



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การเพิ่มประสิทธิภาพกระบวนการผลิตแก๊สชีวภาพโดยหัวเชื้อจากของเสียตะกอน
เลนบ่อกุ้งทะเล

Improving Biogas Production Using Inoculum from Marine Shrimp Pond
Sediment Waste

นางสาวญาณิศา ละอองอุทัย

นางสาววชิรา ดาวสุด

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้ จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)

ประจำปีงบประมาณ 2558

มหาวิทยาลัยบูรพา



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การเพิ่มประสิทธิภาพกระบวนการผลิตแก๊สชีวภาพโดยหัวเชื้อจากของเสียตะกอน
เลนบ่อกุ้งทะเล

Improving Biogas Production Using Inoculum from Marine Shrimp Pond
Sediment Waste

นางสาวณัฏฐิศา ละอองอุทัย
นางสาวชिरา ดาวสุด
คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) การเพิ่มประสิทธิภาพกระบวนการผลิตแก๊สชีวภาพโดยหัวเชื้อจากของเสียตะกอนเลนบ่อกุ้งทะเล

แหล่งเงิน งบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2558

จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 977,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี 6 เดือน ตั้งแต่ ตุลาคม 2557 ถึง มีนาคม 2559

ชื่อ-สกุล หัวหน้าโครงการ และผู้ร่วมโครงการวิจัย พร้อมระบุ หน่วยงานต้นสังกัด

หัวหน้าโครงการวิจัย: ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาวญาณิศา ละอองอุทัย

หน่วยงานต้นสังกัด ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ผู้ร่วมโครงการวิจัย: ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาววชิรา ดาวสุด

หน่วยงานต้นสังกัด ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

บทคัดย่อ

โครงการวิจัยครั้งนี้ทำการสร้างชุดเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ประกอบไปด้วย ชุดวัดและบันทึกข้อมูล pH อุณหภูมิ และปริมาณแก๊ส (bubble counter) โดยข้อมูลจะถูกบันทึกด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ โดยถังหมักใช้วัสดุอะคริลิก ขนาด 5 และ 30 ลิตร นำถังที่สร้างขึ้นมา ขนาด 5 ลิตร ทำการหมักแก๊สชีวภาพจากตะกอนเลนของเสียบ่อกุ้งจากจังหวัดชลบุรีด้วยระบบกะแบบไร้ออกซิเจน ระยะเวลาในการหมัก 15 วัน ศึกษา pH เริ่มต้น และอุณหภูมิ ที่เหมาะสม โดยทำการตรวจวัดปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้น การเปลี่ยนแปลง pH และอุณหภูมิ ระหว่างการหมัก พร้อมตรวจวัดองค์ประกอบของแก๊สที่ถูกผลิต นอกจากนี้ยังทำการตรวจวัดคุณสมบัติทางเคมีของตะกอนเลนก่อนและหลังการหมัก จากผลการวิจัยพบว่า pH และอุณหภูมิ ที่เหมาะสม คือ pH 7 และอุณหภูมิ 40 °C โดยผลิตแก๊สได้สูงสุดคือ 928 มิลลิลิตร เมื่อนำแก๊สที่ได้ไปวิเคราะห์องค์ประกอบพบแก๊สไฮโดรเจนปริมาณสูงที่สุดคิดเป็นร้อยละ 98 เมื่อทำการวัดองค์ประกอบทางเคมีของตะกอนเลนของเสียบ่อกุ้งพบว่า ก่อนการหมักมีค่า TS เท่ากับ 805,080 mg/l คิดเป็นของแข็งระเหยได้ (VS) 54,480 mg/l ซึ่งคิดเป็นปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนเลนซึ่งถือว่าน้อยเมื่อเทียบกับของเสียชนิดอื่น แต่ ณ สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองพบว่าได้ปริมาณแก๊สค่อนข้างสูง ซึ่งถือว่ามีความเป็นไปได้ที่จะนำสภาวะดังกล่าวไปใช้จริงในฟาร์มกุ้งเพื่อเปลี่ยนของเสียให้เป็นพลังงานมาใช้ในการจัดการฟาร์ม นอกจากนี้คณะวิจัยยังจำแนกและศึกษาชนิดของแบคทีเรียในกระบวนการผลิตมีเทนจากกระบวนการหมักดังกล่าว โดยอาศัยเทคนิคทางพันธุศาสตร์เชิงโมเลกุลโดยการวิเคราะห์เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ในการจำแนกสายพันธุ์ของแบคทีเรีย พบแบคทีเรียที่ใช้ ออกซิเจน 4 ชนิด ได้แก่ *Exiguobacterium*, *Bacillus*, *Staphylococcus epidermidis*, และ *Staphylococcus aureus* นอกจากนี้สามารถแยกแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนได้ คือ *Clostridium cochlearium* ซึ่งทั้งหมดเป็นแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิตแก๊สชีวภาพ

คำสำคัญ : เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ, ตะกอนเลนบ่อกุ้ง, แก๊สชีวภาพ, 16SrRNA, จุลินทรีย์

Research Title: Improving Biogas Production Using Inoculum from Marine Shrimp Pond Sediment Waste

Researcher: Miss Yanisa Laoong-u-thai

Faculty: Engineering **Department:** Chemical Engineering **University:** Burapha

Co-researcher: Miss Wachira Daosud

Faculty: Engineering **Department:** Chemical Engineering **University:** Burapha

ABSTRACT

This research is to set up the bioreactor with the pH, temperature and bubble counter probes system. Probes were connected with the computer program to record the data real-time. The reactor was decided in 2 different size including 5 and 30 liter. These reactors were used for biogas production in batch anaerobic system by using shrimp pond sediment waste collected from Chonburi province, Thailand. The digestion period was set up for 15 days. The starting pH and temperature were the parameters of this project. The gas amount, pH and temperature were measured during fermentation period. Gas composition was also analyzed as well as the chemical properties of sediment before and after fermentation. The result show that the suitable pH and temperature were pH 7 and 40 °C with gave the maximum gas amount of 928 ml. The gas composition showed the highest gas amount which was hydrogen gas with the 98 percentage. For the chemical properties of sediment, it found that TS and VS of sediment before digestion were 805,080 mg/l and 54,480 mg/l. This result showed that the sediment had low amount of organic matter compare to other organic waste. However at the best condition in this study, we can produce the biogas particularly high amount which is possible to use this condition apply in the shrimp farm for waste management. Also the biogas can use as the energy source in the farm. Additionally, the researcher team investigated the types of bacteria involving in biogas production using molecular genetic technique base on 16S rRNA sequence. Four abundance aerobic species were identified including *Exiguobacterium*, *Bacillus*, *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* and one anaerobic bacterial had been isolate which is *Clostridium cochlearium*. All isolated bacterial has been reported as biogas producing bacteria.

Keywords : bioreactor, shrimp pond sediment, biogas, 16SrRNA, microorganism

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 123/2558 รวมไปถึงคณะวิศวกรรมศาสตร์ และภาควิชาวิศวกรรมเคมีที่อำนวยความสะดวกและเครื่องมือในการทำวิจัย รวมไปถึงคณาจารย์และนิสิตของภาควิชาวิศวกรรมเคมีที่ให้คำแนะนำและทำการทดลองทำให้งานวิจัยในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

นางสาวญาณิศา ละอองอุทัย

ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์
มหาวิทยาลัยบูรพา

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญภาพ.....	ช
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	2
1.4 วิธีดำเนินการวิจัย.....	2
1.5 คำสำคัญของการวิจัย.....	2
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 แนวคิด ทฤษฎีหลักตามประเด็นให้ครอบคลุมเรื่องที่วิจัย.....	4
2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง/การทบทวนวรรณกรรม.....	12
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	15
3.1 วัตถุประสงค์.....	15
3.2 เครื่องปฏิกิริยชีวภาพ.....	15
3.3 ศึกษาอิทธิพลของ pH เริ่มต้นและอุณหภูมิต่ออัตราการผลิตแก๊สชีวภาพ..... หรือแก๊สไฮโดรเจน.....	15
3.4 ศึกษาและจำแนกชนิดของจุลชีพที่สำคัญในการะบวนการผลิตแก๊สชีวภาพ.....	16
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	18
4.1 การออกแบบเครื่องปฏิกิริยชีวภาพ.....	18
4.2 คุณสมบัติทางเคมีของตะกอนเลนก่อนและหลังหมัก.....	19
4.3...อิทธิพลของ pH เริ่มต้น และ อุณหภูมิ ต่ออัตราการผลิตแก๊สชีวภาพหรือแก๊สไฮโดรเจน.....	19
4.4 วิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซชีวภาพ.....	21
4.5 ชนิดของจุลชีพที่สำคัญในการะบวนการผลิตแก๊สชีวภาพจากตะกอนเลนบ่อกึ่ง.....	22
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	24
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	24
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	24
5.3 ผลผลิต.....	24
รายงานการเงิน.....	25
เอกสารอ้างอิง.....	26

ภาคผนวก.....	29
ประวัตินักวิจัย.....	26

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 แสดงปริมาณ ปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) และปริมาณของแข็งระเหย (VS)	19
4.2 องค์ประกอบของแก๊สจากการหมักตะกอนเลนบ่อกึ่งที่อุณหภูมิ 40 °C.....	21
4.3 กลุ่มชนิดของแบคทีเรียในกระบวนการผลิตก๊าซชีวภาพที่พบในตะกอนเลนบ่อกึ่งหลังการผลิตแก๊สชีวภาพ	23

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 ส่วนประกอบของไรโบโซมโพรคาริโอต.....	7
2.2 แบบจำลองการทำงานของนิวรอนโดย McCulloch-Pitts	8
2.3 ฟังก์ชันกระตุ้นที่ใช้เป็นฟังก์ชันการแปลง (transfer function)	8
2.4 หน้าที่และการทำงานของนิวรอน.....	9
2.5 โครงสร้างของข่ายงานนิวรัล.....	9
2.6 ข่ายงานนิวรัลที่มีชั้นน้ำหนั 3 ชั้น.....	10
2.7 แสดงขั้นตอนในการหาแบบจำลองข่ายงานนิวรัล.....	12
3.1 ตัวอย่างแบบจำลองถังหมัก.....	15
3.2 สภาวะการทำ PCR (Polymerase chain reaction).....	17
4.1 ภาพแสดงชุดเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ.....	18
4.2 กราฟความสัมพันธ์ของการเปลี่ยนแปลงค่า pH เทียบกับเวลา ณ pH เริ่มต้น 6, 7 และ 8.....	20
4.3 กราฟความสัมพันธ์ของปริมาณแก๊สสะสมเทียบกับเวลา ณ pH เริ่มต้น 6, 7 และ 8.....	20
4.4 แสดงปริมาณแก๊สสะสมจากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ที่ 38, 40 และ 42 °C.....	21

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การแปรรูปนับว่าเป็นสินค้าส่งออกที่สำคัญที่สุดในกลุ่มสินค้าประมงของไทย สามารถสร้างรายได้จากการส่งออกกว่า 3 พันล้านเหรียญสหรัฐฯ ต่อปี [1] จึงทำให้มีการขยายพื้นที่ในการเพาะเลี้ยงมากขึ้น โดยเฉพาะจังหวัดที่มีพื้นที่ติดทะเลซึ่งสะดวกในการนำน้ำทะเลมาใช้ในการเลี้ยงกุ้ง ปัญหาที่ตามมาคือมีการใช้ยาและสารเคมีหลายชนิดสำหรับควบคุมการติดเชื้อในกระบวนการเลี้ยงกุ้ง แต่เนื่องจากความรู้ความเข้าใจในเรื่องการใช้ยาและสารเคมียังไม่ส่งเสริมไม่ทั่วถึง ทำให้เกิดปัญหาสารเคมีตกค้างในธรรมชาติ [2] นอกจากนี้ปัญหามลภาวะจากสารเคมีตกค้างการเลี้ยงกุ้งยังเกิดจากอาหารเลี้ยงกุ้งที่สะสมบ่อเลี้ยงกุ้งและของเสียที่กุ้งปล่อยออกมาหรือมูลกุ้ง พบว่าภาวะมลพิษจากบ่อเลี้ยงกุ้งถูกถ่ายเทไปยังสภาพแวดล้อมชายฝั่งเนื่องมาจากเกษตรกรมักปล่อยตะกอนเลนออกจากบ่อออกสู่ทะเลระหว่างการเลี้ยงหรือดูดตะกอนเลนออกจากบ่อเมื่อต้องการจะเตรียมบ่อใหม่ เป็นสาเหตุทำให้ระบบนิเวศป่าชายเลนเกิดมลภาวะและตื้นเขิน [3, 4]

กระบวนการผลิตแก๊สชีวภาพจากการหมักมูลกุ้งนั้น เป็นกระบวนการที่มีความซับซ้อนและเกี่ยวข้องกับตัวแปรหลายตัวแปรที่มีผลกระทบซึ่งกันและกัน จึงมีผลกระทบต่อเนื่องกับปริมาณแก๊สชีวภาพที่ผลิตได้ การหาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของกระบวนการนี้โดยใช้กฎการอนุรักษ์ (Conservation law) จึงยากที่จะเป็นไปได้ เนื่องจากเหตุผลที่กล่าวมาข้างต้นและยิ่งไปกว่านั้นค่าพารามิเตอร์ที่ถูกต้องของกระบวนการไม่สามารถหาได้ หรือหากสามารถหาแบบจำลองของกระบวนการได้ แบบจำลองของกระบวนการที่ได้จากหลักการนี้อาจจะไม่สามารถเป็นตัวแทนของกระบวนการได้เนื่องจากอยู่ภายใต้สมมติฐานต่างๆ ดังนั้นจึงมีวิธีการหนึ่งที่น่าสนใจและมีประสิทธิภาพที่ดีในการจำลองกระบวนการที่ซับซ้อน การประมาณค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ของกระบวนการและยังสามารถเป็นตัวควบคุมกระบวนการทางเคมีได้อย่างน่าพอใจ ซึ่งวิธีการที่กล่าวถึงนี้คือ ข่ายงานนิวรัล (Neural network)

ข่ายงานนิวรัลเป็นการจำลองกระบวนการโดยที่ไม่จำเป็นต้องอาศัยแบบจำลองเชิงคณิตศาสตร์ [5] กล่าวคือข่ายงานนิวรัลจะได้รับการฝึกฝนโดยป้อนค่าอินพุต (Input) ที่สอดคล้องกับเอาต์พุต (Output) และเรียนรู้ชุดข้อมูลกลับไปกลับมาเพื่อให้ทำนายค่าเอาต์พุตที่ใกล้เคียงกับค่าเป้าหมายที่ได้ป้อนเข้าไป ระหว่างนั้นข่ายงานจะทำการสร้างแบบจำลองภายในแทนแบบจำลองจริงของกระบวนการ จนกระทั่งข่ายงานได้รับการฝึกฝนจนได้ค่าเอาต์พุตเป็นที่ยอมรับแล้ว ก็จะนำข่ายงานนั้นไปใช้เป็นแบบจำลองเพื่อทำนายเอาต์พุตที่จะเกิดขึ้นตามเงื่อนไขของข้อมูลใหม่ที่ป้อนเข้าให้ข่ายงาน [6] โดยข้อดีของการสร้างแบบจำลองโครงข่ายนิวรัลคือสามารถอธิบายกระบวนการที่มีความซับซ้อนและไม่เป็นเชิงเส้นสูงโดยอาศัยข้อมูลตัวแปรขาเข้าและขาออกของกระบวนการที่สามารถวัดค่าได้โดยตรงจากกระบวนการเท่านั้น [7] ในการสร้างแบบจำลองของกระบวนการด้วยข่ายงานนิวรัลนั้นอันดับแรกต้องทำความรู้จักกับโครงสร้างและองค์ประกอบของข่ายงาน รูปแบบต่างๆ ของข่ายงานก่อน ซึ่งจะได้กล่าวถึงในรายละเอียดต่อไป

ในงานวิจัยครั้งนี้จึงมีความสนใจในการหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแก๊สชีวภาพ หรือแก๊สไฮโดรเจน ซึ่งเป็นองค์ประกอบหนึ่งของแก๊สชีวภาพให้ได้ประสิทธิภาพมากขึ้น เพื่อเป็นแนวทางหนึ่งในการผลิตพลังงานทางเลือก หรือต่อยอดสำหรับการผลิตกระแสไฟฟ้า รวมถึงการจำแนก และศึกษาชนิดจุลชีพจากตะกอนมูลกุ้ง

หลังผ่านกระบวนการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจนด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล และจุลชีววิทยา เพื่อนำเชื้อที่น่าสนใจที่เกี่ยวข้องกับการผลิตไฮโดรเจน มาเป็นหัวเชื้อเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตแก๊สชีวภาพต่อไป อีกทั้งยังส่งเสริมให้เกษตรกรหันมาบำบัดมูลกิ้งเพื่อดูแลสิ่งแวดล้อมและเพิ่มมูลค่าให้กับของเสีย เพื่อพัฒนาไปเป็นการจัดการการเลี้ยงกิ้งแบบครบวงจรและยั่งยืนต่อไปในอนาคต

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. จำแนกชนิดของจุลชีพที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิตไฮโดรเจนหรือแก๊สชีวภาพจากตะกอนเลนจากบ่อกึ่งทะเลหลังกระบวนการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจนด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล และจุลชีววิทยา

