



การพัฒนา *Clostridium cochlearium* โดยใช้วิธีกลายพันธุ์ด้วยแสงยูวี และการสร้างถังปฏิกรณ์
ชีวภาพต้นแบบ พร้อมระบบควบคุมสภาวะผ่านระบบอินเทอร์เน็ตของสรรพสิ่งสำหรับการผลิต
บิวทานอลทางชีวภาพ

เอกชัย ไกลถิ่น

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมชีวภาพ

คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

2565

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

การพัฒนา *Clostridium cochlearium* โดยใช้วิธีกลายพันธุ์ด้วยแสงยูวี และการสร้างถังปฏิกรณ์
ชีวภาพต้นแบบ พร้อมระบบควบคุมสภาวะผ่านระบบอินเทอร์เน็ตของสรรพสิ่งสำหรับการผลิต
บิวทานอลทางชีวภาพ



เอกชัย ไกลถิ่น

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมชีวภาพ

คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

2565

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

Development of *Clostridium cochlearium* by UV-Mutation technique and the construction of a prototype bioreactor with conditions control system via the internet of things for biobutanol production.



EAKKACHAI KLAITHIN

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE MASTER DEGREE OF ENGINEERING
IN BIOENGINEERING
FACULTY OF ENGINEERING
BURAPHA UNIVERSITY
2022

COPYRIGHT OF BURAPHA UNIVERSITY

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์และคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ได้พิจารณา
วิทยานิพนธ์ของ เอกชัย ไกลถิ่น ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมชีวภาพ ของมหาวิทยาลัยบูรพาได้

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธาน
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ญานิศา ละอองอุทัย) (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เล็ก วันทนา)

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม (รองศาสตราจารย์ ดร.วิทวัส แจ่มเอี่ยม)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วชิรา ดาวสุด) (ดร.สันติ โพธิ์ศรี)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สัญญาชัย เอียดปราบ)

..... คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณยศ คุรุกิจโกศล)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยบูรพา อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของ
การศึกษาตามหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมชีวภาพ ของมหาวิทยาลัย
บูรพา

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร.นุจรี ไชยมงคล)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

61910131: สาขาวิชา: วิศวกรรมชีวภาพ; วศ.ม. (วิศวกรรมชีวภาพ)

คำสำคัญ: Clostridium cochlearium, กระบวนการหมักแบบ ABE, การกลายพันธุ์ด้วยแสงยูวี, อินเทอร์เน็ตของสรรพสิ่ง

เอกชัย ไกลถิ่น : การพัฒนา *Clostridium cochlearium* โดยใช้วิธีการกลายพันธุ์ด้วยแสงยูวี และการสร้างถังปฏิกรณ์ชีวภาพต้นแบบ พร้อมระบบควบคุมสถานะผ่านระบบอินเทอร์เน็ตของสรรพสิ่งสำหรับการผลิต บิวทานอลทางชีวภาพ. (Development of *Clostridium cochlearium* by UV-Mutation technique and the construction of a prototype bioreactor with conditions control system via the internet of things for biobutanol production.)
 คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: ญาณิศา ละอองอุทัย, วชิรา ดาวสุด, สัญชัย เอียดปราบ ปี พ.ศ. 2565.

