



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การออกแบบสร้าง และทดสอบเครื่องเก็บสปอร์เชื้อราในระดับห้องปฏิบัติการ Design and Test of Laboratory Scale Fungal Spore Harvesting Machine

โดย นายประชา บุณยวานิชกุล

15 มีนาคม 2555

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การออกแบบสร้าง และทดสอบเครื่องเก็บสปอร์เชื้อราในระดับห้องปฏิบัติการ Design and Test of Laboratory Scale Fungal Spore Harvesting Machine

นายประชา บุณยวานิชกุล มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกอ. และสกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : MRG5280243

ชื่อโครงการ: การออกแบบสร้าง และทดสอบเครื่องเก็บสปอร์เชื้อราในระดับห้องปฏิบัติการ

ชื่อนักวิจัย: นายประชา บุณยวานิชกุล มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

E-mail Address: prachabu@swu.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : 2 ปี

เชื้อราก่อโรคในแมลงประเภท บิวเวอเรีย เมตาไรเซียม และเพสิโลไมเซส สร้างสปอร์ซึ่งสามารถ ใช้สำหรับสารกำจัดแมลงที่เป็นศัตรูพืชได้ อีกทั้งยังสามารถสลายตัวได้เองตามธรรมชาติโดยไม่ หลงเหลือตกค้างเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม อย่างไรก็ดีการใช้งานโดยใช้สารทำละลายสปอร์นั้นเป็น กระบวนการผลิตที่สิ้นเปลืองเวลา ให้อัตราการผลิตต่ำ และไม่สะดวกในการใช้งาน ดังนั้นการ ออกแบบสร้าง และประกอบเครื่องเก็บสปอร์เชื้อราในรูปผงแห้งจึงเป็นวิธีการที่เหมาะสม และ เป็นวัตถุประสงค์ของโครงการวิจัยนี้ โดยเครื่องเก็บสปอร์ตันแบบที่สร้างขึ้นประกอบไปด้วยหอ แยก และไซโคลน ซึ่งทำหน้าที่แยก และเก็บผงสปอร์เชื้อรา ผลการทดสอบเครื่องต้นแบบเพื่อหา สมรรถนะการทำงาน และประสิทธิภาพการแยกคืนสปอร์ด้วยเชื้อราบิวเวอเรีย และเมตาไรเซียม ที่ระดับความเร็วลมในการคัดแยกต่างๆ 3 ระดับพบว่าเมื่อความเร็วลมเพิ่มขึ้นเครื่องต้นแบบมี สมรรถนะเพิ่มขึ้น สังเกตได้จากการทำงานของเครื่องทำงานที่รวดเร็วขึ้นและระยะเวลาในการคัดแยกที่สั้นลง ในส่วนของประสิทธิภาพการแยกคืนนั้นสำหรับเชื้อราเมตาไรเซียมนั้นความเร็วลมที่เพิ่มขึ้นตีอว่าไม่เป็นปัจจัยที่ทรงอิทธิพลต่อประสิทธิภาพการแยกคืน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก ความแตกต่างของลักษณะการกระจายขนาดของสปอร์เชื้อราทั้งสองประเภท แต่อย่างไรก็ดีผง สปอร์ที่แยกได้นั้นถือว่ามีประสิทธิภาพพอเพียงสำหรับใช้เป็นสารกำจัดแมลงศัตรูพีช

คำหลัก: บิวเวอเรีย เมตาไรเซียม เชื้อราก่อโรคในแมลง เครื่องเก็บสปอร์เชื้อรา

Abstract

Project Code: MRG5280243

Project Title: Design and Test of Laboratory Scale Fungal Spore Harvesting Machine

Investigator: Pracha Bunyawanichakul Srinakharinwirot University

E-mail Address: prachabu@swu.ac.th

Project Period: 2 years

Insect pathogenic fungi (Beauveria, Metarhizium and Paecilomyces) produce spores, which are an insecticide and can be naturally degraded. There are many of difficulties associate with conventional production process (solution substrate) of these kind of insecticide such as time consuming, low production rate, inconvenient of use. Therefore, the fungal harvesting machine was designed and fabricated to collect powdery fungal spore in this research project. A prototype of fungal spore harvesting machine consists of vortex tower and cyclone separator which were used to separate and collect the fungal spore, respectively. Experimental investigation of working performance and recovery percentage of Beauveria and Metarhizium was examined at different inlet air velocity. Experimental results show that separation period and separated powder decrease when inlet air velocity increase for both fungi. Beauveria spore recovery percentage increase with inlet air velocity, while Metarhizium spore not clearly show the recovery percentage trend. This may due to the different of their spore diameter distribution pattern that may influence the aerodynamic characteristic during the separation process. However, the recovery spore was considered to be enough for used as insecticide.

Keywords: Beauveria, Metarhizium, Insect Pathogenic Fungi, Spore Harvesting

Machine

ค

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ที่สนับสนุนโครงการวิจัยนี้ผ่านสัญญารับทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นให**ย** ประจำปี 2552 เลขที่ MRG5280243 และขอขอบคุณ ศ.ดร.ปราโมทย์ เดชะอำไพ นักวิจัยที่ปรึกษาที่ได้ให้คำปรึกษา ความรู้ แนะนำแง่คิด อีกทั้งสิ่งที่เป็นประโยชน์อื่นๆ จนทำให้โครงการสำเร็จลุล่วงเป็นอย่างดี

ขอขอบคุณ คณะนักวิจัย หน่วยวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพ แห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ในความอนุเคราะห์ตัวอย่างเชื้อรา และ ทดสอบการใช้งานของเครื่องแยกสปอร์เชื้อรา

ประชา บุณยวานิชกุล มีนาคม 2555

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	บ
Abstract	ନ
สารบัญ	J
บทนำ	1
บทที่ 1 การศึกษาคุณลักษณะและสมบัติทางกายภาพของราแมลง	2
1.1 คุณลักษณะและการเจิรญเติบโตของราแมลงในห้องปฏิบัติการ	2
1.2 คุณลักษณะทางกายภาพของราแมลง	4
บทที่ 2 การออกแบบ	9
2.1 รูปแบบและหลักการทำงานของเครื่อง	9
2.2 การกำหนดขนาดหอแยก และไซโคลน	10
2.3 การจำลองการใหลในหอแยกสปอร์เชื้อรา	14
2.4 การกำหนดขนาดพัดลม	18
บทที่ 3 การทดสอบประสิทธิภาพ	19
3.1 อุปกรณ์และวิธีการ	19
3.2 ผลการทดสอบ	21
บทที่ 4 สรุป และข้อเสนอแนะ	23
เอกสารอ้างอิง	24
แบบ Drawing เครื่องตันแบบ	25
Output งานวิจัย	35
ภาคผนวก Manuscript ของบทความสำหรับเผยแพร่	36

บทน้ำ

การดำเนินการสร้างเครื่องเก็บสปอร์เชื้อราในระดับห้องปฏิบัติการได้ดำเนินการ โดยในขั้น แรกได้ทำการศึกษาข้อมูลทางกายภาพของเชื้อราประเภท Beauvaria, Metarizium และ Paecilomyces ที่เป็นราแมลงสายพันธ์ที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าแมลงศัตรูพืช ในเรื่องระยะเวลาที่ ใช้เพาะเชื้อที่เหมาะสมในระดับห้องทดลอง คุณสมบัติทางกายภาพที่สำคัญต่างๆ อาทิเช่น ขนาด และน้ำหนักของสปอร์ ความหนาแน่นเชิงปริมาตรของก้อนเชื้อราและวัสดุเพาะ และความเร็วลม วิกฤติที่เหมาะสมในการแยกสปอร์

จากนั้นในขั้นต่อมาได้ทำการนำเอาคุณสมบัติทางกายภาพที่ได้ศึกษา มาทำการออกแบบ เครื่องเก็บสปอร์เชื้อรา โดยการกำหนดขนาดไซโคลน (Cyclone Separator) ที่เหมาะสมกับการ แยกสปอร์เชื้อราที่ระดับความเร็ววิกฤติจากการทดสอบในขั้นแรก แล้วจึงทำการจำลองการไหลของ อากาศเพื่อช่วยกำหนดสัดส่วนที่เหมาะสมสำหรับหอแยกสปอร์ (Vortx Tower) ทำให้ทราบถึงความ ดันลดในระบบและสามารถกำหนดขนาดของพัดลมที่เหมาะสมกับการใช้งานของเครื่อง จากนั้นจึง เขียนแบบเครื่องในส่วนของหอแยก และไซโคลนที่พร้อมนำไปสั่ง

หลักจากได้ดำเนินการสร้างหอแยก และไซโคลนแล้ว ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพ เบื้องต้นกับก้อนเชื้อรา Beauvaria และMetarizium ที่ระดับความเร็วลมต่างๆ และได้ทำการหา เปอร์เซนต์การแยกคืนเชื้อรา (Recovery Percentage) ด้วยการเปรียบเทียบความเข้มข้นของสปอร์ ในผงที่ได้จากการแยกและในก้อนวัสดุเพาะ ด้วยการนับจำนวนสปอร์ในสารละลายที่ได้จากการทำ ละลาย 1 กรัมของผงที่ได้จากการแยก และก้อนเชื้อรา พบว่าได้เปอร์เซนต์การแยกคืนอยู่ในระดับ ที่เข้มข้นพอสำหรับการใช้งาน

บทที่ 1 การศึกษาคุณลักษณะและสมบัติทางกายภาพของราแมลง

ในส่วนนี้จะเป็นการศึกษาคุณลักษณะการเจริญเติบโตของราแมลงประเภท Beauveria, Metarhizium และ Paecilomyces ซึ่งถูกเพาะเลี้ยงบนวัสดุเลี้ยงที่เตรียมจากข้าวสารที่หุงสุกเพื่อหา ระยะเวลาที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยว และทำการวัดคุณสมบัติทางกายภาพของก้อนวัสดุเพาะ และ สปอร์ของราแมลงที่จำเป็นสำหรับการออกแบบเครื่องแยกสปอร์เชื้อราต่อไป

1.1 คุณลักษณะและการเจิรญเติบโตของราแมลงในห้องปฏิบัติการ

สายพันธ์เชื้อราที่ใช้ในการทดลองนี้ได้รับการเพาะขยายพันธุ จากห้องปฏิบัติการการหมัก ของหน่วยปฏิบัติการกลาง ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนา วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ โดยสายพันธ์ที่คัดเลือกนี้ได้รับการทดสอบแล้วว่ามี ความสามารถในการเจริญเติบโตได้ดีในประเทศไทย และสามารถทำให้แมลงศัตรูพืชเป้าหมายตาย ในระยะเวลาที่รวดเร็ว โดยมีการเก็บเชื้อพันธุ์ไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์ของศูนย์ช

การดำเนินการโดยนักวิจัยของศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ในขั้น แรกเป็นการเตรียมสารละลายที่มีความเข้มข้นของสปอร์เชื้อพันธุสัดส่วน 1:100 ของสารละลายใน คลังเชื้อพันธุ์ แล้วนำไปปลูกลงบนวัสดุตัวกลางเพาะขยายที่เป็นอาหารวุ้นซึ่งบรรจุในถาดแก้ว แล้ว ปล่อยให้เจริญเติบโตในห้องบ่มที่ควบคุมอุณหภูมิ และความชื้น เป็นเวลา 3 วัน จนเจริญเติบโตดี แล้ว จึงทำการละลายด้วยน้ำสะอาดที่ผ่านการฆ่าเชื้อถาดละ 10 ml เพื่อให้ได้สารละลายของสปอร์ จากนั้นนำสารละลายที่ได้มากรองเพื่อขจัดสิ่งเจือปนก่อนนำไปคลุกเคล้าในวัสดุเพาะ

สารละลายที่ได้จากการละลายอาหารวุ้นจะถูกนำไปเพาะขยายต่อบนบนวัสดุเพาะที่เตรียม จากข้าวสารหุงสุกซึ่งถูกนึ่งฆ่าเชื้อมาก่อนที่ อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 20-30 นาที ข้าวสุกแบ่ง บรรจุในขวดแก้วรูปชมพู่ขนาด 500 ml โดยมีปริมาณการบรรจุขวดละประมาณ 100 g จะถูก คลุกเคล้ากับสารละลายและทำการปิดปากด้วยจุกสำลี และหุ้มอลูมิเนียมฟลอยด์ อีกครั้งก่อนถูก นำไปเก็บในห้องบ่มที่ควบคุมอุณหภูมิและความชื้น จนกระทั่งเชื้อราเจริญเติบโต และมีการสร้าง สปอร์

สำหรับเชื้อรา Beauveria และ Paecilomyces ที่เหมาะสมกับการเก็บเกี่ยวสปอร์เชื้อรานั้น จะมีการสร้างสปอร์เชื้อราเป็นผงสีขาวฟูยึดเกาะกันแน่นหนาบนผิวของข้าวดังแสดงในรูปที่ 1 (a) มี ระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตจนสร้างสปอร์เป็นเวลา 7 วัน ในขณะที่เชื้อรา Metarhizium จะมี การสร้างสปอร์ในลักษณะที่เป็นผงสีเขียวบนผิวของข้าวสุกดังแสดงในรูปที่ 1 (b) ในระยะเวลา 14 วัน



(a) Beauveria



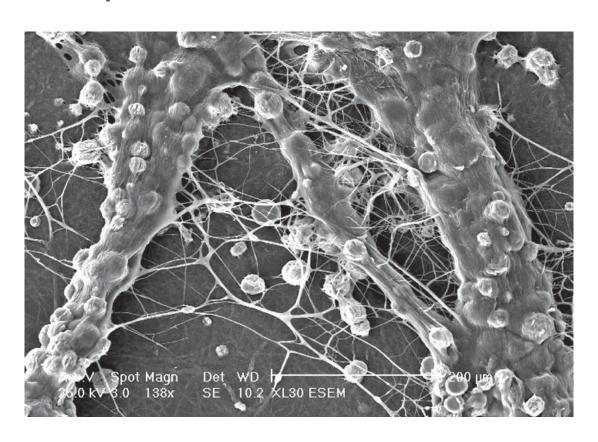
(b) Metarhizium

ร**ูปที่ 1** แสดงเชื้อราที่เพาะในขวดทดลอง (a) Beauveria (b) Metarhizium

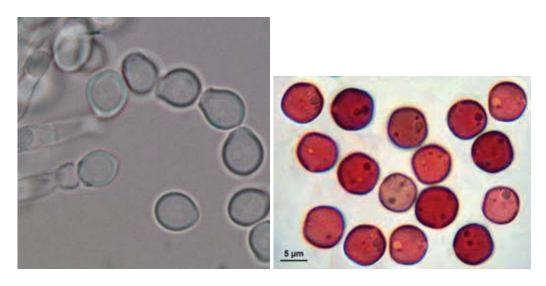
1.2 คุณสมบัติทางกายภาพของราแมลง

1.2.1 น้ำหนัก ขนาด และความเร็วลมวิกฤติของสปอร์เชื้อรา

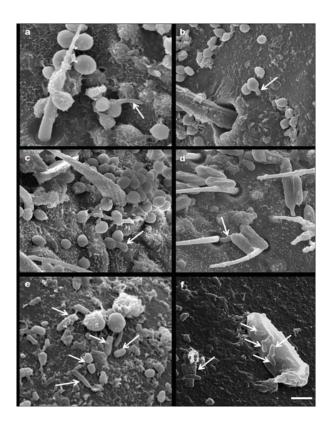
การศึกษาขนาดของสปอร์เชื้อรานั้นทำโดยการส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์อีเล็กตรอน โดยต้อง มีการเตรียมตัวอย่างด้วยกระบวนการเฉพาะเพื่อคงรูปร่าง และลักษณะของสปอร์เชื้อราให้ได้มาก ที่สุด โดยกระบวนการเตรียมตัวอย่างจะต้องทำการแช่สปอร์ในสารละลายเพื่อคงรูป (Fixation) และ ทำการระเหยน้ำ (Dehydration) ออกก่อนนำไปส่องวัดขนาด และถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อี เล็กตรอน จากผลที่ได้พบว่าสปอร์ของเชื้อรา Beauveria, Metarhizium และ Paecilomyces มี รูปทรงใกล้เคียงกับทรงกลมโดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของสปอร์เชื้อราอยู่ระหว่าง 2.54 – 10.4 µm ดังแสดงในรูปที่ 2 (a) (b) และ (c)



