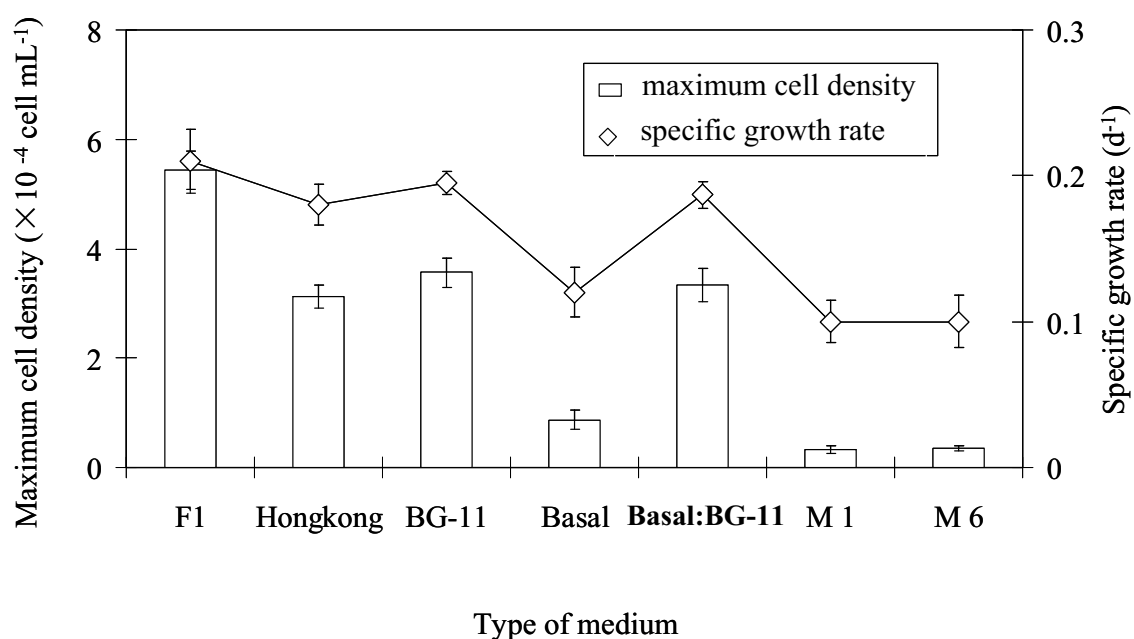
การทดลองในชุดนี้ได้ทำในถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกขนาด 3 ลิตร ซึ่งทำจากพลาสติกอะคริลิกใสขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 ซม สูง 60 ซม มีท่อภายในขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4.6 และ 6.6 ซม สูง 46 ซม โดยให้แสงทางด้านข้างถึงด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ขนาด 18 วัตต์ กำหนดความเข้มแสงโดยการปรับระยะห่างระหว่างหลอดไฟและถึงปฏิกรณ์ ฯ สารอาหารที่ใช้มีหลายชนิดตามที่มีรายงานมาก่อนหน้านี้ และได้ทำการทดลองเปรียบเทียบผลการเพาะเลี้ยงในสารอาหารรูปแบบต่าง ๆ

การทดลองเริ่มต้นด้วยเซลล์ปริมาณ 2×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตรเท่ากันทุกครั้งเพื่อให้สามารถเปรียบเทียบผลการดำเนินการได้ ซึ่งการตรวจวัดความเข้มข้นของเซลล์นั้นทำโดยใช้ Haemocytometer เช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงเซลล์ในบทที่ 3 ข้างต้น ซึ่งการนับเซลล์ของ *Haematococcus pluvialis* นั้นจะต้องแบ่งนับเป็นเซลล์สีเขียวที่มี flagella เซลล์สีเขียวที่ปราศจาก flagella และเซลล์สีแดง เนื่องจากเซลล์ชนิดนี้มีการเจริญเติบโตแบ่งเป็น 3 ระยะตามสภาวะของสิ่งแวดล้อม

4.3 ผลการทดลองและวิเคราะห์ผล

4.3.1 สารอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยง *Haematococcus pluvialis*

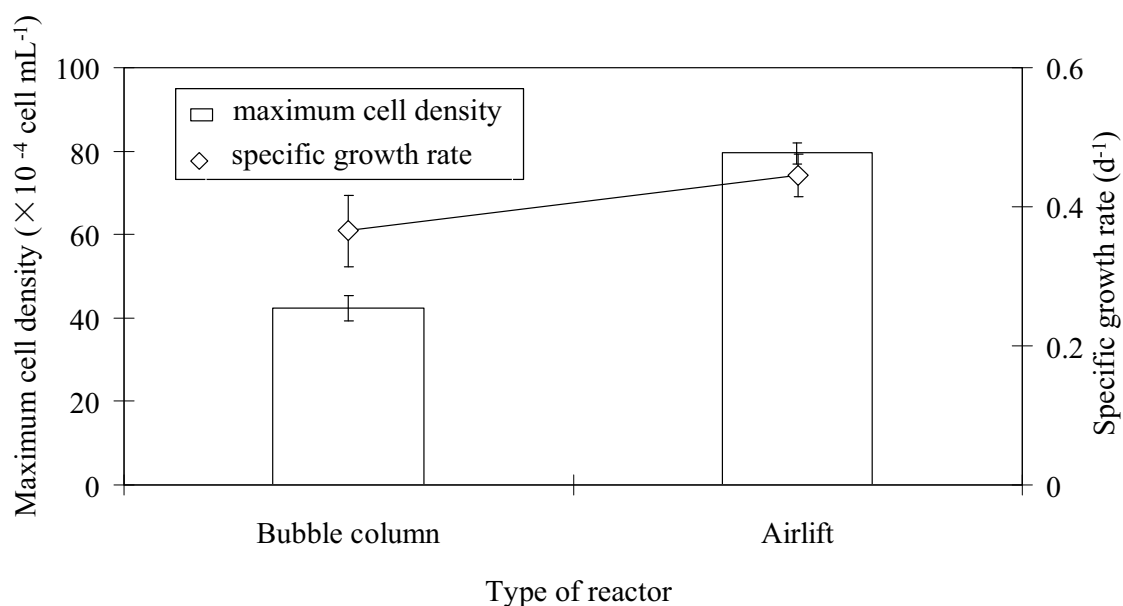
สาหร่ายเซลล์เดี่ยว *Haematococcus pluvialis* นับเป็นสาหร่ายที่มีความสำคัญในเชิงการค้า เนื่องจากเป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างสาร *astaxanthin* ซึ่งเป็นสาร *antioxidant* ที่มีประสิทธิภาพสูงและมีมูลค่าสูง แต่เซลล์ชนิดนี้เจริญเติบโตได้ดีในสภาวะที่ค่อนข้างเย็นทำให้ยังไม่มี การเพาะเลี้ยงอย่างแพร่หลายในประเทศไทย งานวิจัยนี้จึงวางเป้าหมายในการเพาะเลี้ยงเซลล์นี้ในถังผสม ผสมแบบอากาศยก โดยขั้นตอนแรกของการศึกษาจะเป็นการวิเคราะห์ถึงชนิดของสารอาหารประเภทต่าง ๆ ที่มีรายงานการใช้เพาะเลี้ยงสาหร่าย เพื่อเปรียบเทียบให้ทราบถึงสารอาหารที่ดีที่สุดสำหรับเซลล์ชนิดนี้ โดยรูปที่ 4.1 แสดงให้เห็นว่าสารอาหารที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการเพาะเลี้ยง *Haematococcus pluvialis* คือ สารอาหารสูตร F1



รูปที่ 4.1 ผลเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของ *Haematococcus pluvialis* ในสารอาหารต่าง ๆ (ตารางที่ 4.1 แสดงถึงส่วนประกอบของสารอาหารที่ใช้เปรียบเทียบ)

ตารางที่ 4.1 ส่วนประกอบของสารอาหารต่าง ๆ ที่ใช้ในการศึกษานี้

	M1	Basal	F1	BG-11	Hong Kong	M6
	Chen et al (1997)	Hata et al (2001)	Fábregas et al (1998)	Boussiba et al (1991)	Zhang et al (1999)	Gong and Chen (1998)
CaCl ₂ ·2H ₂ O	183.8 mg	25 mg	9.78 mg	36 mg	73 mg	3.676 g
KNO ₃	0.5 g	10 mg	0.41 g		0.3 g	
NaNO ₃				1.5 g		
Na ₂ HPO ₄			0.03 g		30 mg	1.5 g
NaH ₂ PO ₄	195 mg				35.5 mg	1.778 g
H ₃ PO ₄	0.12 mg					12.37 mg
K ₂ HPO ₄		75 mg		40 mg		
KH ₂ PO ₄		175 mg				
NaCl		2.513 g				
KOH		30.85 mg				
H ₂ SO ₄		0.99 mg				
C ₆ H ₅ FeO ₇ ·5H ₂ O			2.21 mg			
FeSO ₄ ·7H ₂ O	20.9 mg	4.976 mg			8.3 mg	0.417 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	61.6 mg	4 mg	16.41 mg	75 mg	24.6 mg	1.231 g
ZnSO ₄	0.72 mg	8.827 µg			0.014 mg	71.89 mg
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.62 mg	1.572 g	0.008 mg	0.079 mg	0.012 mg	62.42 mg
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.07 mg		0.08 mg	0.39 mg	0.001 mg	7.26 mg
CoCl ₂ ·2H ₂ O	0.05 mg		0.0078 mg		0.0005 mg	4.67 mg
H ₃ BO ₃		10.948 mg		2.86 mg	0.003 mg	
Cr ₂ O ₃			0.05 mg			
SeO ₂			0.036 mg			
EDTANa·2H ₂ O	18.6 g	49.34 mg		1 mg	6.7 mg	0.372 g
Na ₂ CO ₃				0.02 g		
NH ₄ Fe(C ₆ H ₅ O ₇)				0.006 g		
MnCl ₂ ·4H ₂ O		1.445 mg	0.66 mg	1.81 mg		
ZnSO ₄ ·7H ₂ O				0.222 mg		
Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O		0.389 mg		0.049 mg		
MnSO ₄ ·H ₂ O	0.72 mg				0.001 mg	84.51 mg
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O		15 mg				



รูปที่ 4.2 ผลเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยง *Haematococcus pluvialis* ในถังสัมผัสแบบธรรมดา (Bubble column) และถังสัมผัสแบบอากาศยก (Airlift contactor)

4.3.2 การดำเนินงานในถังสัมผัสแบบธรรมดาและถังสัมผัสแบบอากาศยก

รูปที่ 4.2 แสดงให้เห็นถึงผลเปรียบเทียบการดำเนินงานในถังสัมผัสแบบธรรมดา (bubble column) และถังสัมผัสแบบอากาศยก (airlift contactor) โดยถังสัมผัสแบบอากาศยกจะให้ผลการดำเนินงานที่ดีกว่าถังสัมผัสแบบธรรมดาที่มีสภาวะการดำเนินงานเหมือนกันอย่างชัดเจน ทั้งนี้เนื่องจากสภาวะในถังสัมผัสแบบอากาศยกส่งเสริมให้มีการไหลวนของเซลล์ในแนวดิ่ง เซลล์จึงผลัดกันไหลมายังส่วน Downcomer ซึ่งเป็นส่วนที่ได้รับแสงมากที่สุด ทำให้เซลล์สามารถเจริญเติบโตได้ค่อนข้างดี ส่วนเซลล์ในถังสัมผัสแบบธรรมดา เนื่องจากไม่มีการไหลวนของของเหลว ทำให้ไม่มีแรงที่ช่วยทำให้เกิดการไหลวนของของเหลว จึงเกิดการตกตะกอนขึ้นหลังจากที่ผ่านการเพาะเลี้ยงไปได้ระยะหนึ่ง

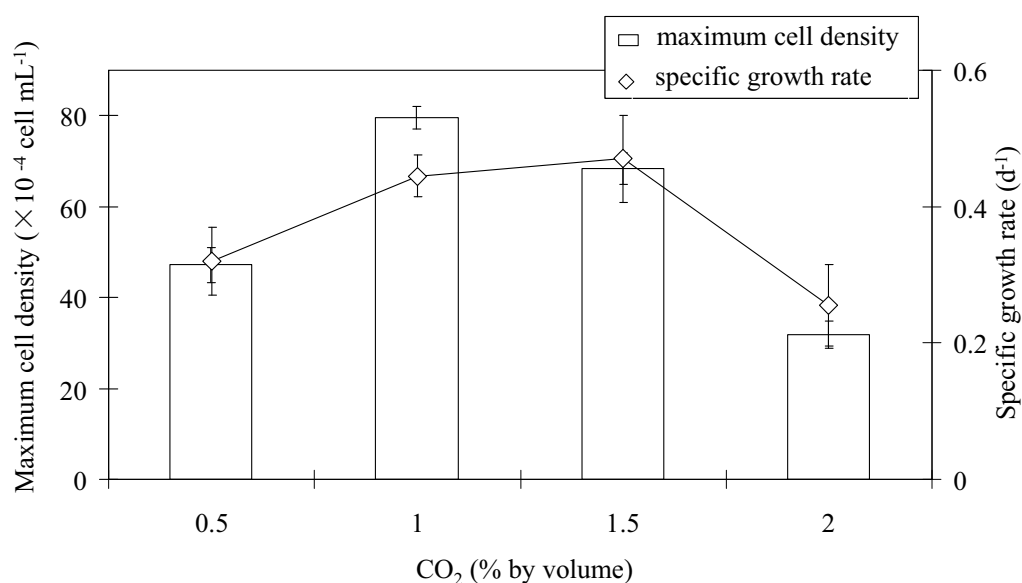
4.3.3 การดำเนินงานในสภาวะแวดล้อมต่างกัน

4.3.3.1 ผลของคาร์บอนไดออกไซด์

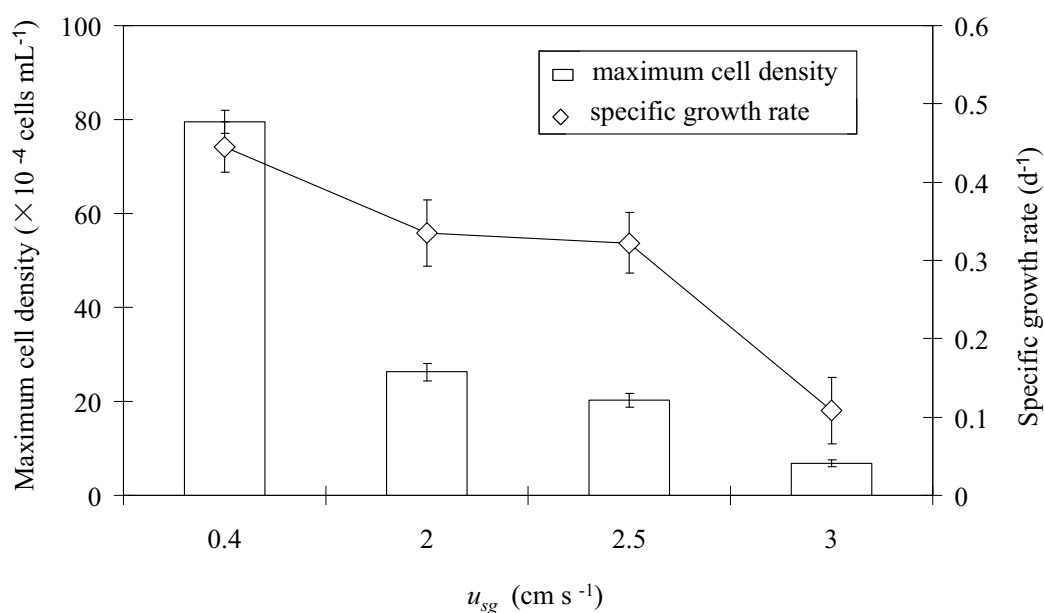
ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งของคาร์บอนสำหรับการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่าย การป้อนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จึงช่วยให้เซลล์สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ดีขึ้น แต่เนื่องจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เมื่อละลายน้ำแล้วจะมีสภาพเป็นกรด ซึ่งไม่เหมาะกับการเจริญเติบโตของสาหร่าย ผลการทดลองในรูปที่ 4.3 แสดงให้เห็นว่า สัดส่วนของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศที่ป้อนเข้าสู่ระบบถังสัมผัส ฯ ที่เหมาะกับการเจริญเติบโตมากที่สุดคือ 1%

4.3.3.2 ผลของความเร็วลม

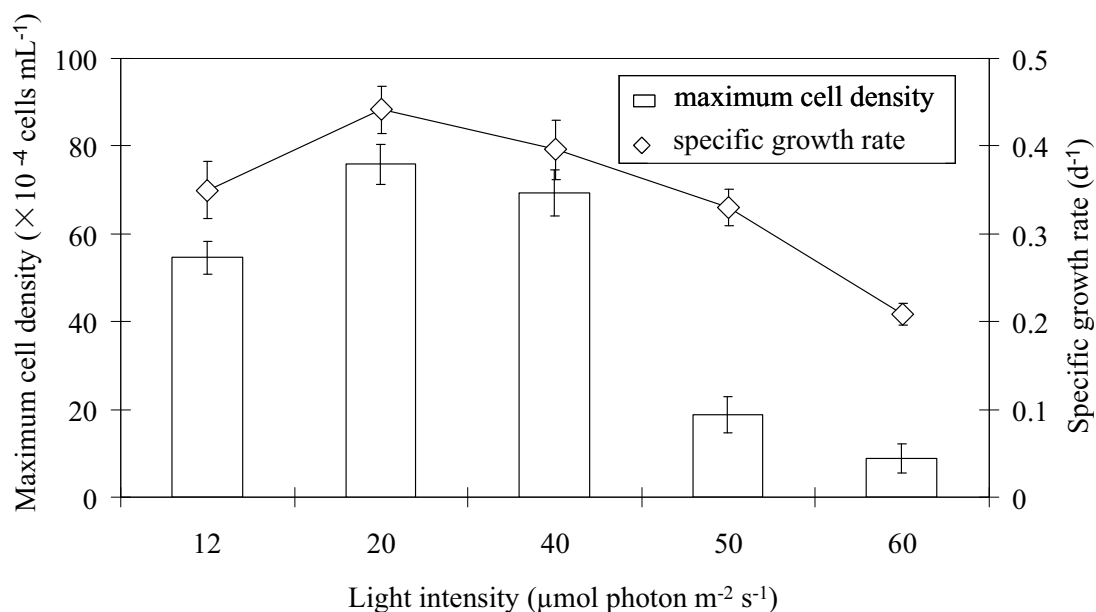
เซลล์ของ *Haematococcus pluvialis* เป็นเซลล์ที่มี flagella จึงสามารถเคลื่อนที่ในน้ำได้อย่างอิสระ แต่ผลการวิเคราะห์ข้างต้นแสดงให้เห็นว่าการเคลื่อนที่ของของเหลวมีส่วนช่วยให้เซลล์สามารถเคลื่อนที่ได้อย่างเป็นแบบแผนมากขึ้น แต่เซลล์ของสาหร่ายชนิดนี้ในช่วงของการเจริญเติบโตมีความอ่อนแอค่อนข้างมาก การให้อากาศด้วยความเร็วสูง ๆ จะทำให้เกิดอันตรายต่อเซลล์และยับยั้งการเจริญเติบโต รูปที่ 4.4 แสดงว่าระบบต้องการความเร็วลมเพียงเล็กน้อยเท่านั้นเพื่อให้เกิดการเจริญเติบโตของเซลล์ที่สูงที่สุด ซึ่งในที่นี้ความเร็วลมที่ต่ำที่สุดที่สามารถทำได้ในห้องปฏิบัติการคือ 0.4 เซนติเมตรต่อวินาที



รูปที่ 4.3 ผลของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการเจริญเติบโตของ *Haematococcus pl.*



รูปที่ 4.4 ผลของความเร็วลมต่อการเจริญเติบโตของ *Haematococcus pluvialis*



รูปที่ 4.5 ผลของแสงต่อการเจริญเติบโตของ *Haematococcus pluvialis*

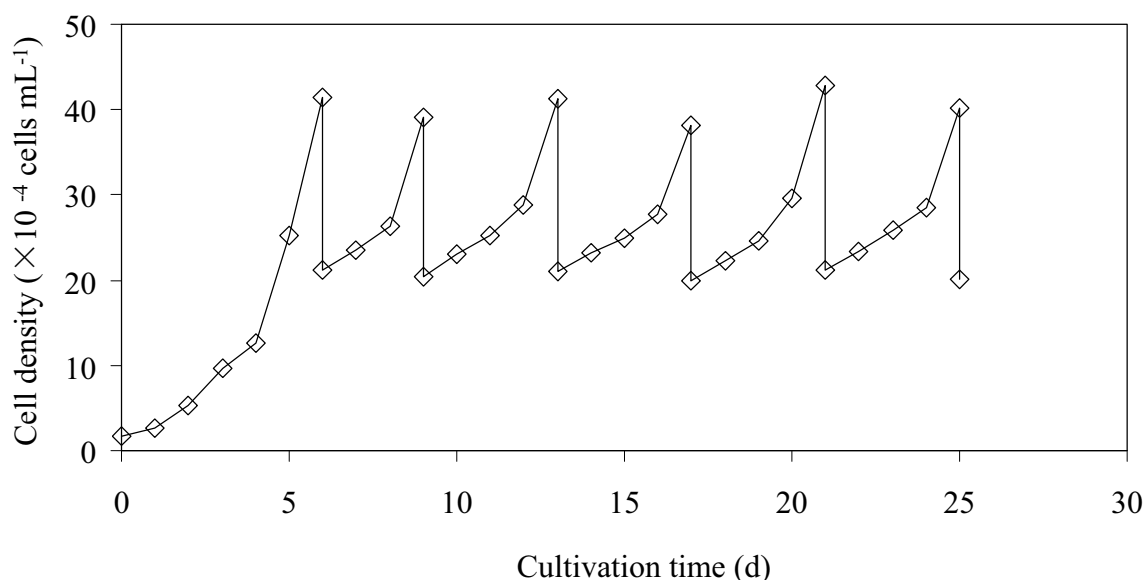
4.3.3.3 ผลของแสง

Haematococcus pluvialis สามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาวะที่ไม่ต้องมีแสงที่มีความเข้มสูงมากนัก นอกจากนี้การให้แสงที่มีความเข้มสูง ๆ อาจทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโต และเป็นวิธีที่นิยมใช้ในการเร่งให้เซลล์สร้างสาร *astaxanthin* ซึ่งเซลล์จะสร้างสารนี้ขึ้นก็ต่อเมื่อสภาวะแวดล้อมไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตเท่านั้น แต่ในที่นี้การศึกษาเน้นไปที่การเพาะเลี้ยงเซลล์เพื่อให้ได้จำนวนเซลล์และผลผลิตที่สูง ดังนั้นสภาวะของแสงที่ใช้ในการเลี้ยงจึงต้องไม่สูงมาก โดยรูปที่ 4.5 แสดงว่าความเข้มแสงที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเซลล์นี้อยู่ที่ประมาณ 20 μmol photon ต่อตารางเมตรต่อวินาที หรือประมาณ 1000 ลักซ์ เท่านั้น

4.3.4 การดำเนินงานแบบกึ่งต่อเนื่อง

เมื่อทราบถึงสภาวะต่าง ๆ ที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเซลล์สำหรับ *Haematococcus pluvialis* แล้ว การดำเนินงานขั้นต่อไป คือการเพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้ผลผลิตที่สม่ำเสมอ โดยในที่นี้ได้เลือกใช้กระบวนการผลิตแบบกึ่งต่อเนื่อง เพื่อศึกษาถึงความเป็นไปได้ในการผลิตที่มีความต่อเนื่องเป็นเวลานาน โดยรูปที่ 4.6 แสดงถึงผลการศึกษาค้างนี้ เซลล์ได้ถูกเริ่มเลี้ยงแบบกะ (Batch culture) จนกระทั่งเข้าสู่ช่วงการเจริญเติบโตแบบ exponential จึงเริ่มทำการเก็บเกี่ยวผลผลิต โดยทำการดึงเอาเซลล์ที่เข้มข้นออกทุก ๆ 4 วัน ซึ่งเซลล์สามารถเจริญเติบโตได้ความเข้มข้นสูงสุดเท่ากับประมาณ 4×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และให้ค่าการเจริญเติบโตสูงสุดเท่ากับ 0.31 ต่อวัน และให้ค่าอัตราการผลิตจำเพาะเท่ากับ 5.52×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตรต่อวัน ซึ่งนับเป็นการรายงานครั้งแรกของการเพาะเลี้ยงเซลล์ *Haematococcus pluvialis* ในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบกึ่งต่อเนื่อง โดยค่าอัตราการเจริญเติบโต

สูงสุดที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าสูงที่สุดเท่าที่เคยมีรายงานการศึกษาในถังปฏิกรณ์ ฯ แต่ยังคงน้อยกว่าค่าสูงสุด 0.58 ต่อวันที่ได้จากการศึกษาในขวดลูกหมพอของ Kobayashi et al (1992)



รูปที่ 4.6 ผลการดำเนินการเพาะเลี้ยง *Haematococcus pluvialis* ในถังสัมผัสแบบอากาศยกที่ดำเนินการแบบกึ่งต่อเนื่อง

4.4 สรุปผลดำเนินการ

การทดลองครั้งนี้นับเป็นรายงานครั้งแรกของความพยายามในการเพาะเลี้ยงเซลล์สีเขียวของ *Haematococcus pluvialis* ในประเทศไทย ทั้งนี้เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศที่มีอุณหภูมิเฉลี่ยค่อนข้างสูง ซึ่งรายงานที่ผ่านมามีชี้ว่าเซลล์ชนิดนี้เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 20°C แต่ผลการดำเนินงานแสดงให้เห็นว่า ด้วยสภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสม เซลล์ชนิดนี้สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่ 27°C ซึ่งเป็นระดับอุณหภูมิที่สามารถควบคุมได้ในประเทศ นอกจากนี้ยังเป็นรายงานครั้งแรกของการเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิดนี้ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก ซึ่งให้ผลผลิตในระดับที่น่าพอใจ แต่การศึกษายังจำกัดในระบบขนาดเล็กเท่านั้น การศึกษาเพิ่มเติมเพื่อนำไปสู่การใช้งานจริงเชิงพาณิชย์ จำเป็นจะต้องมีต่อไป

การศึกษานี้ยังเป็นเพียงจุดเริ่มต้นของอุตสาหกรรมการผลิตสาร *astaxanthin* เนื่องจากเน้นไปที่กระบวนการเพาะเลี้ยงเซลล์ และเพื่อที่จะให้การศึกษาครบวงจร จำเป็นจะต้องมีการศึกษาเกี่ยวกับการกระตุ้น *astaxanthin* ในเซลล์ด้วย ซึ่งงานวิจัยทางด้านการกระตุ้นสารชนิดนี้นับว่ามีปริมาณค่อนข้างมาก และน่าจะสามารถนำมาปรับใช้กับอุตสาหกรรมในประเทศไทยได้ระดับหนึ่ง

ผลการวิจัยในส่วนนี้ได้ตีพิมพ์บทความวิชาการเรื่อง “Photoautotrophic High-Density Cultivation of Vegetative Cells of *Haematococcus pluvialis* in Airlift Bioreactor” ใน Bioresource Technology ดังรายละเอียดในภาคผนวกที่ 3

4.5 เอกสารอ้างอิง

- Boussiba, S., Vonshak, A., 1991, “Astaxanthin accumulation in the green alga *Haematococcus pluvialis*” Plant Cell Physiol. 32(7) 1077-1082.
- Chen, F., Chen, H., Gong, X., 1997, “Mixotrophic and heterophic growth of *Haematococcus lacustris* and rheological behavior of the cell suspensions” Bioresource Technology 62 19-24.
- Fábregas, J., Dominguez, A., Alvarez, D.G., Lamela, T., Otero, A., 1998, “Induction of astaxanthin accumulation by nitrogen and magnesium deficiencies in *Haematococcus pluvialis*” Biotechnology Letters 20(6) 623-626.
- Gong, X., Chen, F., 1997, “Optimization of culture medium for growth of *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyceae)” Phycol. 30 829-833.
- Gong, X., Chen, F., 1998, “Influence of medium components on astaxanthin content and production of *Haematococcus pluvialis*” Process Biochemistry 33(4) 385-391.
- Harker, M., Tsavalos, A.J., Yong, A.J., 1996, “Autotrophic growth and carotenoid production of in 30 liter air-lift photobioreactor”. Fermentation and Bioengineering 82(2) 113-118.
- Hata, N., Ogbonna, J.C., Hasegawa, Y., Taroda, H., Tanaka, H., 2001, “Production of astaxanthin by *Haematococcus pluvialis* in a sequential heterotrophic-photoautotrophic culture”. J. Appl. Phycology 13 395-402.
- Kobayashi, M., Kakizono, T., Nagai, S., 1991, “Astaxanthin production by green algal, *Haematococcus pluvialis* accompanied with morphological changes in acetate media”. Fermentation and Bioengineering 71(5) 335-339.
- Lorenz, R.T., Cysewski, G.R., 2000, “Commercial potential for *Haematococcus* microalgae as a natural source of astaxanthin” TIBTECH. 18 160-165.
- Zhang, X.W., Gong, X.F., Chen, F., 1999, “Dynamics and stability analysis of the growth and astaxanthin production system of *Haematococcus pluvialis*” Industrial Microbiology and Biotechnology 23 133-137.

บทที่ 5 สรุป

โครงการวิจัยนี้ได้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพในการพัฒนาใช้ถึงสัมผัสแบบอากาศยอกสำหรับอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ โดยผลงานวิจัยสามารถแบ่งได้ออกเป็น 2 ลักษณะ คือ ผลทางด้านพื้นฐานการดำเนินงานของถึงสัมผัส ฯ เช่น การไหลของสาร และการถ่ายเทมวลสาร และผลทางด้านการใช้งานกับอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ โดยเน้นไปที่อุตสาหกรรมต้นทาง คือ การอนุบาลสัตว์น้ำ และการเพาะเลี้ยงเซลล์ที่ให้ผลผลิตที่มีคุณค่า

ถึงสัมผัสแบบอากาศยอกเป็นระบบที่สร้างและดูแลได้ง่าย ผู้ใช้งานเช่นเกษตรกรทั่วไปสามารถสร้างขึ้นใช้ได้เอง และให้ผลที่มีประสิทธิภาพดีกว่าระบบดั้งเดิม เช่น การเพาะเลี้ยงในบ่อหรือในระบบแบบ Bubble column จึงเป็นระบบที่น่าสนใจในการศึกษาและพัฒนาเพิ่มเติม เพื่อให้เป็นระบบมาตรฐานสำหรับการเพาะเลี้ยงเซลล์เพื่ออนุบาลสัตว์น้ำทั่วไป จะช่วยลดพื้นที่ใช้งานและเวลาในการทำงาน รวมทั้งค่าใช้จ่ายต่าง ๆ ลงได้มาก อย่างไรก็ตามการพัฒนาระบบขนาดใหญ่สำหรับการใช้งานบางประเภทยังอาจจำเป็นต้องมีการวิจัยเพิ่มเติมเพื่อให้ได้ข้อมูลการออกแบบเพิ่มเติม เนื่องจากการศึกษานี้ยังมีขีดจำกัดโดยเฉพาะในเรื่องของพื้นที่ จึงไม่สามารถที่จะสร้างเครื่องมือขนาดใหญ่เพื่อการทดลองได้

โครงการนี้เป็นตัวอย่างหนึ่งของการพัฒนาระบบวิศวกรรมภายในประเทศ ซึ่งสามารถทำได้ตั้งแต่ต้นทางจนถึงปลายทางโดยไม่ต้องพึ่งพาเทคโนโลยีจากต่างประเทศ ทำให้ได้ระบบที่มีราคาถูกและมีประสิทธิภาพตามที่ต้องการ และเหมาะสมกับสภาพการพัฒนาของประเทศที่ควรเน้นไปที่อุตสาหกรรมเกษตร รวมทั้งอุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

Output ที่ได้จากโครงการ

สรุปบทความวิชาการที่ได้จากงานวิจัยนี้

1. “Optimal growth conditions and the cultivation of *Chaetoceros calcitrans* in airlift photobioreactor” Sontaya Krichnavaruk, Worapannee Loataweesup, Sorawit Powtongsook, Prasert Pavasant, Chemical Engineering Journal 105 (2005) 91–98 (ภาคผนวก 1)
2. “Hydrodynamics and mass transfer behavior in multiple draft tube airlift contactors” Naline Tunthikul, Porntip Wongsuchoto, Prasert Pavasant, Korean J. Chem. Eng., 23 (6) (2006), 881-887 (ภาคผนวก 2)
3. “Photoautotrophic High-Density Cultivation of Vegetative Cells of *Haematococcus pluvislis* in Airlift Bioreactor” K. Kaewpintong, A. Shotipruk, S. Powtongsook and P. Pavasant, Bioresource Technology 98 (2007), 288-298 (ภาคผนวก 3)
4. “Enhanced productivity of *Chaetoceros calcitrans* in airlift photobioreactors” Sontaya Krichnavaruk, Sorawit Powtongsook, Prasert Pavasant, Bioresource Technology 98 (2007), 2123-2130 (ภาคผนวก 4)
5. “Influence of salinity on bubble size distribution and gas-liquid mass transfer in airlift contactors”, Duangkamol Ruen-ngam, Porntip Wongsuchoto, Apiradee Limpanuphap, Tawatchai Charinpanitkul, Prasert Pavasant (Submitted to Chemical Engineering Journal)

งานวิจัยที่อยู่ภายใต้การเตรียมการ (รอผลการทดลองและการวิเคราะห์ผลเพิ่มเติม)

1. “Operating constraints for the cultivation of *Chaetoceros calcitrans* in airlift photobioreactors” (in preparation stage: awaiting more experimental results)
2. “Influence of draft tube configuration on hydrodynamic properties and mass transfer in large scale airlift contactors” (submitted to Chemical Engineering Processes)

ภาคผนวก 1

“Optimal growth conditions and the cultivation of *Chaetoceros calcitrans* in airlift photobioreactor” Sontaya Krichnavaruk, Worapannee Loataweesup, Sorawit Powtongsook, Prasert Pavasant, Chemical Engineering Journal 105 (2005) 91–98

Optimal growth conditions and the cultivation of *Chaetoceros calcitrans* in airlift photobioreactor

Sontaya Krichnavaruk^a, Worapannee Loataweesup^a,
Sorawit Powtongsook^b, Prasert Pavasant^{a,*}

^a Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

^b Marine Biotechnology Research Unit, Chulalongkorn University, National Center of Genetic Engineering and Biotechnology, Bangkok, Thailand

Received 17 July 2004; received in revised form 18 October 2004; accepted 23 October 2004

Abstract

The optimal conditions for the growth of a diatom *Chaetoceros calcitrans* were investigated in a 2.5 L glass bubble column. The light intensity for the highest growth rate was shown to be at around $400 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A modified standard F/2 medium with a two-fold of silica and phosphorus concentrations was illustrated to result in a better growth of this diatom. Vitamin B₁₂ in the range from 1 to $3 \mu\text{g L}^{-1}$ did not significantly affect the growth. A maximum cell density obtained from this small glass bubble column was approximately $5.8 \times 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$ with a maximum specific growth rate of $3.80 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$. The cultivation of *C. calcitrans* in the 17 L airlift photobioreactor (ALPBR) was illustrated to be superior to that in the bubble column with the same size. The operation with superficial gas velocity of 3 cm s^{-1} was found to give a maximum specific growth rate of $7.41 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$ with a maximum cell concentration of $8.88 \times 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$ in a batch culture. A semi-continuous culture could be achieved where the harvest was performed at every 12 h. In this case, the maximum specific growth rate (μ) achievable was $9.65 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$ and the cell concentration during the harvest period was $4.08 \times 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$.