2. เพื่อสร้างแบบจำลองของกระบวนการผลิตแก๊สชีวภาพจากตะกอนเลนจากบ่อกึ่งทะเลหลังกระบวนการแบบไม่ใช้ออกซิเจนด้วยข่ายงานนิวรัลและนำแบบจำลองดังกล่าวไปใช้ในกระบวนการผลิต

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

ตะกอนเลนบ่อกึ่งจากฟาร์มกิ้งในภาคตะวันออกเฉียงเหนือถูกเลือกมาเป็นวัตถุดิบที่ใช้ในการหมักแบบไร้ออกซิเจนในที่มีดเป็นระยะเวลา 30 วัน สำหรับถังหมักจะออกแบบโดยมีขนาด ประมาณ 50 ลิตร ติดตั้งหัวโพรบวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง วัดอุณหภูมิภายใน ภายนอกเครื่องปฏิกรณ์ และมีระบบติดตามอัตราการเกิดก๊าซชีวภาพโดยเชื่อมต่อกับคอมพิวเตอร์ สำหรับปัจจัยที่ศึกษาคือ ผลของระดับน้ำซึ่งเป็นปัจจัยกำหนดการแพร่ของออกซิเจนที่หลงเหลืออยู่ในถังหมัก สัดส่วนของหัวเชื้อที่แยกได้หลังการหมักซึ่งเลือกสายพันธุ์ที่สำคัญในกระบวนการผลิตแก๊สชีวภาพ และสัดส่วนปริมาณตะกอนเลนและกากน้ำตาล ที่มีผลประสิทธิภาพการผลิตแก๊สชีวภาพหรือแก๊สไฮโดรเจน จากนั้นนำผลการทดลองที่ได้ไปศึกษาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของกระบวนการผลิตแก๊สชีวภาพด้วยข่ายงานนิวรัลและหาสภาวะเหมาะสมเพื่อทำการผลิตจริงในระดับครัวเรือน

1.4 วิธีดำเนินการวิจัย

1. เก็บตัวอย่างตะกอนเลน
2. ออกแบบและสร้างถังปฏิกรณ์ชีวภาพรวมถึงชุดควบคุมในการวัดพารามิเตอร์ต่างๆ
3. ทำการหมักตะกอนเลนผสมกากน้ำตาลในระบบไร้ออกซิเจนที่ระดับน้ำต่างๆ และวัดค่าที่สนใจ
4. แยกจุลชีพที่ได้จากหมัก
5. วิเคราะห์ชนิดของเชื้อด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล
6. ทำการหมัก ณ อุณหภูมิ และ pH ต่างๆ และตรวจวัดค่าพารามิเตอร์ที่กำหนด (แก้ไขจากแบบเสนอโครงการวิจัย เนื่องจากตัวแปรดังกล่าวมีผลต่อปริมาณการผลิตแก๊ส และเนื่องจากเชื้อที่แยกได้เป็นชนิดที่ไม่มีผลการผลิตแก๊สมากนัก)

1.5 คำสำคัญของการวิจัย

แก๊สชีวภาพ (Biogas) ตะกอนเลนบ่อกึ่ง (Shrimp pond sediment) กากน้ำตาล (Molasses) โมเดลทางคณิตศาสตร์ (Modeling) ข่ายงานนิวรัล (Neural network)

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

การเผยแพร่ในวารสาร:

ข้อมูลการทดลองที่ได้จากโครงการวิจัยคาดว่าจะตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารวิชาการที่ปรากฏในฐานข้อมูลการจัดอันดับวารสาร SJR (SCImago Journal Rank)

ผลงานวิจัยดังกล่าวสามารถนำมาใช้เป็นแนวทางในการผลิตพลังงานทางเลือกให้กับชุมชน หรือแม้โรงงานอุตสาหกรรมในการที่จะนำเอาของเสียทางชีวภาพ หรือสารอินทรีย์มาใช้ให้เกิดประโยชน์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มเกษตรกรเลี้ยงกุ้งรวมถึงอุตสาหกรรมเลี้ยงส่งออกใหญ่ๆ อย่างเช่น เคลือบบริษัท CP ที่ผลิตกุ้งจำนวนมาก ก็สามารถประยุกต์งานวิจัยดังกล่าวเพื่อพัฒนาอย่างยั่งยืนของโรงงานได้

หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์:

งานวิจัยนี้จะเกิดประโยชน์อย่างยิ่งทั้งต่อผู้ประกอบการและเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้ง รวมถึงสถาบันการศึกษา อีกทั้งยังเป็นฐานข้อมูลสำหรับการพัฒนากระบวนการผลิตแก๊สชีวภาพและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องต่อไป

บทที่ 2

แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง/การทบทวนวรรณกรรม

2.1 แนวคิด ทฤษฎีหลักตามประเด็นให้ครอบคลุมเรื่องที่วิจัย

1. ก๊าซชีวภาพ

ก๊าซชีวภาพ คือ ก๊าซที่เกิดจากการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยแบคทีเรียภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (Anaerobic digestion) โดยทั่วไปก๊าซชีวภาพจะประกอบด้วย ก๊าซมีเทน (CH_4) ประมาณร้อยละ 50-70 ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ประมาณร้อยละ 30-40 ส่วนที่เหลือจะเป็นก๊าซชนิดอื่นๆ เช่น แอมโมเนีย (NH_4) ไฮโดรเจน (H_2) และไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) แต่จะมีอยู่ในปริมาณที่น้อย ก๊าซมีเทนเป็นก๊าซที่ให้ค่าพลังงานความร้อนสูง โดยสามารถให้พลังงานความร้อนได้ประมาณ 9,000 กิโลแคลอรีต่อลูกบาศก์เมตร หรือ 21,000 กิโลจูลต่อลูกบาศก์เมตร ดังนั้นจึงสามารถนำก๊าซชีวภาพไปใช้ประโยชน์ได้หลายทาง เช่น เผาเพื่อใช้ประโยชน์จากความร้อนโดยตรง ใช้เป็นเชื้อเพลิงในเครื่องยนต์ หรือใช้ในการผลิตกระแสไฟฟ้า เป็นต้น [8]

2. กระบวนการเกิดก๊าซชีวภาพ

ก๊าซชีวภาพ (Biogas) คือ ก๊าซที่เกิดจากกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในสภาวะไม่ใช้ออกซิเจนด้วยแบคทีเรีย 2 กลุ่ม คือ แบคทีเรียกลุ่มผลิตกรด (Acid forming bacteria) และแบคทีเรียกลุ่มผลิตมีเทน (Methane producing bacteria) โดยแบคทีเรียกลุ่มผลิตกรด จะทำการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีโครงสร้างโมเลกุลใหญ่ ให้กลายเป็นสารอินทรีย์ที่มีโครงสร้างโมเลกุลเล็กลง จากนั้นแบคทีเรียกลุ่มผลิตมีเทนจะใช้อินทรีย์ที่มีโครงสร้างโมเลกุลเล็กเป็นสารอาหารและย่อยสลายให้เกิดเป็นก๊าซมีเทน (CH_4) ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) โดยมีก๊าซอื่นๆ เกิดขึ้นในปริมาณเล็กน้อย เช่น ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) และก๊าซแอมโมเนีย (NH_3) เป็นต้น กระบวนการเกิดชีวภาพต้องระวังไม่ให้อากาศเข้าไปสัมผัสกับแบคทีเรียกลุ่มผลิตมีเทน เพราะจะทำให้ประสิทธิภาพการผลิตก๊าซมีเทนลดลง ก๊าซชีวภาพสามารถเกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติเมื่อมีแบคทีเรีย สารอินทรีย์ และอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมในสภาวะไร้อากาศ ในธรรมชาตินั้น ก๊าซชีวภาพมักจะเกิดขึ้นบริเวณที่มีการหมัก เช่น ก้นบ่อ ก้นแม่น้ำ ก้นทะเลสาบ หนองน้ำ บึง และนาข้าวที่มีน้ำท่วมขัง เป็นต้น [9]

2.1 กระบวนการย่อยสลายในสภาวะไม่ใช้ออกซิเจน

ในกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในสภาวะไม่ใช้ออกซิเจนแบ่งเป็น 4 ขั้นตอน คือ

ขั้นตอนที่ 1 กระบวนการไฮโดรไลซิส (Hydrolysis)

เป็นการกระบวนการที่เกิดขึ้นภายนอกเซลล์แบคทีเรีย โดยสารอินทรีย์โมเลกุลขนาดใหญ่จะถูกแบคทีเรียย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์ปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ (Extracellular enzyme) ให้กลายเป็นสารประกอบเชิงเดี่ยว (Monomer) สำหรับใช้ในกระบวนการสร้างกรด แบคทีเรียที่หน้าที่ในการย่อยสลาย คือ แบคทีเรียจำพวกแฟคคัลเททีฟแอนโรบิกแบคทีเรีย (Facultative anaerobic bacteria) โดยกลุ่มของแบคทีเรียในขั้นตอนนี้จะแบ่งได้ตามชนิดของเอนไซม์ที่ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ คือ Cellulytic, Lipolytic และ Proeolytic [8]

ขั้นตอนที่ 2 กระบวนการสร้างกรด (Acidogenesis)

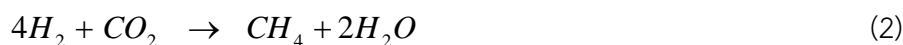
เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นภายในเซลล์แบคทีเรีย การย่อยสลายในขั้นตอนนี้จะใช้สารที่ได้จากการย่อยในขั้นตอนนี้แรกเป็นสารตั้งต้นสำหรับแบคทีเรียประเภทสร้างกรด โดยแบคทีเรียกลุ่มนี้จะเปลี่ยนสารอาหารดังกล่าวให้เป็นกรดอินทรีย์โมเลกุลขนาดเล็ก เช่น กรดอะซิติก (Acetic acid) กรดโพรไพโอนิก (Propionic acid) กรดวาเลอริก (Valeric acid) และกรดแลคติก (Lactic acid) เป็นต้น โดยกรดที่เกิดขึ้นทั้งหมดจะมีสัดส่วนของกรดซิกสูงที่สุด นอกจากนี้ยังมีการเกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ขึ้นในขั้นตอนนี้ด้วย [8]

ขั้นตอนที่ 3 กระบวนการสร้างกรดอะซิติก (Acetogenesis)

เป็นขั้นตอนที่แบคทีเรียสร้างสารอะซิติกจากพวกอะซิโตน (Acetone) จะเปลี่ยนสารจำพวก กรดไขมันระเหยง่าย ให้เป็นสารอะซิเตต ,ฟอร์เมต ,ไฮโดรเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งเป็นสารอาหารตั้งต้นของแบคทีเรียขั้นต่อไป [10]

ขั้นตอนที่ 4 กระบวนการสร้างมีเทน (Methanogenesis)

กรดอินทรีย์โมเลกุลขนาดเล็ก ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และก๊าซไฮโดรเจน (H_2) ที่เกิดจากขั้นตอนการสร้างกรดจะถูกเปลี่ยนเป็นก๊าซมีเทนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ โดยแบคทีเรียสร้างมีเทน (Methane forming bacteria) การเกิดก๊าซมีเทนเกิดได้ 2 แบบ แบบแรก คือ เกิดจากการเปลี่ยนกรดอินทรีย์ไปเป็นก๊าซมีเทน และอีกส่วนหนึ่งจะเกิดจากการรีดิวซ์ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซไฮโดรเจนให้กลายเป็นก๊าซมีเทน โดยแบคทีเรียประเภท Hydrogen-Utilizing Methane Bacteria ดังสมการที่ 1 และ 2 [8]



2.2 แบคทีเรียในกระบวนการย่อยสลายในสภาวะไม่ใช้ออกซิเจน

ในกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไม่ใช้ออกซิเจน ต้องอาศัยการทำงานของแบคทีเรียหลายชนิดรวมกัน ซึ่งแบคทีเรียที่มีบทบาทต่อกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในสภาวะไม่ใช้ออกซิเจนแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ แบคทีเรียกลุ่มผลิตกรด (Acid forming bacteria) และแบคทีเรียกลุ่มผลิตก๊าซมีเทน (Methane producing bacteria)

2.2.1 แบคทีเรียกลุ่มผลิตกรด (Acid forming bacteria)

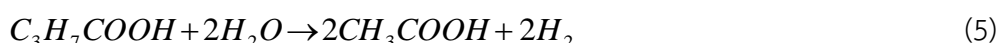
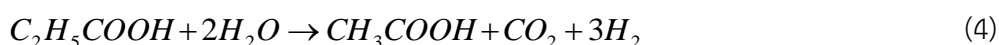
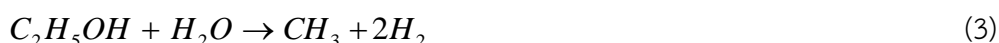
แบคทีเรียกลุ่มที่ผลิตกรดเป็นแบคทีเรียกลุ่ม Facultative anaerobic bacteria ซึ่งสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน โดยรับพลังงานจากการย่อยสลายของสารอินทรีย์โมเลกุลขนาดใหญ่ให้เป็นโมเลกุลขนาดเล็ก เช่น กรดไขมัน กรดอินทรีย์ระเหยง่าย ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซไฮโดรเจน และก๊าซแอมโมเนีย เป็นต้น แบคทีเรียกลุ่มผลิตกรดจะแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

1) **อะซิโตเจนนิคแบคทีเรีย** เป็นแบคทีเรียกลุ่มที่ใหญ่ที่สุดในกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไม่ใช้ออกซิเจน เนื่องจากสามารถใช้สารอินทรีย์เป็นอาหารได้หลายชนิดและมีอัตราการเจริญเติบโตที่สูง แบคทีเรียกลุ่มนี้ทำหน้าที่ย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีโครงสร้างโมเลกุลขนาดใหญ่ให้เป็นโมเลกุลเดี่ยวที่ละลายน้ำได้ เช่น กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก กรดบิวทีริก เป็นต้น

2) อะซิโตเจนิกแบคทีเรีย

แบคทีเรียกลุ่มนี้เป็นพวกที่ย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ได้จากการย่อยสลายของแบคทีเรียกลุ่มอะซิโตเจนิกแบคทีเรีย แล้วเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติก สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

Hydrogen producing acetogenic bacteria แบคทีเรียในกลุ่มนี้ทำหน้าที่ย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ได้จากการย่อยสลายสารอินทรีย์ในขั้นตอนไฮโดรไลซิส ซึ่งได้แก่ แอลกอฮอล์ และกรดอินทรีย์ ได้เป็นกรดอะซิติก ก๊าซไฮโดรเจน และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ดังสมการที่ 3, 4 และ 5 (กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2553)

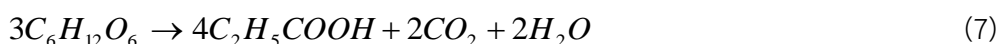


Homoacetogenic bacteria แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่

1) **Autotroph** ได้แก่ แบคทีเรียที่ใช้สารประกอบที่มีคาร์บอน 1 อะตอม เช่น ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และก๊าซไฮโดรเจนในการเจริญเติบโต และได้ผลสุดท้ายเป็นกรดอะซิเตต ดังสมการที่ 6



2) **Heterotroph** ได้แก่ แบคทีเรียที่ใช้สารประกอบที่มีคาร์บอนหลายอะตอมในการเจริญเติบโต ผลผลิตที่ได้มี ทั้งอะซิเตต และโพรพิอเนต ซึ่งเป็นสารตัวกลางที่สำคัญในการผลิตก๊าซมีเทน ดังสมการที่ 7



2.2.2 แบคทีเรียกลุ่มผลิตมีเทน (Methane producing bacteria)

แบคทีเรียที่สร้างผลิตมีเทนจะเจริญเติบโตได้ช้า และยังความไวต่อการเปลี่ยนแปลงมาก โดยแบคทีเรียกลุ่มที่ผลิตมีเทนแบ่งออกได้ 2 ชนิด คือ

1) **Hydrogenotrophic methanogen** ซึ่งเปลี่ยนก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ไปเป็นก๊าซมีเทน ดังสมการที่ 8



แบคทีเรียกลุ่มนี้มีบทบาทสำคัญคือจะใช้ก๊าซไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นในขั้นตอนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในสภาวะไม่ใช้ออกาศในกระบวนการสร้างกรด โดยช่วยคงสภาวะให้มีปริมาณก๊าซไฮโดรเจนต่ำลง ซึ่งมีผลต่อการเกิดอะซิเตตอย่างต่อเนื่อง

2) **Acetotrophic methanogens** จะเปลี่ยนอะซิเตตไปเป็นก๊าซมีเทนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ดังสมการที่ 9



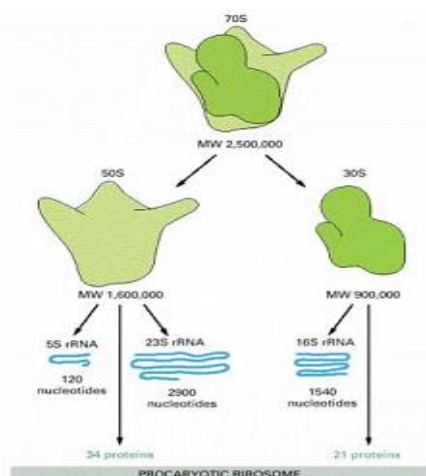
ปริมาณก๊าซมีเทนที่เกิดขึ้นประมาณ 2 ใน 3 เกิดจากการเปลี่ยนอะซิเตตไปเป็นก๊าซมีเทนโดยแบคทีเรียกลุ่ม Acetotrophic methanogens และที่เหลือเป็นผลของปฏิกิริยาระหว่างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซไฮโดรเจนโดยแบคทีเรียกลุ่ม Hydrogenotrophic methanogens [9]