(a) สปอร์ของเชื้อรา Beauveria มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2.45-3.58 µm



(b) สปอร์ของเชื้อรา Paecilomyces มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 4.5-10.4 μm



(c) สปอร์ของเชื้อรา Metarhizium มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3.33 - 9.26 μm รู**ปที่ 2** ขนาดเฉลี่ยของสปอร์เชื้อรา Beauveria, Metarhizium และ Paecilomyces

สำหรับน้ำหนักเฉลี่ยของสปอร์ได้จากการนับจำนวนสปอร์ ในสารละลายที่ได้จากการละลาย ก้อนเชื้อราตัวอย่างแล้วคำนวณเทียบกับน้ำหนัก เพื่อคำนวณออกมาเป็น Spore/g_{เชื้อรา} ดังสมการ (1)

ในที่นี้ Dilute = 10² และปริมาณของสารละลาย = 50 ml โดยการนับจำนวนสปอร์จะทำซ้ำ 2 ครั้งต่อสปอร์เชื้อราหนึ่งประเภท ความเร็วลมวิกฤติสำหรับสปอร์เชื้อราสามารถคำนวณได้เมื่อ ทราบขนาด และน้ำหนักของสปอร์โดยอาศัยกฏของสโตรกส์ (Stoke's law) ที่แสดงความสัมพันธ์ ของ ความเร็ววิกฤติของวัตถุรูปทรงกลมที่ตกอย่างอิสระในกระแสอากาศด้วยสนามแรงโน้มถ่วงโลก ว่า

$$V_t = (gd^2)(\rho_s - \rho_f)/18\mu$$
 (2)

โดย V_t = terminal velocity of sphere (m/sec),

g = acceleration of gravity (m/sec2),

d = "equivalent" diameter of particle (m),

 $\rho_s \ \rho_f$ = density of particle and air (kg /m³),

 μ = viscosity of air (kg /sec m).

ผลลัพธ์จากการคำนวณด้วยสมการ (2.1) และ (2.2) ทำให้ทราบค่าพารามิเตอร์ที่สำคัญ สำหรับการออกแบบเครื่องคัดแยกสปอร์เชื้อราออกจากวัสดุเพาะ คือค่าของความหนาแน่นจริงของ สปอร์เชื้อรา และค่าความเร็วลมวิกฤติ ซึ่งแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ขนาด น้ำหนัก ความหนาแน่น และความเร็วลมวิกฤติของสปอร์เชื้อราทั้งสามประเภท

เชื้อรา	ขนาด	น้ำหนัก	ความหนาแน่น	ความเร็วลม
	(µm)	(g)	(kg/m ³)	วิกฤติ
				(m/s)
Beauveria	2.45-3.85	6.66 x 10 ⁻¹⁰	22,309 – 86,492	0.0118 - 0.0187
Paecilomyces	4.5-10.4	3 x 10 ⁻⁹	3,879 - 83,440	0.0334 - 0.127
Metarhizium	3.33-9.26	1.613 x 10 ⁻⁹	5,093 - 62,866	0.0199 - 0.0459

1.2.2 ความหนาแน่นเชิงปริมาตรและความเร็วลมวิกฤติของก้อนเชื้อรา

นอกเหนือจากคุณสมบัติทางกายภาพของสปอร์เชื้อรา ซึ่งถือว่าเป็นพารามิเตอร์ที่สำคัญต่อ การออกแบบเครื่องแยกสปอร์เชื้อราแล้วยังมีคุณสมบัติทางกายภาพของก้อนเชื้อรา เช่น ค่าความ หนาแน่นเชิงปริมาตร และ ความเร็วลมวิกฤติ ซึ่งเป็นพารามิเตอร์ที่สำคัญเช่นกันสำหรับการออก แบบเครื่องแยกสปอร์เชื้อรา

ความหนาแน่นเชิงปริมาตรของก้อนวัสดุเพาะหาได้ โดยการทดลองบรรจุก้อนเชื้อราลงไป ในบีกเกอร์ขนาด 40 ml แล้วทำการชั่งน้ำหนักของก้อนวัสดุเพาะที่บรรจุลงไป ผลการทดลอง กับเชื้อรา Beauveria Metarhizium และ Paecilomyces ได้ผลดังตารางที่ 2 โดยน้ำหนักของก้อน เชื้อราเป็นค่าเฉลี่ย จากการทดสอบบรรจุ 3 ครั้ง

ตารางที่ 2 ค่าความหนาแน่นเชิงปริมาตรของก้อนเชื้อรา

เชื้อรา	ปริมาตรบรรจุ	น้ำหนัก	ความหนาแน่นเชิงปริมาตร
	(ml)	(kg)	(kg/m ³)
Beauveria	40	0.0133	333.33
Metarhizium	40	0.0146	366.67
Paecilomyces	40	0.0143	358.33

ในการออกแบบเครื่องแยกสปอร์เชื้อราให้มีประสิทธิภาพการทำงานที่ดี จะต้องมีความเร็ว ลมที่เหมาะสม ที่มากกว่าความเร็วลมวิกฤติของสปอร์เชื้อรา แต่น้อยกว่าความเร็วลมวิกฤติของก้อน เชื้อรา เพื่อทำให้สปอร์ลอยไปกับอากาศเพียงอย่างเดียวโดยไม่ทำให้ก้อนเชื้อราลอยไปกับอากาศ

ดังนั้นจึงจำเป็นต้องทดสอบหาความเร็วลมวิกฤติของก้อนเชื้อราก่อน โดยทดสอบใช้ลมดูด ก้อนเชื้อราที่อยู่ในท่อใสแล้วใช้แอนีโมมิเตอร์แบบใบพัดหมุนวัดความเร็วลมบริเวณช่องทางเข้า (ดัง แสดงในรูปที่ 3 และทำการปรับความเร็วลมขึ้นเรื่อยๆ จนกระทั่งก้อนเชื้อราเริ่มลอยได้ผลการ ทดสอบดังแสดงในตารางที่ 3 จากการทดสอบในท่อลมดูดด้วยความเร็วลมต่างๆ สำหรับก้อนเชื้อรา Beauveria, Metarhizium และ Paecilomyces พบว่าค่าความเร็วลมวิกฤติสำหรับก้อนเชื้อราทั้งสาม ชนิดมีค่าใกล้เคียงกัน คือประมาณที่ 5.6 m/s

ตารางที่ 3 แสดงผลการทดสอบความเร็วลมวิกฤตของเชื้อรา

ครั้งที่	ความเร็วลม (m/s)	ลักษณะของก้อนเชื้อราและผงสปอร์
	(111/5)	•
1	3.9	ก้อนเชื้อราไม่ลอยตัว ผงสปอร์ไม่ลอยหลุด
2	4.8	ก้อนเชื้อราไม่ลอยตัว ผงสปอร์ลอยหลุดบางส่วน
3	5.6	ก้อนเชื้อราลอยตัวไม่ติดตะแกรงด้านบน ผงสปอร์ลอยหลุดหมด
4	5.9	ก้อนเชื้อราลอยตัวติดตะแกรงบางส่วน ผงสปอร์ลอยหลุดหมด
5	6.6	ก้อนเชื้อราลอยตัวติดตะแกรงหมด ผงสปอร์ลอยหลุดหมด



รูปที่ 3 แสดงการวัดความเร็วลมวิกฤติของก้อนเชื้อรา

บทที่ 2 การออกแบบ

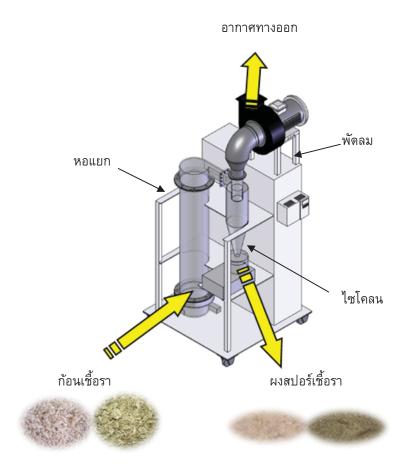
คุณสมบัติทางกายภาพที่ได้ศึกษาในส่วนที่ 1 ของรายงานนี้ถูกนำมาเป็นข้อมูลพื้นฐาน สำหรับการออกแบบเครื่องแยกสปอร์เชื้อราในระดับห้องปฏิบัติการ โดยเริ่มจากการคัดเลือกรูปแบบ และกลไกที่เหมาะสมสำหรับการทำงานแยกสปอร์เชื้อรา จากนั้นจึงทำการคำนวณ และกำหนด ขนาดของส่วนประกอบต่างๆ ของเครื่อง ซึ่งแสดงดังรายละเอียดในส่วนที่ 2 ของรายงานฉบับนี้

2.1 รูปแบบและหลักการทำงานของเครื่อง

เครื่องจัดเก็บสปอร์เชื้อราจะประกอบด้วยส่วนประกอบหลักคือ หอแยกที่อาศัยกระแส อากาศที่มีความเร็วลมในแนวดิ่งมากกว่าความเร็วลมวิกฤติของสปอร์แต่ต่ำกว่าความเร็วลมวิกฤติของก้อนเชื้อรา ไหลผ่านก้อนเชื้อราที่วางอยู่บนตะแกรงทำให้สปอร์ถูกกระแสลมที่มีความเร็วลม มากกว่าความเร็วลมวิกฤติพัดพาไป จากนั้นกระแสอากาศดังกล่าวจะถูกแยกสปอร์เชื้อราออกโดย อาศัยหลักการของแรงเหวี่ยงหนีศูนย์กลางในการแยกสปอร์ออกจากอากาศ โดยใช้ไซโคลนเพื่อ สร้างกระแสวนหนีศูนย์กลางเหวี่ยงอนุภาคไปยังผนัง กระแสวนจะพาอนุภาคสปอร์เคลื่อนตัวลงไป เรื่อย ๆ จนถึงปลายของไซโคลนจะตกลงไปในถังเก็บสปอร์ ในขณะที่อากาศที่ไม่มีสปอร์จะหมุนวน กลับขึ้นไปยังส่วนบนของไซโคลนออกไปที่ท่อทางออกซึ่งติดตั้งพัดลมเพื่อดูดอากาศออกจากระบบ หลักการทำงาน ลักษณะและส่วนประกอบต่าง ๆ ของเครื่องแยกสปอร์เชื้อราที่ได้ออกแบบนี้ แสดง ดังรูปที่ 4 โดยแบบของเครื่องโดยละเอียดแสดงดังแบบ Drawing เครื่องตันแบบ

อุปกรณ์ที่สำคัญในระบบแยกสปอร์จึงประกอบไปด้วยสองส่วนคือ หอแยกรูปทรงกระบอกที่ มีกระแสอากาศไหลเข้าในแนวสัมผัสสองช่องที่ตั้งฉากซึ่งกันและกันทางด้านล่างเพื่อทำให้เกิดการ หมุนวนของอากาศที่จะช่วยในการกระจายสปอร์บนพื้นผิวก้อนเชื้อรา และไซโคลนดักฝุ่น ซึ่ง โดยทั่วไปเราสามารถกำหนดขนาด และหาความดันสูญเสียที่เกิดของไซโคลนที่สภาวะที่เหมาะสม สำหรับการแยกฝุ่นได้จากการคำนวณทางทฤษฎี (มีรายละเอียดในหัวข้อ 2.2.2)

สำหรับการออกแบบหอแยก เนื่องจากรูปร่างและหลักการทำงานที่แตกต่างไปจากไซโคลน ในเบื้องต้นนี้จึงทำได้เพียงกำหนดขนาดจากการประมาณการสามารถในการทำงาน (มีรายละเอียด ในหัวข้อ 2.2.1) แต่ไม่สามารถคาดเดาค่าความดันสูญเสียที่เกิดได้ ดังนั้นจึงต้องอาศัยโปรแกรม คำนวณทางพลศาสตร์ของไหลเพื่อจำลองการไหลของอากาศที่เกิดในหอแยก และทำการประมาณ ค่าสัมประสิทธิ์ความดันสูญเสียที่เกิดขึ้นในหอแยก (มีรายละเอียดในหัวข้อ 2.3) ซึ่งค่าสัมประสิทธิ์ที่ ได้จากการคำนวณนี้จะนำไปประกอบการคำนวณสำหรับการเลือกพัดลมใช้งานในเครื่องแยกสปอร์ เชื้อรานี้ (มีรายละเอียดในหัวข้อ 2.4)



รูปที่ 4 แสดงหลักการทำงาน ลักษณะและ ส่วนประกอบของเครื่องแยกสปอร์เชื้อรา

2.2 การกำหนดขนาดหอแยก และไซโคลน

2.2.1 การกำหนดขนาดของหอแยก (Vortex Tower)

ข้อพิจารณาเบื้องต้นสำหรับการกำหนดขนาดของหอแยกนั้นจะพิจารณาจากความสามารถ ในการทำงานของเครื่องที่กำหนดไว้ในเบื้องต้นว่าต้องทำงานแยกสปอร์เชื้อราจากก้อนเชื้อราที่เพาะ ได้สูงสุด 1 kg ต่อครั้งของการทำงาน โดยกำหนดให้สัดส่วนของก้อนเชื้อราในหอแยกมีสัดส่วนไม่ เกินร้อยละ 10 ของปริมาตรหอแยกเพื่อป้องกันการฟุ้งกระจายของข้าวสุก และเศษวัสดุอื่นที่ไม่ใช่ สปอร์เชื้อราที่จะปะปนลอยไปในกระแสอากาศ