© 2004 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Single cell algae; Light intensity; F/2 medium; Nutrient; Flow pattern; Growth rate; Semi-continuous culture; Bubble column; Airlift bioreactor

1. Introduction

Diatom is a basic component of marine hatchery operations because it serves as one alternative natural resource for poly unsaturated fatty acids [1]. The diatom *C. calcitrans* is considered one of the most popular strains used as a feed for shrimp larvae. *C. calcitrans* is a diatom with chlorophyll content and it is usually cultivated in a similar fashion to single cell algae where, apart from other common nutrients, light plays a significant role in controlling its growth rate. Very few investigations on the optimal condition for the growth of *C. calcitrans* are available. The only report indicated that the highest yield for this diatom was obtained at an initial silica concentration of $400 \mu\text{g L}^{-1}$ (as sodium metasilicate) [2]. However, this operation was subject to a cool environ-

ment and the optimal growth was significantly different from that in warmer locations like tropical countries such as Thailand where there is a high demand of *C. calcitrans* for marine hatcheries, particularly shrimp larvae. The development of bioreactor for mass cultivation of single cell algae or diatom always enables the adjustment of the light intensity, which leads to a successful production of high cell density culture. Examples of the novel designed photobioreactors include a tubular reactor [3,4] and the flat plate bioreactor [5]. However, these existing closed systems suffer serious drawbacks from poor mixing and gas–liquid mass transfer.

Airlift bioreactors (ALBR) have recently become an attractive alternative for cell cultivation [6]. This might be due to several main advantages such as good mixing, well-defined fluid flow pattern, relatively high gas–liquid mass transfer rate, and low capitals and operating costs. The mixing in the ALBR could be obtained without causing too much shear force in the liquid phase, which could inhibit the growth

* Corresponding author. Tel.: +66 2 2186870; fax: +66 2 2186877.

E-mail address: prasert.p@chula.ac.th (P. Pavasant).

of the algae. In addition, it was mentioned that the well-defined circulation pattern resulted in a better light utilization particularly for the system with high density of cells [7].

The aim of this work was firstly to determine optimal conditions for the growth of *C. calcitrans* in tropical areas where the average temperature is approximately 30 °C. The standard F/2 medium [8] was employed as a standard culture medium where the amounts of silica, nitrogen, phosphorus, and Vitamin B₁₂ in this medium were examined for their effects on the diatom growth. Light intensity was also manipulated to investigate its influence on the cultivation of the diatom. In addition, the semi-continuous operation of airlift photobioreactor (ALPBR) as a production system for high cell density of *C. calcitrans* was examined.

2. Materials and methods

2.1. Determination of optimal growth conditions

The investigation on the optimal conditions for the growth of *C. calcitrans* was carried out in a 2.5 L clear glass column with a diameter of 12 cm. Compressed air was provided at the bottom of the glass column at a flowrate of 3.8 L min⁻¹. The lighting was supplied through the 250 W lamps where the light intensity could be controlled from 40 to 600 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ by adjusting the distance between the light source and the column. Temperature was controlled at approximately 30 °C (± 2 °C). The composition of the F/2 medium was modified to examine the effect of silica, phosphorus, nitrogen, and Vitamin B₁₂ on cell growth. Table 1 summarizes the variation in the controlled parameters including the range of concentrations of the selected components in the F/2 medium for this experiment. The initial cell concentration for this experiment was controlled at 5×10^5 cells mL⁻¹.

Table 1

Variation of growth factors in the determination of optimal condition for *Cheatocecos calcitrans*

Growth factor	Range
Light intensity ($\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	40–600
Silica concentration ($\text{mg Na}_2\text{SiO}_3 \text{ L}^{-1}$)	0–4.8
Phosphorus concentration ($\text{mg Na}_2\text{HPO}_4 \text{ L}^{-1}$)	0–3.6
Nitrogen concentration ($\text{mg NaNO}_3 \text{ L}^{-1}$)	0–42
Vitamin B ₁₂ concentration ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0–3

2.2. Production of high density culture

The experimental setup for a larger scale system is depicted in Fig. 1. The culture was grown in the 17 L airlift photobioreactor (ALPBR) along with the bubble column (BC) of the same size. Both bioreactors were made of clear acrylic plastic with a diameter of 15 cm (3 mm wall thickness). The ALPBR was equipped with a draft tube installed centrally in the column. The ratio between the cross sectional areas of downcomer and riser ($A_d:A_r$) was 2.63. Compressed air was provided at the bottom of the draft tube and there was a space of 5 cm between the bottom of the draft tube and the column to allow liquid circulation. The aeration rate was controlled by the calibrated rotameter where the superficial gas velocity in the riser was controlled in a range of 2–5 cm s⁻¹. Light was supplied through 12 fluorescent lamps (36 W each) at the side along the length of the columns, which yielded approximately 200 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ of light intensity. The temperature was controlled at around 30 °C (± 2 °C). Two modes of operations were examined here, i.e., batch and semi-continuous cultures. The batch culture was performed to compare the performance of ALPBR and BC in terms of growth rate and the maximum achievable cell density. The semi-continuous system was only carried out in the ALPBR. All bioreactor systems were cultivated with an initial cell concentration of about 1×10^5 cells mL⁻¹.

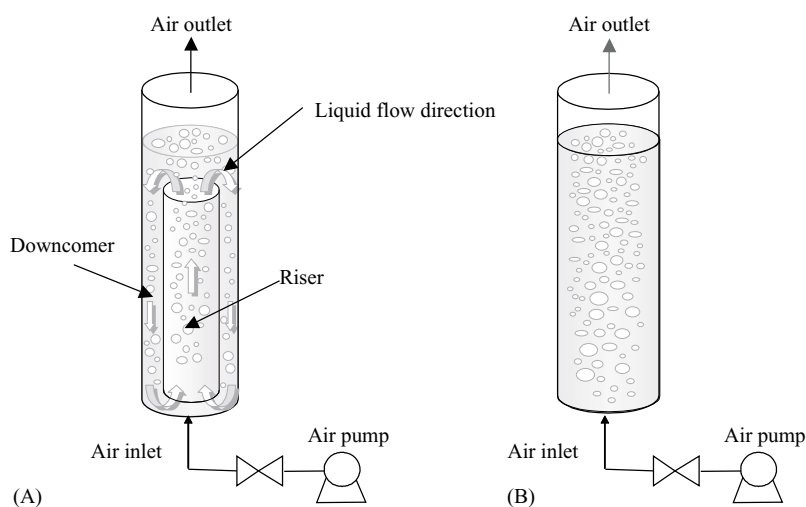


Fig. 1. Schematic diagram for (A) airlift photobioreactor and (B) bubble column.

2.3. Analytical measurements

Cell concentration (N) was measured using the common blood cell count device, haemocytometer. The cell concentrations at two different time periods were employed for the calculation of the growth rate as expressed by

$$\mu = \frac{\ln(N_2) - \ln(N_1)}{t_2 - t_1} \quad (1)$$

where μ is the specific growth rate (h^{-1}), N_1 the cell concentration at t_1 (cells h^{-1}), N_2 the cell concentration at t_2 (cells h^{-1}), t_1 the first sampling time (h), and t_2 the second sampling time (h).

The photosynthetic activity of the diatom was measured in terms of photosynthetic oxygen evolution rate (POER). The culture was intermittently sparged with nitrogen gas to reduce the dissolved oxygen level. Subsequently, the rate of increase in dissolved oxygen concentration in the unaerated culture was determined where POER could then be calculated from

$$\text{POER} = \frac{\text{DO}_s \times 60}{CV} \quad (2)$$

where POER is the photosynthetic oxygen evolution rate ($\text{mg O}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ chlorophyll h}^{-1}$), DO_s the slope of the curve of dissolved oxygen (DO) concentration versus time ($\text{mg O}_2 \text{ min}^{-1}$), C the chlorophyll concentration ($\text{mg chlorophyll mL}^{-1}$) and V the volume of algal culture (mL).

The chlorophyll concentration was measured according to the standard method detailed in Ref. [9].

3. Results and discussion

3.1. Effect of light intensity

The effect of light intensity was investigated in a series of experiments where the cultures of different cell densities were exposed to the light at different intensities over

a short 15 min time interval, and the results are displayed in Fig. 2. The photosynthetic rate was represented by the rate of oxygen released from the culture sample and therefore called photosynthetic oxygen evolution rate (POER). The maximum POER (or equivalent to maximum photosynthetic rate) often took place at the light intensity of around $400 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

The suitable cell concentration for the highest POER was about $3 \times 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$. It seemed that an increase in cell density resulted in a more active cell but with cell concentration above $3 \times 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$, the activity of cell dropped which could be attributed to the self-shading effect. The effect of light intensity on growth may be explained by the damage/repair mechanism of the photosystem II (PS II) D1 protein [4,10–13]. In brief, these statements indicated that the over-saturation of light caused damages to the PS II D1 protein that carried the binding sites for the electron carrier. The extent of the damage was a function of light intensity. However, a simultaneous repair-mechanism existed which produced new D1 molecules to replace damaged ones. The rate of this repair mechanism was believed to be independent of light. In other words, at low light intensity, all damaged D1 protein molecules were replaced almost immediately, and the net damage to the photosynthetic was negligible. At high light intensity, on the other hand, although repair occurred simultaneously with the damage, it occurred at a lower rate, and this led to an apparently lower photosynthetic rate and also the associated growth rate.

3.2. Effect of nutrients and Vitamin B₁₂ in F/2 medium

Generally, the standard F/2 medium was used for the cultivation of the diatom but it was not especially designed for the growth of *C. calcitrans*. This investigation therefore attempted to identify nutritional factors that controlled the growth of the culture of *C. calcitrans* by making modification to this standard medium. This was achieved by alter-

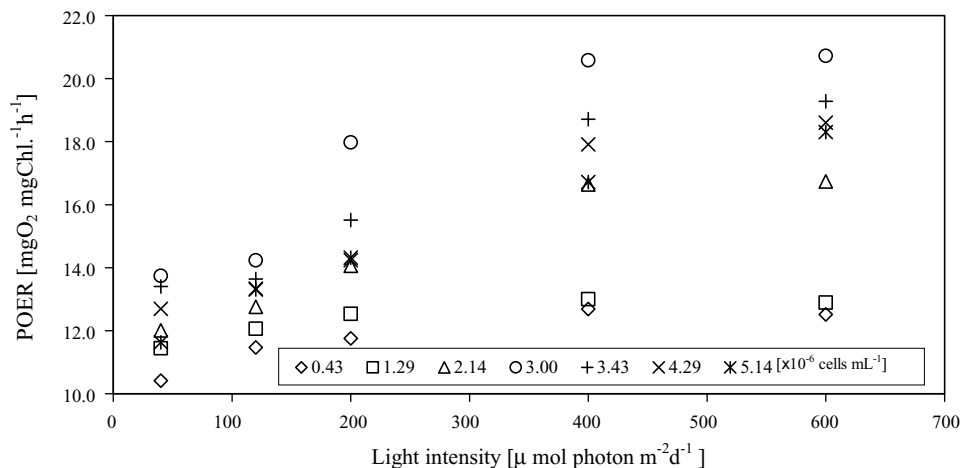


Fig. 2. Effect of light intensity on photosynthesis oxygen evolution rate (POER).

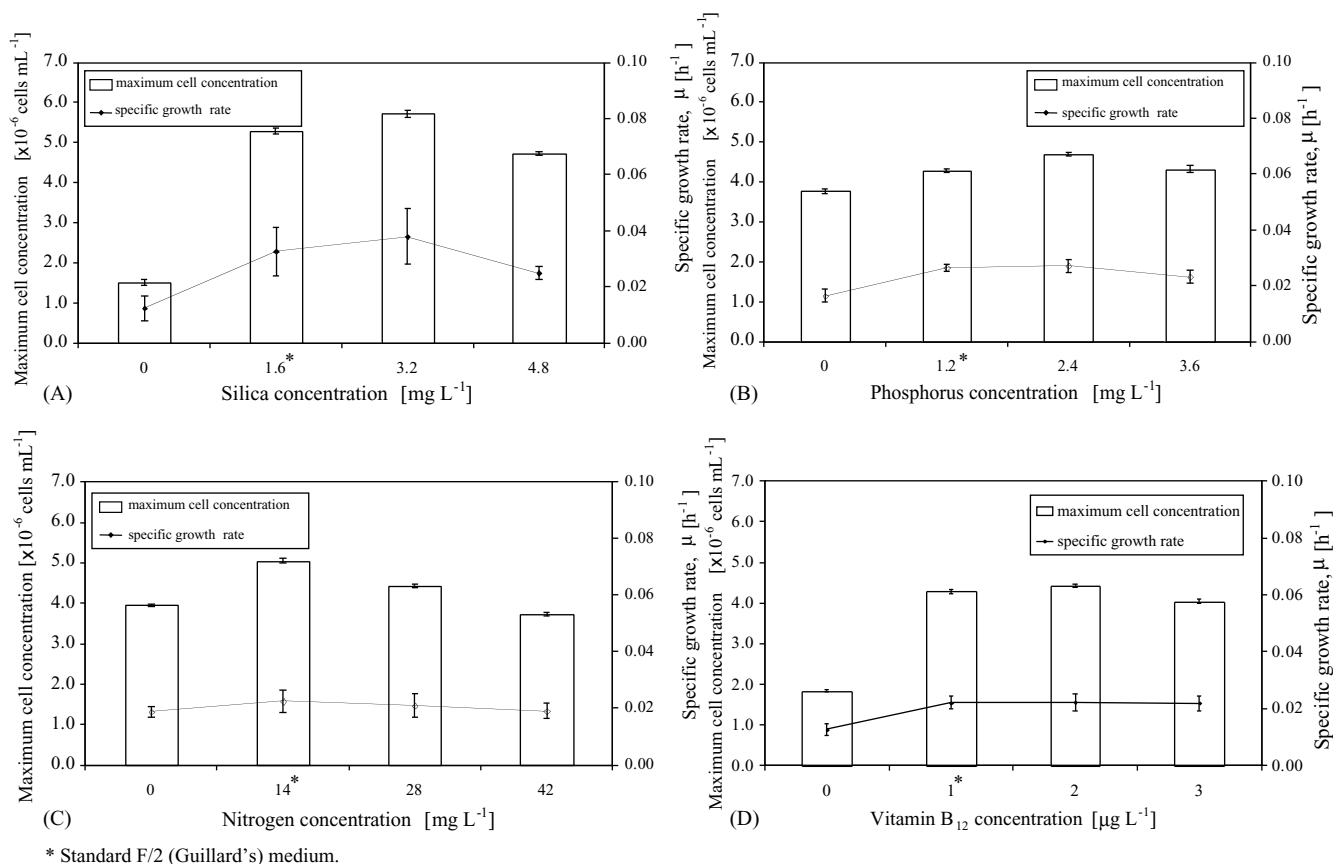


Fig. 3. Effect of nutrient concentration on maximum cell concentration and specific growth rate: (A) silica concentration; (B) phosphorus concentration; (C) nitrogen concentration; (D) Vitamin B₁₂ concentration.

ing the concentration of each of the nutrient while maintaining the concentration of other components. Specifically, the experiments were started with a cell concentration of 5×10^5 cells mL^{-1} in a modified F/2 medium where the composition of silica (as sodium metasilicate), phosphorus (as phosphate), nitrogen (as nitrate), and Vitamin B₁₂ were varied.

Fig. 3A illustrates that the addition of silica (as sodium metasilicate) at 3.2 mg L^{-1} resulted in the highest growth rate. This value was twice as much as that recommended in the standard F/2 medium of 1.6 mg L^{-1} . The absence of silica, $\text{Si} = 0 \text{ mg L}^{-1}$, caused a declining cell concentration where the maximum cell concentration fell below initial concentration. It was accepted that diatom could not survive with an inadequate supply of silica because silica was not only needed in the cell wall formation, but it was also required for deoxyribonucleic acid (DNA) synthesis.

The suitable phosphorus concentration for the diatom growth was observed to be around 2.4 mg L^{-1} (Fig. 3B). This concentration was also two times higher than that recommended in the standard F/2 medium. The most important role of phosphorus was in energy transfers through energy carrying agents, e.g., adenosine triphosphate (ATP), NADPH, etc. Therefore excessive or insufficient supply of phosphorus

could have negative impact on cell growth. When external phosphate concentrations were high, the ability of cells in the assimilation of phosphorus compound was repressed and the growth was inhibited. On the other hand, an inadequate level of external phosphorus reduced the cell capacity in authorizing ATP and other energy compounds which also led to a limited cell growth.

As demonstrated in Fig. 3C, nitrogen concentration as stated in the standard F/2 medium (14 mg L^{-1}) was most suitable for the growth of *C. calcitrans*. Concentrations above and below this optimal 14 mg L^{-1} led to a slightly lower growth rate. This could be explained by considering the effect of nitrogen on cellular metabolism where both nitrogen starvation and overdose led to a dramatic decrease in the efficiency of energy transfer from harvesting complexes to photo system II (PS II) reaction center [12].

Fig. 3D indicates that Vitamin B₁₂ was essential for growth but only a tiny amount would suffice the growth of the cell. In this case, even the smallest amount used in the medium ($1 \mu\text{g L}^{-1}$) was adequate for the growth. Note that the optimal amount of Vitamin B₁₂ still could not be determined from this experiment and it could be that a lower dose than $1 \mu\text{g L}^{-1}$ could be adequate for an efficient growth of the diatom.

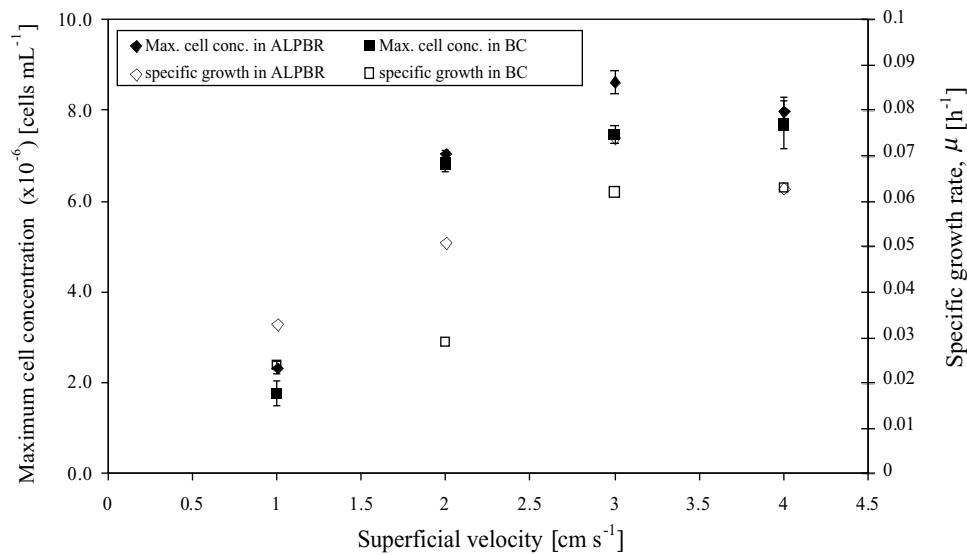


Fig. 4. Cell concentration time profile in airlift photobioreactor and bubble column.

3.3. Cultivation in bioreactors

Fig. 4 demonstrates the growth curves of *C. calcitrans* in the two bioreactors. Note that for these large-scale units, the light intensity at $400 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ could not be supplied due to experimental limitation and the maximum achievable light intensity for these systems was only $200 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$. The performance of the ALPBR was superior to that of the BC both in terms of maximum cell density and growth rate, i.e., maximum growth rate and maximum cell concentration were $7.41 \times 10^{-2} \text{h}^{-1}$ and $8.88 \times 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$ for the ALPBR, respectively, and $6.3 \times 10^{-2} \text{h}^{-1}$ and $7.68 \times 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$ for the BC. The difference in the performance of the two bioreactors must be derived from the difference in their behavior. In the BC, the aeration only superimposed random movement with no

net movement of the liquid [7]. Since cells were not properly recirculated in the BC, some cells were exposed to high light density at the region adjacent to the wall of the column where the light source was located. Those cells in the middle of the column were only exposed to low light density and resulting in an ineffective photosynthesis and low growth rate when compared to those obtained from the ALPBR. The configuration of the ALPBR with riser and downcomer caused uneven densities of fluid in the two sections and induced a certain pattern of liquid movement, i.e., liquid moved up in the riser and down in the downcomer. The well-defined flow pattern in the ALPBR meant that the diatom in the riser would, after a certain time period, flow to the downcomer where the light was applied. Hence, most diatoms were exposed to more even light intensity. In addition, the liquid movement in the ALPBR prevented an accumulation

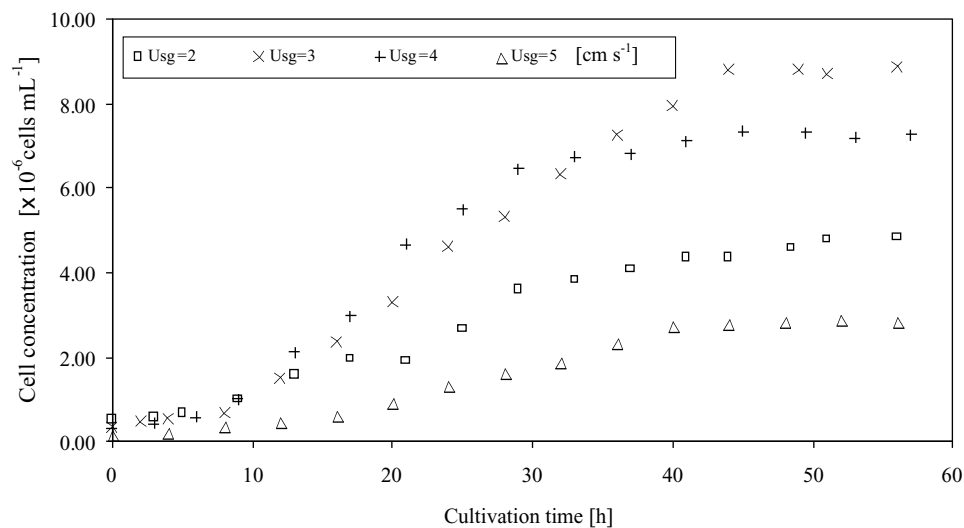


Fig. 5. Effect of superficial gas velocity on the growth of *C. calcitrans*.

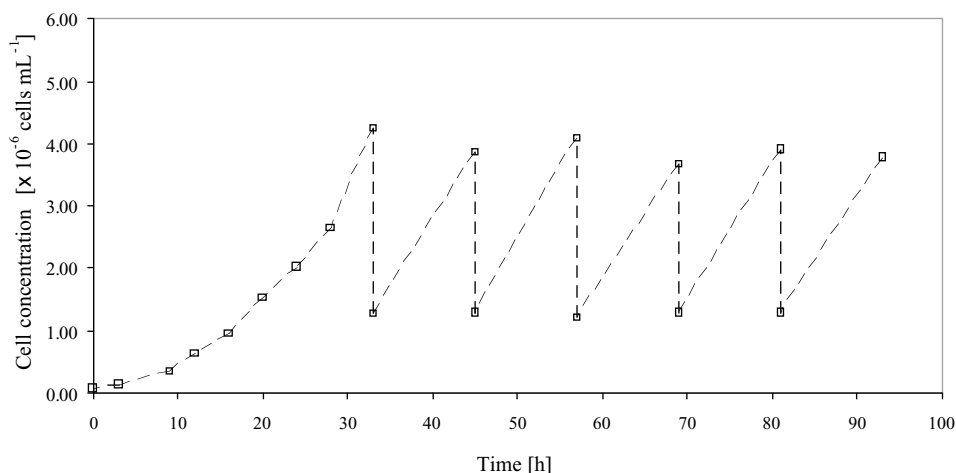


Fig. 6. Semi-continuous cultivation of *C. calcitrans* in ALBR at $U_{sg} = 3 \text{ cm s}^{-1}$.

of cells at the bottom of the column. At high cell density, it was likely that cell precipitation caused an uneven cell density along the length of the column. This accumulation of cells might cause starvation, death, and easy contamination of the whole culture, which reduced the overall growth rate of the algal culture. This problem was not found in the ALPBR as the liquid movement facilitated cell circulation even at high cell density. Hence, there would be less cell accumulation at the bottom of the column when compared to the BC.

It could then be concluded at this point that algal cells in the ALPBR could utilize light source more effectively than cells in the BC resulting in a higher growth rate. This finding agreed well with that of Merchuk et al. [7] who indicated that the growth of the red microalga *Porphyridium* sp. in the ALPBR was much better than that obtained from the cultivation in the BC.

It is interesting to note that the operation in the larger scale system such as 17 L ALPBR could provide a relatively high growth rate ($7.41 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$) and maximum cell density ($8.88 \times 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$) in comparison with the cultivation in a small 2.5 L glass bubble column (maximum growth rate of $3.8 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$ and maximum cell density of $5.8 \times 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$), when operated at the same range of light intensity ($400\text{--}600 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ day}^{-1}$) and superficial gas velocity ($3\text{--}4 \text{ cm s}^{-1}$). This demonstrated that the design of the cultivation system could provide a suitable operating condition for the cells and a better performance of the system was obtained.

3.4. Effect of aeration rate

The effect of aeration rates on algal mass production in the ALPBR is presented in Fig. 5. Increasing aeration rate (measured in terms of superficial velocity or U_{sg}) in the range of $2\text{--}5 \text{ cm s}^{-1}$ was found to have influence on the growth rate of the algae. The maximum cell growth rate ($7.41 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$)

occurred at the aeration rate of 3 cm s^{-1} above which the growth rate dropped.

At a lower range of the aeration ($U_{sg} = 2\text{--}3 \text{ cm s}^{-1}$), an increase in aeration rate greatly induced mixing, liquid circulation rate and also the mass transfer between gas and liquid phases in the system [14,15]. The better mixing could potentially lead to a more efficient utilization of nutrients by the diatom. A higher mass transfer might also facilitate the removal of metabolic gases such as oxygen, preventing the accumulation of these gases, which might adversely affect the growth rate [16].

At a high aeration rate ($U_{sg} = 4\text{--}5 \text{ cm s}^{-1}$), the growth rate of *C. calcitrans* declined. High aeration rates led to a system with more gas bubbles along the length of the downcomer. This was because the liquid velocity was sufficiently high that relatively large gas bubbles were dragged down into the downcomer. These gas bubbles in the downcomer were somewhat undesirable as it could prevent the passage of light to the center of the bioreactor as the light penetration ability was obstructed and dissipated by the swarm of gas bubbles. Our preliminary experiment indicated that as much as 40% of light intensity could be suppressed in the riser (or in the draft tube) with the presence of gas bubbles in the downcomer. As a result, the diatom was subject to a lower light intensity and a lower growth rate was observed.

3.5. Semi-continuous production

From the growth curve of the batch culture of *C. calcitrans* illustrated in Fig. 5, the maximum cell concentration at superficial velocity of 3 cm s^{-1} (the most suitable condition for the growth) was found to be approximately $(7\text{--}8) \times 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$ after 48 h of operation. A lag phase was observed during the initial period of the culture (the first 9 h) followed by an exponential growth during the next 35 h. This was then followed by a stationary phase where the cell concentration reached a maximum of $8.88 \times 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$.

Hence, for a semi-continuous operation, the initial inoculation with the initial cell concentration of 1×10^5 cells mL⁻¹ was left growing for 33 h to ensure that cells were in the most active period. After that the culture was harvested at about 50–70% of the culture. This was to control the cell concentration for the next run at approximately 1.2×10^6 cells mL⁻¹.

The results in Fig. 6 illustrated that *C. calcitrans* was able to maintain the exponential growth rate with the selected harvesting condition. The specific growth rate was approximately 9.65×10^{-2} h⁻¹ which indicating that cells could adjust well to the growth conditions in the ALPBR. The cell concentration at the harvest period was 4.08×10^6 cells mL⁻¹.

It is interesting to note that the culture systems employed in this work here could achieve a very high productivity. Both cell concentration and growth rate were relatively high in comparison with the reported results, which only could achieve cell concentration at 2.56×10^6 cells mL⁻¹ in 4 days of the cultivation diatom *C. calcitrans* [17]. This was equivalent to 6.4×10^8 cells L⁻¹ day⁻¹ whereas the cultivation in the ALPBR in this investigation could provide a high productivity of 9.45×10^9 cells L⁻¹ day⁻¹.

4. Conclusion

This work shows that, with a slightly modified standard F/2 medium, the growth of *C. calcitrans* could be enhanced by as much as 16%. Parameters that were significant for the growth of this diatom were the composition of the medium particularly silica, nitrogen and phosphorus contents. There existed an optimal light intensity for the cultivation of this diatom and light intensity below or above 400 μ mol photons m⁻² s⁻¹ were not found to have positive influence on the diatom growth. Most importantly, this work emphasized the importance of bioreactor design on the mass production of the diatom *C. calcitrans*. The operation of cultivation column in airlift mode was proven to be successful and a high growth rate could be achieved even with a lower light intensity than the optimal. Due to a well-defined flow pattern, which allowed a more effective light utilization of the diatom, the cultivation of *C. calcitrans* in the ALPBR was found to be superior to that in the BC. The optimal aeration rate of 3 cm s⁻¹ was found to yield the specific growth rate of 7.41×10^{-2} h⁻¹ with a maximum cell concentration of 8.88×10^6 cells mL⁻¹ in batch culture system. A long-term semi-continuous operation could be achieved successfully with a maximum specific growth rate (μ) of 9.65×10^{-2} h⁻¹. The harvest of cell should be performed at every 12 h of operation with the cell concentration at the harvest period of approximately 4.08×10^6 cells mL⁻¹.

Acknowledgement

The authors wish to acknowledge the Thailand Research Funds for their financial support.

Appendix A

Standard F/2 (Guillard's) medium compositions [8]

Nutrient	Amount (g)
Solution A: Nitrate and phosphate stock solution (1 L)	
NaNO ₃	84.15
Na ₂ HPO ₄ ·H ₂ O	6.0
FeCl ₃ ·6H ₂ O	2.90
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	10.0
Solution B: Silicate stock solution (1 L)	
Na ₂ SiO ₃ ·9H ₂ O	33.0
Solution C: Trace metal stock solution (1 L)	
CuSO ₄ ·5H ₂ O	1.96
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	4.40
Ma ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	1.26
MnCl ₂ ·4H ₂ O	36.0
CoCl ₂ ·6H ₂ O	2.0
Solution D: Vitamins stock solution (1 L)	
Vitamin B ₁	0.4
Vitamin B ₁₂	0.002 mg
Biotin	0.10 mg

To prepare the culture medium for *C. calcitrans*, simply add 2 mL of solutions A and B and 1 mL of solutions C and D in 1 L of fresh seawater.