จากกระบวนการผลิตแก๊สชีวภาพดังกล่าวเราจะเห็นว่ามียหลายกระบวนการที่ให้แก๊สไฮโดรเจนออกมา เช่น ในกระบวนการอะซิโตเจเนซิส ด้วยแบคทีเรียกลุ่ม Hydrogen producing acetogenic bacteria นอกจากนี้ยังมีแบคทีเรียกลุ่มที่เปลี่ยนสารประกอบคาร์บอน 1 อะตอม เช่น เมทานอล และมีเทน ให้เป็นแก๊สไฮโดรเจนได้อีกด้วย [11]

3. การจำแนกชนิดของจุลินทรีย์ [12]

ปัจจุบันการเปรียบเทียบด้วยการอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA sequencing) เป็นวิธีที่นิยมนำมาใช้จำแนกชนิดของจุลินทรีย์ เนื่องจากให้ข้อมูลความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการในการวัดการสืบทอดทางพันธุกรรมร่วมกัน โดย Ribosomal RNA gene ถูกเลือกมาศึกษาความสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตกันอย่างแพร่หลาย

ไรโบโซมของโพรคาริโอตมีขนาด 70S ซึ่งประกอบด้วยหน่วยย่อย 2 หน่วย คือหน่วยขนาดใหญ่ 50S (Large subunit) และหน่วยขนาดเล็กขนาด 30S (Small subunit) โดยหน่วยใหญ่ประกอบด้วย 23S rRNA ขนาดประมาณ 2,904 นิวคลีโอไทด์ 5S rRNA ขนาดประมาณ 120 นิวคลีโอไทด์ และโปรตีน 34 ชนิด ส่วนหน่วยเล็กประกอบด้วย 16S rRNA ขนาดประมาณ 1,541 นิวคลีโอไทด์ และโปรตีน 21 ชนิด ดังรูปที่ 2.1 [13]



รูปที่ 2.1 ส่วนประกอบของไรโบโซมโพรคาริโอต [13]

สำหรับการจำแนกชนิดของแบคทีเรานั้น นิยมตรวจสอบที่ยีน 16S rRNA ซึ่งเป็น mRNA ที่มีเพียงชุดเดียวในจีโนมของแบคทีเรีย พบในแบคทีเรียทุกชนิดมีขนาดประมาณ 1500 เบสหรือมากกว่า [14, 15]

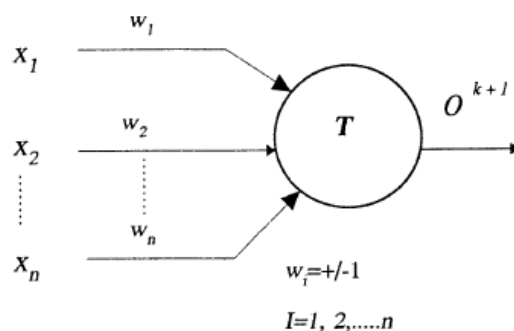
4. โครงสร้างของนิวรอน

นิวรอนเป็นองค์ประกอบที่สำคัญองค์ประกอบหนึ่งของข่ายงาน แสดงดังรูปที่ 2.2 โดยแบบจำลองส่วนใหญ่ของนิวรอนในปัจจุบัน ประกอบด้วย โหนด (processing element , node) กับส่วน เชื่อมโยง (synaptic connection) ระหว่างอินพุทกับ เอาท์พุท ซึ่งเรียกว่า น้ำหนัก (weights) โดยสัญญาณ ที่ออกจากเอาท์พุทของนิวรอน จะถูกแปลงค่าด้วย ฟังก์ชันกระตุ้น (activation function) ดังแสดงสัมพันธ์ต่อไปนี้ [16]

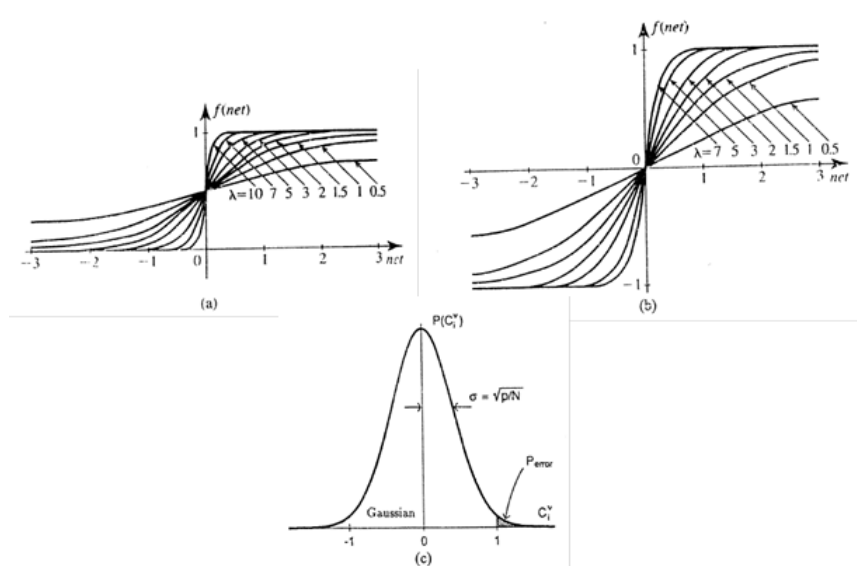
$$O = f(w^r x) = f\left(\sum_{i=1}^n w_i x_i\right) \quad \text{โดยที่} \quad net^A = w^r x \quad (10)$$

โดยที่ค่าฟังก์ชันกระตุ้น นั้นนิยมใช้ฟังก์ชันซิกมอยด์ (sigmoid) มีค่าอยู่ระหว่าง 0 – 1 หรือฟังก์ชัน ไบโพลาร์ (bipolar) มีค่าอยู่ระหว่าง -1 ถึง 1 และฟังก์ชันเกาส์เซียน (gaussian function) โดยรูปที่ 2.3 แสดงรูปร่างของฟังก์ชันกระตุ้น สำหรับรูปที่ 4 แสดงการทำงานของนิวรอน หน้าที่ของนิวรอนแต่ละหน่วยมีดังนี้

1. รับสัญญาณจากนิวรอนหน่วยอื่นๆ
2. รวมสัญญาณจากนิวรอนหน่วยอื่นเข้าด้วยกัน
3. แปลงสัญญาณโดยใช้ฟังก์ชันกระตุ้น ดังแสดงในรูปที่ 2.4
4. ส่งผลลัพธ์ไปยังนิวรอนหน่วยอื่นๆ

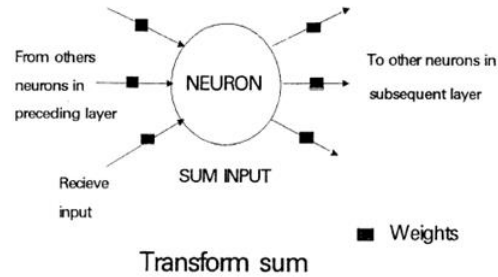


รูปที่ 2.2 แบบจำลองการทำงานของนิวรอนโดย McCulloch-Pitts



รูปที่ 2.3 ฟังก์ชันกระตุ้นที่ใช้เป็นฟังก์ชันการแปลง (transfer function)

(a) ฟังก์ชันซิกมอยด์ (b) ฟังก์ชันไบโพลาร์ (c) ฟังก์ชันเกาส์เซียน



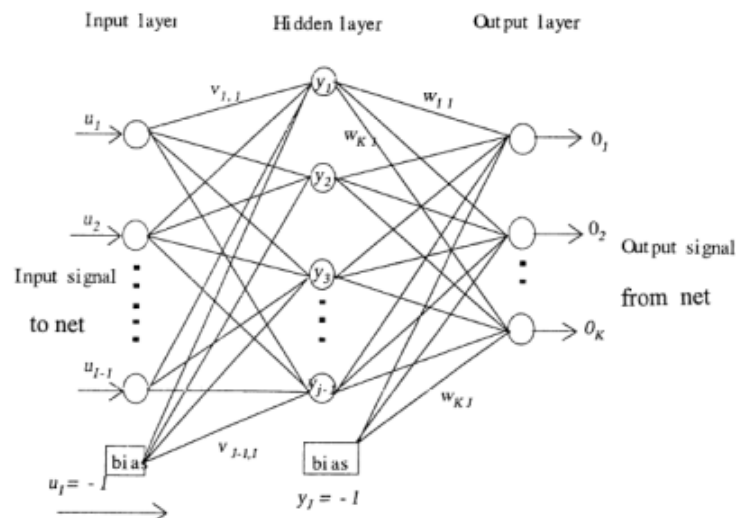
รูปที่ 2.4 หน้าทีและการทำงานของนิวรอน

สัญญาณที่เชื่อมโยงระหว่างนิวรอน คือ ค่าน้ำหนัก ซึ่งจะถูกรับเปลี่ยนแปลงค่า strength ตลอดเวลา ในระหว่างการเรียนรู้ เพื่อสร้างแบบจำลองภายใน ขึ้นมาให้ใกล้เคียงกับระบบ เมื่อค่าผลลัพธ์ที่ออกจากระบบ มีค่าใกล้เคียงกับ ค่าผลลัพธ์จากข่ายงาน ถือว่าแบบจำลองที่ได้สามารถใช้แทนแบบจำลองของกระบวนการได้

5. โครงสร้างข่ายงานนิวรัล

โครงสร้างข่ายงานนิวรัล ดังรูปที่ 2.5 ประกอบด้วย หน่วยย่อยๆ ที่เรียกว่า นิวรอน (neuron) โครงสร้างของข่ายงานนิวรัลจะเป็นชั้น (layer) 3 ชั้น เพื่อใช้ในการรับและส่งสัญญาณ คือ

1. ชั้นอินพุท (input layer) : รับข้อมูลที่ใช้ในการฝึกข่ายงานนิวรัล
2. ชั้นภายใน (hidden layer) : รวมสัญญาณจาก ชั้นรับข้อมูลไปแปลงค่า (transform) โดยใช้ฟังก์ชันกระตุ้น เพื่อใช้สร้างแบบจำลองภายในของระบบ ชั้นภายในสามารถ มีได้มากกว่า 1 ชั้น
3. ชั้นเอาต์พุท (output layer) : รวมสัญญาณจากชั้นภายในไปแปลงค่าเป็นผลลัพธ์ออกจากข่ายงานนิวรัล



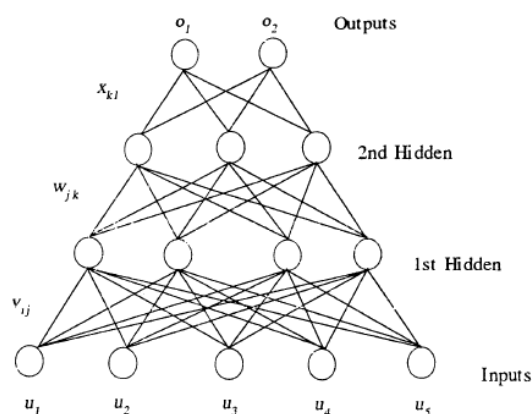
รูปที่ 2.5 โครงสร้างของข่ายงานนิวรัล

ข่ายงานนิวรัลตามทิศทางของการส่งถ่ายข้อมูลสามารถแบ่งออกเป็นประเภทใหญ่ๆ ได้ 2 ประเภทคือ

1. ข่ายงานนิวรัลแบบป้อนไปข้างหน้า (feedforward neural network) ข่ายงานชนิดนี้ประกอบด้วยชั้นต่างๆ ของโหนดโดยชั้นแรกจะเป็นชั้นข้อมูลป้อนเข้าและชั้นสุดท้ายจะเป็นชั้นข้อมูลส่งออก ส่วนระหว่างชั้นข้อมูลป้อนเข้ากับข้อมูลส่งออกอาจจะมีหรือไม่มีชั้นแอบแฝงก็ได้ การเชื่อมต่อระหว่างชั้นของข่ายงานนิวรัลแบบป้อนไปข้างหน้าจะมีค่าน้ำหนักเป็นตัวเชื่อมและสัญญาณของข้อมูลป้อนเข้าที่เข้ามาจะถูกส่งไปข้างหน้าจนถึงชั้นของข้อมูลส่งออกเท่านั้นโดยไม่มีป้อนกลับ
2. ข่ายงานนิวรัลแบบป้อนกลับ (Feedback neural network) จะมีโครงสร้างเหมือนข่ายงานนิวรัลแบบป้อนไปข้างหน้า แต่จะมีส่วนที่เพิ่มเข้ามาคือส่วนของการป้อนกลับของข้อมูล และการป้อนกลับจะมีการหน่วงเวลาไปจากเวลาเดิม

5. ข่ายงานนิวรัลหลายชั้นไม่เชิงเส้น (nonlinear multilayer neural networks)

เนื่องจากข่ายงานชั้นเดียวกันที่มีฟังก์ชันเชิงเส้น มีข้อจำกัดมากในการจำแนกและประมาณค่าของระบบ ต่อมาจึงได้มีการพัฒนาข่ายงานเป็นแบบหลายชั้น โดยชั้นในข่ายงานนิวรัลนั้นหมายถึง ชั้นของน้ำหนัก (weight layers) ดังรูปที่ 2.6 นั่นถือว่าเป็นข่ายงานนิวรัล 3 ชั้น เนื่องจากมีชั้นน้ำหนัก 3 ชั้น อันจะเป็นตัวแทนของการแปลงเชิงเส้น (linear transformations) ส่วนชั้นของนิวรอนนั้น จะให้ค่าการแปลงแบบไม่เชิงเส้น ดูเหมือนว่าถ้าใช้ข่ายงานนิวรัลที่มีชั้นมากกว่าน่าจะให้ผลที่จะทำให้ข่ายงานมีศักยภาพมากกว่า อย่างไรก็ตามในทางปฏิบัติพบว่าจำนวนชั้นที่มากเกินไปมักทำให้สมรรถนะของข่ายงานลดลง เนื่องจากต้องใช้เวลาในการเข้าสู่จุดต่ำสุด นอกจากนี้สัญญาณความผิดพลาดอาจยุ่งเหยิง เมื่อการกระจาย (propagation) ของการปรับน้ำหนักข้ามจำนวนชั้นมากเกินไป อาจทำให้เกิดจุดต่ำสุดในบริเวณ (local minima) เพิ่มขึ้นได้ ดังนั้นจึงมักนิยมใช้ ข่ายงานนิวรัล เพียง 2 ชั้น ในการนำมาใช้เป็นตัวประมาณค่าให้กับฟังก์ชันไม่เชิงเส้น [17] และข่ายงาน 3 ชั้น นั้นมีความสามารถเพียงพอที่จะจำแนกขอบเขตของโพลีฮีดรอล (polyhedral) ว่าเป็นโค้งเว้า (convex) หรือไม่ ชั้นของน้ำหนักจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเชิงเส้น (linear transformations) ส่วนชั้นของนิวรอนจะเกิดการเปลี่ยนแปลงแบบไม่เชิงเส้น (nonlinear) ที่นิวรอน ในทางปฏิบัติโดยทั่วไปแล้วพบว่าชั้นของฮิดเดนเพียง 2 ชั้น ก็ถือว่าเพียงพอต่อการแก้ปัญหาาระบบต่างๆ ได้สมบูรณ์ทุกระบบแล้ว [18]



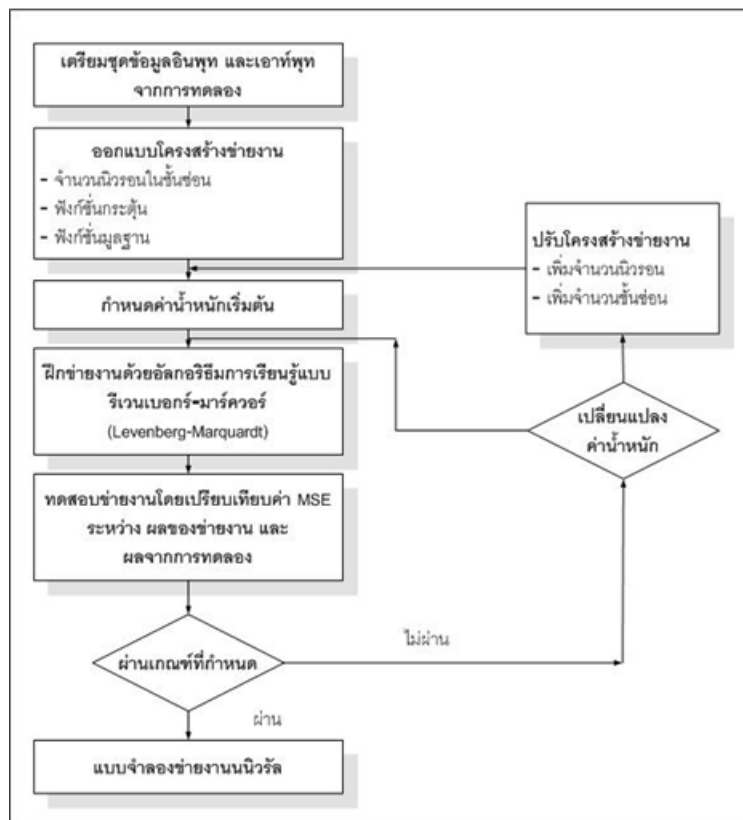
รูปที่ 2.6 ข่ายงานนิวรัลที่มีชั้นน้ำหนัก 3 ชั้น