จากข้อมูลที่ได้ศึกษาในเบื้องต้นของค่าความหนาแน่นเชิงปริมาตรของก้อนเชื้อราทำให้เรา สามารถคำนวณปริมาตรของก้อนเชื้อรา 1 kg ได้และสามารถกำหนดความสูงของหอแยกได้ในกรณี ที่กำหนดให้หอแยกมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 cm ซึ่งถือว่าเป็นขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางที่ไม่เล็ก หรือใหญ่เกินไปสำหรับเครื่องมือในห้องปฏิบัติการ และจากความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรกับ พื้นที่หน้าตัดของทรงกระบอกทำให้เราทราบขนาดความสูงของหอแยกว่าควรมีขนาดโดยประมาณ 90 cm เป็นอย่างน้อย โดยแบบของหอแยก ขนาดทางเข้า และทางออก แสดงดัง Drawing ใน ภาคผนวกที่ 1

2.2.2 การกำหนดขนาดของไซโคลน (Cyclone Separator)

ในการออกแบบไซโคลนพารามิเตอร์ที่สำคัญคือ ความหนาแน่นจริงของอนุภาค และอัตรา การไหลของก๊าซผ่านระบบ ซึ่งในที่นี้ต้องสัมพันธ์กับความเร็ววิกฤติที่ใช้ในการแยกสปอร์ออกจาก ก้อนวัสดุเพาะโดยไม่ทำให้วัสดุเพาะลอย ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในส่วนที่ 1 พบว่าค่าความเร็ว ที่เหมาะสมที่จะใช้งานสำหรับอากาศที่ไหลผ่านหอแยกควรจะอยู่ระหว่างความเร็ววิกฤติของสปอร์ เชื้อรา และความเร็ววิกฤติของก้อนเชื้อราคือ 0.127 – 5.6 m/s

ในกรณีที่ให้ระบบทำงานที่ความเร็วลม 5.6 m/s พบว่าอัตราการใหลของอากาศผ่านระบบ อยู่ที่

$$Q = VA_{vortex tower} = 5.6 \times \pi \times 0.2^{2}/4 = 0.1759 \text{ m}^{3}/\text{s}$$

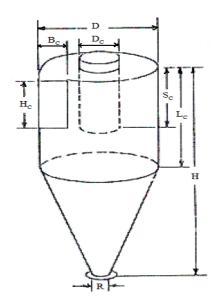
สำหรับการใช้งานทั่วไปของไซโคลน กำหนดให้ความเร็วที่ทางเข้าอยู่ระหว่าง 15-21 m/s ซึ่งเป็นความเร็วประสิทธิผลที่แนะนำในใช้งานไซโคลนอย่างมีประสิทธิภาพ (ฉัตรชัย 2548) ดังนั้น ขนาดพื้นที่หน้าตัดที่ทางเข้าของไซโคลนจะมีขนาด

$$A = Q/V_{in,cyclone} = 0.01759/21 = 0.00838 \text{ m}^2$$

และสำหรับเครื่องแยกสปอร์เชื้อรา กำหนดให้ใช้ไซโคลนมาตรฐานของ Swift (General Purpose) ซึ่งมีขนาดของสัดส่วนเมื่อเทียบกับเส้นผ่านศูนย์กลางดังรูปที่ 5 ซึ่งทำให้เราสามารถ คำนวณขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของไซโคลนได้เท่ากับ 26 cm โดยประมาณ

อย่างไรก็ดีการกำหนดความเร็วของอากาศผ่านหอแยกไว้ที่ระดับความเร็ววิกฤติของก้อน เชื้อราที่ 5.6 m/s อาจทำให้พัดลมที่ใช้ในระบบต้องมีขนาดใหญ่เกินความจำเป็น เนื่องจากมีอัตราการไหลของอากาศสูง และมีระดับความดันสูญเสียค่อนข้างมาก ดังนั้นเพื่อลดขนาดของพัดลมที่ใช้ ในระบบจึงต้องทำการกำหนดขนาดความเร็วของอากาศที่ไหลผ่านหอแยกให้เหมาะสม แล้วจึงคำนวณขนาดไซโคลนและตรวจสอบความเหมาะสมอีกครั้งด้วยสมการ (3) ที่แสดงขนาดต่ำสุดของอนุภาคที่สามารถแยกได้ด้วยไซโคลน (Cheremisinoff 1993)

		High Effic	iency	Genera	General Purpose		
Term	Description	Stairmand	Swift	Swift	Peterson and Whitby		
D	Body diameter	1.0	1.0	1.0	1.0		
H _C	Inlet height	0.5	0.44	0.5	0.5		
B _C	Inlet width	0.2	0.21	0.25	0.25		
S _C	Outlet length	0.5	0.5	0.625	0.6		
D _C	Outlet diameter	0.5	0.4	0.5	0.5		
L _C	Cylinder height	1.5	1.4	2.0	1.75		
Н	Overall height	4.0	3.9	4.0	3.75		
R	Dust outlet diameter	0.375	0.4	0.25	0.4		
С	Configuration parameter	551.3	699.2	402.9	381.8		
N _H	Inlet velocity heads	6.40	9.24	8.0	8.0		



ร**ูปที่ 5** แสดงสัดส่วนของขนาดสำหรับ Cyclone มาตรฐานแบบต่างๆ

$$d_{p} = \left(\frac{9\mu B_{c}}{\pi N_{H} V_{in} (\rho_{s} - \rho_{f})}\right)$$
(3)

d_p = ขนาดวิกฤติของอนุภาคในไซโคลน m

B_C = ความกว้างของทางเข้าของก๊าซ m

 N_H = จำนวนรอบที่ก๊าซหมุน N_H = 2 ถึง 20ไซโคลนทั่วไป

V_{in} = ความเร็วเข้าของก๊าซ m / sec

 $ho_{ extsf{P}}$ = ความหนาแน่นของอนุภาค $m Kg/m^3$

 ho_8 = ความหนาแน่นของก๊าซ Kg/m 3

μ = ความหนืดของก๊าซ Kg /m.sec

ดังนั้นในกรณีการใช้งานที่ต้องการแยกสปอร์เชื้อรา โดยให้มีสิ่งเจือปนน้อยควรใช้ความเร็ว ในหอแยกไม่เกินความเร็ววิกฤติของก้อนเชื้อรา และมีค่าไม่สูงมากนักจนกระทั่งสิ่งเจือปนอื่น ๆหลุด ลอยไปพร้อมกับสปอร์ ในที่นี้จึงทำการกำหนดขนาดของความเร็วอยู่ที่ระดับ 1.66 m/s ซึ่งมากกว่า 10 เท่าของความเร็ววิกฤติของสปอร์เชื้อราเล็กน้อย จากการคำนวณพบว่าอัตราการไหลของอากาศ ผ่านระบบอยู่ที่

$$Q = 1.66 \times \pi \times 0.2^2/4 = 0.0522 \text{ m}^3/\text{s}$$

ขนาดพื้นที่หน้าตัดกรณีกำหนดให้ความเร็วอากาศที่ทางเข้าไซโคลนอยู่ที่ค่าสูงสุด 21 m/s

$$A = 0.00248 \text{ m}^2$$

จะได้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของไซโคลนที่ 0.1409 m หรือประมาณ 14 cm โดยตารางที่ 4 แสดงสัดส่วนต่างๆ ของไซโคลนที่ได้จากการคำนวณนี้ โดยแบบของไซโคลนแสดงดัง Drawing ในภาคผนวกที่ 1

ตารางที่ 4 แสดงสัดส่วนของไซโคลนสำหรับเครื่องแยกสปอร์เชื้อรา

สัดส่วน	D	H _C	B_C	S_{C}	D_C	L_{C}	Н
ขนาด (cm)	14	7	3.5	8.75	7	28	56

และจากการตรวจสอบความเหมาะสมในการแยกอนุภาคของไซโคลนดังกล่าวด้วยสมการ
(3) โดยการคำนวณขนาดวิกฤติของอนุภาคที่สามารถแยกได้ด้วยไซโคลนดังกล่าว บนพื้นฐานการ
ทำงานที่ความเร็วอากาศที่ทางเข้าไซโคลน 21 m/s โดยอนุภาคมีความหนาแน่นในช่วง 3,879 86,492 kg/m³ พบว่าขนาดวิกฤติเท่ากับ 0.1-0.5 μm ซึ่งต่ำกว่าขนาดของสปอร์เชื้อราที่อยู่ระหว่าง
2.45 – 10.4 μm อยู่มาก และถึงแม้จะลดความเร็วทางเข้าลงเหลือ 15 m/s ซึ่งเป็นความเร็วแนะนำ
ต่ำสุดของการใช้งานไซโคลน ดังกล่าวก็ตาม จากการคำนวณขนาดวิกฤติพบว่าขนาดวิกฤติของ
อนุภาคที่สามารถดักจับได้ในไซโคลนยังมีขนาดระหว่าง 0.12-0.57 μm ซึ่งต่ำกว่าขนาดของ
สปอร์เชื้อราที่อยู่ระหว่าง 2.45 – 10.4 μm อยู่อีกมาก ดังนั้นไซโคลนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 14
cm ทำงานที่ความเร็วอากาศที่ทางเข้าระหว่าง 15-21 m/s จึงเหมาะสมกับการใช้ดักจับสปอร์เชื้อรา

สำหรับค่าความดันสูญเสีย (Δ P) ในไซโคลนดังกล่าวสามารถคำนวณได้จากสมการ (4)

$$\Delta P = 0.003 \rho_f V_{\text{in,cyclone}}^2 N_H$$
 (4)

เมื่อ V_{in,cyclone} = ความเร็วของอากาศที่ช่องทางเข้าไซโคลน fps (ฟุต/วินาที) g = ความเร่งเนื่องจากแรงโน้มถ่วงของโลก มีค่าเท่ากับ 32.2 ft/s²

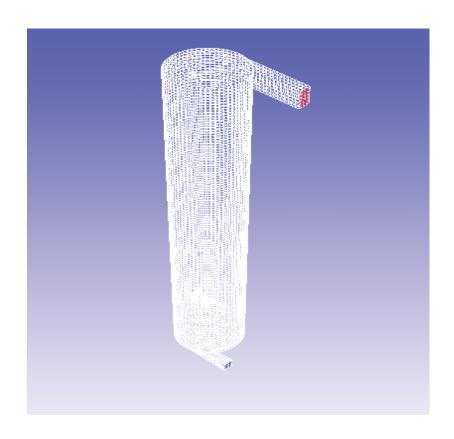
N_H = Number of Inlet Velocity Head (มีค่าเท่ากับ 8 สำหรับ General Purpose Swift Cyclone ดังแสดงในรูปที่ 5)

จากการคำนวณค่าความดันสูญเสียที่เกิดในไซโคลนพบว่าที่ความเร็วอากาศทางเข้าที่ 21 m/s ไซโคลนมีความดันสูญเสีย 8.82 in WC

2.3 การจำลองการไหลในหอแยกสปอร์เชื้อรา

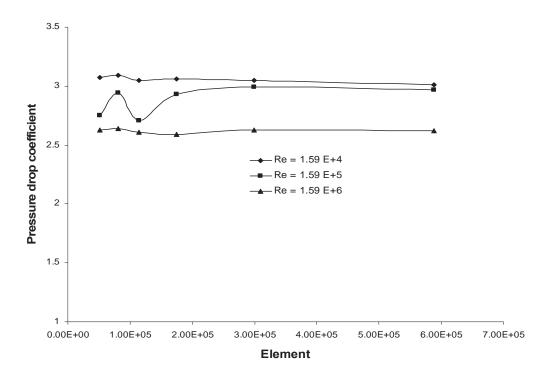
จนถึงขณะนี้การออกแบบเครื่องแยกสปอร์เชื้อรายังไม่อาจทำได้สมบูรณ์ เนื่องจากขาด สมการในการประมาณค่าความดันสูญเสียในหอแยกสปอร์เชื้อราทั้งจากการคำนวณโดยตรง หรือ จากการสร้างสมการที่ได้จากข้อมูลเชิงทดลอง เนื่องจากหอแยกเป็นอุปกรณ์ใหม่ที่มีการออกแบบ การไหลของอากาศที่แตกต่างจากไซโคลน จึงไม่อาจใช้สมการการคำนวณของไซโคลนมาประมาณ ค่าความดันสูญเสียได้ แนวทางหนึ่งที่สามารถทำได้เพื่อทดแทนการคำนวณจากสมการในเชิงทฤษฎี หรือสมการที่ได้จากข้อมูลในเชิงการทดลอง นั่นคือการประมาณค่าด้วยการคำนวณเชิงพลศาสตร์ ของไหลจำลองการไหลของอากาศในหอแยกสปอร์ ซึ่งสามารถประมาณค่าสัมประสิทธิ์ความดัน สูญเสียที่เกิดในรูปทรงต่าง ๆที่ซับซ้อนได้โดยไม่ต้องทำการสร้างแบบจำลองและวัดค่าจริง

ในที่นี้ใช้การคำนวณเชิงพลศาสตร์ของไหล เพื่อประมาณค่าสัมประสิทธิ์ความดันสูญเสียที่ เกิดกับการไหลของอากาศผ่านหอแยกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 cm มีขนาดทางเข้า และ ทางออก 3 x 3 cm และ 3 x 6 cm ด้วยโปรแกรมคำนวณเชิงพลศาสตร์ของไหลโดยทำการทดสอบ ระดับความอ่อนไหวต่อระดับความละเอียดของกริดที่ระดับจำนวนปริมาตรย่อยระหว่าง 38,568-588,025 element ที่ระดับ Re ตั้งแต่ 1.59 x 10^4 - 1.59 x 10^6 (เทียบได้กับความเร็วที่ทางเข้า 1 10 และ 100 m/s) รูปที่ 6 แสดงการแบ่งปริมาตรย่อยของหอแยกเพื่อทำการคำนวณด้วยโปรแกรม คำนวณเชิงพลศาสตร์ของไหล



ร**ูปที่ 6** แสดงการแบ่งปริมาตรย่อยในหอแยกสปอร์ที่ระดับปริมาตรย่อยที่ 177,114 elements