References

- [1] S.Y. Chiou, W.W. Su, Y.C. Su, Optimizing production of polyunsaturated fatty acids in *Machantia polymorpha* cell suspension culture, *J. Biotechnol.* 85 (2001) 247–257.
- [2] I. Liang, Growth response of *Chaetoceros calcitrans* (Bacillariophyceae) in batch culture to a range of initial silica concentrations, *Mar. Biol.* 5 (1) (1985) 37–41.
- [3] Y.K. Lee, C.S. Low, Effect of photobioreactor inclination on the biomass productivity of an outdoor algal culture, *Biotechnol. Bioeng.* 38 (1991) 995–1000.
- [4] E.M. Grima, A.S. Sanchez Perez, F.G. Camacho, J.L. Garcia Sanchez, F.G. Acien Fernandez, D.L. Alonso, Productivity analysis of outdoor chemostat culture in tubular air-lift photobioreactors, *J. Appl. Phycol.* 8 (4–5) (1996) 369–380.
- [5] A. Richmond, N. Zou, Efficient utilisation of high photon irradiance for mass production of photoautotrophic micro-organisms, *J. Appl. Phycol.* 11 (1999) 123–127.
- [6] J.C. Merchuk, N. Ladwa, A. Cameron, M. Bulmer, I. Berzin, A.M. Pickett, Liquid flow mixing in concentric tube air-lift reactors, *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 66 (1996) 174–182.
- [7] J.C. Merchuk, M. Ronen, S. Geris, S. Arad, Light/dark cycles in the growth of the red microalga *Porphyridium* sp., *Biotechnol. Bioeng.* 59 (1998) 705–713.
- [8] R.R.L. Guillard, Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates, in: W.L. Smith, M.H. Chanley (Eds.), *Culture of Marine Invertebrates Animal*, Plenum Press, New York, 1975, pp. 15–41 (for general algae culture techniques).
- [9] J. Stein, *Handbook of Phyycological Methods: Culture Methods and Growth Measurements*, Cambridge University Press, London, 1973, p. 448 (for general algal culture).
- [10] A. Sukenik, P.G. Falkowski, J. Bennett, Potential enhancement of photosynthetic energy conversion in algal mass culture, *Biotechnol. Bioeng.* 30 (1987) 970–977.
- [11] I.R. Davison, Environmental effects on the algal photosynthesis: temperature, *J. Phycol.* 27 (1991) 2–8.
- [12] J. Vymazal, *Algae and Element Cycling in Wetlands*, CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, 1994.
- [13] Y. Huang, G.L. Rorrer, Optimal temperature and photoperiod for the cultivation of *Agardhiella subulata* microplantlets in a bubble-

- column photobioreactor, *Biotechnol. Bioeng.* 79 (2) (2002) 135–145.
- [14] J.C. Merchuk, Y. Stein, Local hold-up and liquid velocity in airlift reactors, *AIChE J.* 27 (3) (1981) 377–388.
- [15] M. Gavrilescu, R.Z. Tudose, Modelling of liquid circulation velocity in concentric-tube airlift reactors, *J. Chem. Eng.* 69 (1998) 85–91.
- [16] H.L. Tung, C.C. Tu, Y.Y. Chang, W.T. Wu, Bubble characteristics and mass transfer in an airlift reactor with multiple net draft tubes, *Bioprocess Eng.* 18 (1998) 323–328.
- [17] G.P.B. Samonte, C.C. Espergadera, R.D. Caturao, Economics of microalgae (*Chaetoceros calcitrans*) production using the multi-step method in the Philippines, *Aquaculture* 112 (1) (1993) 39–45.

ภาคผนวก 2

“Hydrodynamics and mass transfer behavior in multiple draft tube airlift contactors” Nalinee Tunthikul, Porntip Wongsuchoto, Prasert Pavasant, Korean J. Chem. Eng., 23 (6) (2006), 881-887

Hydrodynamics and mass transfer behavior in multiple draft tube airlift contactors

Nalinee Tunthikul, Porntip Wongsuchoto and Prasert Pavasant*

Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330, Thailand

(Received 23 February 2006 • accepted 14 July 2006)

Abstract—The draft tube configuration significantly affected the performance of an airlift contactor. The multiple draft tube configuration was demonstrated to give a better gas-liquid mass transfer when compared with a conventional one-draft-tube system. The airlift with a larger number of draft tubes allowed a higher level of bubble entrainment, which rendered a high downcomer gas holdup. This resulted in a higher overall gas holdup in the contactor. Liquid velocity was also enhanced by increasing the number of draft tubes. The ratio between downcomer and riser cross sectional areas, A_d/A_r , had a great effect on the system performance, where a larger A_d/A_r led to a lower downcomer liquid velocity and smaller quantity of gas bubbles being dragged into the downcomer. This resulted in low gas holdup, and consequently, low gas-liquid interfacial mass transfer area, which led to a reduction in the overall volumetric mass transfer coefficient. The presence of salinity in the system drastically reduced the bubble size and subsequently led to an enhancement of gas entrainment within the system. As a result, higher gas holdups and gas-liquid interfacial area were observed, and hence, a higher rate of gas-liquid mass transfer was obtained.

Key words: Bubble, Reactor, Salinity, Gas Holdup, Liquid Velocity

INTRODUCTION

The airlift contactor is a pneumatic device with potential to be further developed for many applications especially in the biotechnological industry [Camacho et al., 2001; Mirón et al., 2003; Jianping et al., 2005; Krichnavanuk et al., 2005; Silapakul et al., 2005]. Past studies which examined large-scale airlift contactors were mostly performed in a conventional airlift configuration with small diameter (column diameter not larger than 45 cm) [Koide et al., 1984; Merchuk et al., 1994; Russell et al., 1994; Shamlou et al., 1995; Choi et al., 1996]. The development of actual airlift applications requires fundamentals on the performance of large scale systems whose behavior could be much different from laboratory scale experiments. For instance, Heijnen et al. [1997] demonstrated that faster liquid velocity was obtained in a large scale airlift (4.5 m diameter, 284 m³ volume) operated within the same conditions with a small system (0.2 m diameter, 0.4 m³ volume). This was attributed to the lower wall friction generated in the larger scale airlift contactors than the smaller systems. This finding agreed well with that reported by Blažej et al. [2004] who also stated that gas holdup increased with an increase in reactor scale under the same operating condition.

Our experience [Wongsuchoto and Pavasant, 2004] revealed that it was difficult to obtain good distribution of bubbles in an airlift with large riser due to the existence of internal liquid circulation in the riser itself. Therefore, a multiple draft tube airlift system was hereby proposed as a potential configuration that could facilitate the design and operation of such large-scale airlift reactors. In the multiple draft tube configurations, each draft tube was connected with individual gas sparger that helped distribute gas bubbles within the contactor, and hence, the gas-liquid mass transfer was improved. Due to the ease of construction, Jianping et al. [2005] recently re-

ported success in applying a multiple draft tube, large scale, airlift bioreactor for nitrification reaction.

Experiments in this work were performed in a 170 L airlift contactor with 0.69 m in column diameter. Three configurations of draft tubes—single (conventional type), three, and four draft tubes—were compared in terms of hydrodynamic and mass transfer properties. Three ratios between downcomer and riser cross sectional areas (1.27, 2.03 and 2.82) were examined with the superficial gas velocity varied in the range from 0.4 to 2 cm/s. The effect of salinity on the performance of the system was also determined.

EXPERIMENTAL

1. Apparatus Setup

Experiments were carried out in a large-scale internal-loop airlift with a working volume of 0.17 m³. The setup of the airlift system is shown in Fig. 1 (one draft tube configuration). The airlift column (or tank) and draft tubes were made of transparent acrylic plastic in

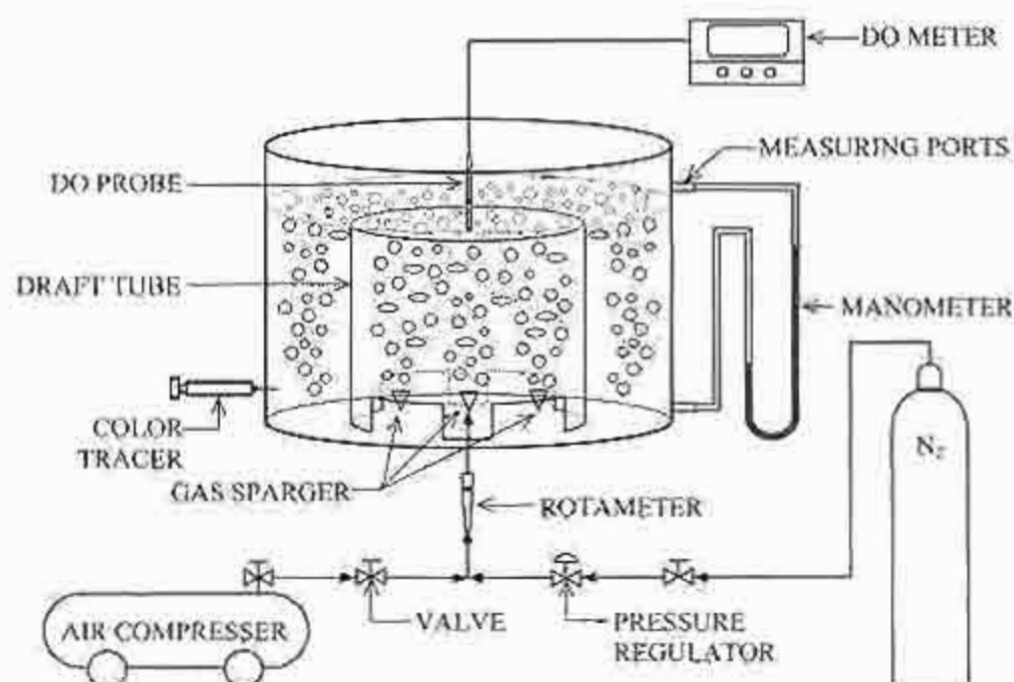


Fig. 1. Experimental setup.

*To whom correspondence should be addressed.

E-mail: prasert.p@chula.ac.th

Table 1. Specifications of airlift contactors

Ref. no.	N_{DT}	D_{DT} (m)	A_d/A_r (-)	Description
ALC-1	1	0.40	2.03	Single draft tube
ALC-2	3	0.23	2.03	Three draft tubes
ALC-3	4	0.23	1.27	Four draft tubes
ALC-4	4	0.20	2.03	Four draft tubes
ALC-5	4	0.18	2.82	Four draft tubes

order to facilitate the observation. The main column was cylindrical with a diameter of 69 cm and a height of 56.5 cm, and was equipped with measuring ports for the measurement of pressure drop, which was used to determine the downcomer gas holdup, ϵ_{gd} . Draft tubes with a height of 40 cm were installed in the column where a clearance between the column base and the bottom of the draft tube was fixed at 5 cm. Several configurations of draft tubes, i.e., the number of draft tube and their sizes, as indicated in Table 1, were investigated. Experiments were operated in a semi-batch operation where a continuous air flow was supplied through porous spargers installed in the middle of each draft tube into the liquid-filled column. The unaerated liquid height was controlled at 7 cm above the top of draft tubes. For all experiments, the gas flow rate was regulated by calibrated rotameters and measured in terms of superficial velocity, u_{gs} (in the range of 0.4–2 cm/s). The experiments were operated with either tap water or seawater as liquid phase. A salinity level of the seawater in the range from 15 to 45 ppt was investigated.

2. Measuring Methods

2-1. Gas Holdups

The overall gas holdup, ϵ_{go} , was determined by the volume expansion method, while the downcomer gas holdup, ϵ_{gd} , was estimated by measuring the pressure difference between the two measuring ports of the column via a U-tube manometer. The riser gas holdup, ϵ_{gr} , was computed from the overall and downcomer gas holdups. Details of the measurement as provided in Choi et al. [1996]

should be consulted.

2-2. Liquid Velocity

Liquid velocity was measured by using the tracer injection method [Gopal and Sharma, 1982]. The pressure taps were employed as injection points of the color tracer and the traveling time of color tracer between the two points in the contactor was measured for the calculation of liquid velocity.

2-3. Gas-liquid Mass Transfer

The overall volumetric mass transfer coefficient ($k_L a$) was determined by the dynamic method [Wongsuchoto and Pavasant, 2004]. A dissolved oxygen meter (Jenway 9300) was used to record the changes in concentration of O_2 in a batch of liquid that had previously been freed of O_2 by bubbling through with N_2 .

RESULTS AND DISCUSSION

1. Influence of Configuration on Airlift Contactor Performance

Three configurations of airlift contactors were investigated: ALC-1 (1 draft tube), ALC-2 (3 draft tubes), and ALC-4 (4 draft tubes). A schematic diagram of the airlift systems with various designs of draft tubes is shown in Fig. 2. In this section, all airlifts had the same downcomer to riser cross sectional area ratio (A_d/A_r) of 2.03 and salinity of 30 ppt. Note that it was difficult to have the two draft tubes configuration as the resulting downcomer area would be highly uneven.

1-1. Effect of Airlift Configuration on Gas Holdups

From the experimental results depicted in Fig. 3(a), ALC-1 occupied the lowest overall gas holdup. Higher gas holdup was observed as the number of draft tubes increased (ALC-2 and ALC-4). Similar findings were noticed for downcomer and riser gas holdups as displayed in Figs. 3(b) and (c), respectively. Visual observation suggested that bubble size was slightly larger in ALC-1 than those in ALC-2 and ALC-4, respectively. These slightly large bubbles might be the result of the bubble coalescence due to the self-contact between individual bubbles. Our previous report [Wongsu-

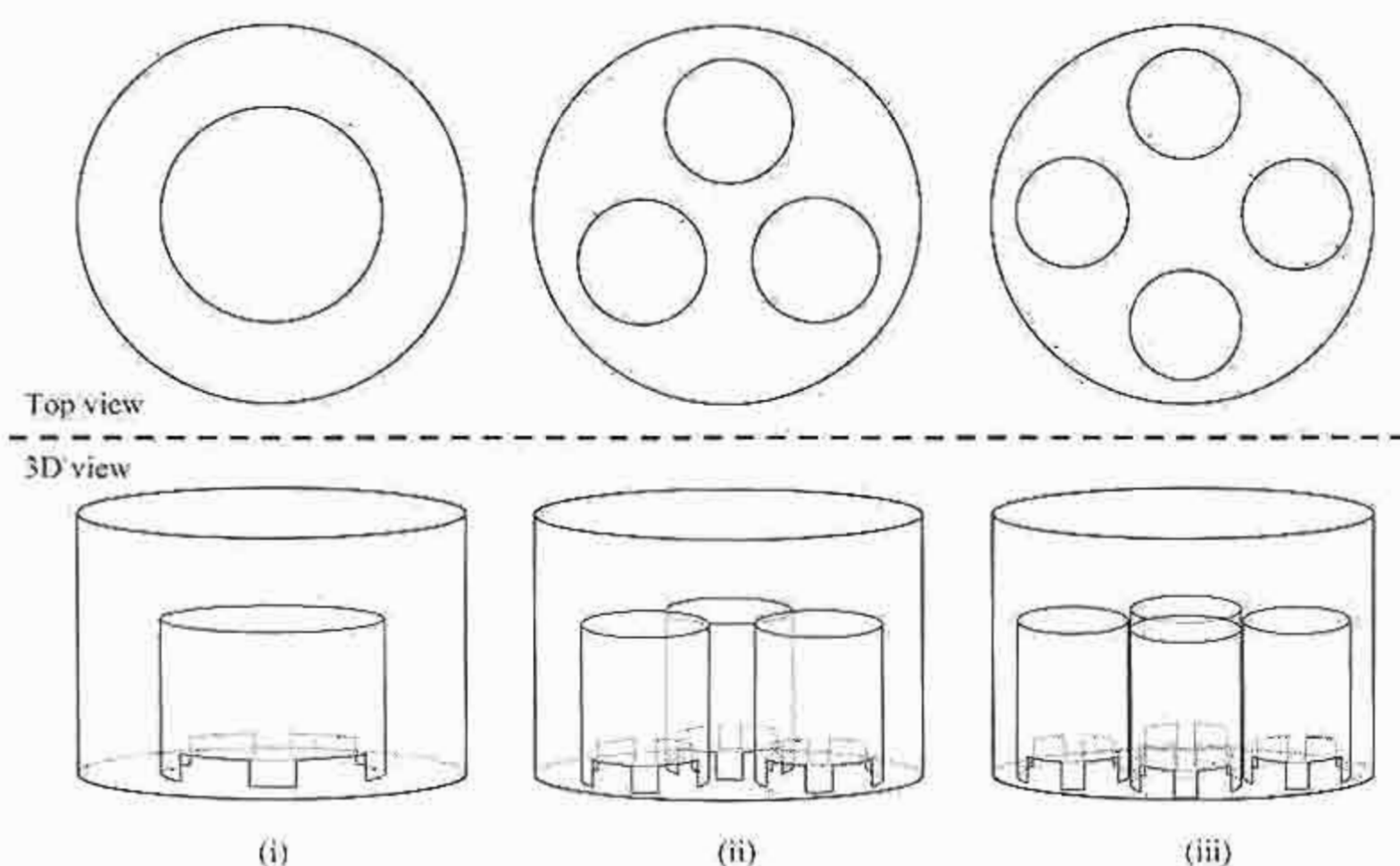


Fig. 2. Airlift configurations: (i) one draft tube, (ii) three draft tubes, (iii) four draft tubes.

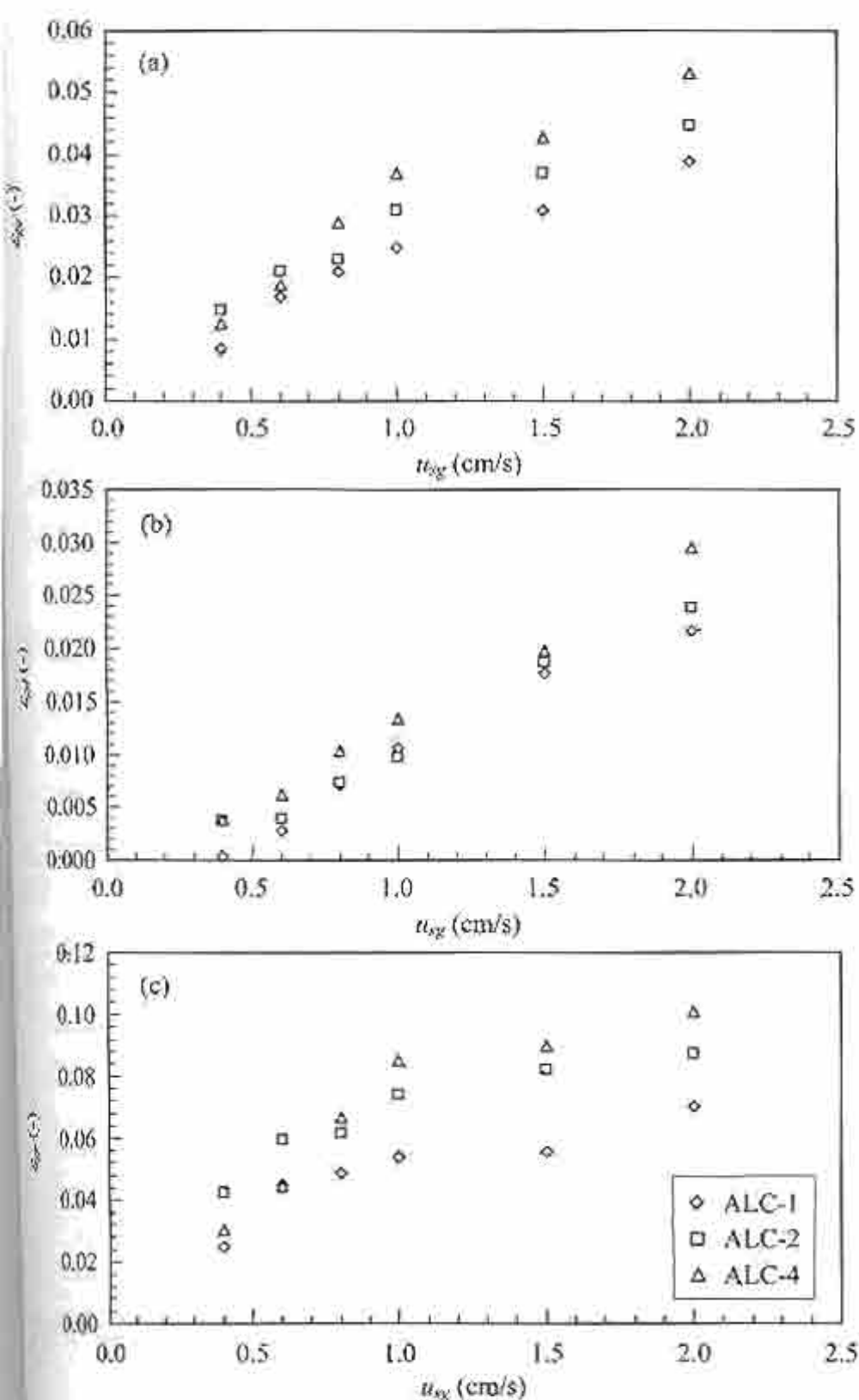


Fig. 3. Effect of airlift configurations on gas holdups ($A_d/A_r=2.03$, SW30).

photo and Pavasant, 2004] showed that, in a system with a large riser, the local internal liquid circulation (within the riser itself) would play a significant role in controlling the hydrodynamics in the reactor. This local internal circulation might promote bubble collision and coalescence leading to large bubbles which could escape from the liquid surface more easily than small ones, and therefore a smaller riser gas holdup became apparent. In ALC-4, the four draft tube configuration provided more connecting area between downcomer and riser, which allowed easier recirculation of bubbles between these two sections, and therefore a much larger fraction of small bubbles was entrained into the downcomer than those in ALC-1 and ALC-2. To clarify this point, the following equation was introduced for the calculation of the ratio between the circumference of the draft tube and the riser cross sectional area, ϕ :

$$\left. \begin{aligned} \phi &= 2\pi R / \pi R^2 \\ \phi_{ALC-1} &= 0.1013 \\ \phi_{ALC-2} &= 0.1939 \\ \phi_{ALC-4} &= 0.2000 \end{aligned} \right\} \quad (1)$$

where R is the radius of the draft tube, and ϕ represents the opportu-

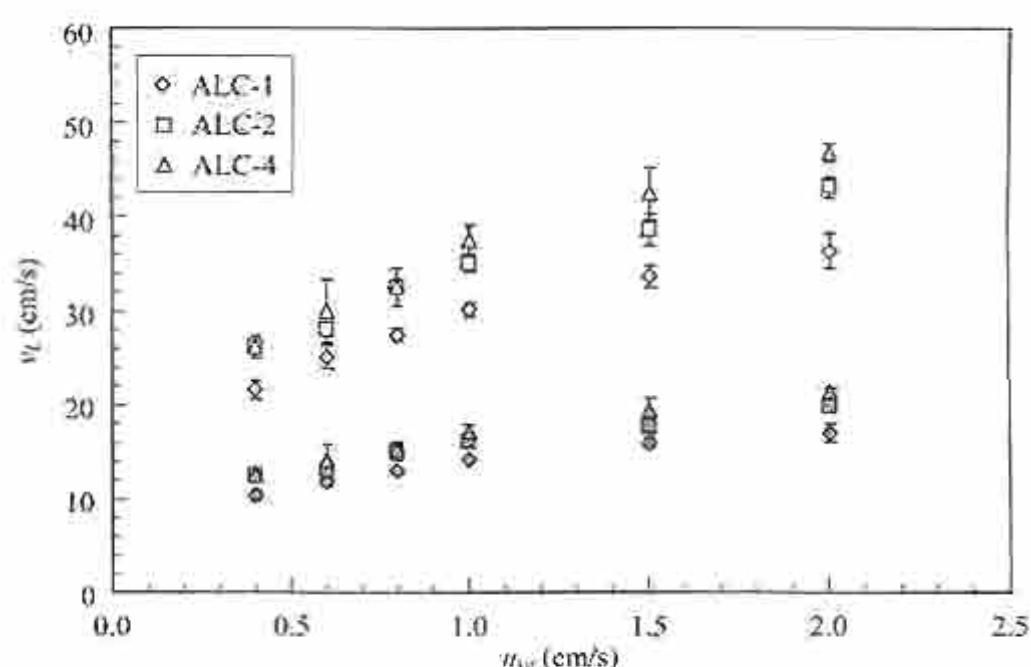


Fig. 4. Effect of airlift configurations on liquid velocities ($A_d/A_r=2.03$, SW30) (filled symbols for downcomer and empty symbols for riser).

nity for the small bubbles to be dragged down into the downcomer by the liquid flow. In ALC-1, ϕ was small, indicating that there was only a small chance that bubbles moved down in the downcomer, and therefore a large fraction of small bubbles left the system at the liquid surface instead. In ALC-4 on the other hand, ϕ was the largest, hence providing more chance of small bubbles to be dragged down into the downcomer and causing a higher level of downcomer gas holdup. In addition, it is generally known that gas bubbles can be entrained into the downcomer when liquid velocity in downcomer is greater than the terminal bubble rise velocity. In this case, the liquid velocity in ALC-4 was the greatest (Fig. 4), followed by those in ALC-2 and ALC-1 at the same level of u_g , respectively, and hence, this supports the findings on gas holdups as described above.

1-2. Effect of Airlift Configuration on Liquid Velocity

Although larger bubbles generated in ALC-1 tended to move faster than small bubbles in ALC-2 and ALC-4, the large riser area caused significant internal recirculation within the riser itself [Wongsuchoto and Pavasant, 2004]. This behavior was similar to that of the bubble column which led to a low riser liquid velocity (Fig. 4). On the other hand, the highest riser liquid velocity can be achieved from ALC-4, the airlift with the smallest draft tube diameter (at the same A_d/A_r with ALC-1 and ALC-2). In ALC-4, each draft tube was only one-fourth of that in ALC-1. This small riser diameter facilitated better liquid movement between riser and downcomer zones, and less internal recirculation within the riser was observed.

1-3. Effect of Airlift Configuration on Overall Volumetric Mass Transfer Coefficient

Fig. 5 illustrates that the configuration or the number of draft tubes in the airlift system (with constant A_d/A_r) significantly influenced the level of $k_L a$. The airlift with one draft tube (ALC-1) was clearly shown to have an inferior level of $k_L a$ than the other two configurations, where the four draft tubes (ALC-4) was proven to exhibit the highest $k_L a$. It was previously shown that ALC-1 occupied the smallest quantity of air and also with the lowest liquid velocity. Low liquid velocity suggested that there was a rather low level of gas bubbles in the downcomer (as seen in Fig. 3). In addition, a large, single draft tube did not provide adequate space for the return of the gas bubbles as some of the gas bubbles, particularly if they were in the middle of the draft tube, would not be dragged down to the down-

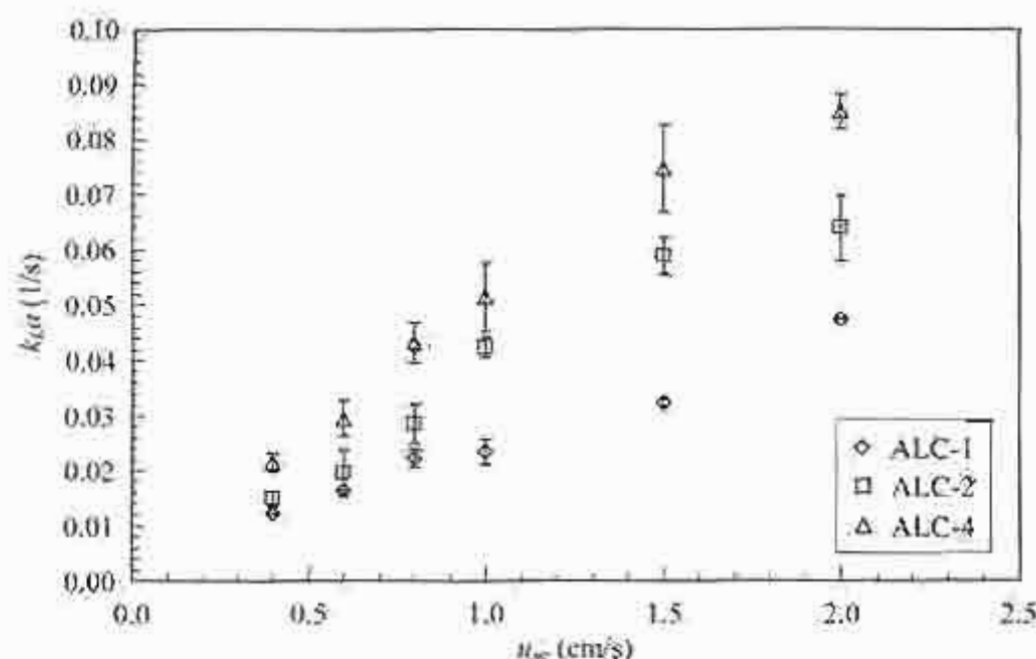


Fig. 5. Effect of airlift configurations on overall volumetric mass transfer coefficient ($A_d/A_r=2.03$, SW30).

comer but would leave the system at the liquid surface. In fact, the gas-liquid mass transfer depends more significantly on the riser gas fraction as it was still fresh with high oxygen content which enhanced the driving force for the transfer between gas and liquid. However, since the system employed in this work was rather short with a height of only 47 cm, gas bubbles in the downcomer were therefore still enriched in oxygen and could play a significant role in interfacial mass transfer. Hence, the loss of gas bubbles indicated the loss of total interfacial area between gas and liquid required for mass transfer, and therefore a lower $k_L a$ could be well observed. Next, it seemed that bubble size in ALC-1 was found to be larger than those in other configurations. This might be due to a greater coalescence of bubbles. These two reasons led to a reduction of specific mass transfer area (a) in the system and, consequently a decrease of $k_L a$. In short, it can be concluded that, in case of a multiple draft tube configuration, an increase in the number of draft tubes enhanced the contacting surface between riser and downcomer, and thus, a large quantity of gas was able to recirculate within the system, leading to high interfacial area for mass transfer.

2. Influence of Downcomer to Riser Cross-sectional Area Ratio on Airlift Performance

Only the system with four draft tubes was selected for the investigation in this section as they were demonstrated to have the best performance with respect to the gas-liquid mass transfer. The details for the various configurations of the airlift contactor employed in this section are illustrated in Table 1: ALC-3, ALC-4, ALC-5.

2-1 Effect of A_d/A_r on Gas Holdups

Fig. 6 demonstrates the influence of A_d/A_r on gas holdup where the operation with the largest downcomer (corresponding to A_d/A_r of 2.82 or ALC-5) was found to provide the lowest gas holdup in all regions of the airlift. As A_d/A_r became smaller, gas holdup increased. This was because bubbles seemed to be stream-lined and moved at a faster speed to the liquid surface in the system with large A_d/A_r (small riser), and therefore tended to leave the system instead of moving down the downcomer. This resulted in low gas holdup. In addition, Fig. 7 demonstrates that the liquid also moved faster in ALC with large A_d/A_r , and facilitated the disengagement of the bubbles as each bubble would have high velocity in riser. On the other hand, due to a large downcomer area, downcomer liquid velocity was rather low and was not enough to bring the bubbles down-

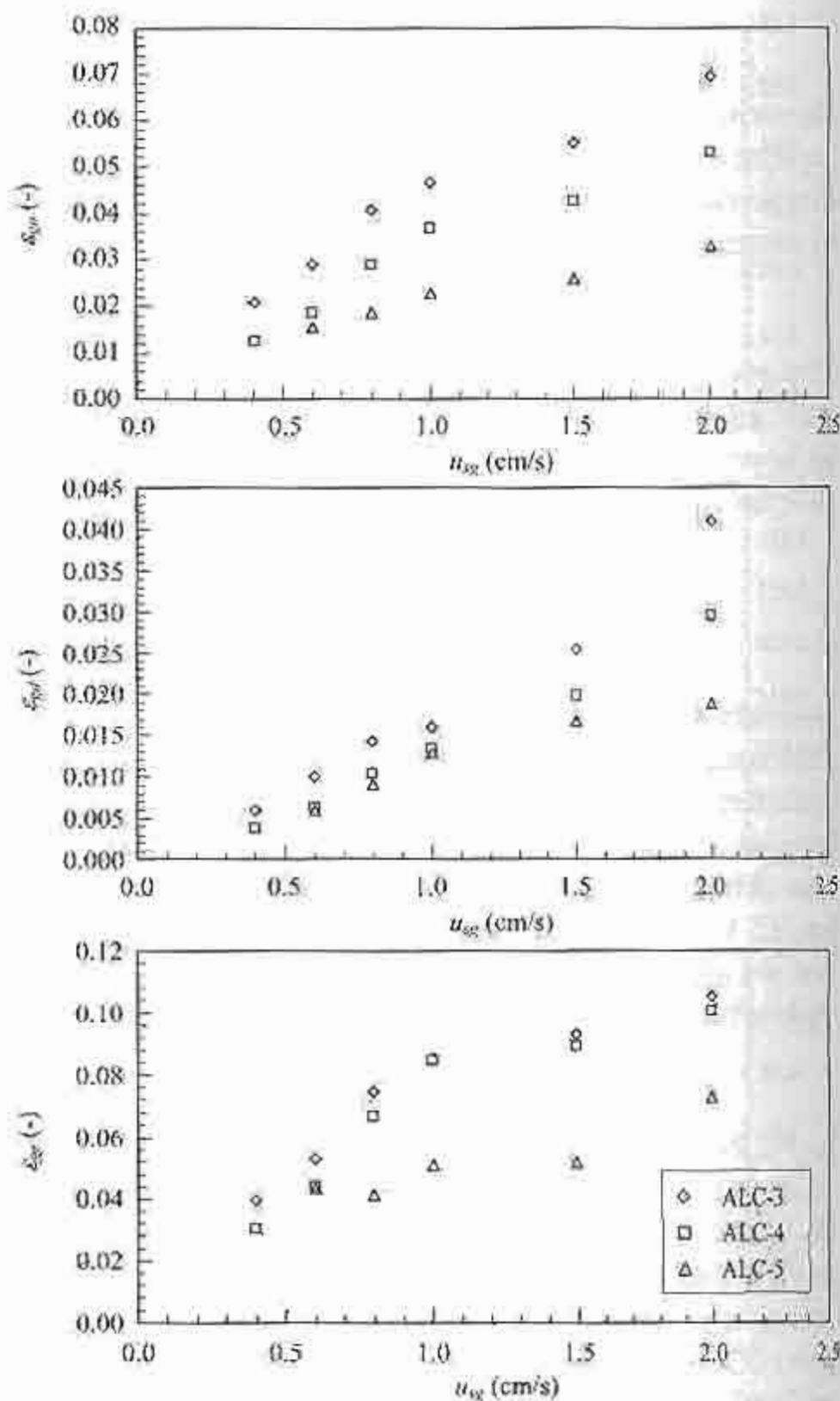


Fig. 6. Effect of A_d/A_r on gas holdups (SW30).

wards. As a result, a large fraction of gas bubbles were separated from the system at the top part. Hence, low level of gas holdup, both overall and in the downcomer, became obvious. On the other hand, in the system with smaller downcomer, such as ALC-3 and ALC-4, a faster downcomer liquid movement was obtained. This high liquid velocity induced more entrainment of gas bubbles into the downcomer, which enhanced the gas holdup in the downcomer and in the overall system.