ขั้นตอนในการสร้างข่ายงาน

ขั้นตอนของการฝึกข่ายงาน และการทดสอบข่ายงานสามารถแบ่งเป็นขั้นตอนที่สำคัญดังนี้

1. เตรียมชุดข้อมูลอินพุต และ เอาท์พุท เพื่อใช้สำหรับ ฝึกข่ายงาน และทดสอบข่ายงาน
2. ออกแบบโครงสร้างข่ายงาน ตั้งแต่จำนวนชั้นซ่อน จำนวนนิวรอนในแต่ละชั้นซ่อน เป็นต้น
3. กำหนดค่าเริ่มต้นของค่าถ่วงน้ำหนัก ส่วนใหญ่ใช้ค่าถ่วงน้ำหนักแบบสุ่ม
4. ทำการฝึกข่ายงานโดยใช้ โปรแกรมช่วยจำลอง ใช้อัลกอริธึมแบบเวนเบอร์เกอร์ – มาร์ควอร์ และทำการ ออปติไมซ์ฟังก์ชันค่าความผิดพลาดแบบกำลังสองเฉลี่ย (MSE) น้อยสุด
5. นำข่ายงานที่ได้มาทดสอบ ว่าสามารถทำให้ค่าความผิดพลาดแบบกำลังสองเฉลี่ย (MSE) ตามที่กำหนด ได้ หรือ ไม่
6. ถ้าไม่ได้ โปรแกรมจะทำการกำหนดปรับค่าถ่วงน้ำหนักใหม่ แล้วเริ่มฝึกข่ายงานอีกรอบ ทำจนกว่า การทดสอบข่ายงานได้ค่าความผิดพลาดแบบกำลังสองเฉลี่ย ตามที่กำหนด
7. สุดท้ายทำการทดสอบข่ายงานนิวรัลที่ทำการฝึกแล้วในแต่ละโครงสร้างข่ายงาน เพื่อดูว่าข่ายงานใดให้ ค่าความผิดพลาดแบบกำลังสองเฉลี่ยน้อยสุดในชุดข้อมูลทดสอบ จึงนำข่ายงานนั้นไปใช้ทำนาย หรือ เป็นตัวแทนของระบบ (Identification of Models)

ดังนั้นในการจำลองจึงมีการออกแบบข่ายงานจำนวนมากโดยใช้การลองผิดลองถูก (Trial and Error) เพื่อหาข่ายงานที่สามารถใช้เป็นแบบจำลองที่เป็นตัวแทนของระบบที่ดีที่สุด ขั้นตอนในการหาแบบจำลองข่ายงานนิวรัล แสดงดังรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.7 แสดงขั้นตอนในการหาแบบจำลองข่ายงานนิวรัล

การคัดเลือกข่ายงานนิวรัล

สำหรับการพิจารณาคัดเลือกข่ายงานที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นแบบจำลอง ในงานวิจัยนี้ได้นำดัชนีมาเปรียบเทียบเพื่อเป็นตัวตัดสินใจว่าจะเลือกใช้ข่ายงานใด คือ ค่า Mean Square Error (MSE) ซึ่งพิจารณาจากความแตกต่างระหว่าง ผลจากการทำนาย และ ผลจากกระบวนการจริง โดยเลือกข่ายงานที่สามารถให้ ค่า MSE ต่ำสุด ดังสมการที่ (11)

$$MSE = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (y_i - p_i)^2 \quad (11)$$

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง/การทบทวนวรรณกรรม

ตะกอนเลนกันป่อหรือที่เรียกกันทั่วไปว่า “มูลกุง” เป็นของเสียที่เกิดขึ้นจากการเลี้ยงกุ้งทะเล ประกอบด้วย ซากแพลงก์ตอนพืช ซากแพลงก์ตอนสัตว์ สิ่งขับถ่ายจากตัวกุ้ง มูลกุงและตะกอนดิน ทั้งหมดรวมกันเป็นของเสียที่อยู่ภายในป่อเลี้ยงกุ้งซึ่งจะกองรวมกันอยู่ตรงกลางบริเวณพื้นป่อ มีลักษณะเป็นโคลนเหลว และเหนียว สีดำเข้มมีกลิ่นเหม็นเล็กน้อย ตะกอนเลนที่เกิดขึ้นจากการเลี้ยงกุ้งทะเลประมาณ 3,000-6,000 ลิตรต่อไร่ ต่อระยะเวลาของการเลี้ยงกุ้งทะเลประมาณ 3-4 เดือน [19] ซึ่งมูลกุงดังกล่าวอุดมไปด้วยสารอินทรีย์และ

สารอินทรีย์ซึ่งเป็นสารอาหารที่สำคัญของการเจริญเติบโตของจุลชีพ เมื่อปล่อยลงสู่แหล่งน้ำหรือทะเลจึงมักก่อให้เกิดปรากฏการณ์ algae bloom ทำให้ออกซิเจนในน้ำทะเลลดลงส่งผลให้สิ่งมีชีวิตอื่นๆ ที่อยู่ในน้ำไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ ได้มีนักวิจัยบางกลุ่มสังเกตเห็นถึงประโยชน์จากความอุดมสมบูรณ์ของแหล่งอาหารสำหรับจุลชีพที่มีอยู่ในมูลกิ้งดั่งกล่าว นำมาใช้ในการผลิตพลังงานทดแทนในรูปของก๊าซชีวภาพพร้อมกับการบำบัดตะกอนเลนดั่งกล่าว โดยนายประสิทธิ์และคณะ [20] ได้ทำการจำแนกและตรวจสอบตะกอนจากบ่อเลี้ยงกุ้งทะเล และศึกษาการบำบัดตะกอนเลนจากบ่อเลี้ยงกุ้งดั่งกล่าวโดยกระบวนการย่อยสลายแบบไร้ออกซิเจนเพื่อการผลิตก๊าซชีวภาพโดยการไม่เติมและเติมจุลินทรีย์หัวเชื้อ พบว่าสภาวะทั้งสองสามารถลด BOD และ COD ได้ถึง 85-95 % นอกจากนี้ผลจากการบำบัดตะกอนเลนยังสามารถผลิตก๊าซชีวภาพสะสมทั้งหมดได้ 0.025 ลิตร/กรัม.ซีโอดีที่ถูกกำจัด ในการหมักตะกอนเลนจากการเลี้ยงกุ้งทะเลแบบไม่ใช้จุลินทรีย์ โดยมีองค์ประกอบของ CH₄ CO₂ และ N₂ ปริมาณเท่ากับ 44.34% 4.91 % และ 17.23% ตามลำดับ ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นพลังงานทดแทนได้อีกด้วย ซึ่งต่อมาประสิทธิ์ [21] ได้พบว่าหากมีการนำตะกอนเลนของบ่อเลี้ยงกุ้งดั่งกล่าวผสมกับน้ำตาลที่ 4, 8 และ 12% พบว่าสามารถผลิตแก๊สชีวภาพที่มีไฮโดรเจนเป็นองค์ประกอบ 4.5, 46.3 และ 48.96% ซึ่งพบว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ในทางตรงข้ามปริมาณมีเทนกลับลดน้อยลงจาก 61.57, 7.73 และ 4.04% ตามลำดับ จากงานวิจัยดั่งกล่าวจึงมีแนวโน้มที่เป็นไปได้ว่าหากมีการศึกษาสภาวะ และการเปลี่ยนแปลงระหว่างกระบวนการผลิตแก๊สชีวภาพดั่งกล่าวประกอบกับการทำโมเดลจะทำให้สามารถเข้าใจและทำนายกระบวนการดั่งกล่าวสำหรับการผลิตแก๊สชีวภาพในครัวเรือนหรืออุตสาหกรรมต่อไปโดยเฉพาะเกษตรกรเลี้ยงกุ้ง

แบคทีเรียผลิตไฮโดรเจน

มีรายงานเกี่ยวกับการผลิตไฮโดรเจนในระบบปิดโดยใช้จุลชีพที่มีดีว่ากลูโคส 1 โมล จากสารประกอบคาร์โบไฮเดรต สามารถผลิตไฮโดรเจนได้ 12 โมล ดังสมการที่ 12 [22, 23, 24]



ในปี 2009 ได้มีรายงานถึงความสำเร็จในการผลิตไฮโดรเจนในปริมาณสูงจากสารตั้งต้นพวกเซลลูโลส [25] นอกจากนี้ยังนำแนวคิดดั่งกล่าวมาศึกษาวิจัยเพื่อพัฒนาไปเป็นพลังงานสำหรับยานยนต์ในอนาคต [26] แต่อย่างไรก็ตามงานวิจัยทางด้านจำแนกเชื้อที่เกี่ยวข้องในกระบวนการผลิตไฮโดรเจนก็ยังมีอยู่ในวงจำกัด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศไทย ซึ่งมีสารตั้งต้นชีวมวลอยู่อย่างมาก

จากงานวิจัยและแนวคิดดั่งกล่าวทางกลุ่มผู้วิจัยจึงเล็งเห็นถึงความเป็นไปได้ในการที่จะศึกษาและจำแนกชนิดของกลุ่มแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิตไฮโดรเจน หรือแก๊สชีวภาพดั่งกล่าว เพื่อนำมาทดสอบเป็นเชื้อเริ่มต้นสำหรับพัฒนาการผลิตพลังงานจากชีวมวล

การผลิตและใช้ก๊าซชีวภาพในประเทศไทย

ประเทศไทยมีการส่งเสริมเทคโนโลยีก๊าซชีวภาพมานานกว่า 20 ปีแล้ว แต่ในระยะแรกจำกัดอยู่ในระดับครัวเรือนหรือเกษตรกรรายย่อยเท่านั้นปี พ .ศ.2534 ได้มีการจัดตั้งหน่วยบริการก๊าซชีวภาพ สังกัด

สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เพื่อดำเนินการศึกษาวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีให้สามารถประยุกต์ใช้ในฟาร์ม เลี้ยงสัตว์ได้อย่างกว้างขวางมากยิ่งขึ้น จนกระทั่งในปี พ .ศ.2551 หน่วยบริการก๊าซชีวภาพได้รับการจัดตั้งเป็น "สถาบันวิจัยและพัฒนาพลังงาน มหาวิทยาลัยเชียงใหม่และ " ต่อมา ในปี พ .ศ.2553 สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารีได้พระราชทานชื่อหน่วยงานใหม่ เป็น "สถาบันวิจัยและพัฒนาพลังงานนครพิงค์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่" ซึ่งได้ดำเนินโครงการส่งเสริมการผลิต ก๊าซชีวภาพต่อเนื่องมาจวบจนปัจจุบัน [27]

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัตถุประสงค์

- 1) ตะกอนเลนจากบ่อกึ่ง (จากฟาร์มกึ่งในภาคตะวันออก)

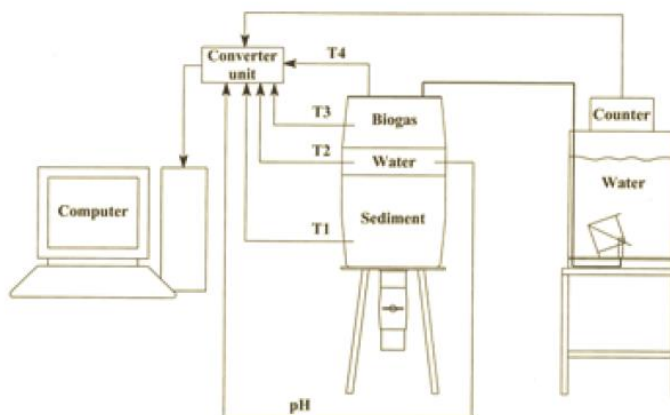
3.2 เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ

มีขนาดปริมาตรการใช้งานประมาณ 5 และ 30 ลิตร ติดตั้งหัวโพรบวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง วัดอุณหภูมิภายใน ภายนอกเครื่องปฏิกรณ์ และมีระบบตรวจวัดอัตราการเกิดก๊าซชีวภาพ คือ มีเทนและไฮโดรเจน ดังแบบจำลองภาพที่ 3.1 อ้างอิงจาก [7]

สถานะที่ใช้ในการหมัก คือ อุณหภูมิห้อง โดยทำการวัดค่าความเป็นกรด ด่าง อุณหภูมิ และปริมาณแก๊สมีเทนและไฮโดรเจน ทุกวัน

เวลาที่ใช้ในการหมัก คือ 1 เดือนต่อ ชุดการทดลอง

การหมักในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ การหมักจะใช้ระบบการย่อยสลัดจ์ (Sludge) แบบไร้ออกซิเจน โดยจะใส่ตะกอนเลนผสมไปครั้งเดียวตลอดการทดลอง (Batch)



รูปที่ 3.1 ตัวอย่างแบบจำลองถังหมัก อ้างอิงจาก [7]

3.3 ศึกษาอิทธิพลของ pH เริ่มต้น และ อุณหภูมิ ต่ออัตราการผลิตแก๊สชีวภาพหรือแก๊สไฮโดรเจน

1. การหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจน

นำตะกอนเลนบ่อกึ่งทะเลมาทำการหมักในถังหมักที่ออกแบบไว้เป็นเวลา 15-30 วัน โดยทำการ vary pH เริ่มต้น และ อุณหภูมิ แล้วทำการวัดติดตามค่าความเป็นกรดเป็นด่าง และวัดอุณหภูมิภายในถังปฏิกรณ์ และมีระบบตรวจวัดอัตราการเกิดก๊าซชีวภาพ

2. วิเคราะห์คุณสมบัติของตะกอนเลนก่อนและหลังหมักดังนี้

- วิเคราะห์ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง

- ปริมาณของแข็งทั้งหมด (Total Solids, TS)
- ปริมาณของแข็งระเหยทั้งหมด (Total Volatile Solids, TVS)
- ค่าความต้องการออกซิเจนวัดโดยวิธีชีวภาพ (Biological Oxygen Demand, BOD) หรือ ค่าความต้องการออกซิเจนในการย่อยสลายสารอินทรีย์ (Chemical Oxygen Demand, COD)

3. วิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซชีวภาพ ภายหลังการหมักด้วยเครื่อง Gas Chromatography (GC) เพื่อหาปริมาณของก๊าซชีวภาพดังนี้

- ก๊าซไฮโดรเจน (H_2)
- ก๊าซมีเทน (CH_4)
- ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2)
- ก๊าซไนโตรเจน (N_2)

4. วิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารของตะกอนเลน เช่น ไนโตรเจน (N), ฟอสฟอรัส (P), โพแทสเซียม (K), คาร์บอน (C)

5. วิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์วัตถุ (Organic Matter) และการนำไฟฟ้าของเกลือในตะกอนเลนผสมกากน้ำตาล

หมายเหตุ 4 และ 5 ยังไม่ได้ทำเนื่องจากยังหาสถานที่วิเคราะห์ยังไม่ได้

3.4 ศึกษาและจำแนกชนิดของจุลชีพที่สำคัญในการกระบวนการผลิตแก๊สชีวภาพ

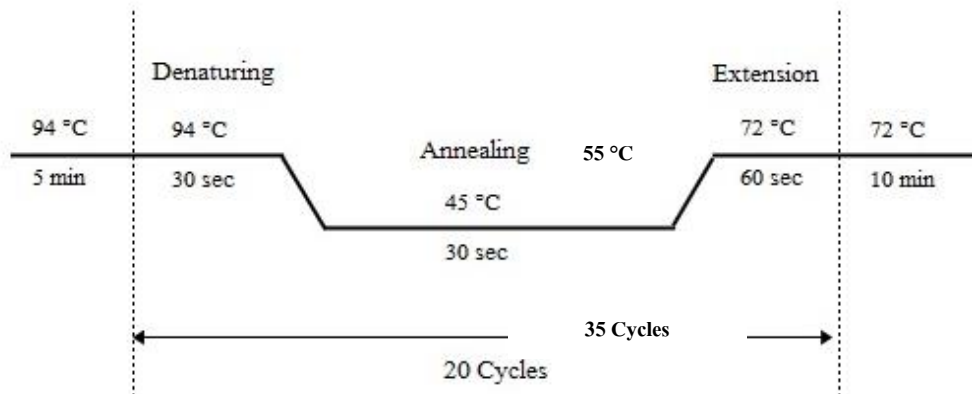
1. การจำแนกเชื้อแบคทีเรีย

นำตะกอนตัวอย่างมาเจือจางในน้ำเกลือ 0.85% (normal saline) สำหรับเชื้อที่ใช้ออกซิเจนและแฟคคัลเททีฟ นำมาเลี้ยงในอาหาร Nutrient Agar ส่วนเชื้อที่ไม่ใช้ออกซิเจนเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ SPS Agar และ Anaerobic Agar จากนั้นทำการย้ายโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียที่เกิดขึ้นในอาหารเหลว Thioglycollate Broth (TGB) จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียมาเลี้ยงในอาหารแข็ง Cooked Meat Medium (CMM) ทุกขั้นตอนการบ่มเชื้อทำในถังบ่มเพาะเชื้อชนิดไร้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิเหมาะสม แล้วเก็บเชื้อที่โตไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส ในสารละลายกริเซอร์อล