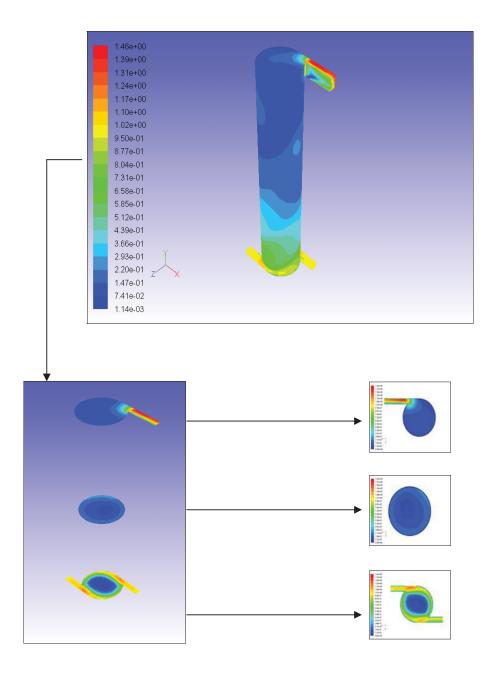
ผลการจำลองการใหลในช่วง Re 1.59 x 10⁴ - 1.59 x 10 ⁶ พบว่าค่าสัมประสิทธิ์ความดัน สูญเสียที่เกิดในหอแยกมีค่าระหว่าง 2.5-3 ดังแสดงในกราฟรูปที่ 7 โดยผลของการแบ่งจำนวน ปริมาตรย่อยที่มากขึ้นทำให้ค่าสัมประสิทธิ์ความดันสูญเสียมีขนาดใกล้เคียงกันมากขึ้น แต่การ คำนวณผลลัพธ์จะต้องใช้เวลามากขึ้นตามไปด้วย และจากการพิจารณาความเหมาะสมในเรื่องของ ค่าสัมประสิทธิ์ความดันสูญเสีย และเวลาที่ใช้ในการคำนวณพบว่าที่ระดับการแบ่งปริมาตรย่อย 177,114 element เป็นระดับการแบ่งปริมาตรย่อยที่มีความเหมาะสม



ร**ูปที่ 7** ค่าสัมประสิทธิ์ความดันสูญเสียของหอแยกสปอร์ที่มีการแบ่งปริมาตรย่อยหลาย ๆ ระดับ

จากนั้นจึงพิจารณาผลการจำลองการไหลที่ความเร็วอากาศที่ทางเข้าตั้งแต่ 10-100 m/s (Re = 1.59 x 10 ⁴ - 1.59 x 10 ⁶) ที่ระดับการแบ่งปริมาตรย่อย 177,114 element เพื่อดูลักษณะ การกระจายความเร็ว และค่าสัมประสิทธิ์ความดันสูญเสียที่เกิด พบว่าลักษณะการกระจายความเร็ว บริเวณใกล้ผนังของหอแยก และบริเวณหน้าตัดในแนวระดับที่ตำแหน่งด้านล่าง กึ่งกลาง และ ทางออกรูปของหอแยกแบบมีลักษณะดังรูปที่ 8 เมื่อพิจารณาจากรูปพบว่าความเร็วสูงสุดจะอยู่ บริเวณท่อทางเข้าและทางออกด้านที่ติดกับตัวหอแยก ด้านล่างหอแยกแบบที่มีช่องทางเข้า โดยมี ค่าลดลงเรื่อยๆ จากบริเวณทางเข้าด้านล่าง จนกระทั่งถึงด้านบนหอแยก และมีค่าเพิ่มขึ้นอีกครั้งใน ท่อทางออกที่ต่อกับไซโคลน

แต่อย่างไรก็ดีเมื่อพิจารณาขนาดความเร็วต่ำสุดของอากาศในแนวแกนของหอแยก เมื่อทำการจำลองการไหลด้วยระดับความเร็วทางเข้าหอแยกที่ 15-21 m/s พบว่าค่าความเร็วต่ำสุดใน แนวแกนของหอแยกยังมีค่ามากกว่าค่าความเร็ววิกฤติของสปอร์เชื้อรา จึงคาดการณ์ได้ว่าสปอร์เชื้อ ราน่าจะถูกแยกออกจากก้อนเชื้อราได้โดยการพัดพาของกระแสอากาศในแนวดิ่งในหอแยกดังกล่าว และไหลเข้าสู่ไซโคลนเพื่อคัดแยกออกจากกระแสดอากาศในรูปผงแห้งตามที่ต้องการ และจากผล การจำลองการไหลดังกล่าวพบว่าค่าสัมประสิทธิ์ความดันสูญเสียที่เกิดขึ้นที่ระดับความเร็วทางเข้า หอแยกที่ 15-21 m/s มีค่าประมาณ 2.8-2.9



ร**ูปที่ 8** แสดงผลการกระจายความเร็วในหอแยกแบบเป็นระดับชั้น (Contour) ที่ตำแหน่งต่างๆ

ดังนั้นค่าความดันสูญเสียที่เกิดจากการไหลของอากาศผ่านหอแยก จึงสามารถหาได้จาก ค่าสัม ประสิทธิ์ความดันสูญเสียที่ได้จากการจำลองการไหล โดยค่าความดันสูญเสียที่เกิดบริเวณหอ แยกซึ่งสามารถคำนวณได้ดังสมการ (5)

$$\Delta P = K \frac{V_i^2}{2g} \tag{5}$$

เมื่อ $K = สัมประสิทธิ์ความดันสูญเสียในหอแยก <math>\sim 3$ $V_i = ความเร็วที่ทางเข้าของหอแยก$

ในที่นี้หอแยกมีทางเข้าเป็นท่อทรงสี่เหลี่ยมจตุรัสขนาด 3 cm จำนวน 2 ท่อวางในแนว สัมผัสที่บริเวณขอบของด้านล่างดังแสดงรายละเอียดในแบบภาคผนวกที่ 1 จากการคำนวณค่า ความดันสูญเสียที่ความเร็วในหอแยก 1.66 m/s ได้ความดันสูญเสียจากการคำนวณด้วยสมการ (5) เท่ากับ 6.06 inWC

2.4 การกำหนดขนาดของพัดลม

พัดลมที่เหมาะกับการใช้งานในเครื่องแยกสปอร์เชื้อราต้องมีอัตราการไหลของอากาศผ่าน พัดลมเท่ากับอัตราการไหลผ่านหอแยกของอากาศ คือ 0.0522 m³/s และมีความดันสถิตย์เท่ากับ ความดันสูญเสียในระบบคือ 14.88 in WC (8.82 + 6.06 in WC) เทียบเท่ากับ 0.38 m WC โดยใช้ มอเตอร์ต้นสามารถประมาณได้จากสมการ (Bleier 1997)

Air Power = 1000 x 9.81 x 0.38 x 0.0522 = 198 watt

กรณีเลือกใช้พัดลมแบบครีบโค้งหลังประสิทธิภาพ 70% มอเตอร์มีประสิทธิภาพ 70% กำลัง งานที่ต้องการคือ

Require Power = 198/0.7/0.7 = 404.1 watt = 0.542 hp

กำหนดค่า S.F. = 50% ดังนั้นขนาดมอเตอร์ที่ต้องการ

Motor Power = 0.542 / 0.5 = 1.08

ดังนั้นขนาดมอเตอร์พัดลมที่เลือกใช้เท่ากับ 1.5 แรงม้า

บทที่ 3 การทดสอบประสิทธิภาพ

การทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องจัดเก็บสปอร์เชื้อราตันแบบทำโดยการทดลองเก็บสปอร์ เชื้อราสองชนิดคือ Beauveria และ Metarhizium โดยทำการทดลองแยกสปอร์เชื้อราที่ความเร็วลม สามระดับคือ 20, 16 และ 12 m/s ที่ทางเข้าของหอแยกตามขั้นตอนในหัวข้อ 3.1.2 สำหรับผงสปอร์ ที่ได้ที่บริเวณด้านล่างของไซโคลน จะถูกนำไปทดสอบหาประสิทธิภาพการคัดแยกสปอร์เชื้อราของ เครื่องในรูปแบบของเปอร์เซนต์การแยกคืนดังรายละเอียดในหัวข้อ 3.1.3

3.1 อุปกรณ์และวิธีการ

3.1.1 อุปกรณ์การทดสอบ

- เครื่องจัดเก็บสปอร์เชื้อรา
- ก้อนเชื้อรา Beauveria และ Metarhizium
- บีกเกอร์ขนาด 50 cc
- เครื่องชั่งน้ำหนักแบบละเอียด
- นาฬิกาจับเวลา
- ตู้อบความชื้น

3.1.2 ขั้นตอนการทดสอบประสิทธิภาพการทำงานของเครื่องแยกสปอร์

- 1. แบ่งก้อนเชื้อราออกจากขวดทดลอง 10 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ที่เตรียมไว้ แล้วนำไปชั่ง น้ำหนัก จดบันทึกค่าที่ได้
- 2. นำก้อนเชื้อราในบีกเกอร์ไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียล 1วัน แล้วนำบีกเกอร์ไปชั่ง น้ำหนัก จดบันทึกค่าที่ได้ เพื่อหาค่าความชื้นของก้อนเชื้อรา จากสูตร

- สปอร์เชื้อรา
 - 4. นำขวดที่แยกก้อนเชื้อราออกแล้ว มาชั่งน้ำหนักขวด จดบันทึกค่าที่ได้
 - 5. เทก้อนเชื้อราใส่ในหอแยก แล้วนำขวดทดลองเปล่าไปชั่งน้ำหนัก บันทึกค่าที่ได้
- 6. ทำการแยกผงสปอร์ออกจากก้อนเชื้อราโดยเครื่องจัดเก็บสปอร์เชื้อรา ที่ความเร็วลมที่ ทางเข้าหอแยก 20 m/s (รอบของพัดลม 2800 rpm) จับเวลา สังเกตว่าไม่มีผงสปอร์หลุดออกจาก ก้อนเชื้อราแล้ว จึงบันทึกเวลาที่ได้

- 7. นำผงสปอร์ที่ได้แล้วก้อนเชื้อราที่เหลือไปชั่งน้ำหนัก บันทึกค่าที่ได้
- 8. ทำการทดลอง 1-7 กับก้อนเชื้อราชนิดเดิม แต่เปลี่ยนระดับความเร็วลมที่ทางเข้าเป็น 16 และ 12 m/s (รอบของพัดลม 2240 rpm และ 1680 rpm) ตามลำดับ
 - 9. ทำการทดลอง 1-8 กับก้อนเชื้อราอีกชนิดหนึ่ง

3.1.3 ขั้นตอนการหาประสิทธิภาพการแยกคืนสปอร์ (% Recovery)

การหาประสิทธิภาพในการแยกผงสปอร์จากก้อนเชื้อรา โดยใช้เครื่องแยกสปอร์เชื้อราผง แห้ง จากการเปรียบเทียบความเข้มข้นของสปอร์ในสารละลายที่ได้จากการทำละลาย แล้วนำมานับ จำนวนสปอร์ เพื่อคำนวณความเข้มข้นสปอร์ต่อ 1 กรัมของก้อนเชื้อราตามขั้นตอนดังนี้

1. นำผงสปอร์ที่ได้ 0.5 g มาละลายน้ำ 45 mL และนับจำนวนสปอร์ที่ได้ 2 ครั้ง แล้วนำมา เฉลี่ย จดบันทึกค่าที่ได้ และนำมาคำนวณค่าจำนวน Spore/g_{ผงสปอร์} ตามสมการ (6) โดยใช้ Dilute = 10⁴

2. นำก้อนเชื้อราที่แยกจากขวดทดลอง มาละลายน้ำที่ 50 mL และนับจำนวนสปอร์ที่ได้ 2 ครั้ง แล้วนำมาเฉลี่ย จดบันทึกค่าที่ได้ และนำมาคำนวณค่าจำนวน Spore/g_{ผงสปอร์} ตามสมการ (7) โดยใช้ Dilute = 10² และปริมาณของสารละลาย 250 ml

- 3. นำก้อนเชื้อราที่เหลือจากการทดสอบ มาละลายน้ำ 250 mL และนับจำนวนสปอร์ที่ได้ 2 ครั้ง แล้วนำค่าที่ได้มาเฉลี่ย จดบันทึกค่าที่ได้และคำนวณค่าจำนวน Spore/g_{ผงสปอร์} ตามสมการ (1) โดยใช้ Dilute = 10⁴ และปริมาณของสารละลาย 50 ml
- 4. เปรียบเทียบประสิทธิภาพการแยกสปอร์ โดยคำนวณ % การแยกคืน (%Recovery) % การตกค้าง (%Non-Recovery) และ % การสูญเสีย (%Loss) ตามสมการ (8) (10)

3.2 ผลการทดสอบ

3.2.1 ผลการทดสอบการการทำงานของเครื่องแยกสปอร์เชื้อรา

ตารางที่ 5 และ 6 แสดงผลการทดสอบการแยกสปอร์เชื้อราของเครื่องต้นแบบกับเชื้อราสอง ชนิดที่มีความชื้นโดยเฉลี่ยของก้อนเชื้อราที่ 10% จากผลการทดสอบพบว่าการแยกสปอร์จะทำได้ เร็วขึ้นเมื่อความเร็วลมที่ทางเข้าที่เพิ่มขึ้น แต่จำนวนผงสปอร์จะน้อยลงตามความเร็วลมที่เพิ่มขึ้น สาเหตุอาจเนื่องมาจาก ความเร็วลมที่เพิ่มขึ้นทำให้สปอร์หลุดลอยไปในกระแสอากาศในหอแยกได้ เร็วขึ้นทำให้เครื่องทำงานได้เร็วขึ้น ในขณะที่ความเร็วที่เพิ่มขึ้นอาจทำให้กระแสอากาศหมุนวนด้าน ในของไซโคลนมีความเร็วมากขึ้นจนผงสปอร์ถูกดูดกลับเข้าสู่กระแสอากาศด้านในของไซโคลน และ ไหลออกไปยังช่องทางออกด้านบน ทำให้ผงสปอร์ที่ได้จากเครื่องแยกสปอร์ซึ่งทำงานที่ความเร็ว อากาศสูงน้อยกว่าผงสปอร์ที่ได้จากการทำงานที่ความเร็วอากาศที่ต่ำกว่า

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบการแยกสปอร์เชื้อราบิวเวอเรีย

 ความเร็ว		วัดความชื้น		น้ำหนัก	น้ำหนัก	น้ำหนัก	
อากาศ	น้ำหนักก้อน	น้ำหนัก	เปอร์เซ็นต์	• ก้อนเชื้อรา	ผงสปอร์	ก้อนเชื้อรา	เวลา
(m/s)	เชื้อราก่อน	ก้อนเชื้อรา	ความชื้น	ก่อนแยกผง	ที่ได้	หลังแยกผง	(นาที)
(111/3)	อบ (g)	หลังอบ (g)	(%)	สปอร์ (g)	(g)	สปอร์ (g)	
12	45.0	40.7	9.55	210.8	1.2	180.8	15
16	41.4	36.9	10.86	231.4	1.2	200.2	14
20	49.8	45.2	9.23	203.8	1.2	163.8	11

ตารางที่ 6 ผลการทดสอบการแยกสปอร์เชื้อราเมตตาไรเซียม

 ความเร็ว		วัดความชื้น		น้ำหนักก้อน	น้ำหนัก	น้ำหนักก้อน	
อากาศ	น้ำหนัก	น้ำหนัก	เปอร์เซ็นต์	เชื้อราก่อน	ผงสปอร์	เชื้อราหลัง	เวลา
(m/s)	ก้อนเชื้อรา	ก้อนเชื้อรา	ความชื้น	แยกผง	ที่ได้	แยกผง	(นาที)
(111/3)	ก่อนอบ(g)	หลังอบ (g)	(%)	สปอร์ (g)	(g)	สปอร์ (g)	
12	56.8	52.2	8.09	215.3	0.2	187.5	15
16	39.0	34.4	11.79	234.2	1.0	166.0	14
20	44.8	40.2	10.26	203.7	0.4	165.8	12