2-2. Effect of A_d/A_r on Liquid Velocity

Fig. 7 demonstrates that, although the riser liquid velocity increased with an enlarged A_d/A_r , the downcomer liquid velocities exhibited a reverse trend. The greatest value of downcomer liquid velocity was observed in the system with the smallest A_d/A_r (ALC-3), and the greatest riser velocity was in ALC-5. As the riser was rather small in ALC-5, gas bubbles seemed to be streamlined at the center of the draft tube and moved upwards at a very high speed. This induced high liquid velocity through energy and momentum transfer. As the liquid reached the top of the draft tube, it re-entered the system at the downcomer which was large in size. A mass balance showed that, with an enlarged entrance, the downcomer liquid velocity was quite low. In ALC-3, on the other hand, the reverse phe-

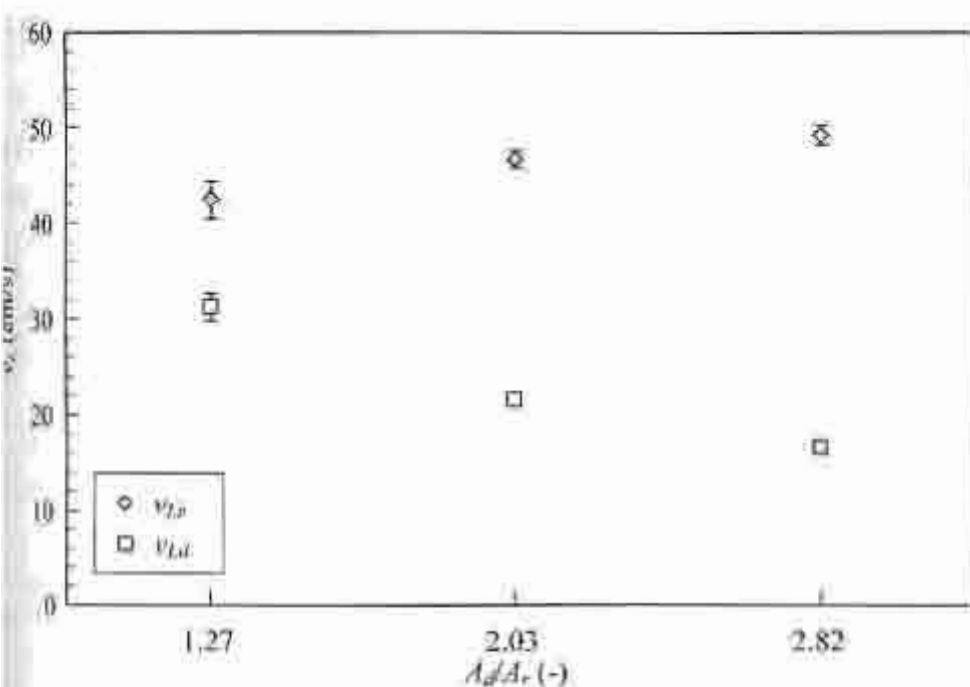


Fig. 7. Effect of A_d/A_r on liquid velocities (SW30, $u_g=2$ cm/s).

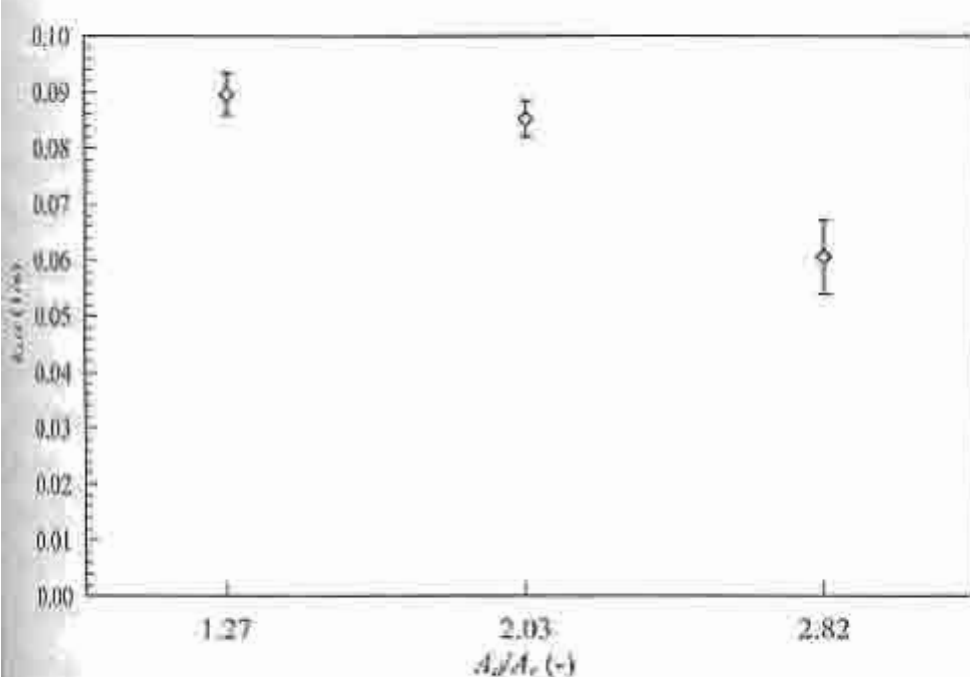


Fig. 8. Effect of A_d/A_r on overall volumetric mass transfer coefficient (SW30, $u_g=2$ cm/s).

phenomenon occurred. As the gas flowed more uniformly in the riser of such system, liquid moved at a lower speed. The re-circulating liquid then entered the downcomer, which in this case, had a smaller area size. Therefore, high downcomer liquid velocity was observed.

3.3. Effect of A_d/A_r on Overall Volumetric Mass Transfer Coefficient

An increase in A_d/A_r adversely affected the gas-liquid mass transfer rate as indicated in Fig. 8. This was not surprising as the airlift with large A_d/A_r was found to contain low gas holdup, which resulted in a small interfacial area between gas and liquid. Consequently, a low k_{La} was obtained as observed in ALC-5. On the other hand, ALC-3 allowed more bubbles to move into the downcomer, increasing the gas-liquid mass transfer area, and therefore a higher level of k_{La} was acquired. Although an airlift with a lower A_d/A_r tended to have a greater k_{La} than the system with a large A_d/A_r , it should be noted that the behavior of such system would approach that of the bubble column, i.e., a low riser liquid velocity and the existence of internal recirculation inside the draft tube could be well observed. A low liquid velocity would imply a higher chance of solid settlement, which could be detrimental for some applications involving three phases such as cell cultivation systems. In such case, a large A_d/A_r airlift system could then be useful as the appearance of a stronger liquid velocity could partially support the gas-liquid-solid mixing.

3. Influence of Salinity on Airlift Contactor Performance

The airlift system using a mixture of tap water and seawater at salinity of 15, 30, 45 ppt was compared. All experiments were performed in the airlift contactor with four 20 cm i.d. internal draft tubes where A_d/A_r was fixed at 2.03 (ALC-4). In the following discussion, "SW" is defined as seawater and the number following "SW" indicates the level of salinity in the unit of ppt, e.g., SW15=seawater at salinity of 15 ppt.

3-1. Effect of Salinity on Gas Holdups

Gas holdup in the airlift contactor was demonstrated to be influenced significantly by salinity levels. Fig. 9 illustrates that the system running with fresh tap water always had the lowest gas holdups. As the salinity increased, higher gas holdup was observed. However, the effect of salinity was only pronounced at high gas throughput condition ($u_g > 1$ cm/s).

It is known that salinity changed physical properties of the liquid by raising its surface tension, viscosity and density, and this strongly affected bubble size in the system [Prince and Blanch, 1990; Al-Masry, 1999]. High surface tension at high salinity level indicated stronger bubble surface force, which inhibited bubble coalescence. Hence, in the system with fresh tap water (low surface tension),

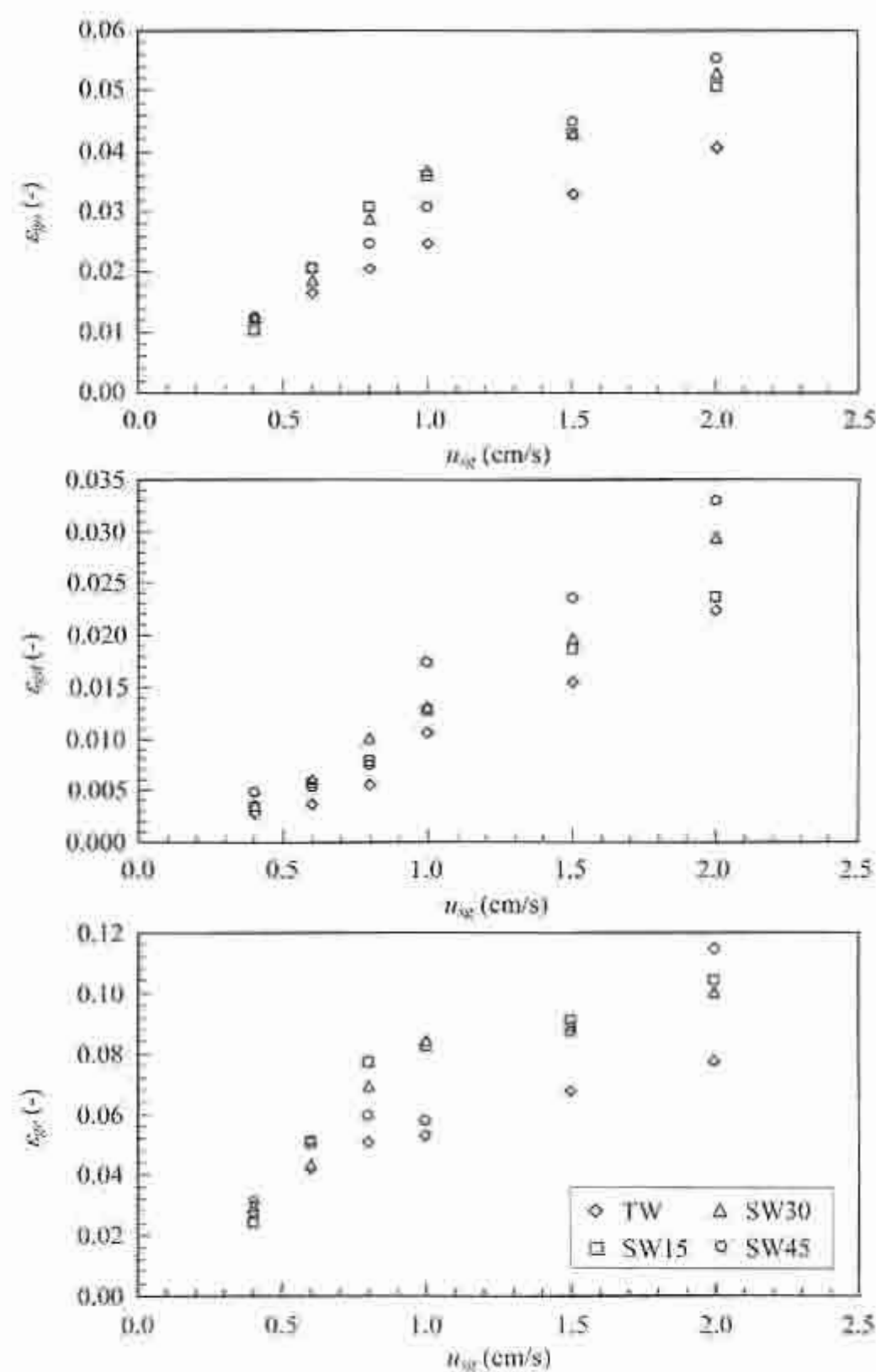


Fig. 9. Effect of salinity on gas holdups (ALC-4).

coalescence seemed to take place more intensively as a result of bubble-bubble interaction. This resulted in a larger bubble size. Large bubbles moved upwards rapidly due to high buoyancy force and caused a poor recirculation of bubbles within the system. This loss of bubbles reduced the total gas volume in the liquid resulting in low gas holdup.

The overall gas holdup in the airlift contactors operating at the various levels of salinity was found to increase with salinity level. Experiments revealed that the system with SW45 accommodated slightly higher gas holdup than the systems with SW30 and SW15, respectively, particularly at high gas throughput. This might be due to the existence of tiny bubble size in SW45, which facilitated the inducement of gas bubbles into the downcomer causing more bubbles to be recirculated within the system. Note that it was difficult to distinguish the sizes of bubbles obtained from the systems running with seawater at various salinity levels. Visual inspection alone could not identify the actual size with adequate accuracy. The system was also performed at a relatively high gas throughput, which was not suitable for measurement with a digital camera due to the bubble shading effects. The size of the bubbles inside the system was therefore estimated from observation.

3-2. Effect of Salinity on Liquid Velocity

Fig. 10 illustrates the effect of salinity on liquid velocities. It was observed that both riser and downcomer liquid velocities in the system with tap water were slightly higher than that obtained in the airlift with seawater. This was because the system with tap water was operated with larger bubbles which moved at a faster speed than smaller ones due to their high buoyancy force, and therefore induced through a momentum and energy transfer, a faster liquid movement. However, in this experiment, the difference in salinity levels (15, 30, and 45 ppt) was not found to have significant influence on liquid velocities.

3-3. Effect of Salinity on Overall Volumetric Mass Transfer Coefficient

The overall volumetric mass transfer coefficient, $k_L a$, was clearly shown to be superior in the system operated with high salinity seawater rather than at low salinity (Fig. 11). Previous discussion demonstrated that liquid velocity was not significantly affected by the salinity. Therefore, it was expected that $k_L a$ would only be influenced by the changes in bubble characteristics which were altered

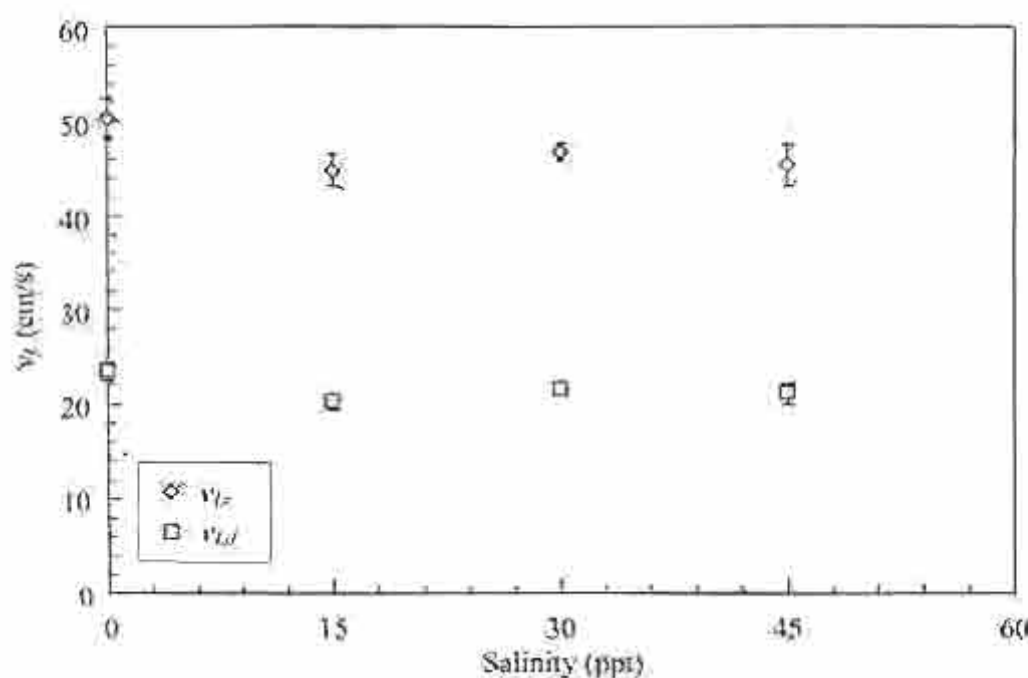


Fig. 10. Effect of salinity on liquid velocities (ALC-4, $u_{g0}=2$ cm/s).

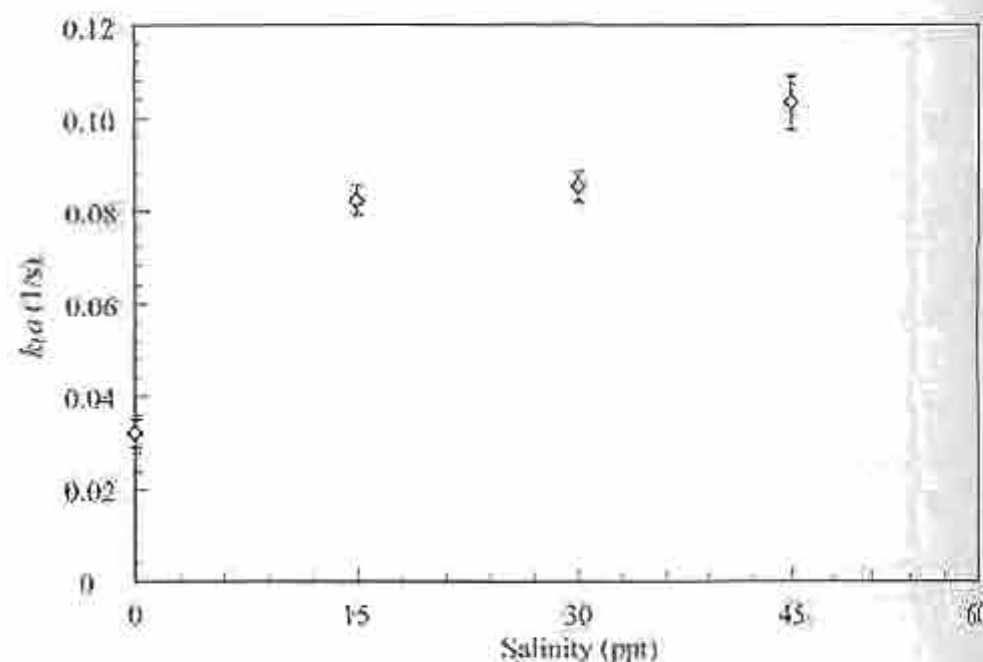


Fig. 11. Effect of salinity on overall volumetric mass transfer coefficient (ALC-4, $u_{g0}=2$ cm/s).

as a result of changes in salinity. At high salinity, bubble size became small and this increased the interfacial area between gas and liquid. This meant that the specific surface area, "a," increased with salinity. In fact, " k_L " was regulated by the difference between liquid and bubble velocities, and therefore the bubble size would also have effects on this parameter. In other words, larger bubbles would move at faster speed, and as the liquid velocity did not change with salinity, the system with larger bubbles would have had a larger difference in bubble and liquid velocities, resulting in a high " k_L ". This meant that the airlift system would have higher "a" but lower " k_L " at high salinity level than at low salinity. As the apparent $k_L a$ was a consequence of these two effects, higher $k_L a$ as a result of increasing salinity suggested that the effect of salinity on "a" could be more significant than that on " k_L ".

CONCLUSION

A new configuration of an internal loop airlift contactor with multiple draft tubes was proposed in this work. The hydrodynamics and mass transfer in a large-scale operation of the proposed configuration were observed at different u_{g0} , A_d/A_r and salinity levels and compared with a conventional single draft tube system. Increasing the number of draft tubes enhanced the connecting area between riser and downcomer leading to a better recirculation of fluid inside the airlift system. This also resulted in a higher gas-liquid interfacial area essential for mass transfer. Hence, the multiple draft tube

Table 2. Empirical correlations for overall volumetric mass transfer coefficient

	$k_L a$ (1/s)	Salinity (ppt)	R^2
ALC-1	$k_L a = 0.0251 u_{g0}^{0.81}$	30	0.9815
ALC-2	$k_L a = 0.0363 u_{g0}^{0.79}$	30	0.9669
ALC-3	$k_L a = 0.0556 u_{g0}^{0.77}$	30	0.9894
ALC-4	$k_L a = 0.0495 u_{g0}^{0.80}$	30	0.9872
ALC-5	$k_L a = 0.0277 u_{g0}^{1.01}$	30	0.9793
ALC-4	$k_L a = 0.0175 u_{g0}^{0.77}$	0	0.9717
ALC-4	$k_L a = 0.0438 u_{g0}^{0.97}$	15	0.9861
ALC-4	$k_L a = 0.0600 u_{g0}^{0.88}$	45	0.9784

airlift contactor was proven to be a potential system for the large-scale operation, especially in the case where a very large cross-sectional area is required. In this investigation, the overall volumetric mass transfer coefficients could be estimated relatively accurately by using the empirical correlations as proposed in Table 2.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors wish to acknowledge the Thailand Research Fund for their financial support.

NOMENCLATURE

- A_d : downcomer cross-sectional area [m^2]
 a : specific gas-liquid interfacial area [m^2/m^3]
 A_r : riser cross-sectional area [m^2]
 D_{dt} : draft tube diameter [m]
 k_L : mass transfer coefficient [m/s]
 k_{La} : overall volumetric mass transfer coefficient [$1/s$]
 N_{dt} : number of draft tube
 u_g : superficial gas velocity [cm/s]
 v_L : liquid velocity [cm/s]

Abbreviation

- ALC : airlift contactor
 ppt : part per thousand
 SW : seawater
 TW : tap water

Greek Letters

- ε_{gd} : downcomer gas holdup [-]
 ε_g : overall gas holdup [-]
 ε_r : riser gas holdup [-]

Subscripts

- d : downcomer
 r : riser

REFERENCES

Al-Masry, W. A., "Effects of antifoam and scale-up on operation of bioreactors," *Chem. Eng. Process*, **38**, 197 (1999).
 Blažej, M., Kiša, M. and Markoš, J., "Scale influence on the hydrodynamics of an internal loop airlift reactor," *Chem. Eng. Process*, **43**, 1519 (2004).
 Camacho, F. G., Grima, E. M., Mirón, A. S., Pascual, V. G and Chisti,

Y., "Carboxymethyl cellulose protects algal cells against hydrodynamic stress," *Enzyme and Microbial Technology*, **29**, 602 (2001).
 Choi, K. H., Chisti, Y. and Moo-Young, M., "Comparative evaluation of hydrodynamic and gas-liquid mass transfer characteristics in bubble column and airlift slurry reactors," *Chem. Eng. J.*, **62**, 223 (1996).
 Gopal, J. S. and Sharma, M. M., "Hydrodynamic and mass transfer characteristics of bubble and packed bubble columns with downcomer," *Can. J. Chem. Eng.*, **60**, 353 (1982).
 Heijnen, J. J., Hols, J., van der Lans, R. G. J. M., van Leeuwen, H. L. J. M., Mulder, A. and Weltevrede, R., "A simple hydrodynamic model for the liquid circulation velocity in a full-scale two- and three-phase internal airlift reactor operating in the gas recirculation regime," *Chem. Eng. Sci.*, **52**(15), 2527 (1997).
 Jianping, W., Xiaoqiang, J., Lei, P., Changlin, W. and Guozhu, M., "Nitrifying treatment of waste water from fertilizer production in a multiple airlift loop bioreactor," *Biochem. Eng. J.*, **25**, 33 (2005).
 Koide, K., Iwamoto, S., Takasaka, Y., Matsuura, S., Takahashi, E. and Kimura, M., "Liquid circulation, gas holdup and pressure drop in bubble column with draught tube," *J. Chem. Eng. Jpn.*, **17**(6), 611 (1984).
 Krichnavanuk, S., Loataweesup, W., Powtongsook, S. and Pavasant, P., "Optimal growth conditions and the cultivation of *Chaetoceros calcitrans* in airlift photobioreactor," *Chem. Eng. J.*, **105**, 91 (2005).
 Merchuk, J. C., Ladwa, N., Cameron, A., Bulmer, M. and Pickett, A., "Concentric-tube airlift reactors: effects of geometrical design on performance," *AIChE J.*, **40**(7), 1105 (1994).
 Mirón, A. S., Garcé, M. C. C., Gómez, A. C., Camacho, F. G., Grima, E. M. and Chisti, Y., "Shear stress tolerance and biochemical characterization of *Phaeodactylum tricornutum* in quasi steady-state continuous culture in outdoor photobioreactors," *Biochem. Eng. J.*, **16**, 287 (2003).
 Prince, M. J. and Blanch, H. W., "Transition electrolyte concentrations for bubble coalescence," *AIChE J.*, **36**(9), 1425 (1990).
 Russell, A. B., Thomas, C. R. and Lilly, M. D., "The influence of vessel height and top-section size on the hydrodynamic characteristics of airlift fermentors," *Biotech. Bioeng.*, **43**, 69 (1994).
 Shamlou, P. A., Pollard, D. J. and Ison, A. P., "Volumetric mass transfer coefficient in concentric-tube airlift bioreactors," *Chem. Eng. Sci.*, **50**(10), 1579 (1995).
 Silapakul, S., Powtongsook, S. and Pavasant, P., "Nitrogen compounds removal in a packed bed external loop airlift bioreactor," *Korean J. Chem. Eng.*, **22**, 393 (2005).
 Wongsuchoto, P. and Pavasant, P., "Internal liquid circulation in annulus-sparged internal loop airlift contactors," *Chem. Eng. J.*, **100**, 1 (2004).

ภาคผนวก 3

“Photoautotrophic High-Density Cultivation of Vegetative Cells of *Haematococcus pluvisilis* in Airlift Bioreactor” K. Kaewpintong, A. Shotipruk, S. Powtongsook and P. Pavasant, Bioresource Technology 98 (2007), 288-298

Photoautotrophic high-density cultivation of vegetative cells of *Haematococcus pluvialis* in airlift bioreactor

Kamonpan Kaewpintong^a, Artiwan Shotipruk^a, Sorawit Powtongsook^b,
Prasert Pavasant^{a,*}

^a Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

^b Marine Biotechnology Research Unit (at Chulalongkorn University), National Center of Genetic Engineering and Biotechnology, Bangkok 10330, Thailand

Received 12 September 2005; received in revised form 12 January 2006; accepted 17 January 2006

Available online 3 March 2006

Abstract

This work aimed to investigate the effects of the bioreactor configurations and their design variables on the cultivation of vegetative cells *Haematococcus pluvialis* to achieve sustainable high cell density. The addition of vitamin B to F1 growth medium could appreciably enhance the final cell density. Employing this medium, the cultivation in the airlift bioreactor was demonstrated to outperform the bubble column at the same operating conditions. Aeration was crucial for a proper growth of the alga in the airlift bioreactor, but it must be maintained at low level to minimize shear stress. The most appropriate aeration velocity (superficial velocity) was at the lower limit of the pump, i.e. 0.4 cm s^{-1} and a smaller riser was shown to have positive influence on the cell growth. A 1% CO_2 supplement to the air supply considerably enhanced the growth rate of *H. pluvialis* and the most suitable light intensity for the growth was at $20 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. The semi-continuous culture was successfully implemented with the optimal airlift bioreactor design and under optimal conditions the harvest could be performed every four days with the specific growth rate of 0.31 d^{-1} .

© 2006 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Keywords: Airlift bioreactors; Astaxanthin; Autotrophic; Bioprocess design; Bubble columns; Microalgae

1. Introduction

Astaxanthin or 3,3'-dihydroxy- β - β -carotene-4,4'-dione, a red ketocarotenoid, has currently gained much interest due to its versatile applications in aquacultural, food, pharmaceutical, and nutraceutical industries (Lorenz and Cysewski, 2000). The compound is widely employed as a pigmentation inducer, and due to its good biological function such as antioxidant activity, it has been used for immune response enhancement and cancer protection (Kobayashi et al., 1991). Astaxanthin can be extracted from natural sources or chemically synthesized. However, synthesized astaxanthin was reported to contain unnaturally configurational carotenoid compounds, which might

not be as effective as that produced naturally (Gong and Chen, 1997; Johnson and An, 1991). As a result, tremendous interest has been placed on production of natural astaxanthin, which is generally found in microorganisms such as some yeast and microalgae.

Of all the astaxanthin accumulated microorganisms, the green alga, *Haematococcus pluvialis* has been reported to accumulate the highest amount of astaxanthin (Gong and Chen, 1997; Harker et al., 1996; Kobayashi et al., 1991). However, due to its slow growth, susceptibility to contamination, and preference for low growth temperature (Harker et al., 1996), outdoor cultivation of *H. pluvialis* has generally become unsuccessful. This leads to the need for the cultivation in closed systems, which offers a number of advantages including better control of culture environment, protection from ambient contamination and achievement of high cell density.

* Corresponding author. Tel.: +662 218 6870; fax: +662 218 6877.

E-mail address: prasert.p@chula.ac.th (P. Pavasant).

Numerous studies have been conducted to investigate the cultivation of *H. pluvialis* in culture flasks under controlled environment (Tripathi et al., 2002; Grunewald et al., 1997; Sarada et al., 2002; Kobayashi et al., 1991, 1992). Hata et al. (2001) reported the highest maximum cell density of 100×10^4 cells mL⁻¹ in a 500 mL flask. In practice, for large-scale production, *H. pluvialis* culture must be carried out in a bioreactor. Various types of bioreactors such as stirred tank, bubble column, and airlift bioreactor have been employed in several studies (Harker et al., 1996; Chen et al., 1997; Zhang et al., 1999). Among these, the highest cell density was achieved in a stirred tank reactor but it was only 29.4×10^4 cells mL⁻¹ (Harker et al., 1996). For slow growth, shear sensitive cells (such as *H. pluvialis*), pneumatically agitated bioreactors are recommended over mechanically stirred reactors due to their design simplicity and low shear force. Examples of such pneumatic devices include bubble column and airlift bioreactor, which have lately been applied to a variety of biotechnological processes. These types of bioreactor have been employed for cultivation of *H. pluvialis*. For example, Choi et al. (2003) examined lumostatic operation of bubble columns for *H. pluvialis* culture, and Harker et al. (1996) studied the effect of NaCl addition on astaxanthin production in airlift bioreactors. However, their studies did not emphasize on the aspect of achieving high cell density and only 25×10^4 cells mL⁻¹ was obtained. To the authors'

knowledge, a study which focuses on the effects of the bioreactor configurations and their design variables on the culture growth of *H. pluvialis* is nonexistent. This work specifically aimed to investigate the cultivation of vegetative cells of *H. pluvialis* in airlift bioreactors to achieve sustainable high cell density and to determine the effect of various system variables on cell density and specific growth rate. As *H. pluvialis* is prone to easy contamination particularly in the presence of added organic carbon source, in this study, the cells were therefore grown photoautotrophically. Initial experiments were conducted to determine the most suitable growth medium and vitamin B concentration. The selected medium was then employed in the cultivation of the cells in the lab-scale bubble and airlift bioreactors to compare the performance of the two types of bioreactor. Cell cultivation in airlift bioreactor was then investigated to determine the optimal growth conditions. Finally, to examine the potential of implementing large-scale production, semicontinuous cultivation of *H. pluvialis* was conducted.

2. Methods

2.1. Microorganisms and inoculum preparation

H. pluvialis (NIES 144) was obtained from the National Institute of Environmental Studies culture collection,

Table 1
Composition of culture media examined in this work (all for one litre of medium)

	M1 [8]	Basal [11]	F1 [1]	BG-11 [12]	Hong Kong [10]	M6 [9]
CaCl ₂ · 2H ₂ O	183.8 mg	25 mg	9.78 mg	36 mg	73 mg	3.676 g
KNO ₃	0.5 g	10 mg	0.41 g		0.3 g	
NaNO ₃				1.5 g		
Na ₂ HPO ₄			0.03 g		30 mg	1.5 g
NaH ₂ PO ₄	195 mg				35.5 mg	1.778 g
H ₃ PO ₄	0.12 mg					12.37 mg
K ₂ HPO ₄		75 mg		40 mg		
KH ₂ PO ₄		175 mg				
NaCl		2.513 g				
KOH		30.85 mg				
H ₂ SO ₄		0.99 mg				
C ₆ H ₅ FeO ₇ · 5H ₂ O			2.21 mg			
FeSO ₄ · 7H ₂ O	20.9 mg	4.976 mg			8.3 mg	0.417 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	61.6 mg	4 mg	16.41 mg	75 mg	24.6 mg	1.231 g
ZnSO ₄	0.72 mg	8.827 µg			0.014 mg	71.89 mg
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.62 mg	1.572 g	0.008 mg	0.079 mg	0.012 mg	62.42 mg
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0.07 mg		0.08 mg	0.39 mg	0.001 mg	7.26 mg
CoCl ₂ · 2H ₂ O	0.05 mg		0.0078 mg		0.0005 mg	4.67 mg
H ₃ BO ₃		10.948 mg		2.86 mg	0.003 mg	
Cr ₂ O ₃			0.05 mg			
SeO ₂			0.036 mg			
EDTANa · 2H ₂ O	18.6 g	49.34 mg		1 mg	6.7 mg	0.372 g
Na ₂ CO ₃				0.02 g		
NH ₄ Fe(C ₆ H ₅ O ₇)				0.006 g		
MnCl ₂ · 4H ₂ O		1.445 mg	0.66 mg	1.81 mg		
ZnSO ₄ · 7H ₂ O				0.222 mg		
Co(NO ₃) ₂ · 6H ₂ O		0.389 mg		0.049 mg		
MnSO ₄ · H ₂ O	0.72 mg				0.001 mg	84.51 mg
Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O		15 mg				

Japan. *H. pluvialis* was initially cultivated in the standard sterilized F1 medium (Fábregas et al., 1998) in a 250 mL flask at 27 ± 1 °C with a continuous illumination of white fluorescent light at the intensity of $20 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$. This culture was then up-scaled to 600 mL before transferring to the bioreactor. Only the green motile cells from exponential growth phase were used as inoculums for all experiments.