2. การวิเคราะห์หาลำดับดีเอ็นเอ

2.1 การสกัดโครโมโซมอลดีเอ็นเอ (Chromosomal DNA) ด้วยชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป นำสารละลายที่ได้มาตรวจสอบผลการสกัดดีเอ็นเอด้วยอะกาโรสเจลภายใต้กระแสไฟฟ้า (Agarose Gel electrophoresis) ที่มีความเข้มข้นของ Agarose ร้อยละ 1 จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)

2.2 การสังเคราะห์ยีนด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) นำสารละลายดีเอ็นเอสกัดได้มาทำการเพิ่มจำนวนยีน 16S rRNA ด้วยเทคนิค PCR ด้วยเครื่องเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรม (thermocycler) ซึ่งมีสภาวะการขยายสารพันธุกรรม ดังภาพที่ 3.2



รูปที่ 3.2 สภาวะการทำ PCR (Polymerase chain reaction)

2.3 การทำบริสุทธิ์ PCR product โดยใช้ QIAGEN PCR Purification Kit หรือ QIAGEN Gel Purification Kit และทำการวิเคราะห์ความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอด้วยเทคนิค Agarose Gel Electrophoresis บน agarose gel ความเข้มข้นร้อยละ 1.5

3. การวิเคราะห์ผลลำดับดีเอ็นเอ

นำดีเอ็นเอ ยีน 16S rRNA ที่บริสุทธิ์ ส่งไปวิเคราะห์หาลำดับดีเอ็นเอด้วยเทคนิค DNA sequencing บริษัทไบโอจีโนมेट จากนั้นนำผลลำดับดีเอ็นเอที่สนใจมาทำการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม BLAST โดยนำผลลำดับดีเอ็นเอที่ได้มาทำการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NCBI BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) เพื่อเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ (nucleotide sequence) ของดีเอ็นเอเลือกใช้ blastn ซึ่งใช้สำหรับค้นหาข้อมูลของนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) จากฐานข้อมูล

บทที่ 4 ผลการวิจัย

4.1 การออกแบบเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ

ชุดเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ประกอบไปด้วย ชุดวัดและบันทึกข้อมูล pH อุณหภูมิ และปริมาณแก๊ส (bubble counter) โดยข้อมูลจะถูกบันทึกด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ การควบคุมอุณหภูมิจะใช้อ่างน้ำปรับอุณหภูมิ (ไม่ได้ซื้อด้วยงบประมาณจากทุนวิจัย) โดยถังหมักใช้วัสดุอะคริลิก ขนาด 5 และ 30 ลิตร โดยมีชุดการทดลองขนาด 1 ลิตร ซึ่งใช้ขวดรูปชมพู่ เป็นชุดทดสอบเบื้องต้น และแก๊สจะเก็บในถุงเก็บแก๊ส ดังภาพที่ 4.1 เพื่อนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบด้วยเครื่อง Gas Chromatography



รูปที่ 4.1 ภาพแสดงชุดเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ

4.2 คุณสมบัติทางเคมีของตะกอนเลนก่อนและหลังหมัก

จากการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของตะกอนเลนบ่อกึ่ง ก่อนและหลังการหมัก โดยได้ทำการวัดว่า วิเคราะห์ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง, ปริมาณของแข็งทั้งหมด (Total Solids, TS), ปริมาณของแข็งระเหย (Volatile Solids, VS) และ ค่าความต้องการออกซิเจนในการย่อยสลายสารอินทรีย์ (Chemical Oxygen Demand, COD) พบว่าตะกอนเลนก่อนการหมัก (sediment) มีลักษณะทางกายภาพเป็นสีดำ ตะกอนละเอียด มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างอยู่ที่ 7.44 ซึ่งเหมาะกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ผลิตมีเทน ซึ่งก็คือ จุลินทรีย์ ตระกูล methanogens และอุณหภูมิจากบ่อ คือ 33.05 °C

นอกจากนี้พบว่าปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) ของตะกอนเลนบ่อกึ่งก่อนการหมักมีค่อนข้างสูง คือ 805,080 mg/L คิดเป็นของแข็งระเหยได้ (VS) 54,480 mg/L คิดเป็น 6.8 % ของตะกอน (sediment ดัง ตารางที่ 4.1) ซึ่งถือว่าปริมาณที่น้อยเมื่อเทียบกับของแข็งที่ไม่ระเหย ซึ่งนั่นหมายถึงปริมาณสารอินทรีย์ที่เป็น ของแข็งในตะกอนเลนมีอยู่น้อย ซึ่งอาจทำให้ได้ปริมาณแก๊สมีเทนออกมาน้อยตามไปด้วย โดยเมื่อหลังการหมัก (S) ค่าทั้งสองก็ลดลง ดังตารางที่ 4.1 แสดงให้เห็นว่าสารอินทรีย์ รวมถึงสารอินทรีย์บางส่วนถูกย่อยสลาย นอกจากนี้ผลการวัดปริมาณ COD พบว่า ตะกอนแห้ง 1 กรัม ก่อนหมักมีปริมาณ COD เท่ากับ 960 mg/L โดยหลังหมักเพิ่มขึ้นเป็น 1,400 mg/L อาจเนื่องมาจากการเจริญของจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นในถังหมัก เพราะเซลล์ รวมอยู่กับตะกอนเลนทำให้ COD เพิ่มขึ้น ด้วยเหตุนี้การวัดปริมาณ COD อาจไม่เหมาะกับการติดตามผลการ สลายสารอินทรีย์ที่อยู่ในรูปตะกอนลักษณะนี้ อาจจำเป็นต้องวัดค่า BOD แทน

ตารางที่ 4.1 แสดงปริมาณ ปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) และปริมาณของแข็งระเหย (VS)

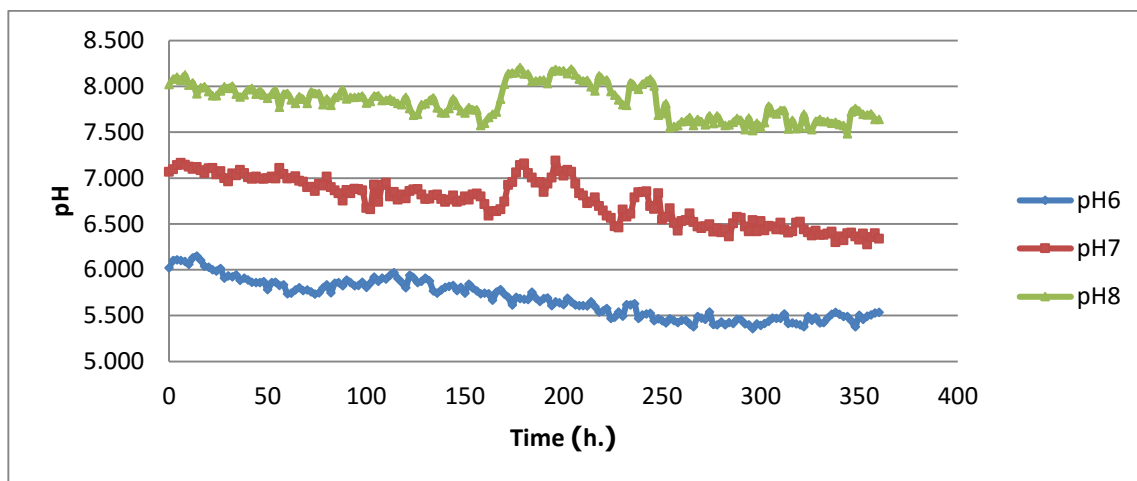
Biochemical properties	Sediment	S
TS (mg/L)	805,080	532,580
VS (mg/L)	54,480	34,580
TFS (mg/L)	750,600	498,000

4.3 อิทธิพลของ pH เริ่มต้น และ อุณหภูมิ ต่ออัตราการผลิตแก๊สชีวภาพหรือแก๊สไฮโดรเจน

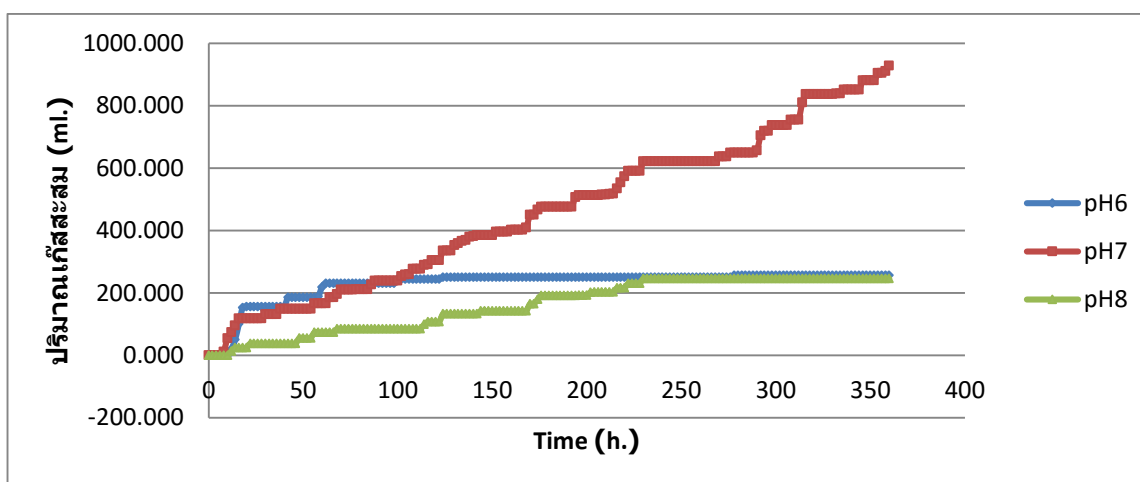
นำตะกอนเลนบ่อกึ่งทะเลมาทำการหมักในถังหมักที่ออกแบบไว้ คือ ปริมาตร 5 ลิตร เป็นเวลา 15 วัน โดยทำการเปลี่ยนแปลง pH เริ่มต้น และ อุณหภูมิ แล้วทำการวัดติดตามค่าความเป็นกรดเป็นด่าง และวัด อุณหภูมิภายในถังปฏิกรณ์ และมีระบบตรวจวัดอัตราการเกิดก๊าซชีวภาพ

ผลของ pH เริ่มต้น คือ 6, 7 และ 8 ต่อการเปลี่ยนแปลง pH ในระบบระหว่างกระบวนการหมักแบบ ไม่ใช้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 38°C พบว่า การเปลี่ยนแปลง pH อยู่ในช่วง 5.36-6.13, 6.28-7.19 และ 7.49-8.21 ตามลำดับ ดังภาพที่ 4.2 จะสังเกตเห็นว่า ที่ pH เริ่มต้น 7 และ 8 ณ เวลาชั่วโมงที่ 150-250 (วันที่ 6-10) pH ในระบบค่อยๆ เพิ่มขึ้น ซึ่งต่างจาก pH เริ่มต้น 6 ที่แนวโน้มของ pH ค่อยๆ ลดลงอย่างต่อเนื่อง ซึ่งการ เปลี่ยนแปลงของ pH ในระบบนี้จะมีผลต่อการทำงานของจุลินทรีย์ในกลุ่มผลิตมีเทน โดยถ้า pH ต่ำมาก จุลินทรีย์ในกลุ่มนี้จะไม่สามารถเจริญเติบโตได้ เมื่อพิจารณาปริมาณแก๊สที่ผลิตพบว่า ที่ pH เริ่มต้น 7 สามารถ

ผลิตแก๊สได้สูงที่สุด คือ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อใช้ pH เริ่มต้นเป็น 6 และ 8 ซึ่งสามารถผลิตแก๊สได้แค่ 248 ml เท่ากันทั้งสองสภาวะ ดังภาพที่ 4.3

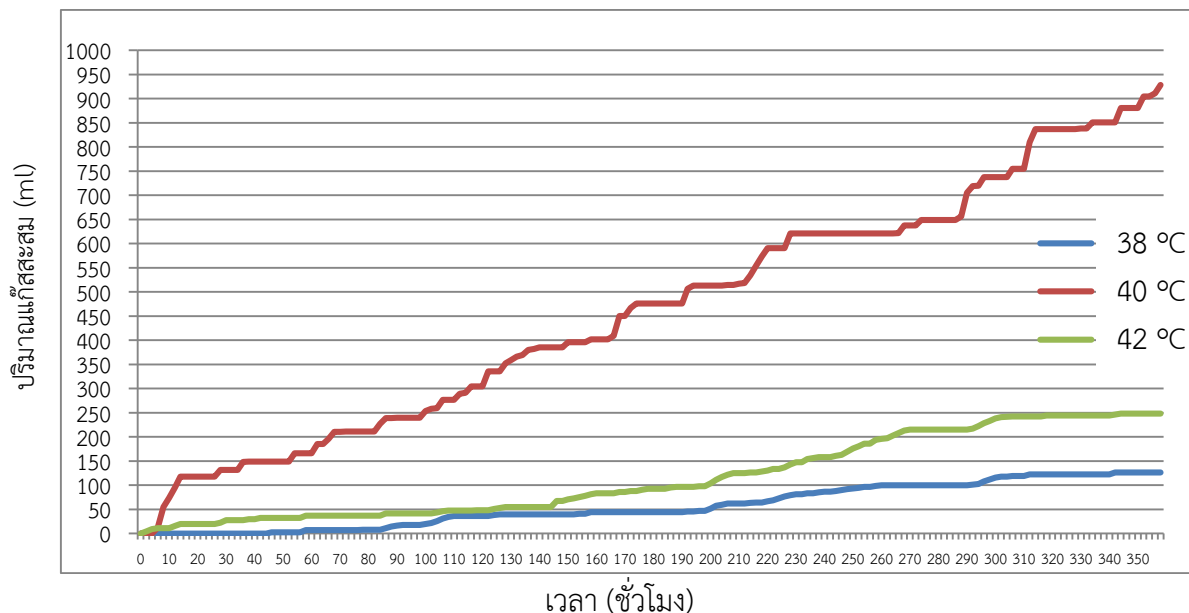


รูปที่ 4.2 กราฟความสัมพันธ์ของการเปลี่ยนแปลงค่า pH เทียบกับเวลา ณ pH เริ่มต้น 6, 7 และ 8



รูปที่ 4.3 กราฟความสัมพันธ์ของปริมาณแก๊สสะสมเทียบกับเวลา ณ pH เริ่มต้น 6, 7 และ 8

จากผลการปรับอุณหภูมิของการหมักที่ 38, 40 และ 42 °C พบว่าที่อุณหภูมิ 40 °C สามารถผลิตแก๊สได้สูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ คือ ปริมาณแก๊สสะสมอยู่ที่ 928 ml รองลงมา คือ ที่อุณหภูมิ 42 °C มีปริมาณแก๊สสะสมอยู่ที่ 248 ml และที่อุณหภูมิ 38 °C เกิดแก๊สปริมาณน้อยที่สุด คือ 126 ml (ดังรูปที่ 4.4)



รูปที่ 4.4 แสดงปริมาณแก๊สสะสมจากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ที่ 38, 40 และ 42 °C

4.4 วิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซชีวภาพ

หลังจากการนำตะกอนเลนบ่อกึ่งไปหมักภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนเป็นระยะเวลา 15 วัน ได้ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของแก๊สแล้วเฉพาะการหมักที่อุณหภูมิ 40 °C ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่มีปริมาณแก๊สสูงที่สุดพบว่า ปริมาณแก๊สที่มากที่สุด คือ แก๊สไฮโดรเจน คิดเป็นร้อยละ 89 รองลงมา คือคาร์บอนไดออกไซด์ คิดเป็นร้อยละ 10.9 และมีเทนร้อยละ 0.02 ซึ่งน้อยที่สุด แสดงว่าที่สภาวะดังกล่าวในตะกอนเลนอาจจะเหมาะกับการเจริญของจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตไฮโดรเจนได้ในปริมาณสูง ซึ่งนั่นก็อาจจะเป็นจุลินทรีย์ในกลุ่ม hydrolytic bacteria ซึ่งจะทำให้การตรวจสอบต่อไปในหัวข้อ 4.5 นอกจากนี้กำลังรอผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของแก๊สทั้งในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH เริ่มต้น และอุณหภูมิ อื่นๆ ต่อไป ซึ่งจะรายงานผลในงานวิจัยปี 2559 (ซึ่งเป็นงานวิจัยต่อเนื่อง)

ตารางที่ 4.2 องค์ประกอบของแก๊สจากการหมักตะกอนเลนบ่อกึ่งที่อุณหภูมิ 40 °C

Biogas Composition	Selectivity (mol)
Carbon Dioxide	10.93655895
Hydrogen	89.04543299
Methane	0.018008056