3.2.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการแยกคืนสปอร์ (% Recovery)

ตารางที่ 7 และ 8 แสดงเปอร์เซนต์การแยกคืนสปอร์เชื้อรา สำหรับเชื้อรา บิวเวอเรีย เปอร์เซนต์การแยกคืนมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อความเร็วอากาศเพิ่มสูงขึ้น แต่อย่างไรก็ดีเปอร์เซนต์การแยก คืนของสปอร์เชื้อราเมตาไรเซียม ไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีแนวโน้มใด ๆที่เห็นได้ชัดตามความเร็วลมที่ เพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการกระจายขนาดของสปอร์ของเชื้อราเมตตาไรเซียมที่มีการกระจาย ค่อนข้างกว้างตั้งแต่ 3.33-9.26 µm อาจทำให้สปอร์มีโอกาศหลุดลอยไปกับกระแสอากาศหมุนวน ด้านในของไซโคลนได้มากกว่าสปอร์เชื้อราบิวเวอเรียที่มีการกระจายขนาดในช่วงแคบกว่าที่ 2.45-3.85 µm จึงทำให้แนวโน้มเปอร์เซนต์การแยกคืนสปอร์ของเชื้อราเมตตาไรเซียมมีความผันผวน ไม่ เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับสปอร์เชื้อราบิวเวอเรียที่แปรผันตามความเร็วลมที่เพิ่มขึ้นที่ด้านทางเข้า ของระบบ

ตารางที่ 7 ผลการทดสอบเปอร์เซนต์การแยกคืนสปอร์เชื้อราบิวเวอเรีย

ความเร็ว อากาศ (m/s)	ความเข้มข้น ของก้อนเชื้อ ราตัวอย่าง (spore/g)	ความเข้มข้น ของผงสปอร์ เชื้อรา (spore/g)	ความเข้มข้น ของก้อนเชื้อ ราที่เหลือ (spore/g)	เปอร์เซ็นต์ การแยก (%)	เปอร์เซ็นต์ การตกค้าง (%)	เปอร์เซ็นต์ การสูญเสีย (%)
12	16.0 x 10 ⁸	3.2 x 10 ⁸	8.3 x 10 ⁸	20	52	28
16	12.6 x 10 ⁸	4.1 x 10 ⁸	7.8 x 10 ⁸	32	62	6
20	17.7 x 10 ⁸	9.5 x 10 ⁸	8.0 x 10 ⁸	54	45	1

ตารางที่ 8 ผลการทดสอบเปอร์เซนต์การแยกคืนสปอร์เชื้อราเมตตาไรเซียม

ความเร็ว อากาศ (m/s)	ความเข้มข้น ของก้อนเชื้อ ราตัวอย่าง (spore/g)	ความเข้มข้น ของผงสปอร์ เชื้อรา (spore/g)	ความเข้มข้น ของก้อนเชื้อ ราที่เหลือ (spore/g)	เปอร์เซ็นต์ การแยก (%)	เปอร์เซ็นต์ การตกค้าง (%)	เปอร์เซ็นต์ การสูญเสีย (%)
12	6.9 x 10 ⁸	0.32 x 10 ⁸	3.9 x 10 ⁸	5	56	39
16	6.0 x 10 ⁸	2.38 x 10 ⁸	3.6 x 10 ⁸	40	60	0
20	5.6 x 10 ⁸	0.36 x 10 ⁸	4.3 x 10 ⁸	6	77	17

บทที่ 4 สรุป และข้อเสนอแนะ

จากผลการดำเนินงานที่ผ่านมาที่ได้ทำการออกแบบและสร้างเครื่องแยกสปอร์เชื้อรา ผล การทดสอบการทำงานพบว่าเครื่องสามารถแยกสปอร์เชื้อราได้รวดเร็วขึ้นตามความเร็วลมที่เพิ่มขึ้น ทั้งจากการทดสอบกับเชื้อราบิวเวอเรีย และเมตตาไรเซียม

ผงสปอร์ที่ได้จากการแยกของเชื้อราบิวเวอเรีย มีเปอร์เซนต์การแยกคืนที่ดีขึ้นเมื่อความเร็ว ลมเพิ่มขึ้น ในขณะที่ผงสปอร์ที่ได้จากการคัดแยกสปอร์เมตตาไรเซียมกลับไม่เป็นไปตามแนวโน้มที่ เกิดกับสปอร์ของเชื้อราบิวเวอเรีย อย่างไรก็ดีจากการตรวจสอบโดยนักวิจัยศูนย์พันธุวิศวกรรมและ เทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติที่ระดับเปอร์เซนต์การแยกคืนในระดับเกินกว่า 2x10⁸ สปอร์/g นั้นก็ถือ ว่าเป็นระดับที่พอเพียงสำหรับการใช้งานในการควบคุมแมลงศัตรูพืชได้เช่นกัน ดังนั้นโดยภาพรวม เครื่องแยกสปอร์เชื้อราที่สร้างขึ้นจึงถือว่าใช้งานได้ดีในระดับหนึ่ง อย่างไรก็ดีเพื่อให้เครื่องสามารถ ใช้งานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น ดังนั้นจึงมีข้อเสนอแนะสำหรับการสร้างเครื่องแยกเพื่อให้มี ประสิทธิภาพการคัดแยกมากยิ่งขึ้นกว่านี้โดยอาจดำเนินการ

- ปรับปรุงรูปแบบกลไกที่ใช้ในการกระจายก้อนเชื้อราให้สปอร์มีโอกาศถูกกระแสอากาศ พัดพาออกไปได้มากยิ่งขึ้น
- นอกจากนี้ อาจทำการปรับเปลี่ยนลักษณะทางเข้าทางออกของหอแยกให้มีลักษณะที่ อากาศไหลผ่านได้สะดวกกว่านี้ เพื่อลดขนาดพัดลมที่ใช้งานในระบบ และเพิ่มความแรง ของกระแสอากาศที่ไหลผ่านก้อนเชื้อราให้มากขึ้น

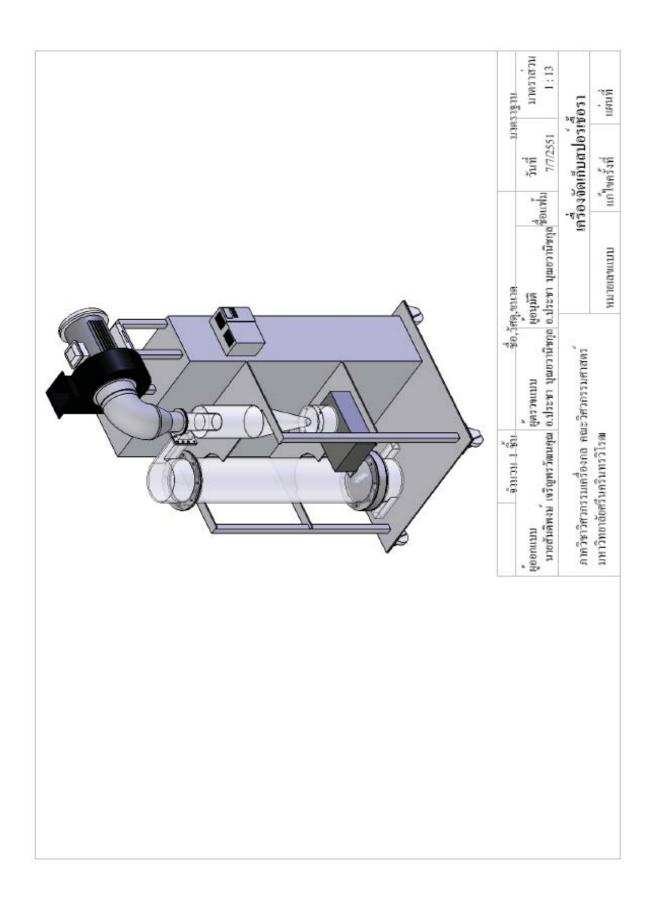
เอกสารอ้างอิง

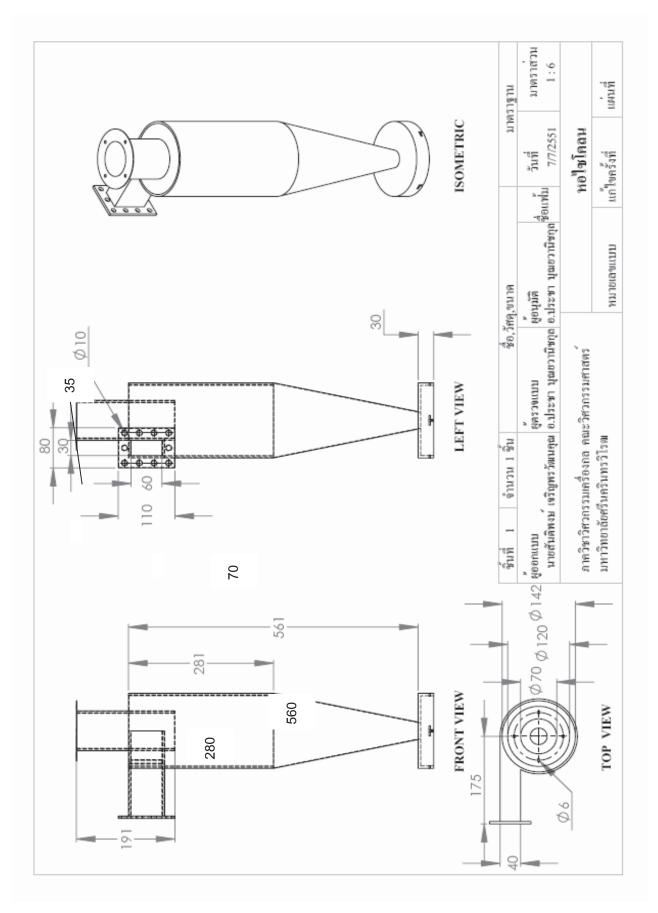
ฉัตรชัย นิมมล. (2548). ระบ**บกำจัดฝุ่นและกา**รระบายอากาศ, กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ ส.ส.ท.

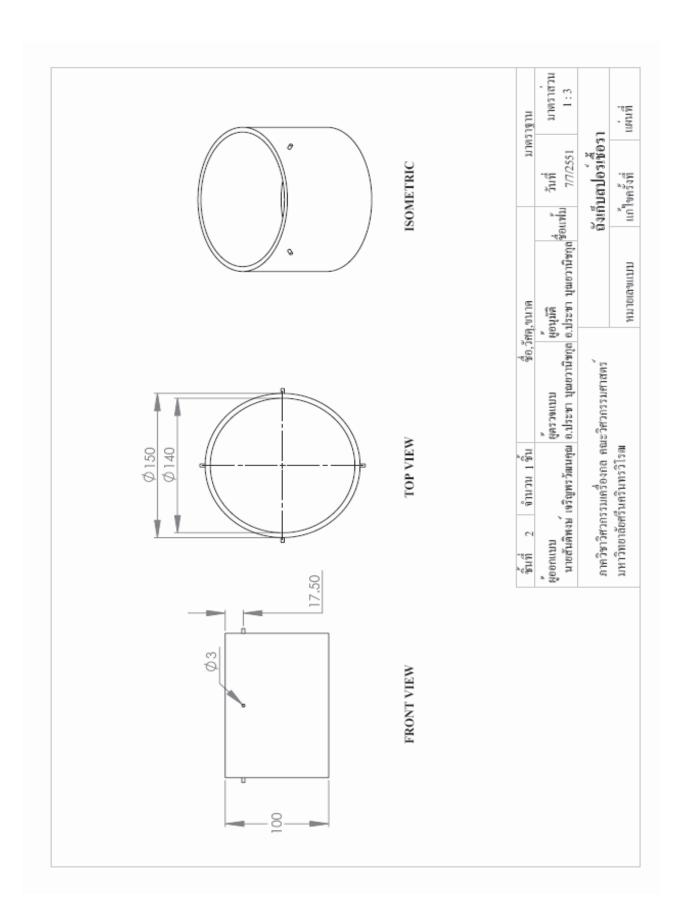
F.P. Bleier. (1997) Fan Handbook: Selection, Application and Design, New York: McGraw-Hill.

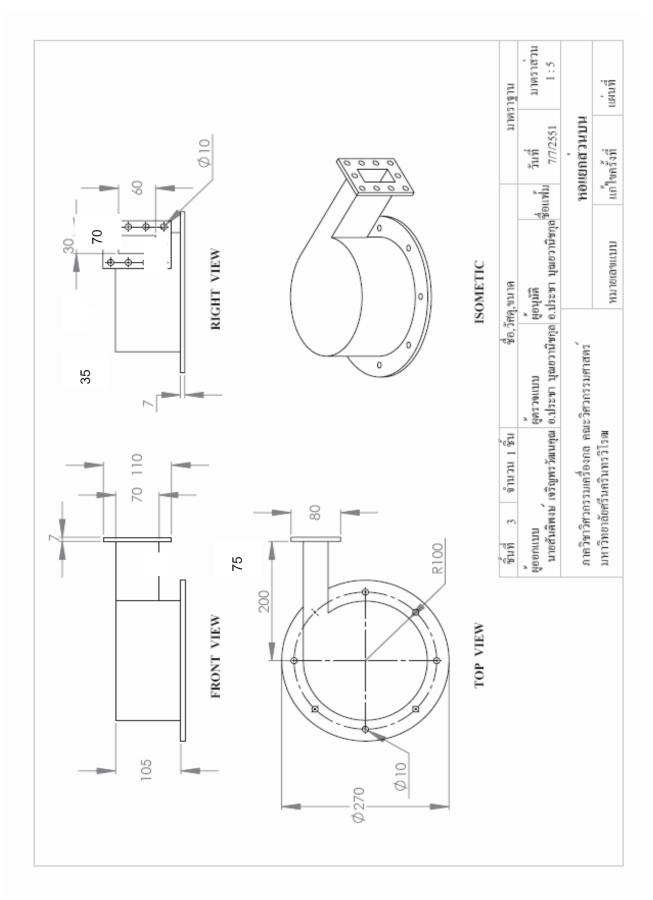
P. N. Cheremisinoff. (1993) Air Pollution Control and Design for Industry, New York: M. Dekker.