2.2. Culture media experiments

To test the effect of culture media, all culture experiments were conducted in 250 mL flasks with 10% inoculum volume. The culture condition was again controlled at 27 ± 1 °C with a continuous illumination of $20 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ by fluorescent lights. Seven previously reported culture media for the autotrophic growth of *H. pluvialis* were tested, including: M1 (Chen et al., 1997), M6 (Gong and Chen, 1998), F1 (Fábregas et al., 1998), Hong Kong (Zhang et al., 1999), Basal (Hata et al., 2001), BG-11 (Boussiba and Vonshak, 1991), and Basal:BG-11 (1:1). The compositions of each culture medium were summarized in Table 1. In addition, the effect of vitamin B complex was determined using the most suitable type of medium. The vitamin B complex was commercially available with the ratio between B1, B6, and B12 of 1.33:0.1:1. In the discussion hereafter the quantity of vitamin B complex will be referred to using the vitamin B12

content. The range of the vitamin investigated in this work was between 0.5 and $20 \mu\text{g L}^{-1}$.

2.3. Bioreactor setup

Both bubble column and airlift bioreactors were made of a clear acrylic plastic. The schematic diagrams along with the dimensions of the two systems are shown in Fig. 1. The airlift bioreactor was simply the bubble column with a draft tube that was centrally installed within the outer column. Prior to each experiment, the bioreactors were sterilized by sparging ozone through the $0.45 \mu\text{m}$ Gelman autoclavable filter and a flow meter into the water at the base of the bioreactor for 1 h. Ozone was subsequently substituted by compressed air for another 3–4 h to remove ozone residual. The bioreactor was then filled with 3000 mL of culture with approximately 250 mL of starter inoculum. This accounted for an initial density of *H. pluvialis* of 2×10^4 cells mL^{-1} . Mixing in the bioreactor was obtained by introducing compressed air at the base of the bioreactor through the porous sparger. The media prepared as described had an initial pH of 7.1. In the experiment with an addition of CO_2 , compressed air, and CO_2 gas were mixed and metered through calibrated flow meters before entering the system. The concentration of CO_2 used in this study was lower than 2% v/v, which was found not to affect the pH significantly as CO_2 was continuously taken up by the algae during the course of cultivation. In

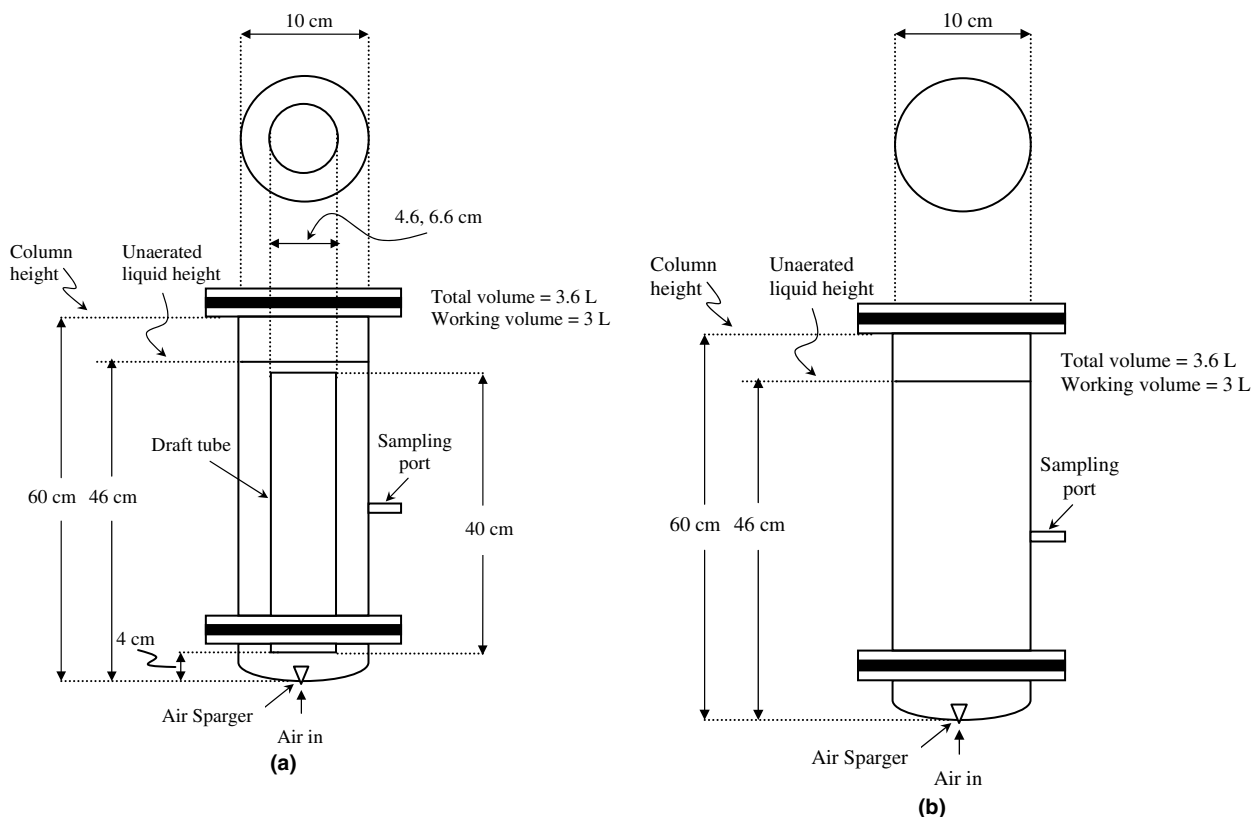


Fig. 1. Schematic diagrams of (a) airlift bioreactor and (b) bubble column, employed in this work.

this system, the temperature was controlled in the range of $27 \pm 1^\circ\text{C}$. Light was supplied to the bioreactor from the 18 W fluorescent lamps installed vertically along the length of the column. The distance between the lamps and the column was set at 3 cm. The illumination intensity was adjusted by altering the number of lamps and the distance between the lamps and the surface of the bioreactor. The average illumination intensity incident to the bioreactor outer surface was measured with a digital lux meter (DIG-ICON LX-50).

2.4. Determination of suitable operating conditions

Experiments were carried out to determine the effect of different factors on the cell growth including the type of reactors, i.e. airlift and bubble column, the concentration of CO_2 , the superficial gas velocity, the ratio between the downcomer and riser cross sectional area, and illumination intensity. All experiments were carried out in triplicate. In the batch operation, the culture was grown in the bioreactor until the stationary phase was reached, whereas in the semi-continuous mode, the cultivation was started out as a batch culture, where a 50% by volume of culture broth during the exponential growth phase was replaced with a fresh medium. The algal cell density was measured daily by microscope counting using an improved Neubauer haemocytometer. From the cell density, specific growth rate (μ ; d^{-1}) was calculated from

$$\mu = \frac{\ln(N_2/N_1)}{t_2 - t_1}, \quad (1)$$

where N_1 and N_2 (cells mL^{-1}) are cells densities at time t_1 and t_2 (d). The cell productivity ($\text{cells mL}^{-1} \text{d}^{-1}$) was calculated from

$$\text{Productivity} = \frac{C_2 - C_1}{t_2 - t_1}, \quad (2)$$

where C_1 and C_2 are cell densities at t_1 and t_2 .

3. Results and discussion

3.1. Effect of the type of medium

The maximum cell density and specific growth rate obtained from different culture media are shown in Fig. 2. Interestingly, it was observed that the growth of *H. pluvialis* was greatly influenced by the type of culture medium. The growth was worst in M1 and M6 media and best in F1 in which the attained maximum cell density was $5.44 \times 10^4 \text{ cells mL}^{-1}$. The growth in Basal:BG-11 medium was comparable to that in BG-11 alone. Hong Kong medium also resulted in similar growth characteristics with Basal:BG-11 and BG-11 media. For most of the cultures, cysts were observed when growth entered stationary phase (results not shown). This meant that some cells became inactive and no further cell division was expected. Although the cells started to lose their flagella as they con-

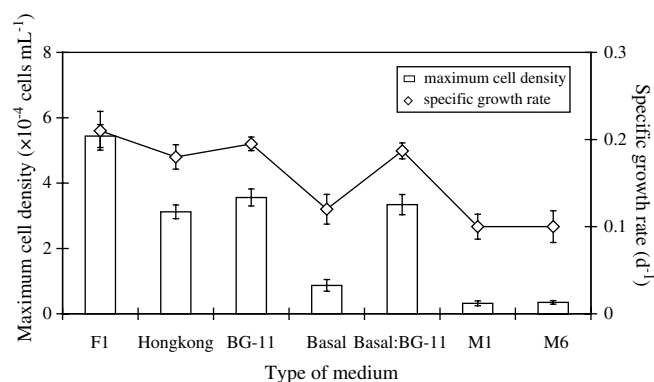


Fig. 2. Maximum cell density and specific growth rate *H. pluvialis* obtained from the cultivation in various types of medium.

verted to cysts, no accumulation of astaxanthin was apparent in M1, F1, and Hong Kong media even after 13 days of cultivation. This implied that cells could still sustain in these media but were not quite as active as the vegetative cells. With these findings, F1 medium was selected as the most suitable medium for subsequent experiments.

The dependency of the specific growth rate on the various media was similar to that of the maximum cell concentration. As cells entered stationary phase at approximately the same time (day 8), the medium that provided the highest growth also gave the highest specific growth rate. In this experiment, F1 medium gave the highest growth rate of 0.21 d^{-1} . This was approximately at the same level as that reported by Tjahjono et al. (1994) who achieved the maximum specific growth rate of about 0.25 d^{-1} using Basal growth medium grown in mixotrophic condition with sodium acetate as a carbon source. However, this level was only about one third of the maximum reported value at 0.58 d^{-1} , which was the cultivation in the flask with Basal as growth medium growing in mixotrophic condition with sodium acetate as a carbon source (Kobayashi et al., 1992).

3.2. Effect of vitamin B concentration

Vitamin B has been often reported to have significant effects on the growth of microalgae. For example, thiamine (vitamin B1) was considered as a growth factor for microalgae, or vitamin B12 was employed to stimulate growth but was not essential (Pringsheim, 1996), etc. However, the reported findings on the significance of vitamin B for the cultivation of *H. pluvialis* were still not clear. Whilst Fábregas et al. (1998) found that *H. pluvialis* required thiamine together with vitamin B12 and biotin in order to achieve maximum growth (in F1 medium), Gong and Chen (1997) stated that vitamin B (including thiamine and vitamin B12) and also biotin had no significant effects on the growth rate of *H. pluvialis* (with M6 growth medium). In the seven types of medium examined above, vitamins had not been included. The objective here was therefore to demonstrate the effect of the addition of vitamin B on the growth of *H. pluvialis*.

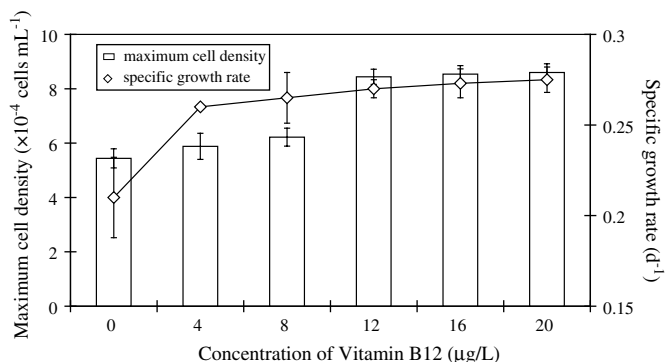


Fig. 3. Effect of vitamin B12 on maximum cell density and specific growth rate of *H. pluvialis*.

The growth curves from the cultivation of *H. pluvialis* in F1 medium with varying concentrations of vitamin B (referred to as the concentration of vitamin B12) are shown in Fig. 3. The cell density increased with the concentration of vitamin B12 up to 20 $\mu\text{g L}^{-1}$. The effect of vitamin B was more obvious at a low concentration range (4–12 $\mu\text{g L}^{-1}$), whereas only slight influence was observed above 12 $\mu\text{g L}^{-1}$. Therefore, vitamin B at 12 $\mu\text{g L}^{-1}$ (of vitamin B12) was considered as an optimal level for the growth of *H. pluvialis* with F1 medium. At this vitamin concentration, the maximum cell density increased by approximately 55% when compared with cell growth in the medium without the addition of the vitamin. Although the effect of vitamin B on the specific growth rate of *H. pluvialis* was not as obvious as that on the maximum cell concentration, a 28.6% increase in the specific growth rate was observed as the vitamin level increased from 4 to 12 $\mu\text{g L}^{-1}$. Further increase in the vitamin concentration above 12 $\mu\text{g L}^{-1}$ no longer led to significantly enhanced growth.

3.3. Comparison of growth in bubble column and airlift bioreactor

As *H. pluvialis* is highly sensitive to shear stress, reactors that induce high shear such as the commonly known stirred tanks are not recommended. Fortunately, *H. pluvialis* is a slow growth culture, which does not require a high rate of mass transfer and mixing, therefore, the use of high performance but energy intensive stirred tanks is not necessary. Pneumatic bioreactors, hence, emerge as an ideal alternative for such microorganism. In pneumatic systems such as bubble columns or airlift bioreactors, the mixing and mass transfer are induced just by the aeration, which generates very low level of shear and also is much less energy intensive than stirred tanks.

The comparison between the performances both bubble column and airlift bioreactor at $u_{\text{sg}} = 0.4 \text{ cm s}^{-1}$ at the same operating condition showed that the maximum cell density and of specific growth rate *H. pluvialis* grown in airlift bioreactor were $79.5 \times 10^4 \text{ cells mL}^{-1}$ and 0.45 d^{-1} , which were higher than those in bubble column which were

$42 \times 10^4 \text{ cells mL}^{-1}$ and 0.36 d^{-1} , respectively. The similar findings were obtained at the other level of u_{sg} but the results were not shown here. The configuration in the airlift bioreactor provided a well defined flow pattern compared with the random flow pattern in the bubble column (Merchuk et al., 1998). Therefore most cells in the airlift system would circulate along the axial direction of the reactor and would be exposed to light, which was supplied along the reactor length. In other words, the uniform flow pattern in airlift bioreactor led to a certain movement of cells from dark (riser) to light (downcomer) zones. In the bubble column, on the other hand, no clear flow pattern was induced and therefore the movement of the cells inside the reactor was random, i.e. cells may have stayed at the regions with high or low light intensities for a long time without being recirculated. As cells were better exposed to light in the airlift bioreactor than in the bubble column, it was anticipated that photosynthesis took place more significantly in the airlift system. Therefore a better cell growth was observed in the airlift system than in the bubble column. In addition, visual inspection always suggested that there were a number of cell agglomerations, which resulted in the sedimentation of cells in the bubble column, the condition which was not found in the airlift bioreactor. Changes in morphology of alga from motile to non-motile were already observed in the bubble column even at the low level of aeration rate, which indicated that the condition in the bubble column might not be suitable for the algal growth.

3.4. Effect of CO₂

Chemical analysis showed that algal biomass consisted of approximately 40–50 wt% of carbon (Fischer and Alfermann, 1995). Hence, growth rate of photoautotrophic cultures essentially depends on a sufficient supply of carbon substrate for photosynthesis. In this work, *H. pluvialis* was grown in photoautotrophic condition with CO₂ as the main carbon source. Fig. 4 demonstrated that the addition of 1% by volume of CO₂ into the air stream supplied to the system resulted in the best cultivation performance both in terms of maximum cell density and specific growth rate. The

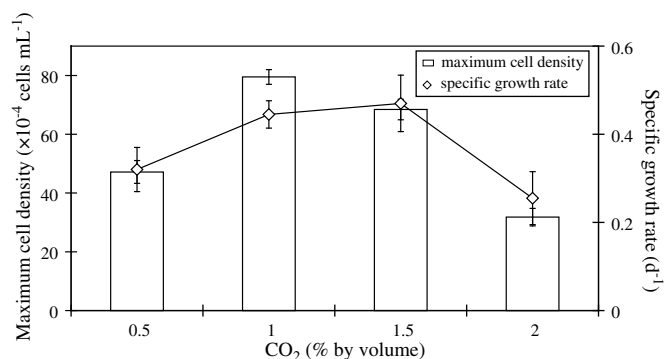


Fig. 4. Effect of CO₂ concentrations on maximum cell density and specific growth rate of *H. pluvialis* at $u_{\text{sg}} = 0.4 \text{ cm s}^{-1}$.

attainable maximum cell density of 79.5×10^4 cells mL^{-1} or 2.79 g L^{-1} dry weight was equivalent to an almost 9.5 fold increase from the level obtained without the addition of CO_2 . The specific growth rate for the system at 1% CO_2 was found to be 0.45 d^{-1} , which was considerably higher than the level obtained without CO_2 supplement. This clearly showed the importance of CO_2 for the cultivation of *H. pluvialis*, and subsequent experiments were performed using the air stream with the addition of 1% CO_2 .

3.5. Effect of superficial velocity

To study the effect of aeration rate on the cell growth, experiments were conducted in the airlift system ($A_d/A_r = 3.2$) operating with different levels of aeration rate in the range of $0.4\text{--}3 \text{ cm s}^{-1}$ (as measured in terms of superficial velocity, u_{sg}). When the column was not aerated, there was only a slight increase in cell concentration from the initial level of 2×10^4 cells mL^{-1} to 3.59×10^4 cells mL^{-1} (0.08 g L^{-1} dry weight) after 10 days of cultivation (results not shown). The highest growth of *H. pluvialis* was resulted at u_{sg} of 0.4 cm s^{-1} , with the maximum cell density and maximum specific growth rate of 79.5×10^4 cells mL^{-1} and 0.45 d^{-1} , respectively. Interestingly however, further increase in the aeration rate (above the superficial gas velocity of 0.4 cm s^{-1}) did not show benefits for the growth. In fact, for the higher flow velocities of 2, 2.5, and 3 cm s^{-1} , the maximum cell density decreased drastically to 26×10^4 , 9×10^5 , and 6×10^4 cells mL^{-1} , and the specific growth rate to 0.34, 0.32, and 0.11 d^{-1} , respectively. Due to the equipment constraints, the air-flow could not be accurately adjusted below 0.4 cm s^{-1} , therefore it could not be concluded at this point that this 0.4 cm s^{-1} of superficial gas velocity was the optimal level. However, the specific growth rate obtained at this condition (0.45 d^{-1}) was significantly higher than most of the reported data in the literature, and was only second to Kobayashi et al. (1992) who achieved the specific growth rate of 0.58 d^{-1} with the 100 mL culture growing in mixotrophic condition.

Increasing aeration rate generally induces mixing, liquid circulation, and mass transfer between gas and liquid phases in the airlift systems (Krichnavaruk and Pavasant, 2002). A higher mass transfer might also facilitate the removal of gases such as oxygen, preventing the accumulation, which might cause adverse effect on the growth (Tung et al., 1998). However, the cell culture of *H. pluvialis* in the batch culture in the airlift system was negatively affected by an increase in superficial gas velocity over 0.4 cm s^{-1} . This was believed to be due to the shear stress caused by the high aeration rate. This indicated that the cell of *H. pluvialis* was highly shear sensitive and even the shear caused by aeration could deteriorate the growth. This explanation was supported by several past reports. For instance, Gudin and Chaumont (1991) stated that the key problem in the cultivation of microalgae in photobioreactors was cell damage due to shear stress. Hata et al. (2001) illustrated

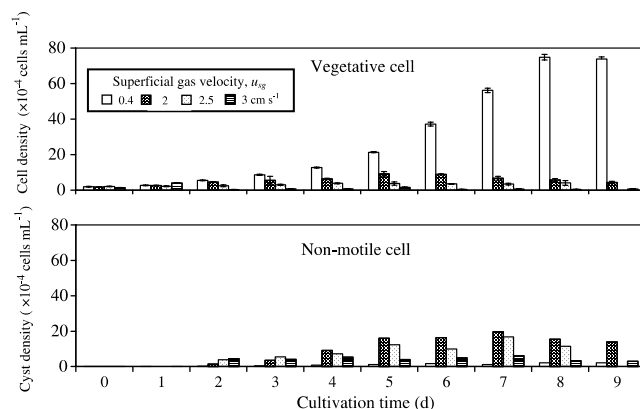


Fig. 5. Density of vegetative cells and cysts of *H. pluvialis* obtained from operation at various u_{sg} .

that the culture of green vegetative cell in exponential phase of growth required a low liquid velocity due to its fragility. To further examine the effect of the aeration, the structure of *H. pluvialis* under various aeration rates was monitored. The results as summarized in Fig. 5, illustrated that an increase in superficial gas velocity could significantly change the cell morphology from vegetative cells to non-motile green cells or cysts. In other words, the fraction of non-motile cells became more dominant with an increase in the aeration rate. At the superficial velocity of 0.4 cm s^{-1} , a very small fraction of non-motile green cells was observed when compared to the number of vegetative cells. On the other hand, the number of vegetative cells could hardly be observed at the superficial velocity greater than 2.5 cm s^{-1} . The vegetative cells are more productive in view of cell multiplication, and it would be difficult to obtain high cell density if the cell could not be maintained in vegetative form particularly in high shear stress condition.

3.6. Effect of the ratio between downcomer and riser cross sectional area

This section examined the effect of design configuration of the airlift system, i.e. the ratio between downcomer and riser cross sectional area (A_d/A_r) on the growth of *H. pluvialis*. This parameter could be simply altered by changing the draft tube size. Due to a size constraint, a rather smaller airlift column could only accommodate two sizes of commercially available clear column (employed as draft tube), i.e. at 4.6 and 6.6 cm. This gave A_d/A_r of approximately 3.2 and 0.9, respectively.

The result demonstrated that the airlift with A_d/A_r of 3.2 could deliver a significantly higher level of growth. The maximum cell density and specific growth rate were 79.5×10^4 cells mL^{-1} and 0.45 d^{-1} for A_d/A_r of 3.2, whereas the values were 46×10^4 cells mL^{-1} and 0.38 d^{-1} for A_d/A_r of 0.9. A higher A_d/A_r meant that the system was equipped with a smaller riser, and this enhanced the riser liquid velocity whilst considerably decreased the downcomer liquid

velocity (as downcomer had a much greater cross sectional area than riser). As the light was only supplied on the outer surface of the column, cells in downcomer were better exposed to light than those in riser. Therefore, the low downcomer liquid velocity possibly allowed cells in this section to utilize light for a longer time period and this seemed to have positive influence on the cell growth.

3.7. Effect of light intensity

The experiment with light intensity was carried out in the batch cultivation mode using the airlift bioreactor with A_d/A_r of 3.2 and u_{sg} of 0.4 cm s^{-1} . Five different surface light intensities were tested and the results on growth profiles and the maximum cell density are shown in Fig. 6.

The results revealed that the cell density and specific growth rate increased with an increase in the light intensity up to $20 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Further increase in light intensity, on the other hand, resulted in lower cell density and specific growth rate, which could have indicated the occurrence of photoinhibition. Fig. 7 illustrated that at light intensity lower than $40 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, almost all the cells were in vegetative form. The light intensity over $50 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ was likely to induce morphologi-

cal change, i.e. cells changed from vegetative cells to cysts, with a concomitant accumulation of astaxanthin. This emphasized the fact that astaxanthin accumulation in *H. pluvialis* could be induced at high light intensity. Similar finding was observed previously by Boussiba and Vonshak (1991), which showed that an accumulation of astaxanthin was stimulated with a light intensity of over $90 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. However, the results here demonstrated that astaxanthin could well be accumulated at the light intensity of as low as $40 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Moreover, cell growth was no longer observed when the light intensity increased to $60 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

In terms of growth, the accumulation of astaxanthin was not a good sign as this was the condition where cell division began to cease. Therefore, this condition must be avoided should the growth be the main objective of the cultivation. Hence, the optimal light intensity for the growth of *H. pluvialis* was concluded to be at $20 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

3.8. Semi-continuous culture of *H. pluvialis* in airlift bioreactor

Semi-continuous cultivation was conducted in order to examine the potential of having a large-scale cultural system that could operate economically. This cultivation was carried out under the most suitable conditions obtained from the aforementioned experiments, i.e. $A_d/A_r = 3.2$, $u_{sg} = 0.4 \text{ cm s}^{-1}$, light intensity = $20 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Fig. 8). In the batch culture, the cell density was allowed to increase until it reached a maximum of $79.5 \times 10^4 \text{ cells mL}^{-1}$, which occurred at about day 6–8 of cultivation. For the semi-continuous culture, the cultivation was started as a batch culture with the initial cell density of $2 \times 10^4 \text{ cells mL}^{-1}$. The cell was grown in the system until it reached the exponential growth phase after which a 50% by volume of culture broth was replaced with a fresh culture medium. The harvest cell density was approximately $40 \times 10^4 \text{ cells mL}^{-1}$. It was proven that with this harvesting cycle, the cell could maintain its vegetative form and in each 4 day cycle, cell density increased up to the level obtained in the previous cycle. The specific growth rate and productivity of semi-continuous culture were 0.31 d^{-1} and $5.52 \text{ cells mL}^{-1} \text{ d}^{-1}$, respectively. This result

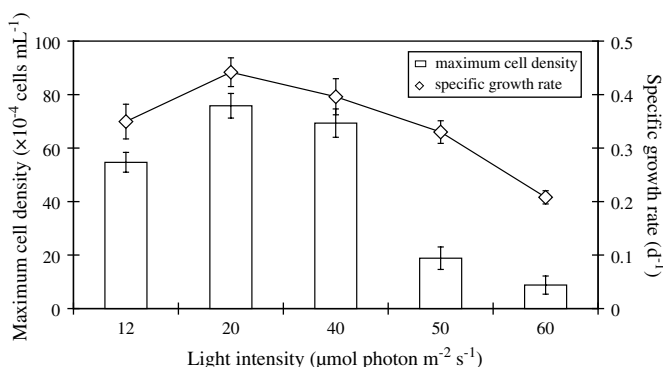


Fig. 6. Effect of light intensity on maximum cell density and specific growth rate of *H. pluvialis*.

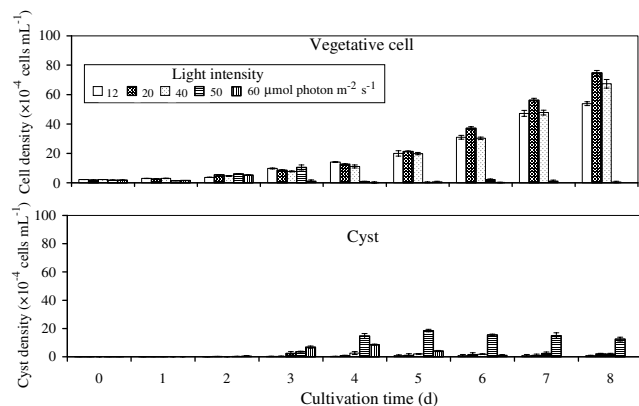


Fig. 7. Density of vegetative cells and cysts of *H. pluvialis* from the operation at different light intensities.

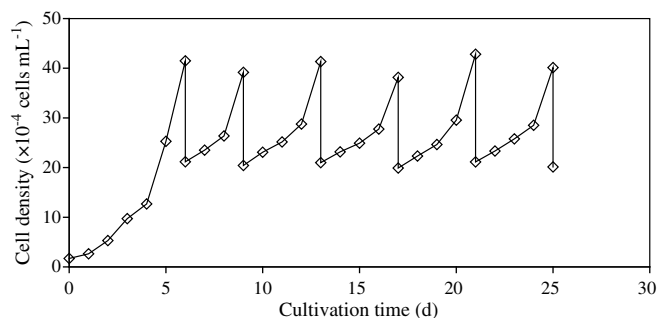


Fig. 8. Cultivation of *H. pluvialis* under semi-continuous culture.

was comparable to that reported by Hata et al. (2001) who successfully achieved the semi-continuous culture, but only in the small scale (in 500 mL Erlenmeyer flask) with a productivity of $6.8 \text{ cells mL}^{-1} \text{ d}^{-1}$.

4. Conclusions

This work demonstrated that an airlift system was suitable for the cultivation of *H. pluvialis*, one of the most effective microorganisms that could produce high potential antioxidant carotenoid, astaxanthin. The finding well complemented most of the previous reports, which focused mainly on the induction of astaxanthin from this specific strain. Not only was the success in batch culture illustrated, but the airlift system was also proven to deliver a very high productivity of such alga even with the semi-continuous mode of operation. Although the system employed in this work was rather small, the results positively suggested that the upscale investigation for this particular system was highly attractive.

Acknowledgements

The authors greatly appreciate Thailand Research Funds for supporting this work.

References

- Boussiba, S., Vonshak, A., 1991. Astaxanthin accumulation in the green alga *Haematococcus pluvialis*. *Plant Cell Physiol.* 32 (7), 1077–1082.
- Chen, F., Chen, H., Gong, X., 1997. Mixotrophic and heterotrophic growth of *Haematococcus lacustris* and rheological behavior of the cell suspensions. *Bioresour. Technol.* 62, 19–24.
- Choi, S.L., Suh, I.S., Lee, C.G., 2003. Lumostatic operation of bubble column photobioreactors for *Haematococcus pluvialis* cultures using a specific light uptake rate as a control parameter. *Enzyme Microb. Technol.* 33, 403–409.
- Fábregas, J., Domínguez, A., Alvarez, D.G., Lamela, T., Otero, A., 1998. Induction of astaxanthin accumulation by nitrogen and magnesium deficiencies in *Haematococcus pluvialis*. *Biotech. Lett.* 20 (6), 623–626.
- Fischer, U., Alfermann, A.W., 1995. Cultivation of photoautotrophic plant cell suspensions in the bioreactor: influence of culture conditions. *J. Biotechnol.* 41, 19–28.
- Gong, X., Chen, F., 1997. Optimization of culture medium for growth of *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyceae). *Phycology* 30, 829–833.
- Gong, X., Chen, F., 1998. Influence of medium components on astaxanthin content and production of *Haematococcus pluvialis*. *Process Biochem.* 33 (4), 385–391.
- Grunewald, K., Hagen, C., Braune, W., 1997. Secondary carotenoid accumulation in flagellates of the green alga *Haematococcus pluvialis*. *Phycology* 32, 378–392.
- Gudin, C., Chaumont, D., 1991. Cell fragility—The key problem of microalgae mass production in closed photobioreactor. *Bioresour. Technol.* 38, 145–151.
- Harker, M., Tsavalos, A.J., Yong, A.J., 1996. Autotrophic growth and carotenoid production of in 30 liter air-lift photobioreactor. *J. Ferment. Bioeng.* 82 (2), 113–118.
- Hata, N., Ogbonna, J.C., Hasegawa, Y., Taroda, H., Tanaka, H., 2001. Production of astaxanthin by *Haematococcus pluvialis* in a sequential heterotrophic–photoautotrophic culture. *J. Appl. Phycol.* 13, 395–402.
- Johnson, E.A., An, G.H., 1991. Astaxanthin from microbial source. *Crit. Rev. Biotech.* 11, 297–326.
- Kobayashi, M., Kakizono, T., Nagai, S., 1991. Astaxanthin production by green alga, *Haematococcus pluvialis* accompanied with morphological changes in acetate media. *J. Ferment. Bioeng.* 71 (5), 335–339.
- Kobayashi, M., Kakizono, T., Nishio, N., Nagai, S., 1992. Effects of light intensity, light quality, and illumination cycle on astaxanthin formation in a green alga, *Haematococcus pluvialis*. *J. Ferment. Bioeng.* 74, 61–63.
- Krichnavaruk, S., Pavasant, P., 2002. Analysis of gas–liquid mass transfer in an airlift contactor with perforated plates. *Chem. Eng. J.* 89, 203–211.
- Lorenz, R.T., Cysewski, G.R., 2000. Commercial potential for *Haematococcus* microalgae as a natural source of astaxanthin. *TIBTECH.* 18, 160–165.
- Merchuk, J.C., Ronen, M., Giris, S., Arad, S.M., 1998. Light/dark cycles in the growth of the red microalga *Porphyridium* sp. *Biotechnol. Bioengng.* 59, 705–713.
- Pringsheim, E.G., 1996. Nutritional requirements of *Haematococcus pluvialis* and related species. *Phycology* 2, 1–7.
- Sarada, R., Tripathi, U., Ravishankar, G.A., 2002. Influence of stress on astaxanthin production in *Haematococcus pluvialis* grown under different culture conditions. *Process Biochem.* 37, 623–627.
- Tjahjono, A.E., Kakizono, T., Hayama, Y., Nishio, N., Nagai, S., 1994. Isolation of resistant mutants against carotenoid biosynthesis inhibitors for a green alga *Haematococcus pluvialis*, and their hybrid formation by protoplast fusion for breeding of higher astaxanthin producers. *J. Ferment. Bioeng.* 77 (4), 352–357.
- Tripathi, U., Rao, S.R., Ravishankar, G.A., 2002. Biotransformation of phenylpropanoid compounds to vanilla flavor metabolites in culture of *Haematococcus pluvialis*. *Process Biochem.* 38, 419–426.
- Tung, H.L., Tu, C.C., Chang, Y.Y., Wu, W.T., 1998. Bubble characteristics and mass transfer in an airlift reactor with multiple net draft tubes. *Bioprocess. Eng.* 18, 323–328.
- Zhang, X.W., Gong, X.F., Chen, F., 1999. Dynamics and stability analysis of the growth and astaxanthin production system of *Haematococcus pluvialis*. *Ind. Microb. Biotechnol.* 23, 133–137.