งานวิจัยนี้จัดทำขึ้นเพื่อพัฒนา *Clostridium cochlearium* ให้มีความสามารถในการผลิตสารบิวทานอลได้มากขึ้นและเพื่อสร้างถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่ใช้ระบบควบคุมแบบอินเทอร์เน็ตของสรรพสิ่ง (IoT) ที่มีความจำเพาะต่อกระบวนการผลิตบิวทานอลทางชีวภาพ โดยได้นำเชื้อ *C. cochlearium* มาทำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้แสงยูวี ซึ่งมีระยะเวลาในการสาดแสงยูวีไปยังเชื้อเป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 วินาที ตามลำดับ พบว่าที่เวลาการแสงยูวี 45 และ 60 วินาที มีจำนวนโคลนที่สามารถอยู่รอดมากที่สุด จากนั้นทดสอบความทนต่อบิวทานอลของเชื้อกลายพันธุ์จำนวน 96 ไอโซเลท พบว่าเชื้อกลายพันธุ์สามารถเจริญเติบโตได้บนอาหารที่มีบิวทานอลร้อยละ 2.8 จึงได้ทำการคัดเลือกเชื้อกลายพันธุ์จำนวน 6 ไอโซเลท ซึ่งได้แก่ ไอโซเลทรหัส 45-20, 45-21, 60-12, 60-16, 60-17 และ 60-25 จากนั้นจึงนำเชื้อกลายพันธุ์ทั้ง 6 ไอโซเลท ไปทำการทดสอบการผลิตสารละลายอินทรีย์ได้แก่ อะซิโตน บิวทานอลและเอทานอลในขวดทดลองเทียบกับเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมและวิเคราะห์ผลด้วยเครื่อง GC-MS พบว่าเชื้อที่สามารถผลิตบิวทานอลได้ความเข้มข้นสูงสุดได้แก่เชื้อกลายพันธุ์ 45-20 รองลงมาคือเชื้อกลายพันธุ์ 45-21, 60-16, 60-12, 60-17, เชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม และ 60-25 ตามลำดับ ซึ่งสามารถผลิตบิวทานอลได้ที่ความเข้มข้น 1.7302, 1.0263, 0.8116, 0.7233, 0.5986, 0.1085 และ 0.0081 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อที่สามารถผลิตเอทานอลได้ความเข้มข้นสูงสุดคือเชื้อกลายพันธุ์ 45-20 ซึ่งสามารถผลิตเอทานอลได้ที่ความเข้มข้น 1.5197 กรัมต่อลิตร ส่วนเชื้อที่สามารถผลิตอะซิโตนได้ความเข้มข้นสูงสุดคือเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม ซึ่งสามารถผลิตอะซิโตนได้ความเข้มข้น 0.3852 กรัมต่อลิตร ทั้งนี้จากการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อกลายพันธุ์ทั้ง 6 ไอโซเลท พบว่าเชื้อกลายพันธุ์รหัส 60-12 มีอัตราการเจริญเติบโตสูงที่สุดรองลงมาคือเชื้อกลายพันธุ์รหัส 60-16, 60-17, 45-21, 60-25, 45-20 และเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม ตามลำดับ และพบว่าการใช้สารตั้งต้นก็แปรผันตรงกับอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อ

จากนั้นนำเชื้อกลายพันธุ์ 45-20 ไปทำการทดสอบการผลิตบิวทานอลในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพที่ได้ทำการออกแบบและสร้างขึ้นปริมาตร 10 ลิตร พร้อมระบบควบคุมสภาวะได้แก่ อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-ด่างและสภาวะไร้ออกซิเจน มีการควบคุมและดูผลสภาวะแบบ Real-time ด้วยระบบ NETPIE มีการจัดเก็บข้อมูลสภาวะบน Google sheet ที่มีการเขียนโปรแกรมสั่งการบน Google Apps Script ผลพบว่าที่เวลาการหมักชั่วโมงที่ 120 มีการผลิตบิวทานอลได้มากที่สุดเท่ากับ 29.65 กรัมต่อลิตร และมีการผลิตเอทานอลสูงที่สุด ณ ชั่วโมงที่ 264 เท่ากับ 11.30 กรัมต่อลิตร ส่วนอะซิโตนพบว่ามีการผลิตที่ต่ำกว่า 0.0078 กรัมต่อลิตร ในการควบคุมสภาวะของระบบพบว่าระบบมีการควบคุมอุณหภูมิได้ตามเป้าหมาย คือ 30 องศาเซลเซียส ส่วนค่าความเป็นกรด-ด่างมีการปรับค่าเพียงหนึ่งครั้ง โดยระดับความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วงที่กำหนดคือ 6.41 ถึง 7.50 ได้ยาวถึงชั่วโมงที่ 194 การควบคุมสภาวะไร้ออกซิเจนเป็นการควบคุมด้วยตนเอง ในส่วนของระบบจัดเก็บข้อมูลและระบบรายงานผลด้วยระบบ NETPIE และ Google sheet สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตามหากมีการพัฒนางานวิจัยนี้ต่อไปในอนาคตจะสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการเป็นต้นแบบเพื่อพัฒนาอุตสาหกรรมชีวภาพได้เป็นอย่างดี