4.5 ชนิดของจุลชีพที่สำคัญในการะบวนการผลิตแก๊สชีวภาพจากตะกอนเลนบ่อกึ่ง

จากการแยกและวิเคราะห์ชนิดของจุลชีพที่ใช้ และไม่ใช้ออกซิเจน หลังกระบวนการหมักแก๊สชีวภาพแบบไร้ออกซิเจนจากตะกอนเลนบ่อกึ่ง พบว่าในแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนของตัวอย่างตะกอนเลนปกติพบแบคทีเรีย 4 ชนิด ได้แก่ *Exiguobacterium*, *Bacillus*, *Staphylococcus epidermidis*, และ *Staphylococcus aureus* ดังตารางที่ 4.3 โดยนำมาจัดกลุ่มจัดกลุ่มแบคทีเรียตามกระบวนการการผลิตก๊าซชีวภาพ พบว่าเชื้อแบคทีเรียชนิด *Exiguobacterium*, *Bacillus* และ *Staphylococcus epidermidis* ทำหน้าที่ในกระบวนการไฮโดรไลซิส ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่น แป้ง โปรตีน และไขมัน ให้เป็นสารอินทรีย์โมเลกุลเดี่ยว หรือกรดอินทรีย์ต่างๆ [28] ส่วนเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis* ทำหน้าที่ในกระบวนการอะซิโตเจเนซิส เป็นแบคทีเรียที่เปลี่ยนกรดอินทรีย์ที่ได้จากกระบวนการไฮโดรไลซิสให้เป็นกรดระเหยง่าย เช่น กรดโพรไพโอนิก กรดวาเลอริก และกรดแลคติก และยังได้สารประกอบอื่นๆ เช่น แอลกอฮอล์ คีโตน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และก๊าซไฮโดรเจน [29] เป็นต้น แต่ไม่พบชนิดของแบคทีเรียที่ทำงานในกระบวนการอะซิโตเจเนซิส ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนกรดอินทรีย์ให้เป็นอะซีเตต [10] อาจเป็นไปได้ที่ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการอะซิโตเจเนซิส เช่น ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซไนโตรเจน และกรดอะซิติก จะข้ามกระบวนการอะซิโตเจเนซิสไปยังกระบวนการเมทาโนเจเนซิสได้เลย [8] จึงทำให้มีโอกาสเจอเชื้อในกลุ่มอะซิโตเจเนซิสได้น้อย ซึ่งสอดคล้องกับผลการผลิตก๊าซชีวภาพจากตัวอย่างดังกล่าว จากการทดลองของประสิทธิ์ และคณะ (2554) ที่พบว่ามีปริมาณของก๊าซมีเทนมากที่สุด รองลงมาคือ ก๊าซไนโตรเจน และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ จะเห็นว่าพบก๊าซไนโตรเจน และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์หลงเหลืออยู่แสดงว่าแบคทีเรียในกลุ่มกระบวนการอะซิโตเจเนซิสอาจจะมีอยู่น้อยจึงไม่นำก๊าซดังกล่าวไปใช้ซึ่งยังคงเหลืออยู่ในระบบ นอกจากนี้แบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนที่แยกได้พบแค่ชนิดเดียว คือ *Clostridium cochlearium* ซึ่งคาดว่าจะทำงานในกระบวนการไฮโดรไลซิส และอะซิโตเจเนซิส [28, 29] ในงานวิจัยครั้งนี้ไม่พบจุลินทรีย์กลุ่มเมทาโนเจนอาจจะเป็นเพราะแบคทีเรียกลุ่มนี้มีความไวต่อออกซิเจนมากอาจจะตายในกระบวนการเก็บรักษาและการเลี้ยงบางขั้นตอน จึงอาจจำเป็นต้องเลือกวิธีในการแยกเชื้อหรือวิเคราะห์ชนิดของเชื้อกลุ่มนี้ด้วยเทคนิคอื่น เช่น การทำ nextgen sequencing หรือ metagenomics

ตารางที่ 4.3 กลุ่มชนิดของแบคทีเรียในกระบวนการผลิตก๊าซชีวภาพที่พบในตะกอนเลนบ่อกึ่งหลังการผลิตแก๊สชีวภาพ

กระบวนการผลิตก๊าซชีวภาพ	ชนิดแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจน	ชนิดของแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจน
ไฮโดรไลซิส	<i>Exiguobacterium</i>	<i>Clostridium cochlearium</i>
	<i>Bacillus</i>	
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	
อะซิโตเจนนิซิส	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Clostridium cochlearium</i>
อะซิโตเจนนิซิส	-	-
เมทาโนเจนนิซิส	-	-
	unidentified	unidentified

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

ในกระบวนการหมักแก๊สชีวภาพจากตะกอนเลนบ่อกึ่งโดยใช้ชุดถังหมักชีวภาพที่สร้างขึ้น พร้อมระบบตรวจติดตาม pH และอุณหภูมิ โดยศึกษา pH เริ่มต้นของการหมักที่ 6, 7 และ 8 พบว่า ณ pH เริ่มต้น 7 เป็น pH ที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตแก๊สชีวภาพ และเมื่อศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตแก๊สชีวภาพ ที่ 38, 40 และ 42 องศาเซลเซียส พบว่าอุณหภูมิที่สามารถผลิตแก๊สได้มากที่สุด คือ 40 องศาเซลเซียส

นอกจากนี้พบแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนในตะกอนเลนบ่อกึ่งหลังกระบวนการหมักแก๊สชีวภาพ ทั้งหมด 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Exiguobacterium*, *Bacillus*, *Staphylococcus epidermidis* และ *Staphylococcus aureus* และพบแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนในตะกอนเลนปกติอยู่ทั้งหมด 1 สายพันธุ์ ได้แก่ *Clostridium cochlearium* ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้พบว่ามีเกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิตแก๊สชีวภาพทั้งสิ้น โดยจากข้อมูลที่ได้ในครั้งนี้น่าจะไปสร้างแบบจำลองของกระบวนการผลิตแก๊สชีวภาพจากตะกอนเลนจากบ่อกึ่งทะเลหลังกระบวนการแบบไม่ใช้ออกซิเจนด้วยขบวนการนิเวศและนำแบบจำลองดังกล่าวไปใช้ในกระบวนการผลิตในถึงขนาด 30 ลิตรต่อไป

5.2 ข้อเสนอแนะ

- การวิเคราะห์การย่อยสลายของสารอินทรีย์ควรเปลี่ยนไปดูค่า BOD มากกว่า COD
- การวิเคราะห์ชนิดของจุลินทรีย์เพื่อความแม่นยำควรใช้ nextgen sequencing หรือ metagenomics ในงานวิจัยถัดไป

5.3 ผลผลิต

ผลงานตีพิมพ์ที่เกิดจากโครงการวิจัย

ชื่อเรื่อง : Enhancing Biogas Production from Shrimp Pond Sediment with additive

วารสารงานประชุม : International conference on chemical and Biochemical , Paris, France, July 20-22, 2015

Impact Factor : -

สถานะการตีพิมพ์ : Published

รายงานการเงิน
เลขที่โครงการระบบบริหารงานวิจัย 2558A10802258 สัญญาเลขที่ 123/2558
โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558
มหาวิทยาลัยบูรพา

ชื่อโครงการ

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน ผศ.ดร.ญาณิศา ละอองอุทัย

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม พ.ศ. 2557 ถึงวันที่ 30 มีนาคม พ.ศ. 2559

ระยะเวลาดำเนินการ 1 ปี 6 เดือน ตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม พ.ศ. 2557 ถึงวันที่ 30 มีนาคม พ.ศ. 2559


รายรับ

จำนวนเงินที่ได้รับ

งวดที่ 1 (50%)	488,500	บาท	เมื่อ พฤศจิกายน พ.ศ. 2557
งวดที่ 2 (40%)	390,800	บาท	เมื่อ กรกฎาคม พ.ศ. 2558
งวดที่ 3 (10%)	97,700	บาท	เมื่อ เมษายน พ.ศ. 2559
รวม	977,000	บาท	

รายจ่าย

รายการ	งบประมาณที่ตั้งไว้	งบประมาณที่ใช้จริง	จำนวนเงินคงเหลือ/เกิน
1. ค่าตอบแทน	15,000	15,000	-
2. ค่าจ้าง	144,000	144,000	0
3. ค่าวัสดุ	566,000	566,085	0
4. ค่าใช้สอย	150,000	150,120	0
5. ค่าครุภัณฑ์	-	-	-
6. ค่าใช้จ่ายอื่น ๆ (โปรดระบุเป็นข้อย่อย)			
- ค่าสาธารณูปโภค	4,300	4,335	0
- ค่าธรรมเนียมอุดหนุนสถาบัน	97,700	97,700	0
รวม	977,000	977,240	0

(.....
)

ผศ.ดร.ญาณิศา ละอองอุทัย

เอกสารอ้างอิง

- [1] สถานการณ์กุ้งไทย ปี ๒๕๕๕ และแนวโน้ม ปี ๒๕๕๖ (http://www.thai-frozen.or.th/thailand-seafood_02.php)
- [2] พจนพร ไกรดิษฐ์, วิไลวรรณ โชติเกียรติ และ อมรรัตน์. (๒๕๕๒). การเตรียม subtraction library ของ กุ้งกุลาดำที่ติดเชื้อ. เอกสารประกอบการประชุมกุ้งทะเลแห่งชาติ ครั้งที่ ๑ “การวิจัยกับการพัฒนาอุตสาหกรรมกุ้งทะเล”: ๓๒๙-๓๓๒
- [3] Sriwichai, C., Predalampaburt, Y., Chaiyakam, K. & Tunvilai, D. (1994). Water and soil quality monitoring of shrimp farms in Pattani province [In Thai]. In Proceedings the Seminar on Fisheries 1994, 19-21 Sep 1994, Department of Fisheries, 185-193.
- [4] Paez-osuna, F., Guerro-galvan, S. R., & Ruiz-fernandez A.C. (1998). The environmental impact of shrimp aquaculture and the coastal pollution in Mexico. Marine pollution bulletin, 36(1), 65- 75.
- [5] ปิยะนุช ฐิติยสุข. (2547). การใช้ข่างานนิรวัลในการควบคุมเครื่องปฏิกรณ์เพอร์เวเพอเรทีฟเมมเบรน. วิทยานิพนธ์ (วศ.ม.). ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- [6] ณชล ไชยรัตน์. (2547). ระบบอัจฉริยะ. เอกสารคำสอนรายวิชา. ภาควิชาวิศวกรรมไฟฟ้า คณะวิศวกรรมศาสตร์ ศูนย์วิจัยและพัฒนาระบบอัจฉริยะ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ.
- [7] อธิภัทร รัตนสุวรรณ. (2551). การออกแบบการนำกลับมาใช้ใหม่และการพัฒนาแบบจำลองข่างานนิรวัล สำหรับกระบวนการชุบโลหะด้วยนิกเกิล. วิทยานิพนธ์ (วศ.ม.). ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- [8] เกื้อกุล บุญยี่, (2552) การผลิตก๊าซชีวภาพจากกระบวนการหมักแบบไร้อากาศโดยใช้น้ำเสีย ของ โรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังแปรรูป วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- [9] คู่มือการปฏิบัติงานเกี่ยวกับการออกแบบ การผลิต การควบคุมคุณภาพ และการใช้ก๊าซชีวภาพ (Biogas) สำหรับโรงงานอุตสาหกรรม, (2553) สำนักเทคโนโลยีความปลอดภัย กรมโรงงานอุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม
- [10] สุดารัตน์ ภักดี, (2551) การผลิตก๊าซชีวภาพจากกากถั่วและน้ำเสียจากโรงงานนุ่นเส้นโดยกระบวนการย่อยสลายภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน สาขาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- [11] Madhaiyan, M., Poonguzhali, S., Wo Kwon, S., and Min Sa, T., (2010), *Bacillus methylotrophicus* sp. Nov., a methanol-utilizing, plant-growth-promoting bacterium isolated from rice rhizosphere soil.
- [12] รุ่งรัชนี วงศ์พาร์ท, (2554) ระบบการเก็บและค้นข้อมูลสนเทศชีววิทยาดีเอ็นเอพันธุกรรม คู่มือชีวสารสนเทศสถาบันวิจัยและพัฒนาพลังงานนครพิงค์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ สืบค้นวันที่ 1 กรกฎาคม 2556, เข้าถึงได้จากเว็บไซต์ <http://www.erd.or.th>
- [13] เกียรติศักดิ์ สุขแก้ว (2553) การศึกษาความหลากหลายของประชากรแบคทีเรียในลำไส้ไก่ส่วนซีกัม สาขาเทคโนโลยีการผลิตและประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

- [14] อีรพร กงบังเกิด, (2546) จุลชีววิทยาอาหาร ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร
- [15] หนูเดือน เมืองแสน, จิตติพร สุวรรณาลัย, (2551) การใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ในการระบุชนิดของแบคทีเรียที่แยกจากไร่น้ำนางฟ้า วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 36.1 (ม.ค.-มี.ค.2551) 59-66
- [16] David M.Himmelblau, "Application of Artificial Neural Networks in Chemical Engineering", Korean J. Chem. Eng., 17(4), (2000): 373-392.
- [17] Jutatip Petcherdsak, "Use of multilayer feedforward networks for system identification, function approximation, and advanced control", Thesis (M.Eng.), Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Chulalongkorn University, (1999).
- [18] M.A. Hussain, "Neural Network Techniques and Application in Chemical Process Control System", CRC Press., (2003).
- [19] Office of natural resources and environmental policy and planning. (1997). The state of environmental report in the year 1997 [In Thai]. Bangkok: Ministry of Science Technology and Environment of Thailand.
- [20] ประสิทธิ์ ศรีนคร, ขวัญตา ตันติกำธน, อรรถวิโรจน์ เขียวนาค, จิระพล ศรีเสรีภูมิผล และกนต์ธร ชำนิประศาสน์. (๒๕๕๔). การบำบัดตะกอนเลนในบ่อเลี้ยงกุ้งทะเลโดยกระบวนการย่อยสลายแบบไร้ออกซิเจน. วารสารการจัดการสิ่งแวดล้อม. ฉบับที่ ๗. ลำดับที่ ๒
- [21] ประสิทธิ์ ศรีนคร. (๒๕๕๔). การผลิตก๊าซชีวภาพจากตะกอนเลนในบ่อเลี้ยงกุ้งโดยกระบวนการย่อยสลายแบบไร้ออกซิเจน. วิทยานิพนธ์ สาขาวิชาวิศวกรรมเครื่องกล สำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
- [22] Percival Zhang, Y.-H.; Evans, Barbara R.; Mielenz, Jonathan R.; Hopkins, Robert C.; Adams, Michael W.W. (2007). "High-Yield Hydrogen Production from Starch and Water by a Synthetic Enzymatic Pathway". In Melis, Anastasios. PLoS ONE 2 (5): e456.
- [23] Percival Zhang, Y.-H. (2010). "Production of biocommodities and bioelectricity by cell-free synthetic enzymatic pathway biotransformations: Challenges and opportunities". Biotechnology and Bioengineering 105(4): 663–77.
- [24] Percival Zhang, Y-H; Sun, Jibin; Zhong, Jian-Jiang (2010). "Biofuel production by in vitro synthetic enzymatic pathway biotransformation". Current Opinion in Biotechnology 21 (5): 663–9.
- [25] Ye, Xinhao; Wang, Yiran; Hopkins, Robert C.; Adams, Michael W. W.; Evans, Barbara R.; Mielenz, Jonathan R.; Percival Zhang, Y.-H. (2009). "Spontaneous High-Yield Production of Hydrogen from Cellulosic Materials and Water Catalyzed by Enzyme Cocktails". ChemSusChem 2 (2): 149–52
- [26] Percival Zhang, Y.-H. (2009). "A sweet out-of-the-box solution to the hydrogen economy: Is the sugar-powered car science fiction?". Energy & Environmental Science 2

(3): 272-82

- [27] สถาบันวิจัยและพัฒนาพลังงานนครพิงค์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ สืบค้นวันที่ 1 กรกฎาคม 2556, เข้าถึงได้จากเว็บไซต์ <http://www.erd.or.th>
- [28] Myint, M., Nirmalakhandan, N., & Speece, R. E. Anaerobic fermentation of cattle manure: modeling of hydrolysis and acidogenesis. *Water Research*. 2007, 41(2), 323-332.
- [29] Schlüter, A., Bekel, T., Diaz, N. N., Dondrup, M., Eichenlaub, R., Gartemann, K. H., & Goesmann, A. The metagenome of a biogas-producing microbial community of a production-scale biogas plant fermenter analysed by the 454-pyrosequencing technology. *Journal of Biotechnology*. 2008, 136(1), 77-90.

ภาคผนวก

ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการทำโครงการวิจัยและได้รับการตีพิมพ์เผยแพร่

Laoong-u-thai, Y., Srinakorn, P., Srisertpol, P., (2015) “Enhancing Biogas Production from Shrimp Pond Sediment with additive” International conference on chemical and Biochemical , Paris, France, July 20-22, 2015



(<http://www.chembiochemeng.com/>)

↑ ..

(http://www.scienceknowconferences.com/files/extended_abstracts/iccbe2015/)

A brief review on biosensors for bioprocesses.pdf

([Biochemical%20Engineering/A%20brief%20review%20on%20biosensors%20for%20bioprocesses.pdf](#))

A brief review on CFD for bioreactor analysis.pdf

([Biochemical%20Engineering/A%20brief%20review%20on%20CFD%20for%20bioreactor%20analysis.pdf](#))

Biotechnological valorization of glycerol a byproduct of biodiesel production for ethanol production.pdf

([Biochemical%20Engineering/Biotechnological%20valorization%20of%20glycerol%20a%20byproduct%20of%20biodiesel%20production%20for%20ethanol%20production.pdf](#))

Characterization of stable chitosanases produced by *Paenibacillus chitinolyticus* and *Paenibacillus ehimensis*...