ภาคผนวก 4

“Enhanced productivity of *Chaetoceros calcitrans* in airlift photobioreactors” Sontaya Krichnavaruk, Sorawit Powtongsook, Prasert Pavasant, Bioresource Technology 98 (2007), 2123-2130

Enhanced productivity of *Chaetoceros calcitrans* in airlift photobioreactors

Sontaya Krichnavaruk^a, Sorawit Powtongsook^b, Prasert Pavasant^{a,*}

^a Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

^b Marine Biotechnology Research Unit (at Chulalongkorn University), National Center of Genetic Engineering and Biotechnology, Bangkok 10330, Thailand

Received 1 May 2006; received in revised form 22 August 2006; accepted 23 August 2006

Available online 10 October 2006

Abstract

The various modes of cultivation of *Chaetoceros calcitrans* in airlift photobioreactors (ALPBRs) were examined. The batch system illustrated that the airlift configuration was superior to the bubble column as the airlift supported the circulation of the cell within the system, leading to a better light utilization. The cultivations in both semi-continuous and continuous systems resulted in a high cell productivity, although the steady state cell concentrations in both systems were lower than that obtained from the batch system. The behavior of the large-scale airlift system was not significantly different from the conventional bubble column where the diatom could only be produced at low cell density. Despite this, among all of the systems investigated in this work, the large-scale system gave the highest productivity. The main limiting factor for the large-scale airlift culture was the availability of light. Based on economical analysis, the continuous cultivation in the 2.8 L ALPBR with a medium feed rate of 3 mL min⁻¹ was most attractive where the operation cost could be maintained at a minimum of approx. 7.95 × 10⁻⁴ THB L⁻¹ h⁻¹. However, this continuous small-scale system still suffered from relatively low cell productivity (8.10 × 10⁴ cells s⁻¹).

© 2006 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Keywords: Airlift photobioreactor; *Chaetoceros calcitrans*; Semi-continuous system; Continuous system; Large-scale system

1. Introduction

The diatom *Chaetoceros calcitrans* has been widely used as a feed in marine hatcheries, especially in feeding shrimp larvae. The diatom is about 4–10 µm in diameter with the box like shape and possesses two long pairs of setae. The diatom is an important source of natural polyunsaturated fatty acids (PUFAs) necessary for the growth and immune function of the larvae (Belay, 1997; Borowitzka, 1999; Chiou et al., 2001). Conventionally, the cultivation of *C. calcitrans* started with the controlled cultivation in a small-scale 1 L glass bottle where a high cell density culture of approx. 2 × 10⁶ cells mL⁻¹ could be obtained. The culture was scaled up as a low density culture at a concentra-

tion of about 2 × 10⁵ cells mL⁻¹ in larger tanks or opened ponds with a size of 2–10 m³ until it was ready to use as feed for marine hatcheries. However, this system experienced difficulties due primarily to contamination as its low specific growth rate might provide enough time for the growth of the unwanted species which may eventually inhibit the growth of the diatom and cause harmful effects to marine culture. Although very few investigations focused on the development of photobioreactors for *C. calcitrans*, several types of closed photobioreactors have so far been introduced for the cultivation of microalgae such as tubular photobioreactor (del Campo et al., 2001; Grima et al., 1996; Lee and Low, 1991; Richmond et al., 1993; Tredici and Zittelli, 1998), vertical alveolar panel (Tredici et al., 1991) and flat plate bioreactor (Göksan et al., 2001; Richmond and Cheng-Wu, 2001; Richmond and Zou, 1999). Recently, we proposed the use of airlift photobioreactor (ALPBR) as an alternative cultivation system

* Corresponding author. Tel.: +66 2 2186870; fax: +66 2 2186877.

E-mail address: prasert.p@chula.ac.th (P. Pavasant).

for *C. calcitrans* where a high maximum cell concentration of 8.88×10^6 cells mL⁻¹ could be achieved from the batch cultivation (maximum specific growth rate = 7.41×10^{-2} h⁻¹ at $u_{sg} = 3$ cm s⁻¹) (Krichnavaruk et al., 2005). Similar airlift system was also proposed for the high-density cultivation of *Haematococcus pluvialis* where a high specific growth rate of 0.31 d⁻¹ was observed (Kaewpintong et al., 2007). Nevertheless, all of these work only focused on batch cultivation which is often encountered drawbacks regarding the production scheduling, reactor maintenance, etc. The aim of this work was therefore to investigate the effect of modes of operation for the cultivation of *C. calcitrans* in various types of ALPBR, i.e. batch, semi-continuous, continuous and the large-scale cultivations.

2. Methods

2.1. Preparation of culturing strain

The inoculum was prepared aseptically. Firstly, the diatom was screened as a single cell and inoculated in the 3 mL test tubes in the standard F/2 medium (Guillard, 1975) for one week. The composition of the medium was (mg L⁻¹) 168.3 NaNO₃, 12 Na₂HPO₄ · H₂O, 5.8 FeCl₃ · 6H₂O, 20 Na₂EDTA · 2H₂O, 66 Na₂SiO₃ · 9H₂O, 1.96 CuSO₄ · 5H₂O, 4.40 ZnSO₄ · 7H₂O, 1.26 Na₂MoO₄ · 2H₂O, 36 MnCl₂ · 4H₂O, 2.0 CoCl₂ · 6H₂O,

0.4 vitamin B₁, and (μg L⁻¹) 2 vitamin B₁₂, 100 biotin. Next, the culture was scaled up from 250 to 500 mL flasks where dense cell culture was obtained and used as an inoculum in the airlift photobioreactor (ALPBR).

2.2. Cultivation in ALPBRs

ALPBRs employed in this investigation were of concentric type (Fig. 1a) with dimensions as shown in Table 1. The column was made of clear acrylic plastic to allow effective light penetration and a clear visual observation. The cylindrical draft tube was located concentrically to the outer column with 5 cm space provided at the bottom for liquid circulation. Compressed air was supplied through a porous sparger located centrally at the base of the column and gas flow rate was measured using a calibrated rotameter. Note that the gas flow rate was converted to superficial gas velocity (u_{sg}) based on the area of riser. Fluorescent light bulbs were supplied on both sides of the column as a light source for photosynthesis.

2.3. Determination of cell concentration

The cell concentration was determined by using a normal blood cell counting slide, Haemocytometer. The depth of the counting grid and the area were 0.1 mm and 25 mm², respectively. The cells were counted in five large squares on

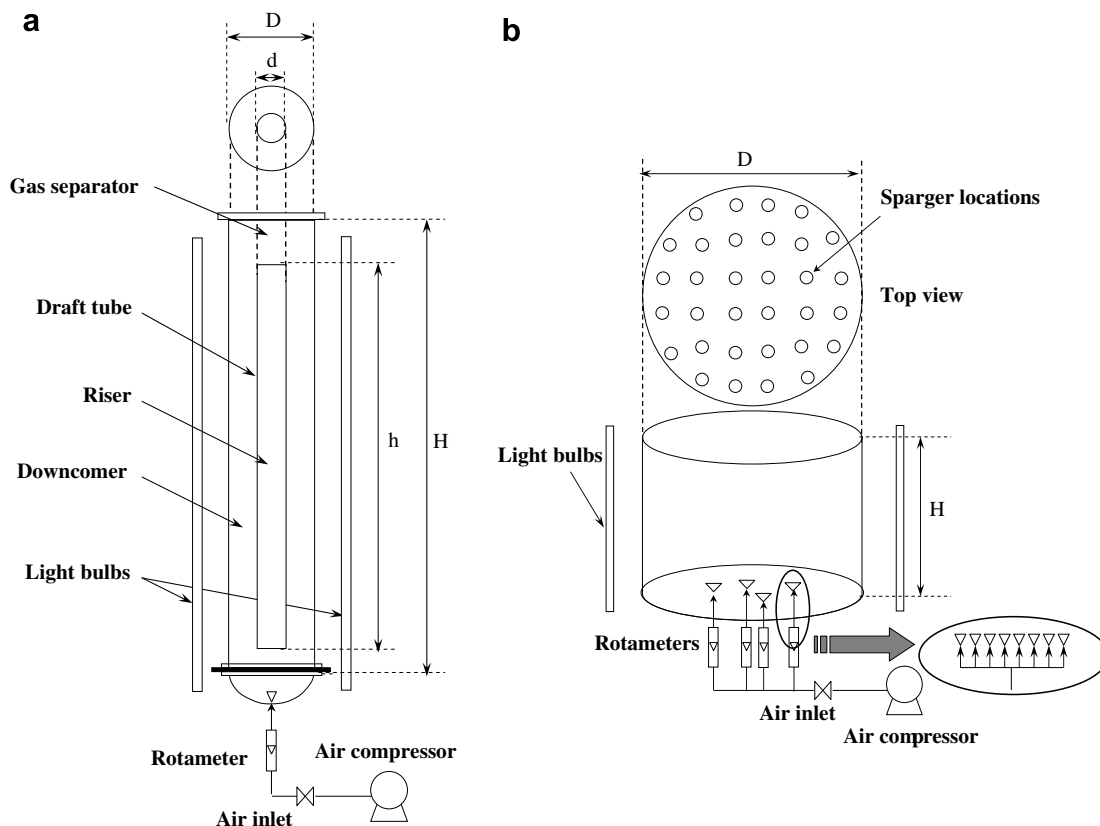


Fig. 1. Experimental setup for the cultivation of *C. calcitrans* (a) 17 L bubble column (BC-1) and 17 L concentric ALPBR (ALPBR-1 and ALPBR-2), (b) 170 L bubble column (BC-2), 170 L concentric ALPBR (ALPBR-3) and 170 ALPBR with multiple draft tube (ALPBR-4).

Table 1
Dimensions of bubble columns and airlift bioreactors employed in this investigation

Type	Working volume (L)	A_i/A_r	Reactor		Draft tube		Number of light source		Light intensity ($\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
			Diameter, D (cm)	Height, H (cm)	Diameter, d (cm)	Height, h (cm)	Wall	Top	
BC-1	17	–	15	120	–	–	10 (36 W)	–	384.33
BC-2	170	–	79	66	–	–	16 (18 W)	5 (18 W)	72
ALPBR-1	17	2.62	15	120	8	100	10 (36 W)	–	384.33
ALPBR-2	2.8	1.53	8	66	5	55	5 (36 W) ^a	–	118
ALPBR-3	170	1.47	79	66	50	50	16 (18 W)	5 (18 W)	72
ALPBR-4	170	2.82	79	66	18 ^b	40 ^b	16 (18 W)	5 (18 W)	72

^a The light source was supplied perpendicular to the column.

^b Four draft tubes were placed in the reactor and air was supplied through the porous spargers located at the bottom of each draft tube.

the grid (25 small squares per 1 large square) where the cell number was calculated from:

$$N = 5 \times d \times n \times 10^4 \quad (1)$$

where N = cells concentration (cells mL^{-1}), n = number of cells on five large squares (cells), d = dilution factor (–).

2.4. Batch cultivation

The batch cultivation of *C. calcitrans* was carried out both in the 17 L bubble column (BC-1) and the 17 L airlift photobioreactor (ALPBR-1). Fresh sea water (30 ppt) was added into the systems along with the F/2 medium. The inoculum was then added with the initial cell concentration of approx. 1×10^5 cells mL^{-1} . Compressed air was supplied through a porous sparger with $u_{\text{sg}} = 3 \text{ cm s}^{-1}$, which was the optimal gas flow rate (Krichnavaruk et al., 2005). Five 36 W fluorescent light bulbs were supplied on both sides of the column as the light source for photosynthesis with the light intensity at the outer column of approx. $350 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Temperature was controlled at around $30 (\pm 2^\circ \text{C})$. Samples were collected at every 3 h for the measurement of cell concentration. The specific growth rate was calculated from the following equation:

$$\mu = \frac{\ln(N_2) - \ln(N_1)}{t_2 - t_1} \quad (2)$$

where μ = specific growth rate (h^{-1}), N_1 = cells concentration at t_1 (cells mL^{-1}), N_2 = cells concentration at t_2 (cells mL^{-1}).

2.5. Semi-continuous cultivation

The semi-continuous system was investigated to improve the productivity of the system by using ALPBR-1. Gas velocity was supplied at $u_{\text{sg}} = 3 \text{ cm s}^{-1}$ which was the optimal gas velocity as operated in the batch cultivation. The system was initially operated as a batch system and the diatom was left growing for about 30 h until it reached the middle of the exponential growth period where approx. 50% of the culture was harvested. The remaining culture was diluted to approx. 1.2×10^6 cells mL^{-1} by adding fresh sea water. The nutrient stock solutions were then added to the system with the final nutrient concentration adjusted to the standard F/2 medium. The culture was then harvested at every 12 h. The productivity of the diatom for the batch and semi-continuous cultivation was calculated from the following equation:

$$P = \left(\frac{N_2 - N_1}{t_2 - t_1} \right) \times \frac{V \times 1000}{3600} \quad (3)$$

where P = productivity (cells s^{-1}), N_1 = cells concentration at t_1 (cells mL^{-1}), N_2 = cells concentration at t_2 (cells mL^{-1}), V = harvested volume (L).

2.6. Continuous cultivation

The continuous cultivation of *C. calcitrans* was carried out in a smaller scale airlift photobioreactor (ALPBR-2). During the first 30 h of the cultivation, the diatom was operated as a batch system. After this point, fresh sea water mixed with the standard F/2 medium was fed into the system at various volumetric feed rates ($2\text{--}4\text{ mL s}^{-1}$). Samples were taken at every 3 h to determine the cell concentration and specific growth rate. The volume of the system was controlled by the overflow outlet at the top of the column. The productivity of the diatom was simply calculated from the following equation:

$$P = QC \quad (4)$$

where P = productivity (cells s^{-1}), Q = volumetric flow rate of fresh medium (mL s^{-1}), C = effluent cell concentration (cells mL^{-1}).

The specific productivity can be calculated as follows:

$$SP = \frac{P}{V} \quad (5)$$

where SP = specific productivity ($\text{cells L}^{-1} \text{s}^{-1}$), P = productivity (cells s^{-1}), V = harvested volume (L).

2.7. Large-scale cultivation

The cultivation of the diatom *C. calcitrans* in the large-scale system was carried out in the conventional bubble column (BC-2), a conventional concentric airlift photobioreactor (ALPBR-3) where a single draft tube with 50 cm diameter (d) and 50 cm height (h) was inserted concentrically into the outer column, and a multiple draft tubes airlift photobioreactor (ALPBR-4) with four draft tubes, each with a diameter (d) of 18 cm and a height (h) of 40 cm. Porous spargers were well distributed through the riser area of each system. Both ALPBR-3 and ALPBR-4 were of the same size as that of BC-2, all with a working volume of approx. 170 L. Details of these systems are given Table 1 where a schematic diagram of the main column is provided in Fig. 1b. The initial cell concentration was approx. $0.5 \times 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$. Due to the limitation of the air compressor for this large-scale column, gas flow rate was controlled and fixed at 250 mL s^{-1} . Sixteen fluorescent light bulbs (18 W each) were supplied around the tank, and also five bulbs on the top section for photosynthesis. Light intensity around the wall and at the surface was around $48\text{--}52 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Samples were collected at every 3 h for the measurement of cell concentration and the calculation of specific growth rate.

3. Results and discussion

3.1. Batch culture

The growth behavior of *C. calcitrans* in the airlift system clearly outperformed that in the bubble column (BC-1) as

the cultivation in the airlift system (ALPBR-1) provided almost a twofold productivity of the diatom than that in the bubble column ($8.88 \times 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$ in the airlift when compared with $4.96 \times 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$ in the bubble column). This was also apparent in the specific growth rate which was around 0.074 h^{-1} in the airlift system, whereas only about 0.029 h^{-1} was reached in the bubble column. The reason for this could be due to the differences in liquid flow behavior in both systems. In ALPBR, the diatom was carried along the column height due to the energy transfer from gas bubbles. As the bubbles were separated from the liquid at the top surface, the heavier liquid and the diatom moved down the column in the downcomer section and re-entered the riser through the space provided at the bottom of the system. This circulation allowed the diatom to constantly move to the “high light intensity” area, i.e. in downcomer section. Apparently, this was beneficial for photosynthesis of the diatom. In the case of bubble column, the movement of liquid was random as the liquid and bubbles were completely mixed in one chamber. The low liquid velocity condition did not support a proper circulation of the diatom, and the sedimentation of the diatom could, at times, be observed at the bottom of the column. Therefore the diatom could not be exposed to high light intensity, and hence, ineffective photosynthesis was resulted and this led to a low productivity.

The growth of the diatom in the airlift system with an initial cell concentration of approx. $1 \times 10^5 \text{ cells mL}^{-1}$ ($u_{sg} = 3 \text{ cm s}^{-1}$) started with a 9 h lag phase, after which the diatom entered its exponential growth period where the cell concentration rapidly increased before reaching the stationary phase where the maximum cell density was approx. $8.88 \times 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$. This growth process reached the maximum cell concentration in 44 h which rendered a specific growth rate of about $7.41 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$. This was equivalent to a productivity of $9.42 \times 10^5 \text{ cells s}^{-1}$ or a specific productivity of $5.54 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1} \text{s}^{-1}$.

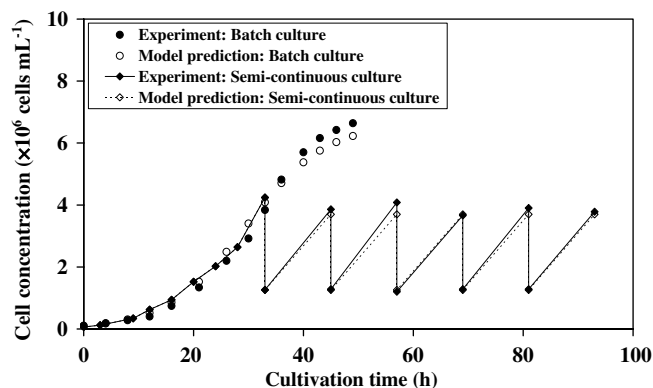


Fig. 2. Comparison between growth behavior of *C. calcitrans* for the cultivation in batch and semi-continuous culturing system (ALPBR-1 with $u_{sg} = 3 \text{ cm s}^{-1}$) and growth behavior from model prediction.

3.2. Semi-continuous culture

The batch cultivation, although provided a relatively high final cell concentration, often suffered from an initially slow growth regime, not to mention the loss of time during the final system cleansing. The cultivation of *C. calcitrans* in the semi-continuous system was, therefore, investigated to examine the probability of enhancing the productivity of the diatom. Fig. 2 illustrates the result for the cultivation of *C. calcitrans* in the 17 L semi-continuous system. An average maximum cell concentration achieved from each cycle (12 h) was around 3.86×10^6 cells mL⁻¹ with a specific growth rate of about 9.25×10^{-2} h⁻¹. The cultivation of the diatom in the semi-continuous system achieved an average productivity of approx. 7.19×10^5 cells s⁻¹ or equivalent to a specific productivity of 5.99×10^4 cells L⁻¹ s⁻¹ which was marginally higher than those obtained from the batch system. Summary of the performance of the different systems employed in this work is provided in Table 2.

3.3. Prediction of airlift system performance

The prediction of system performance for batch and semi-continuous cultures in ALPBR-1 could be achieved through the following derivations. For the batch system, the mass balance around the reactor results in:

$$V \frac{dx(t)}{dt} = \mu x(t) V \quad (6)$$

The Logistic law (Bailey and Ollis, 1986) was assumed to explain the growth rate of the diatom where

$$\mu = \mu_m \left(1 - \frac{x(t)}{x_m} \right) \quad (7)$$

Substituting Eq. (7) into Eq. (6) yields:

$$V \frac{dx(t)}{dt} = \mu_m \left(1 - \frac{x(t)}{x_m} \right) x(t) V \quad (8)$$

This could be integrated to:

$$x(t) = \frac{x_0 x_m e^{\mu_m t}}{x_m - x_0 + x_0 e^{\mu_m t}} \quad (9)$$

where $x(t)$ = cell concentration (cells mL⁻¹), x_0 = cell concentration (cells mL⁻¹), x_m = maximum cell concentration (cells mL⁻¹), t = culturing time (h), μ = specific growth rate (h⁻¹), μ_m = maximum specific growth rate (h⁻¹), V = cultivating volume (L).

The maximum cell concentration (x_m) and the maximum specific growth rate (μ_m) were system dependent and were, therefore, obtained from the experiment in the batch cultivation, and in this case, these two parameters were 6.64×10^6 cells mL⁻¹ and 1.4×10^{-1} h⁻¹, respectively. Eq. (9) was then used to simulate the growth curve of the diatom in both batch and semi-continuous modes. Fig. 2 illustrates that the model predictions agreed reasonably well with experimental results. For the simulation of the semi-continuous culture, the initial cell concentration for each cycle was controlled at approx. 1.2×10^6 cells mL⁻¹ and the harvesting period was maintained at 12 h. The model was then used to estimate the cell concentration in each harvesting cycle. The predicted productivity of the semi-continuous system using this model was 6.32×10^5 cells s⁻¹, which was slightly lower than the actual level of 7.19×10^5 cells s⁻¹. This was equivalent to an error of approx. 12%.

The model was further implemented to predict the harvesting period for which the maximum productivity could be achieved in both batch and semi-continuous systems. The maximum productivity for the batch operation was predicted by using the following correlations:

$$\text{Productivity} = \left(\frac{x(t) - x_0}{t - t_0} \right) \times V \quad (10)$$

To obtain the maximum productivity, the time differentiation of Eq. (10) must be equal to zero:

$$V \frac{d}{dt} \left(\frac{x(t) - x_0}{t} \right) = 0 \quad (11)$$

Substitution of Eq. (9) into Eq. (11) yielded:

$$V \frac{d}{dt} \left(\frac{\frac{x_0 x_m e^{\mu_m t}}{x_m - x_0 + x_0 e^{\mu_m t}} - x_0}{t} \right) = 0 \quad (12)$$

Table 2

Comparison between maximum cell concentration, productivity, specific productivity and specific growth rate for the cultivation of *Chaetoceros calcitrans* in BCs and ALPBRs in various modes of operation

Systems	Harvest time (h)	Maximum cell concentration (cells mL ⁻¹)	Productivity (cells s ⁻¹)	Specific productivity (cells L ⁻¹ s ⁻¹)	Specific growth rate (h ⁻¹)
Batch BC-1	60	4.96×10^6	3.83×10^5	2.25×10^4	2.88×10^{-2}
Batch ALPBR-1	44	8.88×10^6	9.42×10^5	5.54×10^4	7.41×10^{-2}
Semi-continuous ALPBR-1	>12	3.86×10^6	7.19×10^5	5.99×10^4	9.25×10^{-2}
Continuous ^a ALPBR-2	>30	1.62×10^6	8.10×10^4	2.89×10^4	6.42×10^{-2}
Large-scale BC-2	80	2.51×10^6	1.21×10^6	7.12×10^3	2.46×10^{-2}
Large-scale ALPBR-3	80	2.96×10^6	1.48×10^6	8.68×10^3	2.58×10^{-2}

^a Continuous culturing system with a medium feed rate of 3 mL min⁻¹.

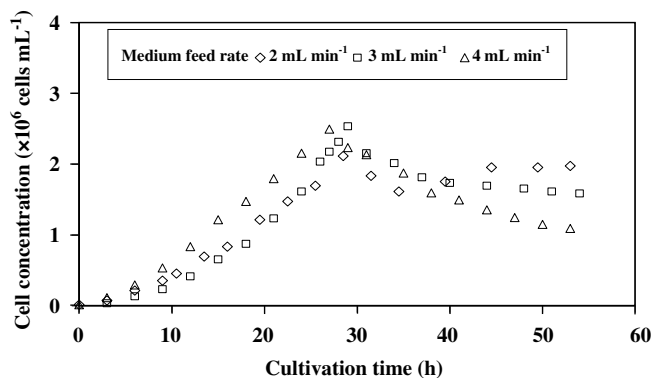


Fig. 3. Growth behaviors of *C. calcitrans* in continuous culturing system with various medium feed rates (ALPBR-2 with $u_{sg} = 3 \text{ cm s}^{-1}$).

Eq. (12) suggested that the maximum productivity of $6.35 \times 10^5 \text{ cells s}^{-1}$ would be obtained if the system was allowed to operate for 41 h, and with $x_0 = 1.03 \times 10^5 \text{ cells mL}^{-1}$.

For the semi-continuous cultivation, the maximum productivity can be calculated from:

$$\frac{d}{dt} \left(\frac{x(t) - x_0}{t - t_0} \right) (V_0 - V(t)) = 0 \quad (13)$$

where V_0 = initial cultivating volume (L), $V(t)$ = remaining volume after the harvest (L).

From the balance of component x ;

$$V_0 x_0 = V(t) x(t) \quad (14)$$

$$V(t) = \frac{V_0 x_0}{x(t)} \quad (15)$$

Eqs. (9) and (15) were substituted into Eq. (13), which allowed the determination of the cycle time required to yield the maximum productivity (with $V_0 = 17 \text{ L}$ and $x_0 = 1.26 \times 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$). In this case, it was predicted that the maximum productivity of $7.22 \times 10^5 \text{ cells s}^{-1}$ could be achieved after 19 h of cultivating period. However, this predicted maximum productivity was quite close to the actual attainable productivity with 12 h cultivation.

3.4. Continuous culture

This section focused on the continuous cultivation of the diatom *C. calcitrans* in ALPBR-2. As the system was switched to the continuous mode, the cell concentration started to drop due to the dilution effect (see Fig. 3). After another 10 h or so, the steady state could be observed. The cultivation of the diatom with the nutrient feed rates of 2, 3 and 4 mL min^{-1} resulted in the dilution rates of 4.29×10^{-2} , 6.43×10^{-2} and $8.57 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$, respectively. The maximum final cell concentration of approx. $1.95 \times 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$ was obtained at the feed rate of 2 mL min^{-1} . At this condition, the attainable specific productivity was $2.32 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (or equivalent to a productivity of $6.5 \times 10^4 \text{ cells s}^{-1}$). Due to a higher dilution effect, the maximum steady state cell concentration for the cultivation at the medium feed rate of 3 mL s^{-1} was only

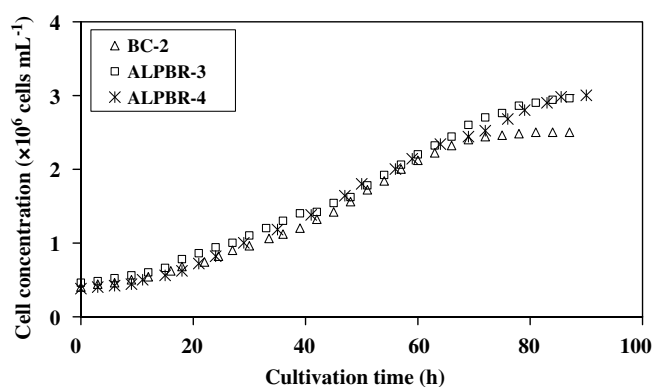


Fig. 4. Growth curves of *C. calcitrans* in large-scale systems (BC-2, ALPBR-3 and ALPBR-4 with $u_{sg} = 1 \text{ cm s}^{-1}$).

$1.62 \times 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$. Although this value was lower than that obtained from the case with the medium feed rate of 2 mL min^{-1} , the productivity was higher at approx. $8.10 \times 10^4 \text{ cells s}^{-1}$ or equivalent to a specific productivity of $2.89 \times 10^4 \text{ cells L}^{-1} \text{ s}^{-1}$. For the case where the medium feed rate was maintained at 4 mL min^{-1} , the final cell concentration was unable to reach the steady state concentration as the diatom seemed to be continually diluted by the feed of nutrient. In conclusion, for the range of operating condition employed in this work, the continuous ALPBR system should be conducted with the nutrient feed rate of 3 mL min^{-1} to ensure the highest level of cell productivity.

3.5. Large-scale cultivation

Conventionally, the diatom *C. calcitrans* was cultivated in a large-scale pond. The main reason for this was perhaps the economic of scale as a large-scale system often requires a lower investment when compared to small systems with the same volume. This section examined the performance of such system compared with that of smaller systems. This was to investigate whether the large-scale cultivation was, in fact, suitable to the growth of the diatom.

The results from the cultivation of *C. calcitrans* in the large-scale system was illustrated in Fig. 4. It was found that the maximum cell concentration of the diatom in ALPBR-3 ($2.96 \times 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$) and in ALPBR-4 ($3.04 \times 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$) were slightly higher than that from BC-2 ($2.51 \times 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$). However, the specific growth rate of the diatom in the large-scale cultivation for the cultivation in bubble column and in both ALPBRs was not significantly different, i.e. $\mu = 2.46 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$ for BC-2, $2.58 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$ for ALPBR-3 and $2.52 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$ for ALPBR-4. It was reported that there existed non-ideal flow particularly in airlift systems with large riser where the internal circulation took place within the riser itself (Wongsuchoto et al., 2003). This local circulation caused the system to behave like a bubble column. Therefore, in ALPBR-4, the riser was divided into four sub-sections, each with a smaller diameter. This was to minimize the local circulation in the riser and a better liquid circulation within the system was anticipated.

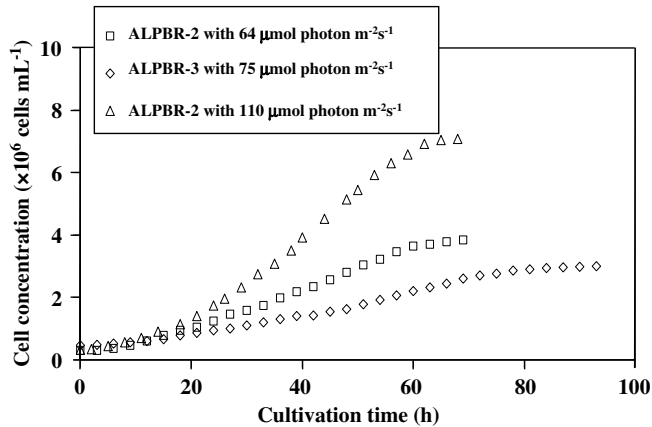


Fig. 5. Comparison between the growth of *C. calcitrans* in ALPBR-2 (initial cell concentration of approx. 3×10^5 cells mL^{-1} , $u_{\text{sg}} = 3 \text{ cm s}^{-1}$) with the variation in light intensity and the cultivation in ALPBR-3.

However, the large system was limited by the capacity of the air pump and the maximum aeration rate of 250 mL s^{-1} could only be achieved. Therefore, under the operating conditions employed in this work, the difference in the behaviors of the three systems might not be enough to have significant effect on the growth of the diatom, as obvious from the resulted mentioned above. The cultivation of the diatom in these large-scale systems was demonstrated to increase the productivity of the diatom. This was mainly due to the increase in the harvested volume when compared to the small systems.

3.6. Limiting factors for the operation in large-scale systems

One of the main drawbacks for the cultivation of the diatom in large-scale systems was the poor light utilization.

The light source could only be supplied around the wall and at the top of the tank, and with this setup, the light intensities measured in the system were around $48\text{--}50 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ near the inner wall, $72 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ at the outer wall, $52 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ near the surface of liquid level, and approx. $30 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ at the center of the tank. In particular, when the cells grew high in density, poor light penetration became a serious problem that retarded the effective growth of the diatom.

To further investigate the effect of light intensity on the growth of the diatom, the cultivation of the diatom was carried out in a smaller scale 2.8 L ALPBR (ALPBR-2) at similar light intensity levels to the large tank. Fig. 5 demonstrates the comparison between the cultivation in these two different scale ALPBRs. It was obvious that the growth rate in ALPBR-3 at the light intensity (at the wall) of $75 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ was even lower than that in ALPBR-2 with the light intensity of $64 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. However, it should be mentioned that the ability of the passage of light through the large-scale system was much lower than that in the small-scale system. Therefore the higher light intensity at the wall in the large-scale system did not necessarily mean that the light intensity would remain high within the culture. Unlike the large system, the light intensity in the small-scale system should remain almost constant throughout the column. Nevertheless, as the performance of ALPBR-2 with low light intensity became closer to that of ALPBR-3 at the same range of light intensity, this suggested that the findings in the small-scale could, to some extent, be used to explain the phenomena within the large-scale system.

Fig. 5 also revealed that the light intensity could significantly affect the growth of the diatom, and in this case, the greater final cell density of around 7.08×10^6 cells mL^{-1}

Table 3

Economical analysis for the cultivation of 1×10^{12} cells of *Chaetoceros calcitrans* in ALPBRs

		Working volume			
		Batch (ALPBR-1)	Semi-continuous (ALPBR-1)	Continuous ^a (ALPBR-2)	Large-scale (ALPBR-3)
Effective volume (L)	[A]	17	12	–	170
Cycle time (h)	[B]	44	12	–	80
Productivity ^b (cells s^{-1})	[C]	9.42×10^5	7.19×10^5	8.10×10^4	1.48×10^6
Specific productivity ^b (cells $\text{L}^{-1} \text{ s}^{-1}$)	[D]	5.54×10^4	5.99×10^4	2.89×10^4	8.68×10^3
Cultivation time (h)	$[E = (1 \times 10^{12} \times 3600) \div C]$	295	386	3429	188
Number of cycle (–)	$[F = E \div B]$	6.70	32.17	–	2.35
Total volume of sea water used (L)	$[G = A \times F]$	114	386	617	400
Cost of water, 0.06 THB L^{-1} (THB)	$[H = 0.06 \times G]$	6.84	23.16	37.03	23.97
Cost of nutrient, 1 THB L^{-1} (THB)	$[I = G \times 1]$	114	386	617	400
Power of air compressor (W)	[J]	300	300	60	1600
Power of light source (W)	[K]	400	400	40	378
Total electrical unit (units)	$[L = (J + K) \times E \div 1000]$	207	270	343	372
Electrical cost, 3 THB per unit (THB)	$[M = 3 \times L]$	620	811	1029	1116
Total investment cost (THB)	$[N = H + I + M]$	740	1220	1683	1539
Investment cost per hour (THB h^{-1})	$[O = N \div E]$	2.51	3.16	0.49	8.19
Specific investment cost (THB $\text{L}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	$[P = O \div G]$	2.20×10^{-2}	8.19×10^{-3}	7.95×10^{-4}	2.05×10^{-2}

^a Continuous cultivation with a medium flow rate of 3 mL min^{-1} .