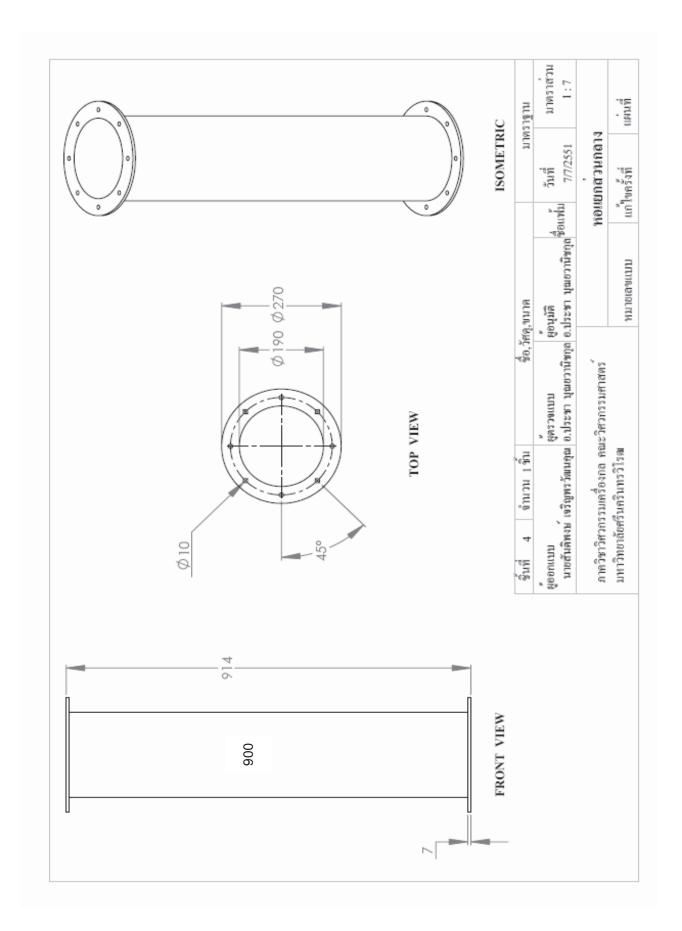
แบบ Drawing เครื่องต้นแบบ

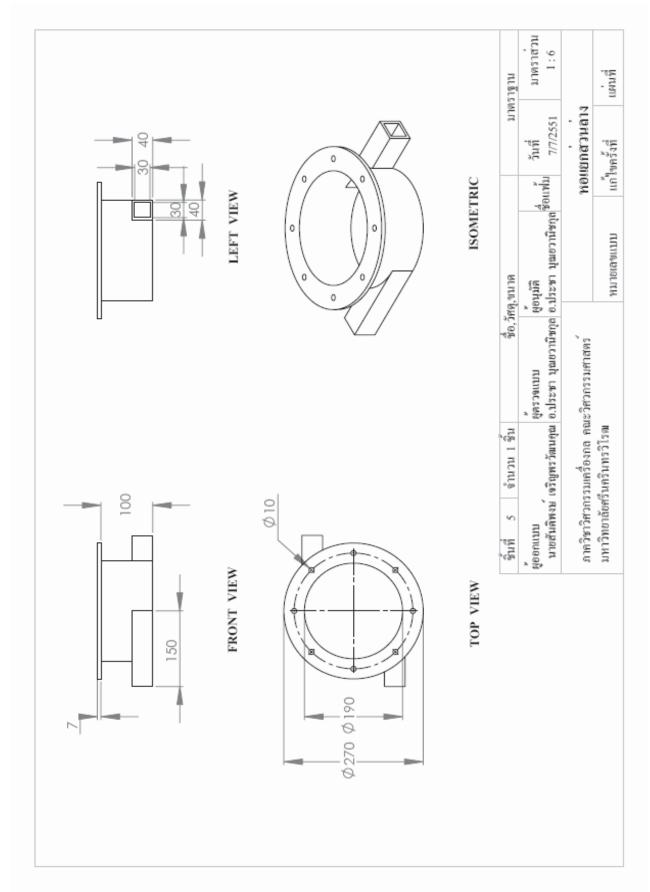


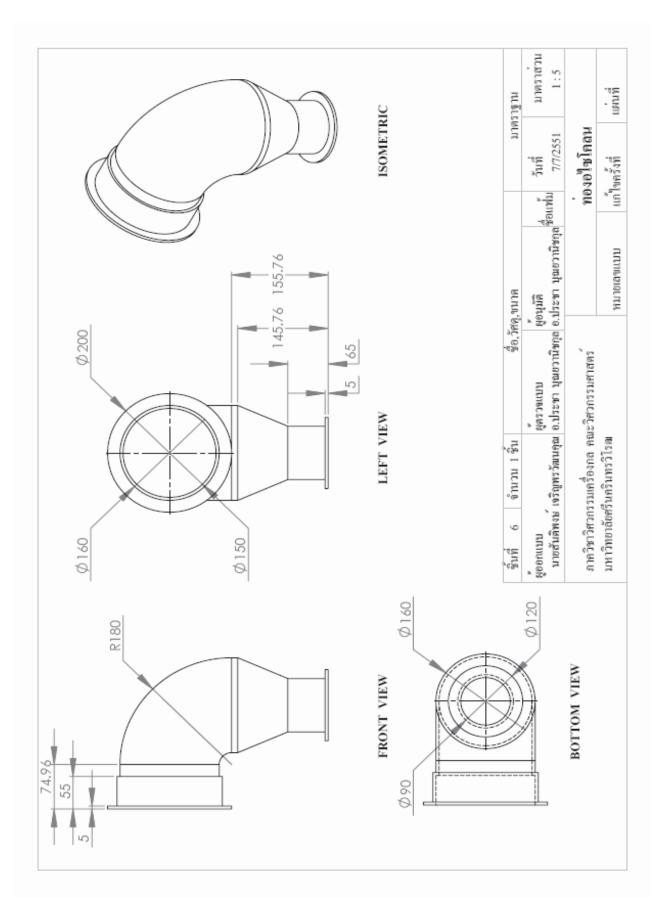


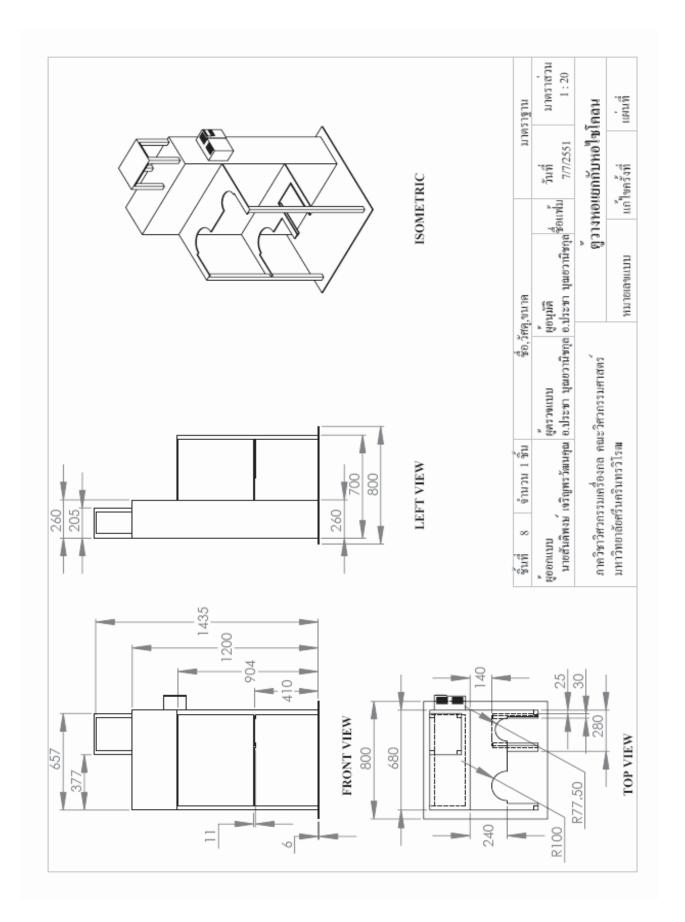


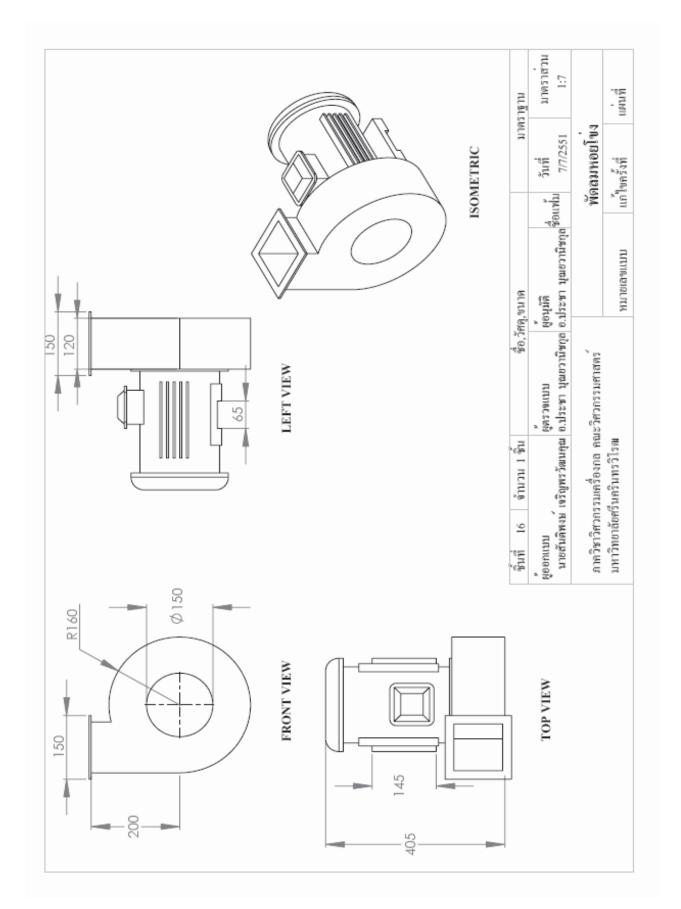












Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกอ. และ สกว.

1. ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ (ระบุชื่อผู้แต่ง ชื่อเรื่อง ชื่อ วารสาร ปี เล่มที่ เลขที่ และหน้า)

 Bunyawanichakul, P., and Dechaumapai, P., "Some physical and aerodynamic properties of entomopathogenic fungal (Beauveria bassiana BCC 2660 and Metarhizium anisopliae BCC 19364) isolate of Thailand relevant to design of spore separation machine", Biocontrol Science and Technology [Impact Factor 1.102] (submitted)

2. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์เชิงวิชาการ

เครื่องต้นแบบที่สร้างขึ้นได้นำไปทดลองใช้แยกผงสปอร์ของเชื้อรา Beauveria และ Metarhizium เพื่อใช้ในโครงการทดสอบการกำจัดและควบคุมศัตรูพืชประเภทเพลี้ยกระโดด ภายใต้ชุดโครงการวิจัยของศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงาน พัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

ภาคผนวก Manuscript ของบทความสำหรับเผยแพร่

Biocontrol Science & Technology



Some physical and aerodynamic properties of entomopathogenic fungal (Beauveria bassiana BCC 2660 and Metarhizium anisopliae BCC 19364) isolate of Thailand relevant to design of spore separation machine.

Journal:	Biocontrol Science & Technology
Manuscript ID:	CBST-2012-0095
Manuscript Type:	Research Article
Date Submitted by the Author:	14-Mar-2012
Complete List of Authors:	bunyawanichakul, pracha; Srinakharinwirot, Mechanical Engineering Dechaumpai, Pramote; Chulalongkorn University, Mechanical Engineering Prathumpai, Wai; National Science and Technology Development Agency of Thailand, National Center for Genetic Engineering and Biotechnology Supothina, Sumalee; National Science and Technology Development Agency of Thailand, National Center for Genetic Engineering and Biotechnology
Keywords:	Entomopathogenic fungi, Physical properties, Aerodynamic properties, Aerial Conidia, Separation machine
	•

SCHOLARONE™ Manuscripts

Some physical and aerodynamic properties of entomopathogenic fungal (Beauveria bassiana BCC 2660 and Metarhizium anisopliae BCC 19364) isolate of Thailand relevant to design of spore separation machine.

Bunyawanichakul, Pracha (corresponding author)

Department of Mechanical Engineering, Faculty of Engineering, Srinakharinwirot University, Rungsit-Nakhon Nayok Road, Ongkarak, Nakhon-Nayok, THAILAND, 26210

E-mail prachabu@swu.ac.th

Tel. +6626495000 Ext. 2055 Fax. +6637322609

Dechaumpai, Pramote

Department of Mechanical Engineering, Faculty of Engineering, Chulalongkorn University, Phayathai Road, Patumwan, Bangkok, THAILAND, 10330

E-mail fmepdc@eng.chula.ac.th

Prathumpai, Wai

Supothina, Sumalee

National Center for Genetic Engineering and Biotechnology (BIOTEC)), National Science and Technology Development Agency of Thailand (NSTDA), 113 Thailand Science Park, Phahonyothin Road, Klong 1, Klong Luang, Pathumthani, THAILAND, 12120

E-mail wai.pra@biotec.or.th, sumaleeu@ biotec.or.th

Acknowledgement

The authors are grateful to the Thailand Research Fund for financial support of this work (MRG5208243). The EPF isolates sample supplied and laboratory analysis of NSTDA are also acknowledged.

- 1 Some physical and aerodynamic properties of entomopathogenic fungal
- 2 (Beauveria bassiana BCC 2660 and Metarhizium anisopliae BCC
- 3 19364) isolate of Thailand relevant to design of spore separation
- 4 machine.

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

Selected physical and aerodynamic properties required for the spore separation machine design were determined for two genera of entomopathogenic fungi within the class Hypomycetes, namely; B. bassiana BCC 2660 and M. anisopliae BCC 19364, at a moisture content of 10% dried basis (db.). Aerial Conidia (AC) shape and size of B. bassiana BCC 2660 and M. anisopliae BCC 19364 were investigated and measured. The density and terminal velocity of B. bassiana BCC 2660 and M. anisopliae BCC 19364 AC were determined. The bulk density, true density and porosity of B. bassiana BCC 2660 and M. anisopliae BCC 19364 on growth substrate were measured. The coefficient of static friction of B. bassiana BCC 2660 and M. anisopliae BCC 19364 on growth substrate on acrylic, galvanized steel and stainless steel were tested and calculated. The terminal velocity of B. bassiana BCC 2660 and M. anisopliae BCC 19364 on growth substrate also measured. A prototype of fungal spore separation machine based on pneumatic transport and cyclonic separation was designed. The cylindrical separation tower of 20 cm diameter and 90 cm height using as pneumatic transport of AC was selected based on the bulk density of fungal spore on growth substrate. The cyclone dust collector of 14 cm diameter using as cyclonic separation devices was selected based on air flow rate passed through the system, the terminal velocity and true density of AC. The design cutoff size of the machine is significantly lower than the true diameter of B. bassiana BCC 2660 and M. anisopliae BCC 19364 AC. Key words: Entomopathogenic fungi, Physical properties, Aerodynamic properties,

28

Aerial Conidia, Separation machine

1. Introduction

30	Global agriculture practices are too dependent upon chemical pesticides. Only 2% of
31	global pesticide market is occupied by products based on biological agents (Moore et al.,
32	1993). There had been interest in application of biological control to replace or reduce
33	chemical pesticide use that focused upon the development of use of microbial biocontrol
34	agent, including bacteria, viruses, protozoa and fungi (Ferguson 1992; Klein 1988;
35	Bidochka and Khachatourians 1991). Nowadays, Entomopathogenic fungi (EPF) are
36	poised to become major commercial insect control agents, and their powdery spores are
37	the keys to any mycoinsecticide or biological control strategy.
38	Using EPF to control insect pests has many advantages over chemical insecticides
39	(Goettel and Johnson 1992). EPF are typically more selective and have narrower host
40	range than chemicals. They also have greater capacity to be integrated with other
41	biological control agents and can persist for extended periods providing increased
42	protection against insect pets. These microbial agents are also biodegradable, making
43	them more environmentally friendly than chemical insecticide that can leave toxic
44	residual. Numerous laboratory and field studies indicated that EPF can provide a safe
45	and effective control of many important insect pets. Currently, economic interest is
46	focusing upon fungi from three genera within class Hyphomycetes: B. bassiana, M.
47	anisopliae and Paecilomyces lilacinus. Recent research has attempted to meet the
48	challenge of ensuring the stability (e.g. UV inactivation), efficacy at low relative
49	humidity (RH) and mass production of inexpensive yet high quality fungal formulations
50	(Feng Poprawaki and Khachatourians 1994).