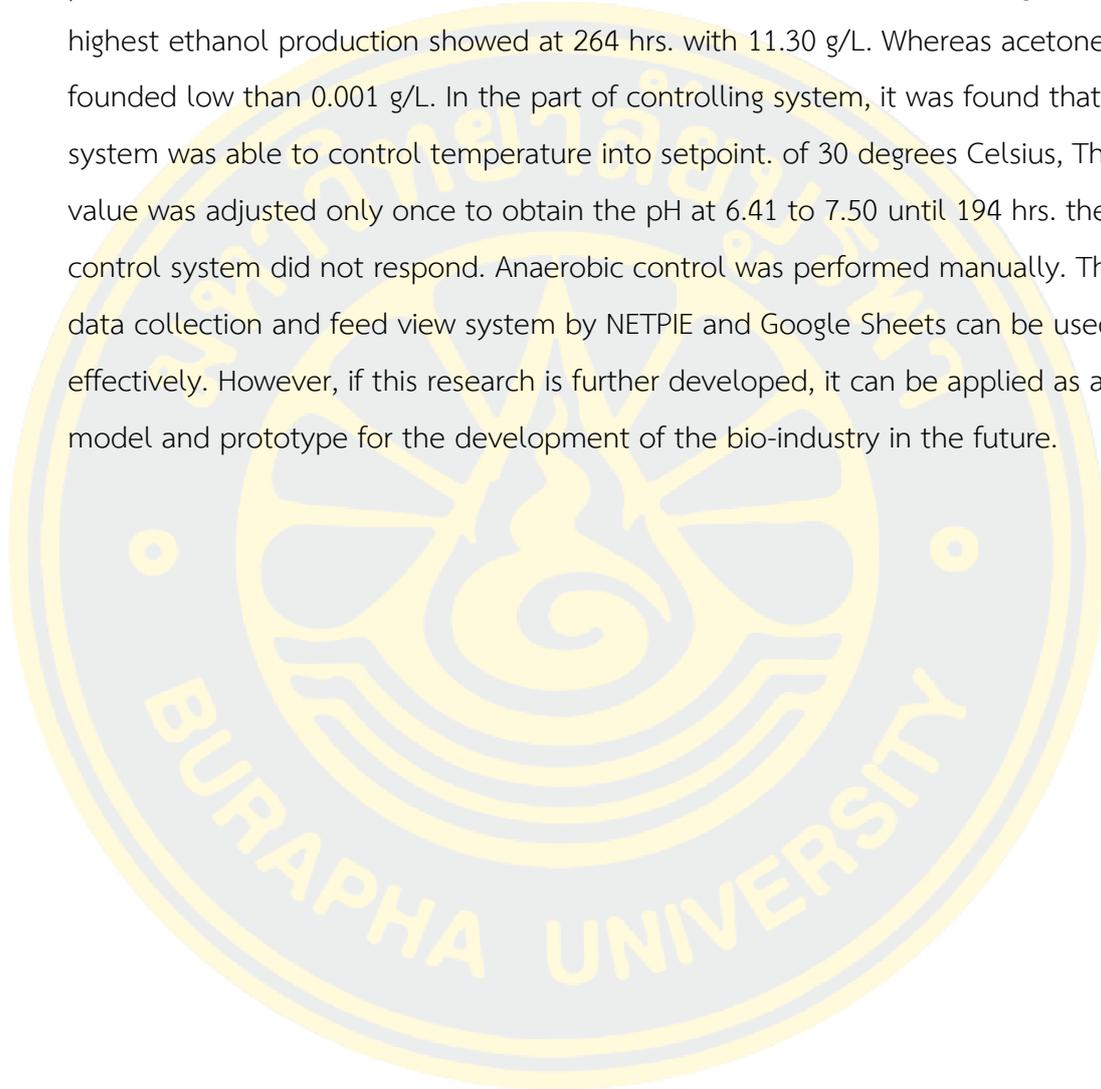
61910131: MAJOR: BIOENGINEERING; M.Eng. (BIOENGINEERING)

KEYWORDS: Clostridium cochlearium, ABE Fermentation, UV-Mutation, Internet of Thing (IoT)

EAKKACHAI KLAITHIN : DEVELOPMENT OF *CLOSTRIDIUM COCHLEARIUM* BY UV-MUTATION TECHNIQUE AND THE CONSTRUCTION OF A PROTOTYPE BIOREACTOR WITH CONDITIONS CONTROL SYSTEM VIA THE INTERNET OF THINGS FOR BIOBUTANOL PRODUCTION.. ADVISORY COMMITTEE: YANISA LAOONG-U-THAI, Ph.D., WACHIRA DAOSUD, Ph.D. SANCHAIE EARDPRAB, Ph.D. 2022.