^b From Table 2.

with $4.24 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$ specific growth rate was obtained at the light intensity of $110 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ whereas the lower light intensity ($64 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) yielded a much lower cell concentration of $3.84 \times 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$ ($3.42 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$ specific growth rate). This finding implied that insufficient light intensity could negatively affect the performance, and this was the case of the large-scale system, and as long as the light intensity could not be maintained at higher level (without causing excessive heat), the cultivation in the large-scale system could only be subject to low cell density.

3.7. Economics of cultivation systems for *C. calcitrans*

The economical analysis for the cultivation of the diatom *C. calcitrans* in various scales of ALPBRs was carried out where the results are shown in Table 3. The systems involved in this analysis were the batch cultivation (ALPBR-1), semi-continuous cultivation (ALPBR-1), continuous cultivation (ALPBR-2) and the large-scale cultivation (ALPBR-3). This analysis was based on the production of 1×10^{12} cells. It was observed that the most attractive system for the cultivation of the diatom in marine hatcheries was the continuous cultivation of the diatom in the 2.8 L ALPBR (ALPBR-2) with the medium feed rate of 3 mL min^{-1} . The lowest operating cost, approx. $7.95 \times 10^{-4} \text{ THB L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, was obtained which was the lowest when compared to any other systems. Surprisingly, the productivity of this system was found to be the lowest among the four systems. The benefits of this system were derived from a number of advantages when compared to the larger systems, i.e. low overhead charge due to the labor cost, minimal lost of time during the start up and shut down period or for system maintenance. As the cells remained active at all time in the continuous system, the culture medium could be switched to the new reactor as soon as the maintenance was needed without disturbing the growth of the diatom. The maintenance and equipment costs in this system, i.e. reactor, air compressor and light source, were also lower than the setup for larger systems.

4. Conclusions

This investigation described the achievement in the cultivation of *C. calcitrans* in various reactor modes. It was found that the semi-continuous and the continuous systems could be successfully implemented to minimize the maintenance of the batch system. The large-scale system was also practiced, but could only reach a small final cell concentration. Due to the size of the harvested volume, the large-scale was found to produce cell at the highest productivity. The main drawback for this large system was the limitation on the availability of light, which restricted the growth of the diatom. The economical analysis pointed out that small

culture system running in continuous mode seemed to be the most attractive choice for the cultivation of *C. calcitrans*.

Acknowledgements

The author would like to acknowledge the Thailand Research Fund (TRF) for their financial support.

References

- Bailey, J.E., Ollis, D.F., 1986. Biochemical Engineering Fundamentals. McGraw-Hill, New York.
- Belay, A., 1997. Mass cultivation of *Spirulina* outdoors—the earthrise farms experience. In: Vonshakm, A. (Ed.), *Spirulina platensis* (Arthrospira): Physiology, Cell Biology and Biotechnology. Taylor and Francis, London, pp. 131–158.
- Borowitzka, M.A., 1999. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenter. J. Biotechnol. 70, 313–321.
- Chiou, S.Y., Su, W.W., Su, Y.C., 2001. Optimizing production of polyunsaturated fatty acids in *Machantia polymorpha* cell suspension culture. J. Biotechnol. 85, 247–257.
- del Campo, J.A., Rodriguez, H., Moreno, J., Vergas, A., Rivas, J., Guerrero, M.G., 2001. Lutein production by *Muriellopsis* sp. in an outdoor tubular photobioreactor. J. Biotechnol. 85, 289–295.
- Göksan, T., Durmaz, Y., Gökpınar, S., 2001. Effects of light path lengths and initial culture density on the cultivation of *Chaetoceros muelleri*. Aquaculture 217, 431–436.
- Grima, E.M., Sanchez Perez, A.S., Camacho, F.G., Garcia Sanchez, J.L., Acien Fernandez, F.G., Alonso, D.L., 1996. Productivity analysis of outdoor chemostat culture in tubular air-lift photobioreactors. J. Appl. Phycol. 8 (4–5), 369–380.
- Guillard, R.L., 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates (for general algae culture techniques). In: Smith, W.L., Chanley, M.H. (Eds.), Culture of Marine Invertebrates Animal. Plenum Press, New York, pp. 15–41.
- Kaewpintong, K., Shotipruk, A., Powtongsook, S., Pavasant, P., 2007. Photoautotrophic high-density cultivation of vegetative cells of *Haematococcus pluvialis* in airlift bioreactor. Bioresource Technol. 98, 288–295.
- Krichnavaruk, S., Loataweesup, W., Powtongsook, S., Pavasant, P., 2005. Optimal growth conditions and the cultivation of *Chaetoceros calcitrans* in airlift photobioreactor. J. Chem. Eng. 105, 91–98.
- Lee, Y.K., Low, C.S., 1991. Effect of photobioreactor inclination on the biomass productivity of an outdoor algal culture. Biotechnol. Bioeng. 38, 995–1000.
- Richmond, A., Boussiba, S., Vonshak, A., Kopel, R., 1993. A new tubular reactor for mass production of microalgae outdoors. J. Appl. Phycol. 5, 327–332.
- Richmond, A., Cheng-Wu, Z., 2001. Optimization of a flat plate glass reactor for mass production of *Nannochloropsis* sp. Outdoors J. Biotechnol. 85, 259–269.
- Richmond, A., Zou, N., 1999. Efficient utilization of high photon irradiance for mass production of photoautotrophic micro-organisms. J. Appl. Phycol. 11, 123–127.
- Tredici, M.R., Carlotto, P., Zittelli, C.G., Materassi, R., 1991. A vertical alveolar panel (VAP) for outdoor mass cultivation of microalgae and cyanobacteria. Bioresource Technol. 38, 153–159.
- Tredici, M.R., Zittelli, G.C., 1998. Efficiency of sunlight utilization: tubular versus flat photobioreactors. Biotechnol. Bioeng. 57 (2), 187–197.
- Wongsuchoto, P., Charinpanitkul, Y., Pavasant, P., 2003. Bubble size distribution and gas–liquid mass transfer in airlift contactors. J. Chem. Eng. 92, 81–90.

ภาคผนวก 5

“Influence of salinity on bubble size distribution and gas-liquid mass transfer in airlift contactors”, Duangkamol Ruen-ngam, Porntip Wongsuchoto, Apiradee Limpanuphap, Tawatchai Charinpanitkul, Prasert Pavasant (In-press)



Influence of salinity on bubble size distribution and gas–liquid mass transfer in airlift contactors

Duangkamol Ruen-ngam, Porntip Wongsuchoto, Apiradee Limpanuphap,
Tawatchai Charinpanitkul, Prasert Pavasant *

Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

Received 12 June 2007; received in revised form 21 December 2007; accepted 26 December 2007

Abstract

The investigation of the effect of salinity on the performance of airlift contactor was achieved using the 171 internal loop airlift with height of 1.2 m, and 0.137 m diameter. Various draft tubes with different diameter sizes were provided to vary the ratio between downcomer and riser cross-sectional areas (A_d/A_r) from 0.061 to 1.01. The superficial gas velocity (u_{sg}) was supplied in a range from 0.01 to 0.07 m/s and the salinity was adjusted from 0 to 45 ppt. The Sauter mean diameter of the bubble (d_{Bs}) appeared to be smaller in saline water than in fresh water. Bubble size was regulated by two factors. The first one was the hydrophilic repulsive force which inhibited bubble coalescence whereas the second was the Laplace pressure which controlled the coalescence and breakup of bubbles. The range of pressure difference, ΔP , acting on the bubble that promoted bubble coalescence was between 15 and 20 N/m² below which bubble coalescence was inhibited and above which bubble breakage prevailed. In saline water, d_{Bs} decreased with u_{sg} . This was caused by the collision and breakup of bubbles at high gas holdup which occurred at ΔP greater than 20 N/m². Axial variation in d_{Bs} was only observed at low u_{sg} (less than 0.04 m/s) where bubbles in the bottom section of the airlift were larger than those in the middle and top sections. It was anticipated that the middle and top sections exhibited higher turbulent conditions than the bottom section at this low aeration rate. The effect of draft tube size was quite important where the smallest draft tube (smallest downcomer area) best promoted the breakup of the bubbles with a relatively high ΔP of approximately 50–97 N/m². The effect of salinity on the overall volumetric mass transfer coefficient ($k_L a$) was only apparent at high aeration rate where the fresh water provided a higher $k_L a$ than the saline water. In fact, the specific area (a) was high in the saline water systems, however, the mass transfer coefficient (k_L) was higher in the fresh water system than saline water. Finally, a general correlation for the estimation of k_L in the airlift system was proposed.

© 2008 Published by Elsevier B.V.

Keywords: Pressure difference; Bubble behavior; Mass transfer; Hydrodynamics

1. Introduction

An airlift system is an example of gas–liquid contacting device for which its application in biotechnology area has grown significantly in recent years [1–4]. Examples include the cultivation of fresh water single cell algae *Haematococcus pluvialis* as proposed by Kaewpintong et al. [5] and the high productivity of the sea water diatom *Chaetoceros calcitrans* in airlift photobioreactors as proposed by Krichnavaruk et al. [6,7]. One of the most significant parameters in the design of such airlift systems is the overall volumetric mass transfer coefficient which is commonly employed to demonstrate the efficiency of oxygen

transfer from gas to liquid. This quantity depends on the system geometry and liquid properties which are related to several other parameters. Principally, this parameter is constituted of the mass transfer coefficient (k_L) and the specific interfacial area (a_L) which then depends on the flow regimes, hydrodynamics and bubble characteristics in the system. Information regarding bubble size distribution is often useful as it determines the level of interfacial mass transfer and other hydrodynamic behavior of the systems. However, the availability of such information is quite sparse. Literature reported that bubble breakage was a predominant factor in the gas–liquid contacting devices particularly at high gas throughputs [8–11]. Hence, the systems at high aeration rate are typically operated with smaller bubble size range which enhances gas holdup and consequently gas–liquid mass transfer. Bubble breakage was also found to take place along the height of the column due to an increasing interaction between

* Corresponding author. Tel.: +66 2 218 6870; fax: +66 2 218 6877.
E-mail address: prasert.p@chula.ac.th (P. Pavasant).

Nomenclature*Nomenclature*

a	specific interfacial area based on liquid volume (m^2/m^3)
A	cross-sectional area (m^2)
c	dissolved oxygen concentration (mg/l)
c^*	saturated dissolved oxygen concentration concentration (mg/l)
c_L	oxygen concentration in liquid phase (mg/l)
c_o	initial dissolved oxygen concentration (mg/l)
$d_{B,i}$	sphere bubble diameter with the same volume as ellipsoidal bubble (mm)
d_{Bs}	Sauter mean diameter (mm)
D_l	diffusivity (m^2/s)
D_i	inside diameter of draft tube (cm)
D_{io}	outer diameter of draft tube (cm)
h_i	video level (cm)
h	height of defined liquid level in the column (cm)
H_L	unaerated liquid height (m)
H_D	aerated liquid heights (m)
g	gravitational acceleration (m/s^2)
k_g	overall mass transfer coefficient (m/s)
k_L	overall mass transfer coefficient (m/s)
$k_L a$	overall volumetric mass transfer coefficient ($1/\text{s}$)
n_i	occurrence frequency number
p	major axes of bubble images
ΔP	pressure difference acting on bubbles (N/m^2)
ΔP_m	pressure difference between the two measuring ports (N/m^2)
q	minor axes of bubble images
t	time (s)
u_{sg}	superficial gas velocity (m/s)
u_α	terminal rise velocity of bubble (m/s)

Greek symbols

δ	film thickness (cm)
ε_d	downcomer gas holdup
ε_o	overall gas holdup
ε_r	riser gas holdup
μ	viscosity (kg/m s)
ρ	density (kg/m^3)
σ	surface tension (N/m)

such as the height of the column and the ratio between riser and downcomer cross-sectional area (A_d/A_r) could also affect the flow pattern and bubble size distribution in the airlift system.

The gas–liquid mass transfer is commonly considered as a function of bubble sizes, and is explicitly described in several empirical correlations such as Frossling's equation and Higbie's theory for bubble columns [15]. Although the application of airlift could be in mediums with various properties, most investigations on bubble size distribution are often confined to the system operated with water–air as liquid and gas phases, respectively. Salinity is known to alter the properties of water, for instance, it decreases the surface tension of the solution, and this could significantly affect the bubble size distribution. This, in turn, has notable influence on the gas–liquid mass transfer. This work therefore focused on the quantitative analysis of the influence of salinity on the hydrodynamics and mass transfer behavior of the annulus sparged internal loop airlift contactor.

2. Experimental*2.1. Apparatus*

Experiments were carried out in an acrylic transparent airlift contactor as detailed in Fig. 1. The column was 1.2 m in height with an inside diameter of 0.137 m. The column was equipped with pressure taps along the contactor height for the measurement of pressure drop, ΔP , which was used to determine riser gas holdup, $\varepsilon_{g,r}$. A 1 m draft tube height was installed centrally in the column with a bottom clearance of 5 cm for liquid circulation. The ratio between cross-sectional areas of downcomer and riser (A_d/A_r) was altered by changing the draft tube diameter as provided in Table 1. Saline water was added into the column until the anaerated liquid height was 3 cm above the draft tube. The aeration was accomplished through a perforated ring sparger with 30 holes (1 mm in diameter) provided at the base of the annulus section. The sparger was made from PVC tubing with of 0.8 cm diameter. Air flow rate was controlled by a calibrated rotameter to give a range of superficial gas velocities, u_{sg} , from 0.01 to 0.07 m/s.

Table 1 summarizes detail of the operation of this system. The salinity was measured by OPTIK Handheld Refractometer and was controlled at 15, 30, and 45 ppt. The density of the solution was measured by pycnometer (UL/Y ADAPTER, MIDDLE BORO, MA 02346, U.S.A., Brook field ENGINEERING LABS INC.) at 100 rpm, 26.5 °C, and the surface tension was measured with KRUSS K10T (Du Noüy Ring). These properties were summarized in Table 2.

Table 1
Dimensions of draft tubes

Draft tube	Symbol	D_i (cm)	D_{io} (cm)	A_d/A_r (–)
1	ALC1	3.4	4	0.067
2	ALC2	7.4	8	0.443
3	ALC3	8.4	9	0.661
4	ALC4	9.4	10	1.008

bubbles as they traveled up the top of the column [2]. Wongsuchoto et al. [4] reported that bubble breakage occurred more at the top part resulting in smaller bubble size to be smaller than that at the lower part. Electrolyte solutions such as sea water were reported to provide a higher $k_L a$ than that in fresh water as the bubble size in such systems was relatively small. On the other hand, systems with higher viscosity such as CMC (carboxymethyl cellulose) exhibited a lower $k_L a$ than those running with lower viscosity mediums [12,13]. The presence of antifoam promoted bubble coalescence and therefore reduced $k_L a$ [13,14]. Apart from the liquid properties, the reactor design parameters

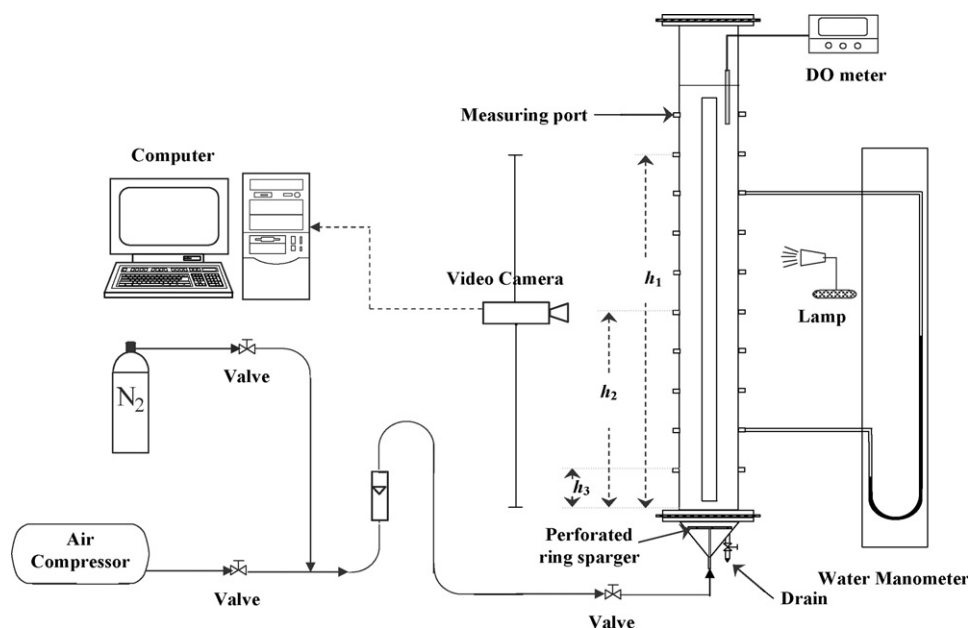


Fig. 1. Schematic diagram of concentric internal loop airlift contactor employed in this work.

Table 2
Liquid properties

Liquid phase	Surface tension (N/m)	Viscosity (kg/m s)	Density (kg/m ³)
Tap water	72.6×10^{-3}	1.28×10^{-3}	0.996×10^3
Sea water at 15 ppt	73.1×10^{-3}	1.44×10^{-3}	1.005×10^3
Sea water at 30 ppt	73.7×10^{-3}	1.47×10^{-3}	1.016×10^3
Sea water at 45 ppt	73.9×10^{-3}	1.49×10^{-3}	1.027×10^3

Table 3
Locations of digital video camera for bubble size measurement

Section	Height from the bottom end of the draft tube (h_i) (cm)
Top section (h_1)	90
Middle section (h_2)	50
Bottom section (h_3)	10

2.2. Bubble size distribution measurement

The bubble size measurement was performed in riser section using a photographic technique. More than 200 bubbles were photographed using a digital camcorder (Panasonic® NV-GS75) at three different heights (h_i): 10 cm (bottom section), 50 cm (middle section) and 90 cm (top section) from the base of the draft tube as illustrated in Fig. 1 and Table 3. The correction to real size was based on the scale attached to the draft tube with the same focal distance as the measured bubbles. The focus was adjusted on the scale and only the well-focalized bubbles were measured [4]. For ellipsoidal bubbles, the major and minor axes of bubble images were measured. The equivalent size of the

bubble (d_B), representing the diameter of a sphere whose volume was equal to that of the bubble, is calculated using Eq. (1) [16,17] (Table 4).

$$d_B = (p^2 q)^{1/3} \quad (1)$$

2.3. Determination of hydrodynamic and mass transfer behavior of airlift contactors

The overall gas holdup, $\varepsilon_{g,0}$, was determined by the volume expansion method where:

$$\varepsilon_{g,0} = \frac{H_D - H_L}{H_D} \quad (2)$$

Table 4
Operating conditions for each ALC system

ALCs	Superficial gas velocity (m/s)					
	①	②	③	④	⑤	⑥
ALC1	0.008	0.012	0.018	0.022	0.030	0.035
ALC2	0.011	0.016	0.025	0.031	0.041	0.048
ALC3	0.013	0.019	0.029	0.036	0.048	0.056
ALC4	0.016	0.023	0.035	0.044	0.058	0.068
Symbol	—	- - - -	-----	—	-----

The riser gas holdup, $\varepsilon_{g,r}$, was estimated by measuring the pressure difference (ΔP_m) between two pressure taps located along the height of the column (Δh) where:

$$\varepsilon_{g,r} = 1 - \frac{\Delta P_m}{\rho_l g \Delta h} \quad (3)$$

It was assumed that gas holdup in the top section was approximately equal to that in the riser and therefore the downcomer gas holdup, $\varepsilon_{g,d}$, could be computed from:

$$\varepsilon_{g,d} = \frac{\varepsilon_{g,o} H_D (A_d + A_r) + (H_{dr} A_d - H_D (A_d + A_r)) \varepsilon_{g,r}}{H_{dr} A_d} \quad (4)$$

Liquid velocities both in riser and downcomer were measured using the color tracer technique. The pressure taps were employed as injection points of the color tracer and the recorded time of color tracer between the two points in the contactor was measured for the calculation of liquid velocity.

The overall volumetric mass transfer coefficient ($k_L a$) was determined by the dynamic method [18–20]. A dissolved oxygen meter (Jenway 9300) was used to record the changes in oxygen concentration with time in the ALC. The system was initially freed of O_2 by bubbling N_2 through the liquid for approx. 10 min. The calculation of $k_L a$ follows Eq. (5):

$$\ln \frac{(c^* - c_o)}{(c^* - c_L)} = k_L a t \quad (5)$$

3. Results and discussion

3.1. Local bubble size distribution in airlift systems

Fig. 2 illustrates examples of the bubble size distribution curves obtained from the various sections of the ALC system operated with saline water at 30 ppt and with $A_d/A_r = 0.661$. As a general trend, bubble size was quite large, in the range of 6.0–8.2 mm, at low superficial velocity. At higher gas throughput, bubbles became smaller in size and the distribution of bubble size became bimodal where there were two main bubble sizes present at the same time (2 and 6.5 mm). At high gas throughput, bubble size became small and the distribution illustrated that there was only one main bubble size in the system at this condition (2 mm). Bubble size did not seem to be smaller when the superficial velocity became higher than 0.036 m/s. This finding was for the system operated with water at salinity of 30 ppt, and it agreed well with the report by Wongsuchoto et al. [4] who carried out the experiment in fresh water systems that, at adequately high aeration, bubble no longer changed its size distribution ($u_{sg} > 0.05$ m/s). The difference was that the airlift operated with saline solution had smaller bubble sizes than those with fresh water.

3.2. Axial bubble size distribution in airlift contactors

The axial bubble size distribution was obtained by taking photographs of bubbles in the airlift at different heights. Bubble distribution frequency was then formulated for each sampling point, and the results are given in Fig. 2. In the top and middle

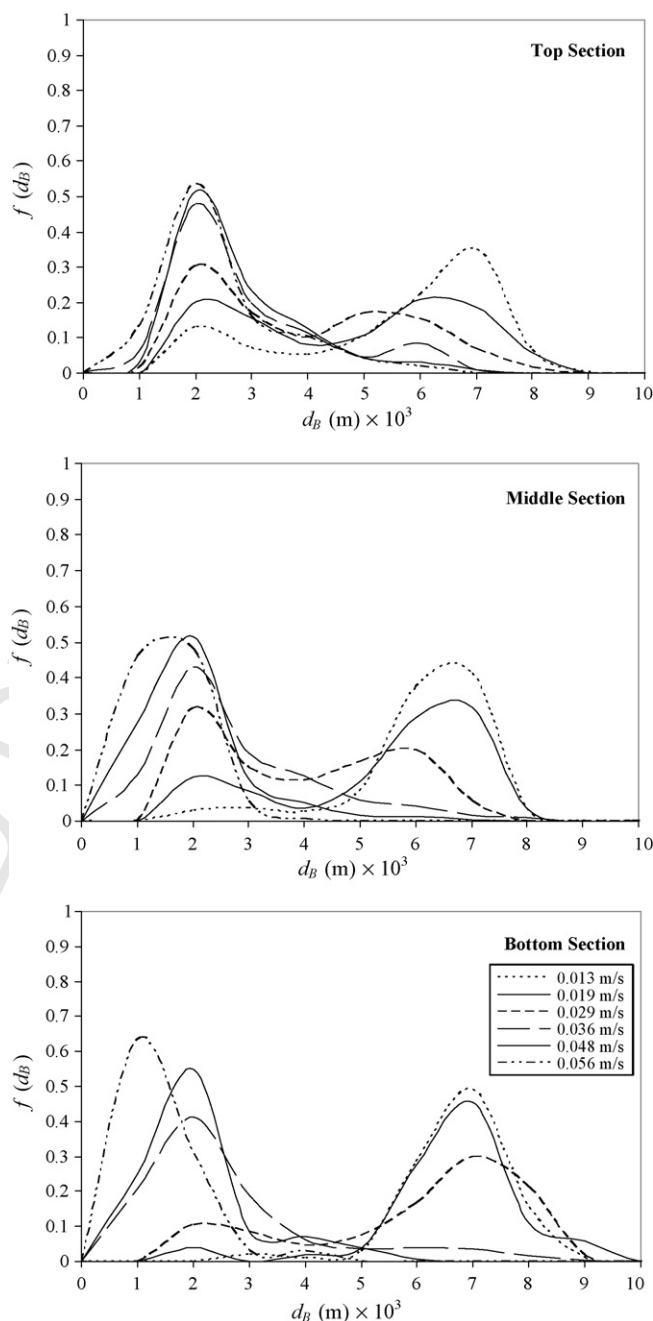


Fig. 2. Frequency distribution of bubble sizes at various superficial gas velocities in ALC with $A_d/A_r = 0.661$ (salinity = 30 ppt).

sections, the distribution changed from uni-modal to multi-modal curve at $u_{sg} \approx 0.019$ m/s whereas the bottom section saw this change at $u_{sg} \approx 0.029$ m/s. The breakage of the bubbles at high gas throughput was caused by higher amount of energy dissipation and turbulent which promoted more interaction between bubbles. The results suggested, therefore, that there was a higher level of turbulence in the top and middle sections than that in the bottom. Fig. 3 illustrates the mean values of the bubble sizes with the highest occurrence frequencies (Fig. 3(a)) compared with the average, Sauter mean diameter of bubbles (Fig. 3(b)) in the three sections in the airlift system with A_d/A_r of 0.661. This revealed that bubble size in the bottom section was slightly larger

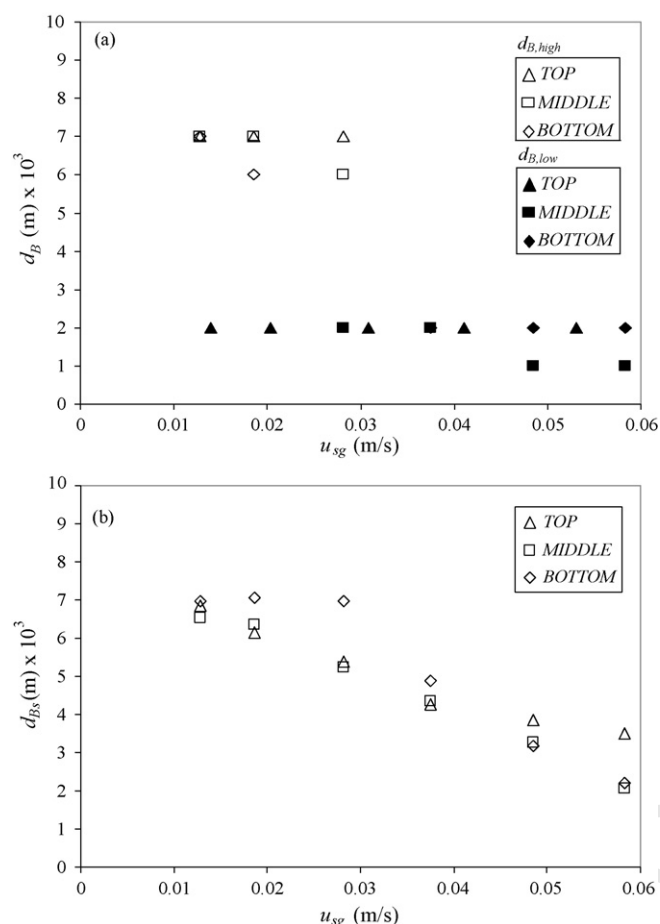


Fig. 3. Axial variation in bubble size in ALC with $A_d/A_r = 0.661$ (salinity = 30 ppt): (a) the average high bubble size ($d_{b,high}$) and average low bubble size ($d_{b,low}$), and (b) Sauter mean diameter.

than in those in the other sections, particularly at a lower range of u_{sg} (<0.04 m/s) examined in this work. At a higher u_{sg} range, the effect of column height on the bubble size was not obvious and the sizes of bubbles were approximately the same throughout the length of the airlift. The same finding was found for the system running with tap water as described in Wongsuchoto et al. [4].

3.3. Effect of the ratio between downcomer and riser cross-sectional areas on bubble size

To investigate the effect of the ratio between the downcomer and riser cross-sectional areas (A_d/A_r), the experiment was conducted in the airlift contactors running with sea water at 30 ppt with four different draft tube sizes as detailed in Table 1 and the average bubble sizes are shown in Fig. 4. At a low range of u_{sg} (<0.015 m/s), no significant differences in bubble size were observed in all systems. At u_{sg} greater than 0.015 m/s, the differentiation of the bubble sizes in the systems with different draft tube sizes became more obvious, i.e. the bubble size was larger in the system with larger draft tube size (d_{Bs} , ALC4 > 3 > 2 > 1). In other words, the bubble size was larger in the system with smaller riser cross-sectional area. It was possible that turbu-

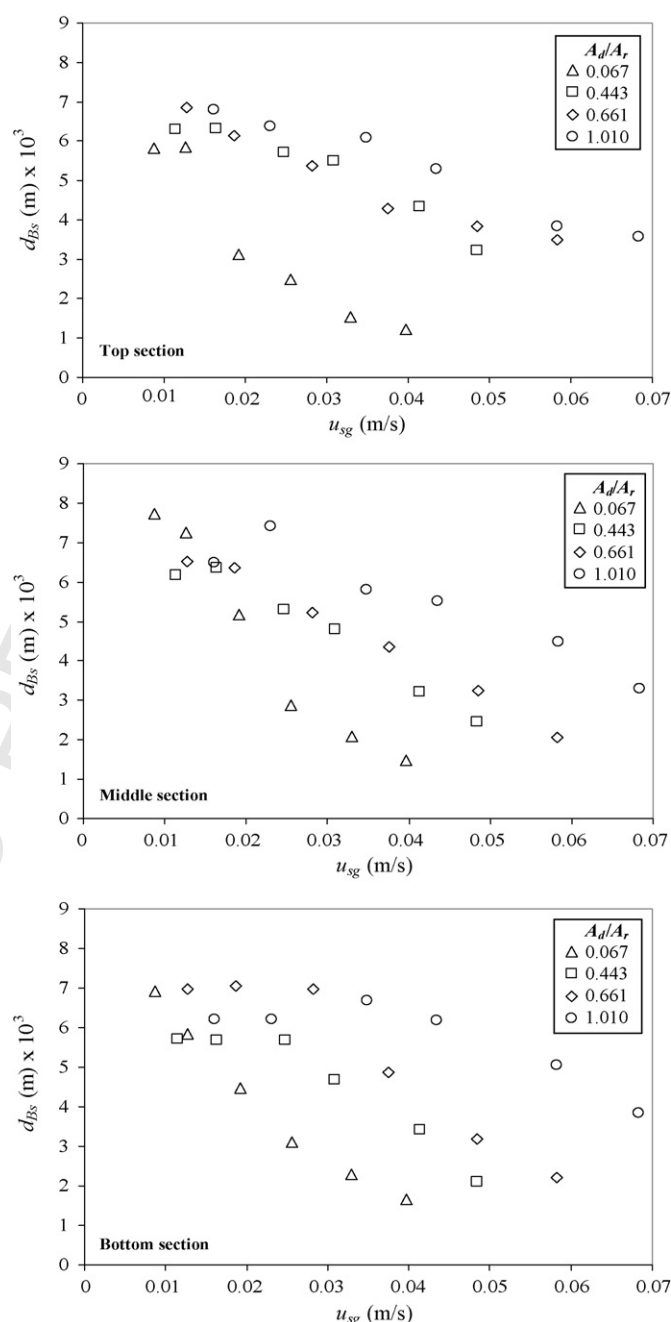


Fig. 4. Bubble sizes in ALC with different downcomer to riser cross-sectional area ratios (salinity = 30 ppt).

lence in the system with smaller riser was stronger than those with larger riser, and increasing the chance of bubbles being coalesced. Fig. 4 also illustrates that the effect of A_d/A_r on bubble size was more obvious at the bottom section, and not as much in the middle and top sections. As stated earlier, the level of turbulence in the middle and top sections of the airlift was believed to be stronger than that in the bottom section. However, bubble sizes in this top section were not significantly regulated by A_d/A_r suggesting that, within the range of aeration employed in this work, similar level of turbulent intensity was resulted. On the other hand, the bottom section in the airlift with different A_d/A_r might be exposed to noticeable levels of turbulence inten-

sities. This therefore resulted in a distinguishable bubble sizes as observed in Fig. 4.

3.4. Effect of salinity on average bubble size

Fig. 5(a–b) displays the relationship between bubble sizes in the ALC operated with saline water at different salinity levels. This figure illustrates that, at low range of u_{sg} (<0.02 m/s), the effect of salinity on bubble size was not obvious and bubble sizes were in the range of 6.0–7.5 mm in all ALC systems. At higher u_{sg} , the effect of salinity on bubble size became more apparent where the bubble size appeared to be smaller in the saline solution than that in fresh water. This was in contrast with the fact that saline solution possesses stronger surface tension and viscosity than water and the bubble size in such solution should be larger than that in water. However, in this case, the effect of electrolyte on viscosity (Marangoni effect) was reported not to be adequate to regulate the bubble size [21,22], and therefore the effects of salinity on bubble size were mainly due to its ionic properties. This finding was in good agreement with several past reports which stated that electrolyte solutions inhibited bubble coalescence and retarded bubble riser velocity which then reduced the bubble size [20,22–26]. It should be noted that types and concentration

of electrolytes can impose different effects on bubble coalescence, for instance, Lessard and Zieminski [20] ordered the coalescence efficiency in various electrolytes as follows: $\text{MgSO}_4 < \text{MgCl}_2 < \text{CaCl}_2 < \text{Na}_2\text{SO}_4 < \text{LiCl} < \text{NaCl} < \text{NaBr} < \text{KCl}$.