([Biochemical%20Engineering/Characterization%20of%20stable%20chitosanases%20produced%20by%20Paenibacillus%20chitinolyticus%20and%20Paenibacillus%20ehimensis.pdf](#))

Enhancing Biogas Production from Shrimp Pond Sediment with Additives.pdf

([Biochemical%20Engineering/Enhancing%20Biogas%20Production%20from%20Shrimp%20Pond%20Sediment%20with%20Additives.pdf](#))

Evaluation of white-rot fungus to attack phenolic substances and whitening cellulose Kraft.pdf

([Biochemical%20Engineering/Evaluation%20of%20white-rot%20fungus%20to%20attack%20phenolic%20substances%20and%20whitening%20cellulose%20Kraft.pdf](#))

Experimental estimation of unmeasured inputs in anaerobic wastewater treatment processes .pdf

([Biochemical%20Engineering/Experimental%20estimation%20of%20unmeasured%20inputs%20in%20anaerobic%20wastewater%20treatment%20processes%20.pdf](#))

Feasibility studies on ethanol production from bagasse.pdf

([Biochemical%20Engineering/Feasibility%20studies%20on%20ethanol%20production%20from%20bagasse.pdf](#))

One-step hydrothermal green synthesis of silver nanoparticle/carbonnanotube reduced-graphene oxide co...

([Biochemical%20Engineering/One-step%20hydrothermal%20green%20synthesis%20of%20silver%20nanoparticle/carbonnanotube%20reduced-graphene%20oxide%20composite%20and%20its%20application%20as%20hydrogen%20peroxide%20sensor.pdf](#))

Optimization of Feeding And Temperature Shift Profiles for Ethanol Maximization In A Fed-Batch Bioreact...

([Biochemical%20Engineering/Optimization%20of%20Feeding%20And%20Temperature%20Shift%20Profiles%20for%20Ethanol%20Maximization%20In%20A%20Fed-Batch%20Bioreactor%20Using%20Genetic%20Algorithm.pdf](#))

Organic carbon balance in thermal disintegration process of municipal biowaste.pdf

([Biochemical%20Engineering/Organic%20carbon%20balance%20in%20thermal%20disintegration%20process%20of%20municipal%20biowaste.pdf](#))

Simultaneous saccharification and fermentation of pine sawdust raw material for the bioethanol production ...

([Biochemical%20Engineering/Simultaneous%20saccharification%20and%20fermentation%20of%20pine%20sawdust%20raw%20material%20for%20the%20bioethanol%20production%20evaluating%20three%20different%20pretreatments.pdf](#))

Studies on volumetric oxygen transfer coefficient during enzymatic hydrolysis of chitin using filamentous fu...

([Biochemical%20Engineering/Studies%20on%20volumetric%20oxygen%20transfer%20coefficient%20during%20enzymatic%20hydrolysis%20of%20chitin%20using%20filamentous%20fungi%20-%20Trichoderma%20harzianum.pdf](#))

The assessment indicators on control thermal disintegration process.pdf

([Biochemical%20Engineering/The%20assessment%20indicators%20on%20control%20thermal%20disintegration%20process.pdf](#))

ScienceKNOW Conferences (<http://www.scienceknowconferences.com/>) © 2015

Complete Communications

ISBN: 978-84-944311-1-1

Enhancing Biogas Production from Shrimp Pond Sediment with Additives

Y. Laoonguthai ⁽¹⁾, P. Srinakorn ⁽²⁾, J. Srisertpol ⁽³⁾,

⁽¹⁾ *Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Burapha University, Thailand.
+6638-102-222 #3353, email: yanisa@eng.buu.ac.th, yanisa@buu.ac.th*

⁽²⁾ *Faculty of Science and Fisheries Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Thailand.*

⁽³⁾ *School of Mechanical Engineering, Institute of Engineering, Suranaree University of Technology, Thailand.*

1. Introduction – Shrimp farming is the leading branch of aquaculture in Thailand. Consequently, waste from shrimp ponds causes serious pollution in coastal areas due to its high concentration of organic compounds [1]. Much research has been done on improving the biodegradation of organic pollutants, and there are many examples in the scientific literature for digester of organic waste that also enhance biogas production yield [2, 3, 4]. Of these, anaerobic digesters are the most promising systems [5, 6, 7]. In our previous work, anaerobic digesters were successfully applied to improve the quality of shrimp waste as well as biogas production [8]. Four processes constitute biogas production: hydrolysis, acidogenesis, acetogenesis, and methanogenesis. Each process has its own characteristic microorganisms, metabolic pathways, and products [9]. Many microbial species participating in these processes have been previously identified from different sources of organic waste [2, 4, 9, 10] but have never been reported from shrimp pond sediment. In this research, we focused on increasing the quantity and quality of biogas by mixing different additives (molasses and swine feces) to boost the microorganism community in the raw waste. Additionally, the main microorganisms involved in biogas production were also identified.

2. Experimental

Anaerobic digestion of shrimp pond sediment – The experimental designs for anaerobic fermentation and data collection of shrimp pond sediment were set in the batch process for 30 days. The seven reactors contained the total volume of 15 liter of sediment mixed with 4, 8 and 12% molasses (named SM4%, SM8% and SM12%) and 5, 10 and 20% pig dung (named SP5%, SP10% and SP20%) compared with sediment itself (S) which had been published in 2010 [8]. For data collection, computer was used to create a program LabVIEW for the measurement and collected data of temperature, pH and biogas flow rate. The experimental data were occurred in analog signal and convert to digital signal via conversion unit with model NI- USB6008 [8].

Parameter and Gas content analysis – Shrimp pond sediment was analyzed for pH and temperature daily for 30 days of the fermentation. Biogas flow rate was also measured and accumulated gas content including CH₄, CO₂, N₂, H₂ and H₂S were analyzed using gas chromatography (GC).

Collection of sample – Bacterial strains were isolated from three types of fermentation samples of shrimp pond sediment which was collected from Ban Changlang, Sikoa, Trung province, Thailand after anaerobic digestion process including normal sediment (S), sediment mixing molasses of 8% (SM8%) and sediment mixing pig dung of 20% (SP20%). The fermented samples were collected in sterile containers and stored at 4 °C until screening process begin.

Isolation of bacteria – Both aerobic and anaerobic bacteria (including facultative bacteria) were isolated and plated on selective mediums following standard methods for aerobic bacteria and method of Sengupta et al. (2011) [8] for anaerobic bacterial isolation. Briefly, 1 g of fermented sediments were eluted with 9 ml of 0.85 % (w/v) normal saline. For aerobic bacteria isolation, 0.1 ml of samples were plate on nutrient agar (NA) and incubated at 37 °C O/N. For anaerobic bacteria isolation, 0.1 ml of the samples were pour-plated on the SPS agar (Difco, France) and anaerobic agar (AA) (Difco, France). The inoculation was carried out in anaerobic jar (Biomerieux, France) with anaerogen (Oxoid Ltd., England) and aerotest anaerobic indicator (Oxoid Ltd., England) operating at 37 °C for 48 hrs. Colonies from SPS and anaerobic agar plates were anaerobically transferred to 3 ml of thioglycollate broth (TGB) (Oxoid Ltd., England) and inoculated at 37 °C for further growth. The cultures were maintained and stored at 4 °C in cooked meat medium (CMM) (Difco, France) for further experiments.

Chromosomal DNA Isolation and 16S rRNA gene amplification—Chromosomal DNA was extracted using GF-1 Bacterial DNA Extraction (Vivantis, Malaysia) according to manufacturer procedure. 16s rRNA gene was amplified using the two primers 357 (5'-CTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') and U1492 (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') for aerobic bacterial gene amplification [11]. Other two primers 16S1 (5'-GAGTTTGATCCTGGCTCA-3') and 16S2 (5'-CGGCTACCTTGTTACGACTT-3') for anaerobic bacterial gene synthesis [12]. PCR reactions were conducted for 35 cycles with denature at 94 °C for 30 sec, annealing at 55 °C for 30 sec, and extension at 72 °C for 60 sec in a reaction buffer according to *i-Tag*TM Polymerase (iNtRON, South Korea) protocol provided by company.

16S rRNA sequencing and analysis—PCR product, approximately 1.1 - 1.5 Kb, was purified using PCR Purification (QIAGEN, USA) and sequencing. The searches for nucleotide sequence similarities were conducted with BLAST algorithm at the National Center for Biotechnology Information (NCBI).

3. Result and Discussion

Gas production of Shrimp Sediment digesters—The fermentation of shrimp pond sediment itself for biogas production was done by Srisertpol et al. in 2010 [8]. In this research, we aim to improve the biogas production by mixing shrimp sediment with other organic sources consisting of molasses and pig dung which are known to have a rich microbial community of biogas producing bacteria and archaea [13, 14]. In our previous work [8] the biogas production of shrimp sediment (S) batch yielded 12.84 L with 44% v/v of CH₄. Comparing that result with our current work, the data showed that all mixed sediments could improve the biogas production (Table 1). The highest CH₄ production was achieved by the batch of shrimp sediment mixed with 20% pig dung (SP20%) and the highest H₂ production by the batch of shrimp sediment mixed with 8% molasses (SM8%). Interestingly, increasing molasses in the shrimp digesters caused the methane production to drop, while the hydrogen production increased. Conversely, swine feces had the opposite effect.

Many researchers have discussed that pH and temperature significantly affect biogas production [15, 16, 17]. Here, we operated the digester at mesophilic temperature (25-31 °C) while the pH profiles were observed during the fermentation process. There are reports of pH level effecting the biogas production. Specifically, the cause of low pH level is the high concentration of volatile fatty acids which are produced during the fermentation process from the carbohydrate substrate [18, 19]. Volatile fatty acids also inhibit the methanogen growth causing low methane production [20, 21]. Here, we observed the pH profiles during fermentation process for better understanding the influence of additives. The results revealed that pH of SM digesters (SM4%, SM8% and SM12%) showed the lowest pH both before and after the digestion process (6.5 to 4.7) and pH decreased rapidly while adding more molasses (Fig.1). On the other hand, SP digesters (SP5%, SP10%, and SP20%), gave the stable pH at 7 from the beginning until the end of the fermentation while the S digester showed the decrease of pH from 7.8 to around 6. Many papers report that the optimal pH for methane production is between 6.5 and 7.5 [22, 23, 24, 25], and between 5.0 and 6.0 for hydrogen production [26, 27, 28]. It suggests that molasses caused pH of the digesters to drop and the hydrogen yield to increase, while pig dung stabilized the pH at neutral level and encouraged the methane production.

Table I Biogas production of shrimp sediment mixed with additives and their gas composition

Biogas Composition (%v/v)	S [8]	SM 4% (w/w)	SM 8% (w/w)	SM12% (w/w)	SP 5% (w/w)	SP10% (w/w)	SP20% (w/w)
Methane (CH ₄)	44.34	61.57	7.73	4.06	81.57	81.59	68.89
Carbon dioxide (CO ₂)	4.91	6.72	41.74	41.15	27.68	24.73	42.62
Nitrogen (N ₂)	17.23	41.74	41.15	2.6	0.95	1.35	0.92
Hydrogen (H ₂)	N/A	4.5	46.34	48.96	N/A	N/A	N/A
Hydrogen Sulfide (H ₂ S)	N/A	N/A	7.38	N/A	0.4	1.48	0.14
Total Gas amount (L)	12.84	48.94	183.12	125.55	14.03	65.42	82.92
Total Methane (CH ₄) (L)	5.65	30.34	14.1	5.02	11.51	53.64	57.22
Total Hydrogen (H ₂) (L)	N/A	2.20	84.23	61.52	N/A	N/A	N/A

Bacteria Identification of Shrimp Sediment digesters—Here, we investigated the major microorganisms especially bacteria involved in the biogas production. The S, SM8 and SP20 samples were collected after the digestion process. The microorganisms of all three samples were screened for aerobic, facultative and anaerobic species. We found that the common species of all three were *Bacillus sp.* and *Clostridium cochlearium* (Table 2)

which were likely to have come from the shrimp pond sediment. There are not many reports of microorganisms in shrimp pond sediment in the last two decades. Burford et al. [29] reported total bacterial counts in shrimp pond sediment in Australia showing $8 \times 10^9 - 15 \times 10^9$ cfu/g without bacterial identification. The dominant bacterial species, *Bacillus sp.*, in shrimp pond has been reported previously [30, 31], which is the same result as ours. These microorganism have been reported to play a role in mineralizing nutrients and bioremediation to reduce waste products in the shrimp pond. *Bacillus sp.* and *Clostridium sp.* have been identified as being involved in biogas production especially in hydrolysis and acidogenesis [32, 33, 34].

There were also particular species that were isolated in only one of the samples. *Exiguobacterium sp.* was found in S sample. It has been reported in shrimp ponds in many papers [35, 36, 37]. This species has been confirmed as an amylase and protease producing bacterium [38, 39] which are important enzymes in hydrolytic process of biogas production.

In SM8 sample, *Bacillus methylotrophicus* and *Anaerosalibacter bizertensis* were isolated. *Anaerosalibacter bizertensis* has been found in methanogenic communities in systems for anaerobic treatment of organic waste and characterized as an anaerobic, halotolerant and thermotolerant strain [40, 41]. This microbe is able to grow in high salt environment, e.g. in shrimp pond sediment, at salinity levels between 10-30 ppt [42] to acquire biogas production. While *Bacillus methylotrophicus* is a Gram-positive bacterium as a facultative Methylotroph [43]. It is classified as an obligate methane user [44, 45]. This microbe may have caused the methane drop and the higher hydrogen yield in SM sample.

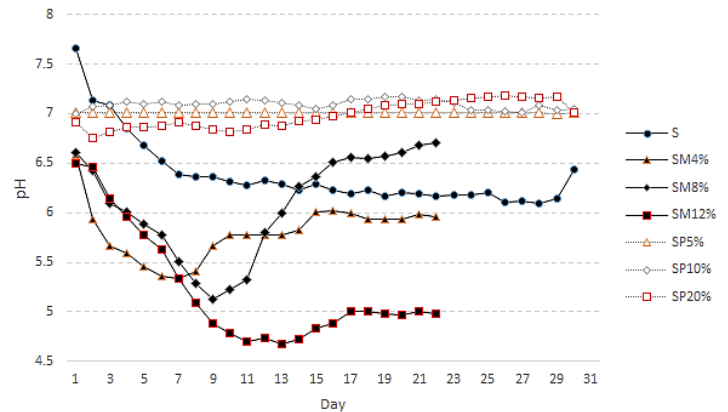


Image 1 pH profile during fermentation proceeds of shrimp sediment and their mixtures

Lactic acid bacteria (*Enterococcus durans*, *Lactobacillus sp.*) and *Clostridium sporogenes* were screened in the SP20 sample. These lactic acid bacteria especially *Enterococcus durans* and *Lactobacillus sp.* have been reported to reduce the hydrogen production and increase the biogas production in term of methane [46, 47]. *Clostridium sporogenes* isolated from mixed shrimp sediment with pig manure in this study, has also been reported to be found in animal rumen, including pig rumen, and manure [48, 49]. As a *Clostridium sp.*, this microbe may also be involved in biogas production as mentioned earlier.

However, this research is the first report of *Clostridium cochlearium* in shrimp pond which may lead to any application in shrimp farming or biogas production from shrimp farming waste. By modifying the microbial ecosystem as this study suggests, it will be possible to enhance biogas production from shrimp pond sediment to reduce the organic waste while producing renewable energy. To combine this knowledge, we hope to introduce the sustainable management of shrimp farming in Thailand in the near future.

Table II

Digester	Bacteria Species
S	<i>Exiguobacterium sp.</i> , <i>Bacillus sp.</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Clostridium cochlearium</i>
SM12	<i>Bacillus methylotrophicus</i> , <i>Enterococcus sp.</i> , <i>Clostridium cochlearium</i> , <i>Anaerosalibacter bizertensis</i>
SP5	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> , <i>Bacillus vallismortis</i> , <i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Enterococcus durans</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i> , <i>Clostridium cochlearium</i> , <i>Clostridium sporogenes</i>

4. Conclusions –Sediment waste from shrimp farming can be used efficiently as the raw material for biogas production according to our result. With small amounts of additives the gas output can be substantially increased. Further work can be done to identify the microbial species during the fermentation itself. A study of the dynamics of the microbial communities is underway.

Acknowledgement: This work was supported by Faculty of Engineering research grant (25/2555) and International conference presentation support grant (2558).