This research intended to develop *Clostridium cochlearium* to increase butanol producibility and to design to build a bioreactor controlled by the Internet of Things (IoT) system which is specific to biobutanol production. The *C. cochlearium* was mutated by using UV irradiation in exposure time of 0, 15, 30, 45, 60, 75, and 90 sec., respectively. It was found that at 45 and 60 sec of UV exposure had the largest among of survival colonies., The 96 isolates of mutant were tested for butanol tolerance. The highest concentration of butanol that mutant can survive was at 2.8 %v/v and 6 isolates were selected, namely 45-20, 45-21, 60-12, 60-16, 60-17, and 60-25. Mutants and wild type were tested for the production of organic solvents including, acetone, butanol, and ethanol by GC-MS. It found that isolate 45-20 showed the highest butanol production, followed by 45-21, 60-16, 60-12, 60-17, wild type and 60-25 which were able to produce butanol at the concentrations of 1.7302, 1.0263, 0.8116, 0.7233, 0.5986, 0.1085 and 0.0081 g/L respectively, The highest concentrations of ethanol was also produced by isolate 45-20 at the concentration of 1.5197 g/L, While the highest concentrations of acetone was produced by the wild type at the concentration of 0.3852 g/L. The specific growth rate at 6 isolates was determined, it showed that the 60-12 has the highest specific growth followed by 60-16, 60-17, 45-21, 60-25, 45-20 and wild type respectively, as same as the trend of substrate consumption. Mutant 45-20 was selected for production of butanol in 10 liters of bioreactor which was designed and built for the prototype with temperature, pH, and anaerobic conditions control. The bioreactor

conditions were controlled and viewed in real-time with the NETPIE cloud platform, and data was collected on Google sheets with the programming commands in Google Apps Script. The fermentation result showed that the highest butanol produced was observed at 120 hrs. with butanol concentration of 29.65 g/L, and the highest ethanol production showed at 264 hrs. with 11.30 g/L. Whereas acetone was founded low than 0.001 g/L. In the part of controlling system, it was found that the system was able to control temperature into setpoint. of 30 degrees Celsius, The pH value was adjusted only once to obtain the pH at 6.41 to 7.50 until 194 hrs. then the control system did not respond. Anaerobic control was performed manually. The data collection and feed view system by NETPIE and Google Sheets can be used effectively. However, if this research is further developed, it can be applied as a model and prototype for the development of the bio-industry in the future.



กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความกรุณาของ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ญาณิศา ละอองอุทัย ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วชิรา ดาวสุด และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สันชัย เอียดปราบ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาร่วมที่กรุณาให้คำปรึกษาและแนวทางที่ถูกต้อง อีกทั้งช่วยเหลือแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความละเอียดถี่ถ้วนและเอาใจใส่ด้วยดีเสมอมา ผู้วิจัยรู้สึกทราบบังเป็นอย่างยิ่งจึงกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เล็ก วันทา ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์ ดร. วิทวัส แจ่มเอี่ยม และ ดร. สันติ โพธิ์ศรี กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่กรุณาให้คำแนะนำและความรู้ด้านวิชาการ ตลอดจนคำแนะนำในการแก้ไขงานวิจัยให้สมบูรณ์

คุณค่าและประโยชน์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบเป็นกตัญญูทเวทิตาแต่ บิดา มารดา ครูอาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่านทั้งในอดีตและปัจจุบันที่ทำให้ข้าพเจ้าเป็นผู้มีการศึกษาและประสบความสำเร็จเท่าทุกวันนี้ นอกจากนี้ข้าพเจ้ายังได้รับความกรุณาจาก คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่สนับสนุนด้านวัสดุดิบ เครื่องมือและอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ข้าพเจ้าขอขอบคุณมา ณ ที่นี้

เอกชัย ไกลถิ่น

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ฉ
กิตติกรรมประกาศ.....	ช
สารบัญ.....	ฅ
ตาราง.....	ด
รูป.....	ถ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 สมมติฐานงานวิจัย.....	3
1.4 ขอบเขตของงานวิจัย.....	3
1.5 ตัวแปรที่ศึกษา.....	4
1.6 ประโยชน์ที่ได้รับ.....	5
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	6
2.1 ทฤษฎี.....	6
2.1.1 บิวทานอล.....	6
2.1.2 การผลิตบิวทานอลทางชีวภาพ.....	7
2.1.3 <i>Clostridium cochlearium</i>	8
2.1.4 การกลายพันธุ์.....	10
2.1.5 สภาวะที่มีผลต่อการผลิตบิวทานอลของ <i>Clostridium cochlearium</i>	10
2.1.5.1 อาหารและความเข้มข้นของสารตั้งต้น.....	10