Fundamentally, there are two types of forces or pressures dealing with the coalescence or breakup of the bubbles. The first one is the Laplace pressure which promotes bubble coalescence caused by the drainage of the liquid film located in between the two adjacent bubbles. This pressure depends on the reciprocal of the bubble diameter. However, if the Laplace pressure is too strong, bubbles coalesce very rapidly and this reduces the stability of the bubbles. Therefore, at this condition, bubble breakage dominates in the system. The other type of force is repulsive force. Electrolytes such as salt increased the repulsive hydration force by enhancing water structure due to hydrogen bond at the interface leading to a more stable bubble than that in the fresh water system. This formation of repulsive force balances the Laplace pressure, inhibiting bubble coalescence. The two forces can be written in a mathematical form as follows [27]:

$$\Delta P = \frac{\sigma}{r_p} - \Pi \quad (6)$$

when σ is surface tension, r_p is radius of intersection of three films called the Plateau border channel and the ratio between the surface tension and radius of intersection or (σ/r_p) is equal to Laplace pressure. Π is the repulsive pressure or disjoining pressure which is the summation of various forces between ions interaction at the gas and liquid interface according to Eq. (7).

$$\Pi = \Pi_{\text{vdw}} + \Pi_{\text{DL}} + \Pi_{\text{hyd}} \quad (7)$$

where Π_{vdw} is attractive van der Waals force, Π_{DL} is the dielectric double layer force or repulsive force and Π_{hyd} is short-range repulsive or hydration force. An attractive van der Waals force (Π_{vdw}) is a weak attraction force and caused from the polarization of molecules into dipoles, and can be expressed mathematically as in Eq. (8). A dielectric double layer (Π_{DL}) is the repulsive force caused from confinement of the ion charge at gas–liquid interface. A hydration forces was short-range repulsive force (Π_{hyd}) resulting from the formation of the water molecules near charged surfaces as in Eq. (9),

$$\Pi_{\text{vdw}} = \frac{-A}{6\pi h^3} \quad (8)$$

$$\Pi_{\text{hyd}} = \left(\frac{W}{\lambda}\right) \exp(-h/\lambda) \quad (9)$$

where A is the Hamaker constant which is equal to 10^{-20} J, h the film rupture thickness, λ the decay length of the hydration interaction, mostly takes the value of about 8.5 nm, and W the pre-exponential constant ≈ 6 mN/m² [27]. The film rupture thickness or h was reported to be a function of salinity by Cain and Lee [28] which were equal to 114.7, 106.8, 98.8, and 90.9 for the water with salinity levels of 0, 15, 30, and 45 ppt, respectively. In the same work [28], it was reported that the dielectric double layer force (Π_{DL}) was negligible compared with the hydration force and should be omitted from the calculation. Moreover, van der Waals attraction was generally reported to be relatively

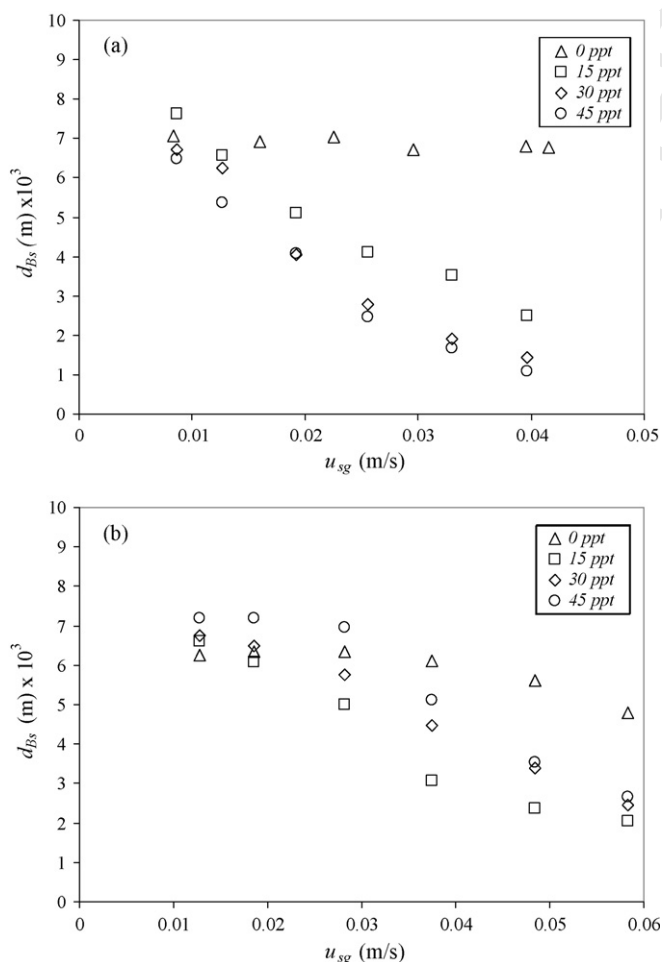


Fig. 5. Bubble sizes in ALC: (a) $A_d/A_r = 0.067$ and (b) $A_d/A_r = 0.661$.

Table 5
Estimates of disjoining pressures (Π) at different salinity levels

Salinity (ppt)	h^a (nm)	van der Waals attraction (N/m ²)	Electrostatic repulsion (N/m ²)	Hydration repulsion (N/m ²)	Total pressure (Π) (N/m ²)
0	114.7	−0.35	0	0.97	0.62
15	106.8	−0.44	0	2.47	2.03
30	98.8	−0.55	0	6.29	5.74
45	90.9	−0.71	0	16.01	15.30

^a [28].

small and was also negligible compared with the hydration force [21,22]. Therefore, Eq. (6) is reduced to

$$\Delta P = \frac{\sigma}{r_p} - \Pi_{\text{hyd}} \quad (10)$$

The pressure difference, ΔP , in Eq. (10) was important in controlling the level of bubble coalescence or bubble breakage in the system. ΔP is low for the condition with inhibiting bubble coalescence, and high for the bubble coalescence promoting conditions. Nevertheless, as mentioned above, a much higher ΔP would result in a breakup of bubbles [29]. A summary of these forces acting on the bubbles in the airlift systems is given in Table 5.

Let us define the parameter ΔP_C which is the level of ΔP below which the inhibition of bubble coalescence occurred, and above which bubble breakage prevailed. Therefore, the bubble had its greatest size at ΔP_C . Fig. 6 shows the summary of the various forces acting in the various saline solutions. As stated earlier, the bubble size in the water system was the largest and under this condition, ΔP in water was approx. 20 N/m² for the whole range of u_{sg} employed in this work as detailed in Table 6. This was due to the absence of repulsive force to balance the Laplace pressure. With the presence of salinity, the repulsive force became stronger. However, this repulsive force was not strong enough to bring ΔP down. In contrast, the Laplace pressure in the presence of salinity seemed to be quite large which could be the result from the increasing surface tension. This resulted in ΔP having a value greater than 20 N/m². Therefore, bubbles tended to break in such condition.

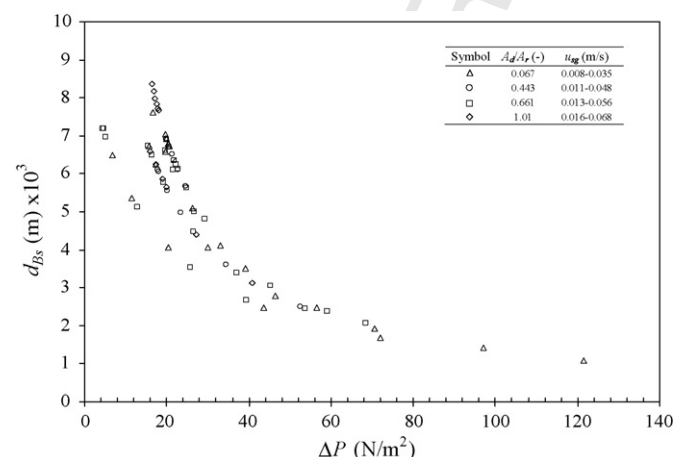


Fig. 6. Relationship between bubble size and ΔP .

In the airlift with A_d/A_r of 0.067 running with 45 ppt salinity, ΔP was about 43–121 N/m² at $u_{\text{sg}} > 0.02$ m/s and therefore bubble breakup was expected. The bubble size in this case was quite small, at 0.001–0.002 m (see Fig. 5(a)). Fig. 5(b) illustrates that when the A_d/A_r was altered (from 0.067 to 0.661), the condition in the system changed, and despite using the same level of u_{sg} , the system running with 45 ppt salinity had ΔP of 5–25 N/m² which prevented bubble breakup, therefore accommodating larger bubbles (0.005–0.006 m) than those in the airlift with lower A_d/A_r .

Fig. 6 illustrates the relationship between pressure driving forces and the average bubble size in all airlift systems employed in this work. It seemed that ΔP that gave the largest bubble size (ΔP_C) was in the range from 15 to 20 N/m².

3.5. Effect of superficial velocity

Fig. 5(a–b) demonstrates that Sauter mean diameter of the bubbles decreased with superficial gas velocity at all salinity levels. This finding agreed well with the reported data in the air-

Table 6
Estimates of pressure driving forces for average bubble size in different salinity levels in ALC with $A_d/A_r = 0.067$

Salinity (ppt)	u_{sg} (m/s)	ΔP (N/m ²)	d_{Bs} (m) $\times 10^3$
0	0.008	19.61	7.05
	0.012	19.97	6.94
	0.018	19.62	7.05
	0.022	20.62	6.72
	0.030	20.36	6.81
	0.035	20.45	6.78
15	0.008	16.69	7.63
	0.012	19.76	6.58
	0.018	26.24	5.09
	0.022	33.10	4.11
	0.030	39.15	3.51
	0.035	56.48	2.48
30	0.008	15.61	6.73
	0.012	17.29	6.25
	0.018	30.00	4.06
	0.022	46.38	2.80
	0.030	70.66	1.92
	0.035	97.02	1.43
45	0.008	6.79	6.48
	0.012	11.54	5.37
	0.018	20.30	4.07
	0.022	43.73	2.47
	0.030	71.90	1.68
	0.035	121.4	1.08

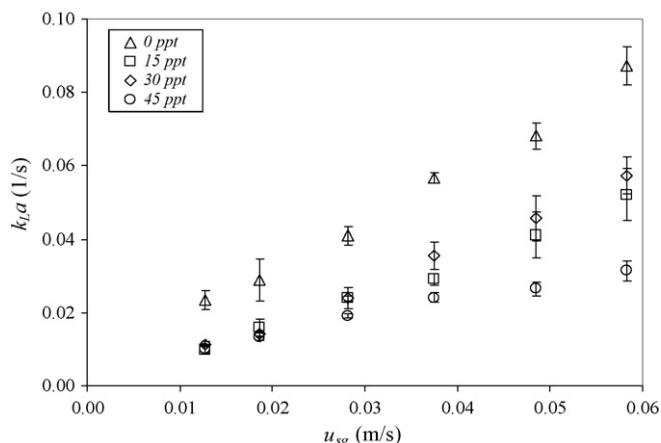


Fig. 7. Overall volumetric mass transfer coefficient (ALC with $A_d/A_r = 0.661$).

lift systems operated with various types of liquid [2–4,30]. The bubble sizes were regulated by the level of pressure difference in the airlift system as described earlier. At low range of gas flow rate (<0.02 m/s) as shown in Fig. 5(a), the pressure difference was in the range of 15–20 N/m², and this enhanced bubble size. At a higher range of superficial gas velocity (>0.02 m/s), ΔP was higher than 20 N/m² which promoted the breakup of the bubbles. In addition, at this high gas throughput conditions, the airlift contained a relatively high gas holdup which also enhanced the chance of bubbles collision and breaking up.

3.6. Overall volumetric mass transfer coefficient (k_La) in the airlift systems operating with sea water

The overall volumetric mass transfer coefficient (k_La) was calculated from Eq. (5). The change in k_La with u_{sg} and salinity level is illustrated in Fig. 7 which shows that k_La increased with superficial gas velocity but decreased with an increase in salinity. Salinity seemed to have adverse effects on k_La and the system with fresh water always imposed a higher k_La than those running with sea water. In addition, the effect of salinity on k_La was quite complicated. At low range of u_{sg} (<0.03 m/s), the effect of salinity did not seem to be significant, however, the effect became more pronounced at high aeration rate ($u_{sg} > 0.03$ m/s) and k_La was the highest at 30 ppt followed by those at 15 and 45 ppt, respectively.

This k_La quantity composed two main parameters, i.e. “ k_L ” or overall mass transfer coefficient, and “ a ” or specific interfacial area. Generally k_L was reported to be a function of turbulence, liquid properties and bubble size. The specific interfacial area (a) can be estimated using Eq. (11):

$$a = \frac{6\varepsilon_g}{d_{Bs}(1 - \varepsilon_g)} \quad (11)$$

where $\varepsilon_{g,r}$ is the riser gas holdup and d_{Bs} Sauter mean diameter which is defined as:

$$d_{Bs} = \frac{\sum n_i d_{B,i}^3}{\sum n_i d_{B,i}^2} \quad (12)$$

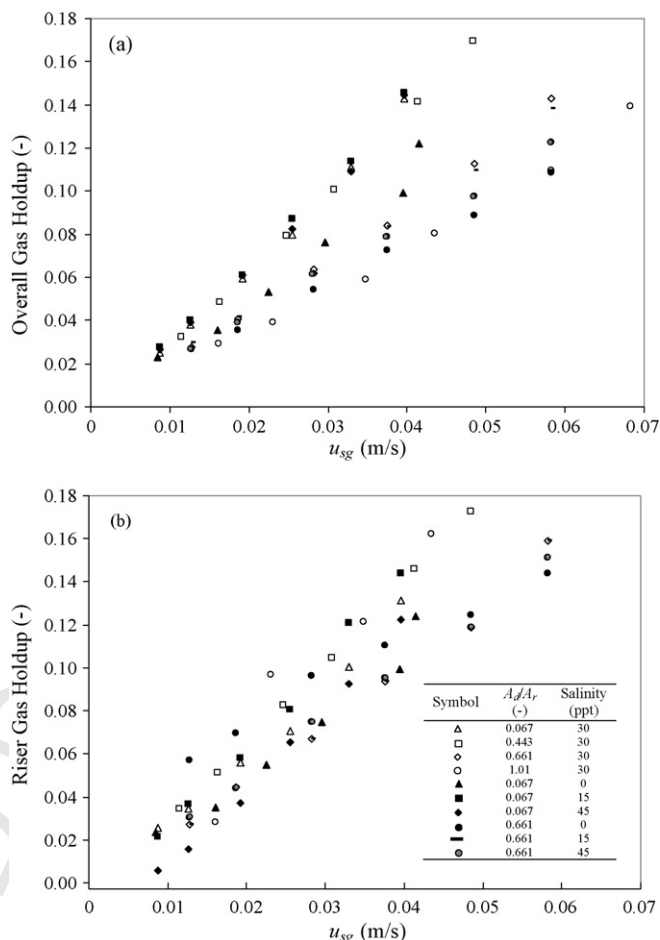
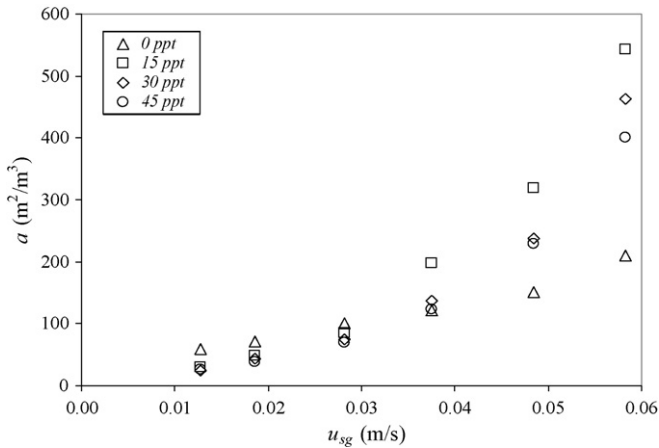
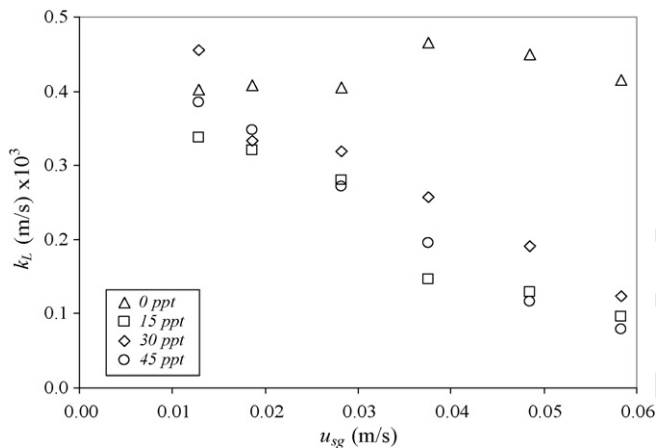


Fig. 8. Effects of superficial gas velocity, u_{sg} , on gas holdups.

where n_i is the occurrence frequency number of the sphere bubbles diameter, $d_{B,i}$. The two parameters significant for the determination of the specific mass transfer area were average bubble size (Fig. 5(b)) and gas holdup. Fig. 8 illustrates that the effect of salinity on gas holdups in the system was only marginal and the specific area should only vary with bubble size. As discussed earlier, the bubble size in sea water was smaller than that in fresh water and became smaller with an increase in superficial gas velocity. Therefore, the specific interfacial areas obtained in the systems at all salinity levels were higher than that in the fresh water system.

It was primarily assumed that the gas holdup was uniform throughout, both in axial and radial directions. The estimates of specific interfacial area (a) in the airlift system with $A_d/A_r = 0.661$ at various salinities is displayed in Fig. 9. This finding revealed that effect of salinity on specific area was only marginal at low range of superficial gas velocity ($u_{sg} < 0.028$ m/s), and became more significant at higher u_{sg} . The largest gas–liquid surface area was obtained from the airlift operating with saline water at 15 ppt, followed by those at 30 and 45 ppt. This corresponded well with the information on the effect of salinity on bubble size in Fig. 5(b).

Now that the information on k_La and a became known, the overall mass transfer coefficient or k_L could simply be calculated

Fig. 9. Specific interfacial area in ALC ($A_d/A_r = 0.661$).Fig. 10. Effects of superficial gas velocity, u_{sg} , on overall specific mass transfer coefficient, k_L , in ALC ($A_d/A_r = 0.661$).

by dividing $k_L a$ with a and the results are given in Fig. 10. The results revealed that k_L only became significantly different at high u_{sg} . The pure water system provides the highest level of k_L . Among the saline solutions, k_L was highest in the system with salinity of 30 ppt, followed by that with 45 ppt and 15 ppt, respectively. The reason for this variation still could not be retrieved from this experiment. However, it was observed that the trend in $k_L a$ followed that of k_L quite closely, i.e. the highest was in pure water system, followed by those in saline concentrations of 30, 45 and 15 ppt, respectively.

rates in riser and downcomer section as follows:

$$(k_L a)_T = \frac{(k_L a)_r V_{L,r} + (k_L a)_d V_{L,d}}{V_{L,T}} \quad (13)$$

where $V_{L,r}$ is the volume of liquid in riser, $V_{L,d}$ the volume of liquid in downcomer and $V_{L,T}$ the volume of total liquid. $(k_L a)_r$ and $(k_L a)_d$ were then obtained from multiplied $k_{L,r}$ by $a_{L,r}$ and $k_{L,d}$ by $a_{L,d}$.

As a was obtained from the measurement, the estimate of $k_L a$ requires only the estimation of k_L . As mentioned above, the mass transfer coefficient, k_L was reported as a function of liquid properties and bubble size. It was assumed that Schmidt number remained constant as salinity did not significantly alter the properties of the liquid [15,31–33], and hence, the dimensionless relationship between Sherwood number (Sh), Reynold number (Re), Schmidt number (Sc) and Grashof number (Gr) could be formulated as follows:

$$Sh = a + bGr^c Sc^d + eRe^f Sc^h \quad (14)$$

forced convection
↓
↑
free convection

Generally, Grashof number, Gr , represents the mass transfer by natural convection or free rise velocity whilst Reynolds number, Re , is the mass transfer form forced convection:

$$Gr = \frac{d_{Bs}^3 \rho_l \Delta \rho g}{\mu_l^2} \quad (15)$$

$$Re = \frac{d_{Bs} v_s \rho_l}{\mu_l} \quad (16)$$

The velocity and bubble diameter used in the calculation of Reynolds number were the slip velocity, v_s , and Sauter mean diameter, d_{Bs} . The slip velocity in riser, $v_{s,r}$ was calculated as a function of the terminal rise velocity of a single bubble, u_∞ , which were related to hindering effects from neighboring bubbles in the riser section. Information on bubble sizes was then employed to estimate the slip velocity of the gas bubbles in the system using the following equation [34,35]:

$$v_{s,r} = \frac{u_\infty}{(1 - \varepsilon_{g,r})} \quad (17)$$

where u_∞ is the terminal bubble riser velocity which can be calculated using the correlation proposed by Jamialahmadi et al. [36].

$$u_\infty = \frac{(1/8)((\rho_l - \rho_g)/\mu_l)gd_{Bs}^2((3\mu_l + 3\mu_g)/(2\mu_l + 3\mu_g))\sqrt{2\sigma/d_{Bs}(\rho_l + \rho_g) + gd_{Bs}/2}}{\sqrt{[(1/8)((\rho_l - \rho_g)/\mu_l)gd_{Bs}^2((3\mu_l + 3\mu_g)/(2\mu_l + 3\mu_g))]^2 + 2\sigma/d_{Bs}(\rho_l + \rho_g) + gd_{Bs}/2}} \quad (18)$$

3.7. Estimate of $k_L a$

The mass transfer rate for the entire contactor was proposed in the terms of the overall volumetric mass transfer coefficient $(k_L a)_T$ and could be calculated from sum of the mass transfer

The parameters a – h in Eq. (14) was then determined from experiments.

Eq. (14) must be used to predict $k_{L,r}$ and $k_{L,d}$, and in doing so, the slip velocities or terminal rise velocities in both riser and downcomer must be known (from Eqs. (17) and (18)) for the calculation of Reynolds number. As the photographic technique

Table 7

Parameter estimates for correlation in Eq. (14) $Sh = a + bGr^c Sc^d + eRe^f Sc^h$

Salinity (ppt)	Parameter							R^2
	a	b	c	d	e	f	h	
0	0.41	1.05	0.48	0	0	0	0	0.91
15–45	0.41	1.04	0.16	0.3	0.13	0.46	0.06	0.81
0 [4]	0.5	1.07	0.47	0	0	0	0	0.92

could only be used to measure the bubble size in riser, bubble size in downcomer was not known and the determination of slip velocity in downcomer was not possible. However, the average bubble size in downcomer ($d_{B,d}$) could be estimated from the downcomer liquid velocity, $u_{L,d}$, by assuming that the liquid must have velocity equaled to the terminal velocity to be able to drag the bubble down into the downcomer, or

$$v_{s,d} = u_{L,d} \quad (19)$$

Once the terminal velocity was known, the Levich equation [37] as shown in Eq. (19) was proposed for the calculation of bubble size:

$$d_{B,d} = \frac{1.8}{g} \left(\frac{u_{L,d}}{2} \right)^2 \quad (20)$$

Assume that there was no variation of bubble size along the radial and axial directions in downcomer:

$$d_{B,s,d} = d_{B,d} \quad (21)$$

The $a_{L,d}$ was calculated from substitution of $d_{B,s,d}$ from Eq. (21) and $\varepsilon_{g,d}$ from the experiment to Eq. (4).

The parameters a – h in Eq. (14) were evaluated using non-linear parameter fittings using all the results available in this work, and the results are given in Table 7 (noted that these parameters were obtained from the solver function in the MS Excel 97 where the objective was a minimal error between experimental and simulation data). For the case of tap water, the results from parameter fitting were reasonably close to those proposed from Wongsuchoto et al. [4] (as shown in the last row of Table 7). The

fittings for the saline water gave somewhat different results from that for pure water in that the terms Reynolds number was not involved in the pure water system, but it was, to certain extent, for the saline water systems. This meant that the mechanism controlling the mass transfer coefficient in pure water was only the natural convection whereas the force convection as represented by the Reynolds term also was significant in the system operated with saline water. Fig. 11 illustrates the comparison between the calculated and experimental $k_L a$ of the airlift contactor operated with various saline solutions.

4. Conclusion

This work continued our previous work on the bubble size distribution in the airlift systems. The distribution of bubble size in saline solution which was often used in cell cultivation was provided. Mechanisms for the bubble breakup/coalescence were proposed. The relationship between bubble size, liquid properties and the gas–liquid mass transfer behavior was investigated where the correlation for the estimate of the overall volumetric mass transfer coefficient was proposed with reasonable accuracy. This information will be useful in the future design of the airlift reactors for specific applications.

Acknowledgements

The authors wish to acknowledge the Thailand Research Fund and the Graduated Research Fund at Chulalongkorn University, THAILAND, for their financial supports.

References

- [1] M.Y. Chisti, Airlift Bioreactors, Elsevier Applied Science, London/New York, 1989.
- [2] D. Colella, D. Vinci, R. Bagatin, M. Masi, E.A. Bakr, A study on coalescence and breakage mechanisms in three different bubble columns, Chem. Eng. Sci. 54 (1999) 4767–4777.
- [3] M. Polli, M.D. Stanislaw, R. Bagatin, E.A. Bakr, M. Masi, Bubble size distribution in the sparger region of bubble columns, Chem. Eng. Sci. 57 (2002) 197–205.
- [4] P. Wongsuchoto, T. Charinpanitkul, P. Pavasant, Bubble size distribution and gas–liquid mass transfer in airlift contactors, Chem. Eng. J. 92 (2003) 81–90.
- [5] K. Kaewpintong, A. Shotipruk, S. Powtongsuk, P. Pavasant, Photoautotrophic high-density cultivation of *Haematococcus pluvialis* in airlift bioreactor, Bioresour. Technol. 98 (2007) 288–295.
- [6] S. Krichnavaruk, W. Loataweesup, S. Powtongsuk, P. Pavasant, Optimal growth conditions and the cultivation of *Chaetoceros calcitrans* in airlift photobioreactor, Chem. Eng. J. 10 (2005) 91–98.

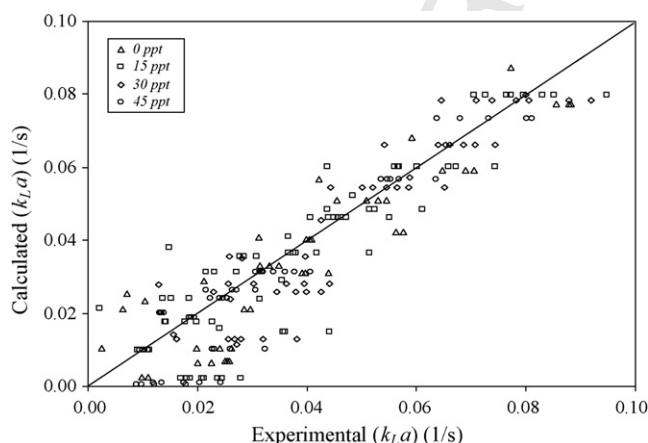


Fig. 11. Comparison of $k_L a$ from experiment and $k_L a$ estimated by Eq. (4.9) in ALC ($A_d/A_r = 0.067$ – 0.661).

- [7] S. Krichnavaruk, S. Powtongsook, P. Pavasant, Enhanced productivity of *Chaetoceros calcitrans* in airlift photobioreactors, *Bioresour. Technol.* 98 (2007) 2123–2130.
- [8] J. Bo, P. Lant, Flow regime, hydrodynamics, floc size distribution and sludge Properties in activated sludge bubble column, air-lift and aerated stirred reactors, *Chem. Eng. Sci.* 59 (2004) 2379–2388.
- [9] N. Kantarci, F. Borak, O.K. Ulgen, Bubble column reactors, review, *Process Biochem.* 40 (2005) 2263–2283.
- [10] M. Bouaifi, G. Hebrard, D. Bastoul, M. Roustan, A comparative study of gas holdup, bubble size, interfacial area and mass transfer coefficients in stirred gas–liquid reactors and bubble columns, *Chem. Eng. Proc.* 40 (2001) 97–111.
- [11] J.C. Merchuk, A. Contreras, F. Garcia, E. Molina, Studies of mixing in a concentric tube airlift bioreactor with different spargers, *Chem. Eng. Sci.* 53 (1998) 709–719.
- [12] L. Guo-Qing, Y. Shou-Zhi, C. Zhao-Ling, C. Jia-Yong, Mass transfer and gas–liquid circulation in an airlift bioreactor with viscous non-newtonian fluid, *Chem. Eng. J. The Biochem. Eng. J.* 56 (1995) B101–B107.
- [13] J.M.T. Vasconcelos, J.M.L. Rodrigues, S.C.P. Orvalho, S.S. Alves, S.R.L. Mende, A. Reis, Effect of contaminants on mass transfer coefficients in bubble column and airlift contactors, *Chem. Eng. Sci.* 58 (2003) 1431–1440.
- [14] W.A. Al-Masry, Effects of antifoam and scale-up on operation of bioreactors, *Chem. Eng. Processing* 38 (1999) 197–201.
- [15] P. Painmanakul, K. Loubère, G. Hebrard, M. Mietton-Peuchot, M. Roustan, Effect of surfactants on liquid-side mass transfer coefficients, *Chem. Eng. Sci.* 60 (2005) 6480–6491.
- [16] G. Hebrard, D. Bastoul, M. Roustan, Influence of the gas sparger on the hydrodynamic behavior of bubble columns, *Trans. Inst. Chem. Eng.* 74 (1996) 406–414.
- [17] A. Couvert, M. Roustan, P. Chatellier, Two-phase hydrodynamic study of a rectangular airlift loop reactor with an internal baffle, *Chem. Eng. Sci.* 54 (1999) 5245–5252.
- [18] M.Y. Chisti, M. Moo-Young, Hydrodynamics and oxygen mass transfer in a pneumatic bioreactor devices, *Biotechnol. Bioeng.* 31 (1988) 487–494.
- [19] K. Koide, H. Sato, S. Iwamoto, Gas holdup and volumetric liquid-phase mass transfer coefficient in bubble column with draught tube and with gas dispersion into annulus, *J. Chem. Eng. Jpn.* 16 (5) (1983) 407–413.
- [20] R.R. Lessard, A.S. Zieminski, Bubble coalescence and gas transfer in aqueous electrolytic solutions, *Ind. Eng. Chem. Fundam.* 10 (1971) 260–269.
- [21] G. Marrucci, A theory of coalescence, *Chem. Eng. Sci.* 24 (1969) 975–985.
- [22] M.J. Prince, H.W. Blanch, Transition electrolyte concentrations for bubble coalescence, *AIChE J.* 36 (1990) 1425–1429.
- [23] G. Marrucci, L. Nicodemo, Coalescence of gas bubbles in aqueous solution of inorganic electrolytes, *Chem. Eng. Sci.* 22 (1967) 1257–1265.
- [24] M.J. Prince, H.W. Blanch, Bubble coalescence and breakup in air-sparged bubble column, *AIChE J.* 36 (1990) 1485–1499.
- [25] P.K. Weissenborn, R.J. Pugh, Surface tension of aqueous solutions of electrolytes: relationship with ion hydration, oxygen solubility, and bubble coalescence, *J. Colloid Interface Sci.* 184 (1996) 550–563.
- [26] K. Malysa, M. Krasowska, M. Krzan, Influence of surface active substances on bubble motion and collision with various interfaces, *Adv. Colloid Interface Sci.* 114–115 (2005) 205–225.
- [27] Y.H. Tsang, K. Young-Ho, L.K. Donald, Bubble-size dependence of the critical electrolyte concentration for inhibition of coalescence, *J. Colloid Interface Sci.* 275 (2004) 290–297.
- [28] W.F. Cain, C.J. Lee, A technique for studying the drainage and rupture of unstable liquid films formed between two captive bubbles, *J. Colloid Interface Sci.* 106 (1985) 70–85.
- [29] S. Hartland, *Surface and Interface Tension: Measurement, Theory, and Applications* Basel, Marcel Dekker, New York, 2004.
- [30] A. Contreras, F. Garcia, E. Molina, J.C. Merchuk, Influence of sparger on energy dissipation, shear rate, and mass transfer to sea water in a concentric-tube airlift bioreactor, *Enzyme Microb. Technol.* 25 (1999) 820–830.
- [31] R. Higbie, Rate of absorption of a pure gas into a still liquid during short period of exposure, *Trans. Am. Inst. Chem. Eng.* 31 (1935) 365–389.
- [32] P.H. Calderbank, Mass transfer in fermentation equipment, in: N. Blakebrough (Ed.), *Biochemical and Biological Engineering Science*, vol. 2, Academic Press, New York, 1967.
- [33] J.E. Bailey, D.F. Ollis, *Biochemical Engineering Fundamentals*, McGraw-Hill, New York, 1977.
- [34] G. Marrucci, Rising velocity of a swarm of spherical bubbles, *Ind. Eng. Chem. Fundam.* 4 (1965) 224–225.
- [35] G.B. Wallis, *One Dimensional Two-Phase Flow*, McGraw-Hill, New York, 1969.
- [36] M. Jamialahmadi, C. Branch, Müller-Steinhagen, Terminal bubble rise velocity in liquid, *Trans. Inst. Chem. Eng. Part A* 72 (1994) 119–122.
- [37] V.G. Levich, *Physicochemical Hydrodynamics*, Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ, 1962.