Biocontrol Science & Technology

There are many processes involved with the development of commercial
mycoinsecticide based on B. bassiana and M. anisopliae aerial conidia formulation. First
step involves the selection of an EPF strain with desired specificity and host range, that is
amenable to mass culturing, possesses high virulence (i.e., speed of action) and
pathogenicity (i.e., killing rate), and can persist after release through horizontal
transmission to other target insects. The next step is to mass produce this microbial agent.
Various mass production processes have been developed for the rapid and efficient
harvest of B. bassiana and M. anisopliae AC in dry powdery form that suitable for long-
term storage under natural conditions without significantly loss their viability and
infectibility (Khachatourians 1991; Feng et al. 1994; Goettel,1984; Samsinakova
Kalalova Vlcek and Krybal 1981; Thomas Khachatourians and Ingledew 1987; Hegedus
Bodochka Miranpuri and Khachatourians 1992). Finally, commercial mycoinsecticide
are then formulated with major concerns to ensure the ease of field application with
minimal modification of existing chemical application equipment. Formulated
mycoinsecticide may be applied in dry powdery form or incorporated into sprayable
liquid which necessary to add supplementary agents such as surfactants, wetting agents,
emulsifiers, dispersing and sticking agents and anti-evaporants to ensure the maximum
efficacy.
Although the successful EPF mass production by mechanically harvest were
reported as discussed previously, the physical and aerodynamic properties that are
important to design the equipments and machines for storage, separation and collection
had not been reported. The information of aerial conidia shape, dimension, density and
terminal velocity is essential for accurate design of the separation equipment. Physical

properties of bulk density, true density, porosity and static friction coefficient with various surfaces of B. bassiana and M. anisopliae on growth substrate are also important; bulk density determined the capacity of storage, while true density is useful for separation equipment; porosity determined the resistance of air flow during aeration and drying. Flow ability is usually measured using static friction coefficient. It recognized by engineer as an important property concern with rational design of bin and other storage structures. Aerodynamic properties such as terminal velocity are useful for air conveyer and pneumatic separation (Mohsenin 1970). Designing of process equipment of entomopathogenic fungal without taking these properties into account may yields poor efficiency machine. For this reason, the objective of this study was to determine some physical and aerodynamic properties of B. bassiana BCC 2660 and M. anisopliae BCC 19364, especially isolate found in Thailand. The properties examined include: shape, dimensions, density and terminal velocity of B. bassiana BCC 2660 and M. anisopliae BCC 19364 AC; bulk density, porosity, true density, static friction coefficient and terminal velocity of B. bassiana BCC 2660 and M. anisopliae BCC 19364 on growth substrate and these properties served as basic information for storage, separation and collection equipments design.

2. Materials and Methods

74

75

76

77

78

79

80

81

82

83

84

85

86

87

88

89

90

- 92 2.1 Entomopathogenic fungi
- 93 The EPF isolates obtained from National Center for Genetic Engineering and
- 94 Biotechnology (BIOTEC) of National Science and Technology Development Agency
- 95 (NSTDA) of Thailand were chosen since they had been previously studied for their

97

98

99

100

101

102

103

104

105

106

107

108

109

110

111

112

113

114

115

116

Biocontrol Science & Technology

activity against a variety of insect pests by BIOTEC research group. These fungi are
collected at the BIOTEC culture collection and are publicly access. Conidiospore stock of
B. bassiana BCC 2660 and M. anisopliae BCC 19364 were prepared by mixing a spore
suspension with one volume of sterile (50%) v/v glycerol, and adding 100 μg/ml of
antibiotic. These stocks were store in 2 ml aliquots at -70oC until used.

The powdery AC was cultivated using cooked rice as a basic growth substrate. Rice (500 g) was soaked in 200 mL of de-ionized water in autoclavable polypropylene bag (30x65 cm) for 30 min. Bag and mixture substrate were then autoclaved at 121oC for 40 min, and their top folded and staple when removed. Once cooled, the rice in each bag inoculated with conidial powder introduced at one corner of the bag, the bag was shaked and the conidia were mixed uniformly throughout the rice. Then, the bags were incubated at 25oC for 7-14 day allowing a profuse mycelial outgrowth on rice kernel for conidial production. Thereafter, top folded and staple were removed allowing the mixture substrate inside bag dried for 3-5 day to reduce moisture content to nearly 10% db. and it ready to used as sample for bulk density, true density porosity, static friction coefficient and terminal velocity examination. Finally, AC of B. bassiana BCC 2660 and M. anisopliae BCC 19364 were harvested by hand shaking through sieve screen. The harvested aerial conidia were then packed and stored into refrigeration cold chamber at 3oC until used for high performance microscope viewing of shape and dimension of AC. Figures 1 and 2 shows B. bassiana BCC 2660 and M. anisopliae BCC 19364 on growth substrate and their powdery AC prepared for studies.

2.2 Shape, dimensions, density and terminal velocity of B. bassiana BCC 2660
 and M. anisopliae BCC 19364 AC

Fungal spores of B. bassiana BCC 2660 and M. anisopliae BCC 19364 were prepared for viewing with high performance microscope by fixing and dehydration. Proper preparation of biological samples to be viewed by microscopy is essential for preserving fine structure and minimizing sample distortion. Sample preparation was performed in facilities of BIOTEC and viewed using a bright field microscope (Olympus BX51) to obtain the shape and dimensions of sample AC.

Weight of AC was determined by mean of spore countering within specific weight of powdery spore sample which were dissolved using specific volume of solution. Therefore, an average specific weight of B. bassiana BCC 2660 and M. anisopliae BCC 19364 AC were calculated using equation (1).

Spore
$$g^{-1} = \frac{N \times (5 \times 10^4) \times Dilute \times V_{sol}}{W_{som}}$$
 (1)

where N is average spore counted, Dilute is 102, Wsol is volume of solution (50 ml) and Wsam is weight of fungal sample used (g). Density was then calculated based on their weight and volume of their known diameter and length. The terminal velocity of B. bassiana BCC 2660 and M. anisopliae BCC 19364 AC involving the presence of airflow could be estimated from Stoke's law as shown in equation (2). This relation derived from the balance of gravitational and resisting drag force when the object freely falling and immersed into an ascendant airflow. When these forces was balanced, the object began move at a constant speed so-called terminal velocity that given by the following relation.

 $V_t = (gd^2)(\rho_s - \rho_f)/18\mu$ (2)

where Vt is terminal velocity (m/s), g is acceleration of gravity (m/s2), d is "equivalent volume" diameter (m), ρ s and ρ f are density of particle and air (kg/m3) and μ is viscosity of air (kg/ms).

2.3 Bulk density, true density, porosity, static friction coefficient and terminal velocity of B. bassiana BCC 2660 and M. anisopliae BCC 19364on growth

substrate

The bulk density of fungal on growth substrate defined as the ratio of mass of sample to its total volume. It was determined using modified standard test weight procedure (Singh and Gaswami 1996; Gupta and Das 1997) by filling 90 ml container with mixture substrate were poured from height of about 150 mm at a constant rate, and then weighing the container. The bulk density was calculated from the mass of the seeds and the volume of the container. The true density defined as the ratio between the mass and the true volume of mixture substrate. It was determined by Toluene displacement technique.

Toluene was used in place of water because it is absorb lesser and it exhibit low surface tension the more advantages of fill even shallow dips in mixture substrate layer. The volume of toluene displaced was found by immersing a weighted quantity of mixture substrate in the measured toluene (Unal Isik and Tekin 2008). Three replications were taken for each fungal to calculate an average value. The porosity (ϵ) was the ratio of void between particle compared to unit volume of mixture substrate and determined by the following relationship (Eq. (3)) (Mohsenin 1970).

$$\varepsilon = \frac{\rho_t - \rho_b}{\rho_t} \tag{3}$$

where ϵ is porosity (%), ρ t is true density (kg/m3) and ρ b is bulk density (kg/m3). Static friction coefficient against different surfaces, acrylic, stainless steel and galvanized steel were determined using cylinder of diameter 75 mm and depth of 50 mm fill with mixture substrate. With the cylinder resting on the surface, the surface was raised gradually until the filled cylinder start to slide down (Varnumkhasti et al. 2008). The angle of the incline (α) was recorded and the static friction coefficient (μ s) was calculated using equation (4). Three replications were taken for each fungal to calculate an average value.

$$\mu_s = tan\alpha \tag{4}$$

The terminal velocity of mixture substrates were measured using an air column system. A sample was placed on the central part of the perforated screen. The airflow upwards in the tube from bottom to the top was controlled until the mixture substrate start to suspend. At this moment, the air velocity were measured using digital anemometer having 0.1 m/s resolution (DIGICON DA-41). Three replications were taken for each fungal to calculate an average value.

3. Results and Discussions

- 182 3.1 Shape, dimensions, density and terminal velocity of B. bassiana BCC 2660
- 183 and M. anisopliae BCC 19364 AC
- The morphologies of AC from B. bassiana BCC 2660 and M. anisopliae BCC 19364

Biocontrol Science & Technology

isolated obtained from BIOTEC were studied using bright field microscope. AC from B. bassiana BCC 2660 isolates found to have spheroidal appearance as shown in Fig 3 and found considerable variability in spore mean diameter, ranging from 2.5-3.9 μm. Unlike AC from M. anisopliae BCC 19364 isolates possessed similar cylindroidal morphology as shown in Fig 4 with variability in diameter and length, ranging from 2.5-2.8 μm and 5.3-6.4 μm, respectively. Table 1 shows summarized of B. bassiana BCC 2660 and M. anisopliae BCC 19364 AC properties such as dimensions, weight, density and terminal velocity obtained from experimentation and calculation method expressed in previous section.

As illustrated in Fig 3 and 4, B. bassiana BCC 2660 and M. anisopliae BCC 19364 AC exhibit different morphologies. The different of AC morphologies, especially, the geometric mean of axial dimension may useful in the estimation of the projected area of AC moving in the turbulence or near-turbulence region of air stream. This projected area of the AC was generally indicative of its pattern of the behavior in the flowing fluid such as air and this result in the different terminal velocity range as calculated in Table 1. M. anisopliae BCC 19364 AC have higher terminal velocity, which would more difficult to entrain in the air stream than B. bassiana BCC 2660 AC during separation process. This characteristic can served as basic data for separation process equipment design due to pneumatic transport of AC. The terminal velocity of B. bassiana BCC 2660 and M. anisopliae BCC 19364 AC were 0.0121- 0.0191 m/s and 0.0344 - 0.0399 m/s, respectively. Therefore, the minimum requirement of air velocity used during separation process should not lower than the terminal velocity of each fungal AC and then the optimal design of pneumatic separation system such as volume of air flow, pressure drop

and motor horse power could estimated based on AC properties. In analyzing the aerodynamic behavior of AC, it is observed that the calculated value of terminal velocity of both AC spore were different in their magnitude but exhibit the same order. Therefore, it may proposed here that the air flow rate used for pneumatic separation systems for both fungal AC should be the same and higher than that of the terminal velocity of M. anisopliae BCC 19364 AC to ensure the separation of both AC fungal from growth substrate during separation process.

- 215 3.2 Bulk density, true density, porosity, static friction coefficient and terminal
- velocity of B. bassiana BCC 2660 and M. anisopliae BCC 19364 on growth
- 217 *substrate*

208

209

210

211

212

213

- B. bassiana BCC 2660 and M. anisopliae BCC 19364 on growth substrate with average
- 219 10%db. moisture content were taken to measure and calculate their bulk density, porosity,
- 220 true density, static friction coefficient and terminal velocity using method state in the
- previous section. Measured and calculated properties of B. bassiana BCC 2660 and M.
- anisopliae BCC 19364 on growth substrate shown in Table 2.
- As shown in Table 2, the bulk and true density of both fungal on growth substrate
- were within nearly the same of 720 800 kg/m3 and 275 280 kg/m3, respectively. But
- 225 the porosity of M. anisopliae BCC 19364 on growth substrate exhibit higher percentage
- value. These properties influence the design of storage equipments. For example an
- 227 expected size of silo may estimate based on the desired capacity divided by the bulk
- density of raw materials.
- Experimental result shown that static friction coefficient changed with surface
- 230 tested. The average values of static friction coefficient of friction against galvanized steel,

Biocontrol Science & Technology

Stainless steel and Acrylic surface are 0.7, 0.55 and 0.5, respectively for B. bassiana BCC
2660 on growth substrate but 0.6, 0.5 and 0.45 for M. anisopliae BCC 19364 on growth
substrate. The highest friction coefficient value obtained for galvanized steel surface,
while the lowest values were obtained on acrylic surface for both fungal on growth
substrate. However, the static friction coefficient of M. anisopliae BCC 19364on growth
substrate seem to be lower than B. bassiana BCC 2660 on growth substrate for all surface
tested this may due to the more dense and porous within their bulk pile that made M.
anisopliae BCC 19364on growth easier to skid than B. bassiana BCC 2660 on growth
substrate on an inclined surface during static friction coefficient test. This property is
used to determine the angle of inclination of chute that must be installation in order to
achieve consistent flow of fungal on growth substrate in processing unit.

The terminal velocity of fungal on growth substrate is found to be the same of 5.6 m/s for both B. bassiana BCC 2660 and M. anisopliae BCC 19364 on growth substrate. Important parameters for pneumatic separation equipment design are the particle density and air flow rate which related to terminal air velocity of AC spore and fungal on growth substrate. This observation is very useful for design pneumatic separation equipment due to the different on AC spore and fungal on growth substrate terminal velocities of 0.399 and 5.6 m/s, respectively. The gas flow rate used during separation process should not low unitl the air velocity inside separation tower lower than the AC spore terminal velocity and should not high until the air velocity inside pneumatic separation equipment higher than the fungal on growth substrate terminal velocity. Therefore, the most appropriate operating velocity of pneumatic separation equipment is 0.399- 5.6 m/s.