2.1.5.2 อุณหภูมิ	10
2.1.5.3 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)	11
2.1.5.4 ออกซิเจน	11
2.1.6 หลักการออกแบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบถังกวนชนิดกะ (batch stirred tank bioreactor).....	11
2.1.6.1 ลักษณะของหัวถังปฏิกรณ์ (Vessel Head).....	12
2.1.6.2 การออกแบบใบกวนและแผ่นกั้นการกวน (baffle).....	15
2.1.6.3 การออกแบบขนาด shaft และการเลือกขนาดมอเตอร์	17
2.1.6.4 การให้ความร้อนถังปฏิกรณ์.....	18
2.1.6.5 การเลือกวัสดุในการผลิตถังปฏิกรณ์	20
2.1.7 เทคโนโลยีอินเทอร์เน็ตของสรรพสิ่ง (IoT).....	21
2.1.7.1 กลุ่ม Industrial IoT	22
2.1.7.2 กลุ่ม Commercial IoT	22
2.1.8 ระบบบริการ Network Platform for Internet of Everything (NETPIE)	22
2.1.8.1 ประโยชน์ของการใช้บริการ NETPIE	23
2.1.9 Microgear Library.....	24
2.1.9.1 ฟังก์ชันหลักของ Microgear	25
2.1.10 Google sheet และ Google Apps Script.....	26
2.1.10.1 Google sheet	26
2.1.10.2 Google Apps Script.....	27
2.1.11 บอร์ด Arduino และโปรแกรม Arduino IDE	28
2.1.11.1 บอร์ด Arduino.....	28
2.1.11.2 โปรแกรม Arduino IDE.....	32
2.1.12 บอร์ด ESP8266.....	33

2.1.12.1 ข้อมูลจำเพาะของบอร์ด ESP8266	33
2.1.12.2 ส่วนประกอบของบอร์ด ESP8266	35
2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	36
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงาน.....	37
3.1 วัสดุ อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง.....	38
3.1.1 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง.....	38
3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	38
3.1.3 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง.....	39
3.1.4 ซอฟต์แวร์ (Software).....	39
3.2 วิธีการทดลอง.....	39
3.2.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ	39
3.2.1.1 อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Cooked meat medium.....	39
3.2.1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Cooked meat medium	40
3.2.1.3 อาหารเพื่อการคัดเลือก (Selective medium).....	40
3.2.1.4 อาหารหมัก Phosphate-carbonate medium	41
3.2.2 การพัฒนาเชื้อ <i>Clostridium cochlearium</i>	42
3.2.2.1 การกล่าเชื้อ <i>Clostridium cochlearium</i>	42
3.2.2.2 การทำการกลายพันธุ์ด้วยรังสียูวี (UV-Mutation).....	42
3.2.2.3 การคัดเลือกกลายพันธุ์ด้วยอาหารเพื่อการคัดเลือก (Selective medium)....	43
3.2.2.4 การเก็บรักษาเชื้อหลังการกลายพันธุ์	45
3.2.3 การทดลองการผลิตบิวทานอลของเชื้อกลายพันธุ์	45
3.2.3.1 การทดลองหมักบิวทานอลในขวดทดลอง	45
3.2.3.2 การทดลองหมักบิวทานอลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ.....	46
3.2.4 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคสด้วยวิธี DNS.....	48