5. References

- [1] P. T. Anh, C. Kroeze, S. R. Bush & A. P. Mol, *Agric. Water Manage.*, **97**(6), (2010) p. 872-882.
- [2] P. Weiland, *Applied microbiology and biotechnology*, **85**(4), (2010) p. 849-860.
- [3] S. Karellas, I. Boukis, & G. Kontopoulos, *Renew. Sust. Energ. Rev.*, **14**(4), (2010) p. 1273-1282.
- [4] R. M. Jingura, & R. Matengaifa, *Renew. Sust. Energ. Rev.*, **13**(5), (2009) p. 1116-1120.
- [5] P. Weiland, *Applied microbiology and biotechnology*, **85**(4), (2010) p. 849-860.
- [6] H. Bouallagui, Y. Touhami, R. B. Cheikh, & M. Hamdi, *Process biochemistry*, **40**(3), (2005) p. 989-995.
- [7] V. N. Gunaseelan, *Biomass and bioenergy*, **13**(1), (1997) p. 83-114.
- [8] J. Srisertpol, P. Srinakorn, A. Kheawnak & K. Chamniprasart, *IJEE*, **4**(4), (2010) p. 213-220.
- [9] K. Miyamoto, *Food & Agriculture Org.* 128, (1997).
- [10] K. Nakasaki, S. H. Kwon, & H. Ikeda, *Process Biochemistry*, **48**(5), (2013) p. 912-919.
- [11] D. J. Lane, *John Wiley and Sons, New York, NY*, (1991) p. 115-175.
- [12] T. Miyoshi, T. Iwatsuki & T. Naganuma, *Appl. Environ. Microbiol.*, **71**(2), (2005) p. 1084-1088.
- [13] M. J. Park, J. H. Jo, D. Park, D. S. Lee & J. M. Park, *Int. J. Hydrogen Energy*, **35**(12), (2010) p. 6194-6202.
- [14] C. Zhu, J. Zhang, Y. Tang, X. Zhengkai & R. Song, *Microbiological research*, **166**(1), (2011) p. 27-35.
- [15] T. R. Sreekrishnan, S. Kohli & V. Rana, *Bioresource technology*, **95**(1), (2004) p. 1-10.
- [16] H. H. Fang & H. Liu, *Bioresource technology*, **82**(1), (2002) p. 87-93.
- [17] C. F. Chu, Y. Y. Li, K. Q. Xu, Y. Ebie, Y. Inamori & H. N. Kong, *Int. J. Hydrogen Energy*, **33**(18), (2008) p. 4739-4746.
- [18] B. K. Ahring, M. Sandberg, & I. Angelidaki, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **43**(3), (1995) p. 559-565.
- [19] L. Feng, Y. Chen, & X. Zheng, *Environmental science & technology*, **43**(12), (2009) p. 4373-4380.
- [20] Y. Wang, Y. Zhang, J. Wang, & L. Meng, *Biomass and bioenergy*, **33**(5), (2009) p. 848-853.
- [21] I. W. Koster, & A. Cramer, *Applied and environmental microbiology*, **53**(2), (1987) p. 403-409.
- [22] A. van Haandel & J. van der Lubbe, *Handbook Biological Wastewater Treatment*, (2007)
- [23] H. M. Lo, T. A. Kurniawan, M. E. T. Sillanpää, T. Y. Pai, C. F. Chiang, K. P. Chao & H. Y. Wu, *Bioresource technology*, **101**(16), (2010) p. 6329-6335.
- [24] C. F. Chu, Y. Y. Li, K. Q. Xu, Y. Ebie, Y. Inamori & H. N. Kong, *Int. J. Hydrogen Energy*, **33**(18), (2008) p. 4739-4746.
- [25] S. Jayaraj, B. Deepanraj, & V. Sivasubramanian, *9th Annual Green Energy Conference in Tianjin China (IGEC-IX)*. (2014, May).
- [26] S. K. Khanal, W. H. Chen, L. Li, & S. Sung, *Int. J. Hydrogen Energy*, **29**(11), (2004) p. 1123-1131.
- [27] N. Kumar, & D. Das, *Process Biochemistry*, **35**(6), (2000) p. 589-593.
- [28] I. K. Kapdan, & F. Kargi, *Enzyme and microbial technology*, **38**(5), (2006) p. 569-582.
- [29] M. A. Burford, E. L. Peterson, J. C. F. Baiano & N. P. Preston, *Aquaculture research*, **29**(11), (1998) p. 843-849.
- [30] T. N. Devaraja, F. M. Yusoff, & M. Shariff, *Aquaculture*, **206**(3), (2002) p. 245-256.
- [31] Y. Su, S. Ma, & J. Lei, *Procedia Environmental Sciences*, **10**, (2011) p. 1559-1567.
- [32] R. Wirth, E. Kovács, G. Maróti, Z. Bagi, G. Rákhely, & K. L. Kovács, *Biotechnol Biofuels*, **5**(1), (2012) p. 41.
- [33] M. Myint, N. Nirmalakhandan, & R. E. Speece, *Water Research*, **41**(2), (2007) p. 323-332.
- [34] A. Schlüter, T. Bekele, N. N. Diaz, M. Dondrup, R. Eichenlaub, K. H. Gartemann, & A. Goesmann, *Journal of Biotechnology*, **136**(1), (2008) p. 77-90.
- [35] A. López-Cortés, P. Schumann, R. Pukall, & E. Stackebrandt, *Systematic and applied microbiology*, **29**(3), (2006) p. 183-190.
- [36] S. Sombatjinda, N. Boonapatcharoen, M. Ruengjitchawalya, C. Wantawin, B. Withyachumnarnkul, & S. Techkarnjanaruk, *Environment and natural resources research*, **1**(1), (2011) P. 171.
- [37] P. Chaturvedi, & S. Shivaji, *Int J Syst Evol Microbiol*, **56**(12), (2006) p. 2765-2770.
- [38] P. Kumar, D. C. Pant, S. Mehariya, R. Sharma, A. Kansal, & V. C. Kalia, *Indian journal of microbiology*, **54**(3), (2014) p. 262-267.
- [39] P. Himanshu, & K. Manoj, *Microbiology*, **2**(9), (2013).
- [40] A. Y. Kallistova, G. Goel, & A. N. Nozhevnikova, *Microbiology*, **83**(5), (2014) p. 462-483.
- [41] R. Rezgui, A. Maaroufi, M. L. Fardeau, Z. B. A. Gam, J. L. Cayol, S. B. Hamed, & M. Labat, *Int J Syst Evol Microbiol*, **62**(10), (2012) p. 2469-2474.
- [42] P. Chanratchakool, J. Turnbull, and C. Limsuwan. *Aquatic Health Research Institute, Bangkok*. (1994)
- [43] M. Madhaiyan, S. Poonguzhali, S. W. Kwon, & T. M. Sa, *Int J Syst Evol Microbiol*, **60**(10), (2010) p. 2490-2495.
- [44] R. Whittenbury, K. C. Phillips & J. F. Wilkinson, *Journal of General Microbiology*, **61**(2), (1970) p. 205-218.
- [45] S. N. Dedysh, C. Knief & P. F. Dunfield, *Journal of bacteriology*, **187**(13), (2005) p. 4665-4670.
- [46] T. Noike, H. Takabatake, O. Mizuno & M. Ohba, *Int. J. Hydrogen Energy*, **27**(11), (2002) p. 1367-1371.
- [47] H. Vervaeren, K. Hostyn, G. Ghekiere & B. Willems, *Renewable Energy*, **35**(9), (2010) p. 2089-2093.
- [48] G. Attwood, D. Li, D. Pacheco & M. Tavendale, *J. Appl. Microbiol.*, **100**(6), (2006) p. 1261-1271.
- [49] W. J. Dorsa, C. N. Cutter, & G. R. Siragusa, *Journal of Food Protection*, **60**(2), (1997) p. 114-119.

ข้อมูลประวัติคณะผู้วิจัย

1.หัวหน้าโครงการ

ประวัติส่วนตัว

ชื่อ-สกุล ญาณิศลา ละอองอุทัย

เพศ ชาย หญิง วันเดือนปีเกิด 2 มกราคม พ.ศ.2524 อายุ 35 ปี

สถานภาพ โสด สมรส

ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์

ประวัติการศึกษา

ชื่อย่อปริญญา	สาขา	สถาบันที่จบ	ปีที่จบ
ปร.ด.	ชีวเคมี	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2552
วท.บ.	เทคโนโลยีชีวภาพ	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2546

สาขาวิจัยที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา)

ชีววิทยาโมเลกุล, อนุพันธุศาสตร์, วิศวกรรมชีวเคมี

ทุนการศึกษาและทุนวิจัยที่เคยได้รับ

ปี พ.ศ.	ทุนการศึกษาและทุนวิจัย	สถาบันที่ให้
2557	ผงดัดผิวสมุนไพรจากสารสกัดฟ้าข้าวและมะขาม	สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (สวก)
2555	การศึกษาชนิดของจุลินทรีย์ในการบำบัดตะกอนของเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งทะเล	คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
2554	การศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมีของสารสกัดสมุนไพรไทยพื้นบ้าน	คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
2553	การศึกษายีนและกลไกการทำงานของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญของกล้ามเนื้อกุ้งตระกูล Penaeus	คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์ที่ตีพิมพ์เผยแพร่ (ระดับชาติและนานาชาติ)

Publication:

- Mongkhorrattanasit, R., Klaichoi, C., Tomkom, T., Sasivatchutikool, N., Laoong-u-thai, Y. and Rungruangkitkrai, N., (2014). "Study on Colour Activity of Silk Fabric Dyed with Purple Corn Cob: A Research on Effect of Metal Mordants Concentration Using Post-Mordanting Method" Advanced Materials Research, 1010-1012, 516-519.

- Mongkholrattanasit, R., Punrattanasin, N., Sriharuksa, K., Laoong-u-thai, Y. and Rungruangkitkrai N., (2014). "Dyeing of Silk Fabrics with *Garcinia Dulcis* (Roxb.) Kurz Bark: Comparison of Fastness Properties and Colour Strength by Padding and Post-Mordanting Technique" *Advanced Materials Research*, 1010-1012, 503-507.
- Laoong-u-thai, Y. and Mongkholrattanasit, R., (2013). "The Evaluation of Eucalyptus Leave Extract for Dyeing and Its Antibacterial Properties on Silk and Wool Fabrics" *KMITL Science and Technology J.*, 13(2), 76-81.
- Laoong-u-thai, Y., Nakpradit, A., and Deenumchut, A. (2012). "Molecular Cloning and Bioinformatics Analysis of Shrimp LvProfilin Implicated in Muscle Formation and Muscle Specific Gene Regulation" *ASEAN E. J.*, 1, 28-37.
- Laoong-u-thai, Y., Zhao, B., Phongdara, A., and Yang, J. (2011). " Molecular Characterizations of a Novel Putative DNA-Binding Protein LvDBP23 in Marine Shrimp *L. vannamei* Tissues and Molting Stages." *PLoS ONE*, 6(5), e19959.

International proceeding

- Laoong-u-thai, Y., Srinakorn, P., Srisertpol, P., (2015) "Enhancing Biogas Production from Shrimp Pond Sediment with additive" *International conference on chemical and Biochemical* , Paris, France, July 20-22, 2015
- Laoong-u-thai, Y., Khanthong, K., Budhijanto, W., Purnomo, C. W., Kiyohiko, N., Hirofumi, H. (2014) "Analization of Supported Media for Wastewater Treatment by Aneobic Fermentation" *The 6th AUN/SEED-Net Regional Conference on Chemical Engineering*, Yogyakarta, Indonesia, December 2-3, 2014.
- Khanthong, K., Rujihan, U., Mongkholrattanasit, R., and Laoong-u-thai, Y. (2013) "Antibacterial Properties of Wool and Silk Fabricdyed with Eucalyptus Leaves Extract" *The 5th AUN/SEED-Net Regional Conference on Chemical Engineering*, Pattaya, Thailand, Febuary 7-8, 2013.
- Laoong-u-thai Y., Naengchomnong W., Jongchansitto S. and Munkhong I. 2013. Anti-pathogenic Activity of *Momordica Cochinchinesis* (Lour.) Spreng by Hexane Extraction. *The 5th AUN/SEED-Net Regional Conference on Biotechnology*, Bandung, Indonesia, January 23rd-24th, 2013.
- Laoong-u-thai, Y., Nakpradit A., Deenumchut A. (2012) "Cloning and Characterization of Shrimp LvProfilin-like protein, the protein involved in muscle regulation" *Proceeding of The 4th AUN/SEED-Net Regional Conference on Biotechnology*. Faculty of Engineering, Chulalongkorn University and Burapha University, Thailand, January 25-27, 2012.

การเสนอผลงานวิชาการ

- International conference on chemical and Biochemical , Paris, France, July 20-22, 2015
“Enhancing Biogas Production from Shrimp Pond Sediment with additive”
- The 6th AUN/SEED-Net Regional Conference on Chemical Engineering, Yogyakarta, Indonesia, December 2-3, 2014. “Analization of Supported Media for Wastewater Treatment by Aneobic Fermentation”
- The 5th AUN/SEED-Net Regional Conference on Chemical Engineering, Pattaya, Thailand, February 7-8, 2013. “Antibacterial Properties of Wool and Silk Fabricd Dyed with Eucalyptus Leaves Extract”
- The 5th AUN/SEED-Net Regional Conference on Biotechnology, Bandung, Indonesia, January 23rd-24th, 2013. “Anti-pathogenic Activity of *Momordica Cochinchinesis* (Lour.) Spreng by Hexane Extraction”
- The 4th AUN/SEED-Net Regional Conference on Biotechnology. Faculty of Engineering, Chulalongkorn University and Burapha University, Thailand, January 25-27, 2012.
“Cloning and Characterization of Shrimp LvProfilin-like protein, the protein involved in muscle regulation”

2. ผู้ร่วมโครงการ

ประวัติส่วนตัว

ชื่อ-สกุล วชิรา ดาวสุด

เพศ ชาย หญิง วันเดือนปีเกิด 21 ธันวาคม พ.ศ.2519 อายุ 40 ปี

สถานภาพ โสด สมรส

ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์

ประวัติการศึกษา

ชื่อย่อปริญญา	สาขา	สถาบันที่จบ	ปีที่จบ
ปร.ด.	วิศวกรรมเคมี	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2550
วศ.บ.	วิศวกรรมเคมี	มหาวิทยาลัยบูรพา	2541

สาขาวิจัยที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา)

การควบคุมกระบวนการโดยอาศัยแบบจำลอง (model based control), การควบคุมแบบโมเดลพรีดิกทีฟ (model predictive control), ข่ายงานนิวรัล (neural network), การหาสถานะที่เหมาะสม (optimization)

ทุนการศึกษาและทุนวิจัยที่เคยได้รับ

ปี พ.ศ.	ทุนการศึกษาและทุนวิจัย	สถาบันที่ให้
2554	ออปติไมเซชันโดยอาศัยข่ายงานนิวรัลสำหรับกระบวนการกลั่นสกัดแบบกะ	คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
2554	การควบคุมเชิงพลวัตของระบบแลกเปลี่ยนความร้อนในกระบวนการซุบฮาร์ดโครมด้วยวิธีการเคลื่อนเชิงไฟฟ้าด้วยข่ายงานนิวรัล	คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
2553	การหาแบบจำลองของกระบวนการตกผลึกแบบกะโดยใช้ข่ายงานนิวรัล	คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
2552	การหาแบบจำลองของกระบวนการแบบไม่เป็นเชิงเส้นหลายตัวแปรโดยใช้ข่ายงานนิวรัลแบบออนไลน์	คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
2552	การจำลองการควบคุมกระบวนการแบบไม่เป็นเชิงเส้นสูงโดยใช้ตัวควบคุมแบบ PID	คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
2552	การออกแบบระบบควบคุมอุณหภูมิของบ่อล้างไขมัน	คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
2552	การปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์สำหรับกระบวนการซุบฮาร์ดโครมโดยการพัฒนาเครื่องแลกเปลี่ยนความร้อน	คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
2552	การพัฒนากระบวนการนำความร้อนทิ้งจากไอเสียกลับมาใช้ใหม่	คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์ที่ตีพิมพ์เผยแพร่ (ระดับชาติและนานาชาติ)

1. Wachira Daosud, Paisan Kittisupakorn, Piyanan Kanghae, 2009 “Design of a Temperature Control System of a Degreasing Tank”, International Conference on Science, Technology and Innovation for Sustainable Well-Being (STISWB 2009), 23 - 24 July, Pullman Raja Orchid Hotel, Khon Kaen, Thailand, Page 852-858.
2. Wachira Daosud, Paisan Kittisupakorn, Anut Kongthep, 2009 “Product Quality Improvement of a Hard Chrome Plating Process by Development of a Heat Exchange”, International Conference on Science, Technology and Innovation for Sustainable Well-Being (STISWB 2009), 23 - 24 July, Pullman Raja Orchid Hotel, Khon Kaen, Thailand, Page 859-864.

3. Wachira Daosud, Paisan Kittisupakorn, Songpol Prommoon, 2009 “Development of a Flue Gas Heat Recovery System”, International Conference on Science, Technology and Innovation for Sustainable Well-Being (STISWB 2009), 23 - 24 July, Pullman Raja Orchid Hotel, Khon Kaen, Thailand, Page 25-30.
4. Vongdalone Oudompaseuth and Wachira Daosud, 2010 “Neural Network Based Modeling for a Batch Crystallization Process”, The 2nd AUN/SEED-Net Regional Conference on New/Renewable Energy, 21-22 January, Faculty of Engineering, Burapha University, Thailand.
5. E. Nueaklong, P. Kittisupakorn and W. Daosud, 2011 “Dynamic and Control of Heat Exchanger System in Hard Chrome Electroplating Using Neural Network”, The 7th International Conference on Computing and Information Technology (IC2IT2011), 11 - 12 May 2011, Faculty of Information Technology, King Mongkut’s University of Technology North Bangkok, Thailand, Page 161-166.
6. K. Jariyaboon, P. Kittisupakorn and W. Daosud, “Neural Network based Optimization for a Batch Extractive Distillation Process”, TChE International Conference, November 10 – 11, 2011 at Hatyai, Songkhla, Thailand, Page pc025-1-pc025-6.
7. Paisan Kittisupakorn, Thanutchaporn Charoennyom, and Wachira Daosud, “Hybrid neural network controller design for a batch reactor to produce methyl methacrylate”