4. Design of Spore Separation Machine

The physical and aerodynamics properties studies earlier are used as the basis for the design of the fungal spore separation machine. The fungal spore separation machine consists mainly of cylindrical separation tower and cyclone dust collection. Cylindrical separation tower using vertically air-flow pass through fungal on growth substrate to separate AC spore. An appropriate velocity of air stream pass through separation tower based on aerodynamics properties of AC spore should be higher than the terminal velocity of Metarhizium anisopliae BCC 19364 AC spore (0.399 m/s) to ensure the maximum spore separation and lower than the terminal velocity of fungal on growth substrate (5.6 m/s) to prevent the foreign matters carrier with air stream. After that the AC spore and air stream mixture is passed through the cyclone dust collector to separate AC spore from air stream and collect the powdery AC spore. In this device, AC spore having sufficient inertia impact onto the cyclone wall. The AC spore either retain on the wall or gradually migrate to the dust container located at the bottom of cyclone due to the secondary flow in the boundary layer (Ranz, 1985).

4.1 Sizing of cylindrical separation tower

The tower is designed primarily to have working capacity of 1 kg of fungal on growth substrate per batch, at a commonly used of 10% volume fraction occupied by fungal spore on growth substrate. From the bulk density of fungal spore on growth substrate (475 kg/m3 for B. bassiana BCC 2660 and 480 kg/m3 for Metarhizium anisopliae BCC 19364) obtained in the previous section, the occupied volume of 1 kg of fungal on growth substrate can be calculated and the height of cylindrical separation tower can be

calculated for 20 cm diameter of tower tube that is considered to be not too large or too small for laboratory scale machine. From the relationship of volume and cross sectional area, the height of separation tower should at least 90 cm.

4.2 Sizing of Cyclone Dust Collector

The most important parameters for cyclone dust collector design are true density of AC spore and air flow rate that related to the terminal velocity that sufficient to pick-up the AC spore without any foreign matters carried. From the previous section, the most appropriate air velocity inside cylindrical separation tower should be between 0.399-5.6 m/s. The volume air flow rate through cyclone dust collector is then calculated base on air velocity and cross-section area of cylindrical separation tower. For general purpose swift cyclone dust collector used, the effective inlet air velocity should be 15-21 m/s (Nimmol 2005). The inlet area of cyclone dust collector could be calculated base on volume air flow rate and effective air velocity and then the dimension of cyclone will be determined (Cheremisinoff 1993).

Incase of AC spore, the most suitable air velocity inside cylindrical separation tower is 1.66 m/s which is higher than four time of AC spore terminal velocity and the volume air flow rate of 0.0522 m3/s was calculated. When using 21 m/s effective velocity at inlet of cyclone, the inlet area of 0.00248 m2 was also calculated. Then, the dimension of cyclone dust collector was determined as shown in Table 3. All of cyclone dust collector geometry shown in Fig 5.

Based on the designed dimension, cyclone inlet air velocity of 21m/s and true density of AC spore (2,680-10,175 kg/m3 for B. bassiana BCC 2660 and 10,232-15.672 kg/m3 for Metarhizium anisopliae BCC 19364), the 50% cutoff size diameter around 0.1-

 $0.5~\mu m$ was determined (Cheremisinoff 1993) and this lower than the AC spore diameter of $2.45\text{-}10.4~\mu m$. Incase of the lowest recommended the inlet air velocity of 15~m/s, the 50% cutoff diameter of $0.12\text{-}0.57~\mu m$ was determined and there still lower than AC spore diameter. Therefore, the 14~cm diameter of general purpose swift cyclone dust collector is the most appropriate size for AC spore collection.

5. Conclusion

299

300

301

302

303

304

305

306

307

308

309

310

311

312

313

314

315

316

317

318

319

320

The investigation of various physical and aerodynamics of B. bassiana BCC 2660 and M. anisopliae BCC 19364 AC on growth substrate show that B. bassiana BCC 2660 AC found to be spheroidal while M. anisopliae BCC 19364 AC found to be cylindrodical. Diameter of spheroidal B. bassiana BCC 2660 AC was varied between 2.5-3.9 µm. Cylindrodical M. anisopliae BCC 19364 AC diameter and length found to be varied within 2.5-2.8 µm and 5.3-6.4 µm, respectively. The density of B. bassiana BCC 2660 and M. anisopliae BCC 19364 AC were 2,680-10,175 kg/m3 and 10,232-15,672 kg/m3, respectively. Terminal velocity of B. bassiana BCC 2660 and M. anisopliae BCC 19364 AC were calculated and varied within 0.0121-0.0191 m/s and 0.0344-0.0399 m/s, respectively. The bulk density, true density and porosity of B. bassiana BCC 2660 on growth substrate were 475, 720 kg/m3 and 34%, respectively. The bulk density, true density and porosity of M. anisopliae BCC 19364 on growth substrate were 480, 800 kg/m3 and 40%, respectively. The coefficient of static friction of B. bassiana BCC 2660 on growth substrate was 0.5 on acrylic, 0.55 on stainless steel sheet and 0.7 on galvanized steel sheet. The coefficient of static friction of M. anisopliae BCC 19364 on growth substrate was 0.45 on acrylic, 0.5 on stainless steel sheet and 0.6 on galvanized steel

Biocontrol Science & Technology

321	sheet. The terminal velocity was 5.6 m/s for both B. bassiana BCC 2660 and M.
322	anisopliae BCC 19364 on growth substrate.
323	Based on these physical and aerodynamics properties, AC spore collection
324	machine which consist mainly of cylindrical separation tower and cyclone dust collector
325	were sized. Based on 1 kg working capacity of machine per batch, the diameter and
326	height of cylindrical tower of 20 and 90 cm, respectively were calculated based on the
327	bulk density of fungal spore on growth substrate. The air flow velocity through
328	cylindrical tower of 1.66 m/s was selected as this velocity was higher than the terminal
329	velocity of AC spore and lower than the terminal velocity of fungal on growth substrate.
330	Finally, the diameter of cyclone dust collector of 14 cm then be calculated based on
331	volume air flow rate divided by recommended effective inlet air velocity of 21 m/s.
332	Acknowledgement
333	The authors are grateful to the Thailand Research Fund for financial support of this work
334	(MRG5208243). The EPF isolates sample supplied and laboratory analysis of BIOTEC are also
335	acknowledged.
336	
337	References
338	References
339	Bidochka, M.J., and Khachatourians, G.G. (1991), 'Microbial and protoazoan pathogens
340	of grasshoppers and locusts as potential biocontrol agents', Biocontrol Science
341	and Techology, 1, 243-259.
342	
343	Cheremisinoff, P.N. (1993), Air pollution control and design for industry, New York:
344	Marcel Dekker.

345	
346	Feng, M.G., Poprawaki, T.J., and Khachatourians, G.G. (1994), 'Production, formulation
347	and application of the entomopathogenic fungus Beauveria bassiana for insect
348	control: current status', Biocontrol Science and Techology, 4, 3-34.
349	
350	Ferguson, J.S. (1992), 'Biological control: an industrial perspective', Florida
351	Entomologist, 75, 421-429.
352	
353	Goettel, M.S. (1984), 'A simple method for mass culturing entomopathogenic
354	Hyphomycete fungi', Journal of Microbiological Method, 3, 15-20.
355	
356	Goettel, M. S., and Johnson, D. L. (1992), 'Fungal agenta for biocontrol. In Biological
357	control of Locusts and Grasshoppers', Proceedings of a workshop held at the
358	International Institute of Tropical Agricultural, Contonou, Republic of Benin, 29
359	Apr-1 May 1991. (C.J. Lomor and C. Prior, Eds.) CAB International ,
360	Wallingford., 356-361.
361	
362	Gupta, R.K., and Das, S.K. (1997), 'Physical properties of sunflower seeds', Journal of
363	Agricultural Engineering Research, 66, 1-8.
364	
365	Hagedus, D. D., Bidochka, M. J., Miranpuri, G. S., and Khachatourians, G. G., (1992), 'A
366	comparison of the virulence, stability and cell-wall-surface characteristics of three

Biocontrol Science & Technology

367	spore types produced by entomopathogenic fungus Beauveria bassiana', Apply
368	Microbiology and Biotechnology, 36, 785-789.
369	
370	Klein, M.G. (1988), 'Pest management of soil-inhabitating insects with microorganisms',
371	Agricultural Ecosystem Environmental, 24, 337-349.
372	
373	Khachatourians, G. G. (1991), 'Physiology and genetics of entomopathogenic fungus' In
374	K.Esser, & P.A. Lemke (Eds.), The Mycota, Vol VI: Human and animal
375	relationships (pp. 331-363), Berlin: Splinker Verlag.
376	
377	Mohsenin, N. N. (1986), Physical properties of plants and animal material, New-York:
378	Gordon Breach Science Publication.
379	
380	Moore, D., Bridge, P. D., and Prior, C. (1993), 'The potential of mycoinsecticides',
381	Biocontrol News Information, 14, 31N-40N.
382	
383	Nimmol, C. (2005), Dust disposal and ventilation system, Bangkok: Thai-Japan
384	technology promotion association. (In Thai)
385	
386	Samsinakova, A., Kalalova, S., Vlcek, V., and Krybal, J. (1981), 'Mass production of
387	Beauveria bassiana for regulation of Leptinotarsa decemkineata populations',
388	Journal of Invertebrate Pathology, 38, 169-184.
389	

390	Singh, K.K., and Gaswami, T.K. (1996), 'Physical properties of cumin seed', Journal of
391	Agrcultural Engineering Research, 64, 93-98.
392	
393	Thomas, K. C., Khachatourians, G. G., and Ingledew, V. M., (1987), 'Production and
394	properties of Beauveria bassiana conidia cultivated in submerged culture',
395	Canadian Journal of Microbiology, 33, 12-20.
396	
397	Unal, H., Isik, E., and Tekin, Y. (2008), 'Geometric and mechanical properties of mung
398	bean (Vigna radiata L.) grain: Effect of moisture', International Journal of Food
399	Properties, 11, 585-599.
400	
401	Varnumkhasti, M. G., Molie, H., Jafari, A., Keyhani, A. R., Soltanabadi, M. H., Refiee,
402	S., and Kheiralipour, K. (2008), 'Some physical properties of rough rice (Oryza
403	sativa L.) grain', Journal of Cereal Science, 47, 496-501.
404	
405	
406	
407	
408	
409	
410	
411	
412	

Table 1 B. bassiana BCC 2660 and M. anisopliae BCC 19364 AC properties

AC fungal diamete length		length	weight	density	Terminal velocity	
	r	(μm)	(g)	(g) (kg/m3)		
	(µm)					
B. bassiana	2.5-3.9	-	6.66 x 10 ⁻¹⁰	2,680 – 10,175	0.0121 - 0.0191	
BCC 2660						
M. anisopliae	2.5-2.8	5.3-6.4	1.613 x 10 ⁻⁹	10,232 – 15,672	0.0344 - 0.0399	
BCC 19364						

Table 2 B. bassiana BCC 2660 and M. anisopliae BCC 19364 on growth substrate

431 properties

Fungal on growth substrate properties	B. bassiana BCC	M. anisopliae BCC	
	2660	19364	
Bulk density (kg/m ³)	475	480	
Porosity (%)	34	40	
True density (kg/m ³)	720	800	
Static friction coefficient			
- Acrylic	0.5	0.45	
- Stainless steel	0.55	0.5	
- Galvanized steel	0.7	0.6	
Terminal velocity (m/s)	5.6	5.6	

Table 3 Design dimensions of swift general purpose cyclone dust collector

Dimensions	D	$H_{\rm C}$	B _C	$S_{\rm C}$	D _C	L _C	Н
Size (cm)	14	7	3.5	8.75	7	28	56

163	
164	List of Figures
165	Fig 1 B. bassiana BCC 2660 a) on growth substrate b) AC
166	Fig 2 M. anisopliae BCC 19364 a) on growth substrate b) AC
167	Fig 3 Sample of micrographs of spheroidal AC of <i>B. bassiana</i> BCC 2660
168	Fig 4 Sample of micrographs of cylindroidal AC of M. anisopliae BCC 19364
169	Fig 5 Dimensions of swift general purpose cyclone dust collector
470	
471	
172	
173	
174	
175	
176	
177	
178	
179	
480	
481	
182	
183	
184	
485	

487 **Word count** 4,632 words





Figure 1a B. bassiana BCC 2660 on growth substrate 254x190mm (96 x 96 DPI)





Figure 1b B. bassiana BCC 2660 AC 254x190mm (96 x 96 DPI)



Figure 2a M. anisopliae BCC 19364 on growth substrate 254x190mm (96 x 96 DPI)





Figure 2b M. anisopliae BCC 19364 AC 254x190mm (96 x 96 DPI)

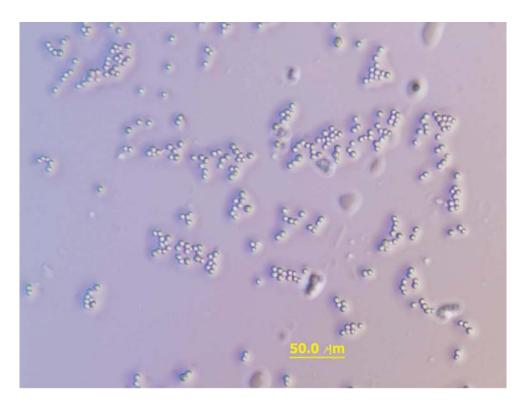


Figure 3 Sample of micrographs of spheroidal AC of B. bassiana BCC 2660 $\,$ 1079x812mm (96 x 96 DPI)



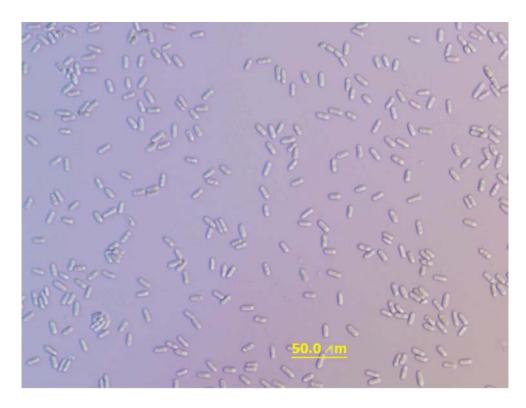


Figure 4 Sample of micrographs of cylindroidal AC of M. anisopliae BCC 19364 $\,$ 1079x812mm (96 x 96 DPI)



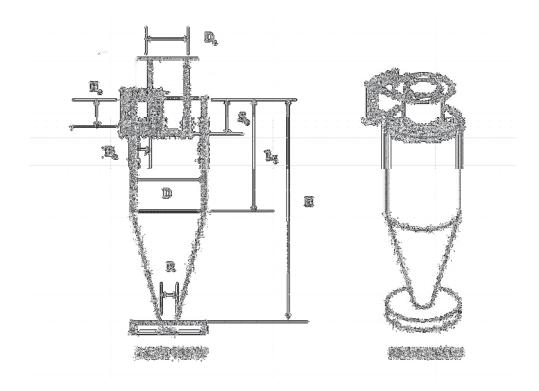


Figure 5 Dimensions of swift general purpose cyclone dust collector 254x190mm (96 x 96 DPI)