3.2.5 การวิเคราะห์ผลได้จากกระบวนการผลิตบิวทานอลทางชีวภาพ	48
3.2.6 การออกแบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพ.....	49
3.2.6.1 สมดุลมวลรวมภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (total mass balance)	49
3.2.6.2 วัสดุ (material)	49
3.2.6.3 ขนาดและสัดส่วนของถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (Dimension of tank)	50
3.2.6.4 การออกแบบใบกวน.....	55
3.2.6.5 แผ่นกั้นการกวน (baffle)	61
3.2.6.6 ความต้องการพลังงานของมอเตอร์.....	63
3.2.6.7 แจ็คเก็ตให้ความร้อนและการถ่ายโอนความร้อน (Heat Transfer).....	64
3.2.6.8 ท่อและช่อง (Tube and slot).....	72
3.2.7 การออกแบบกระบวนการควบคุมการผลิตบิวทานอลทางชีวภาพ	72
3.2.7.1 การควบคุมการเข้า-ออกของสารภายในถังปฏิกรณ์	72
3.2.7.2 การควบคุมอุณหภูมิ	73
3.2.7.3 การควบคุมความเป็นกรด-ด่าง	74
3.2.7.4 การควบคุมสภาวะไร้ออกซิเจน (anaerobic)	76
3.2.7.5 ระบบการกวน (mixing).....	77
3.2.8 การออกแบบระบบควบคุมสภาวะของถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่ควบคุมผ่านระบบ อินเทอร์เน็ตของสรรพสิ่ง (IoT).....	79
3.2.9 การเชื่อมต่อบอร์ด Arduino และบอร์ด ESP8266.....	81
3.2.10 การเชื่อมต่อและการเขียนโปรแกรมรับค่าจากอุปกรณ์วัด	85
3.2.10.1 อุปกรณ์วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter).....	86
3.2.10.2. อุปกรณ์วัดค่าปริมาณแก๊สออกซิเจน (Oxygen gas sensor)	89
3.2.10.3 อุปกรณ์วัดอุณหภูมิ (Thermocouple).....	91
3.2.11 การเชื่อมต่ออุปกรณ์และการเขียนโปรแกรมควบคุมสภาวะ	94

3.2.11.1	อุณหภูมิจึง	94
3.2.11.2	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	95
3.2.11.3	สภาวะไร้ออกซิเจน	97
3.2.11.4	การนำเข้าและส่งออกสาร	98
3.2.11.5	การกวน	99
3.2.12	การเขียนโปรแกรมเพื่อเชื่อมต่อกับระบบ NETPIE การสร้าง NETPIE Application NETPIE Freeboard และ NETPIE Feed	100
3.2.13	การเขียนหน้าเว็บไซต์เพื่อเข้าสู่ระบบ NETPIE	117
3.2.14	การเขียนโปรแกรมเก็บข้อมูลบน Google Sheet	122
3.2.14.1	ส่วนของ Google Apps Script	122
3.2.14.2	ส่วนของโปรแกรมบนบอร์ด ESP8266	125
3.2.15	การผลิตบิวทานอลจากเชื้อที่พัฒนาสายพันธุ์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพต้นแบบที่มีระบบควบคุมสภาวะ	126
บทที่ 4	ผลการดำเนินงาน	128
4.1	ผลการพัฒนาเชื้อ <i>Clostridium cochlearium</i>	128
4.1.1	ผลการกล้าเชื้อ <i>Clostridium cochlearium</i>	128
4.1.2	ผลการทำการกลายพันธุ์ด้วยรังสียูวี	129
4.1.3	ผลการคัดเลือกเชื้อกลายพันธุ์ด้วยอาหารเพื่อการคัดเลือก	130
4.1.4	ปริมาณเชื้อเริ่มต้นก่อนการหมักและการเจริญเติบโตของ <i>Clostridium cochlearium</i> ระหว่างการหมักบิวทานอล	133
4.1.5	ผลการทดสอบการผลิตบิวทานอลของเชื้อกลายพันธุ์และเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมด้วย กระบวนการหมักแบบ ABE	136
4.1.6	ผลการใช้สารตั้งต้น (substrate) ระหว่างการหมักของ <i>Clostridium cochlearium</i>	139
4.1.7	ค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่างการหมักบิวทานอล	146

4.1.8 ลักษณะทางกายภาพของน้ำหมักหลังการหมักบิวทานอล	150
4.2 การสร้างถังปฏิกรณ์ชีวภาพต้นแบบขนาด 10 ลิตร และการหมักบิวทานอล.....	151
4.2.1 คุณลักษณะของถังปฏิกรณ์ชีวภาพ.....	151
4.2.2 ผลการติดตั้งอุปกรณ์ควบคุมและวัดค่า	155
4.2.3 ผลของการเขียนโปรแกรมควบคุม แสดงผลและเก็บค่าตัวแปร	157
4.2.3.1 การควบคุมอุปกรณ์และแสดงผลข้อมูลสถานะบน NETPIE.....	158
4.2.3.2 การเก็บค่าตัวแปรบน Google Sheet.....	165
4.2.4 ผลของระบบควบคุมต่อการหมักบิวทานอล	166
4.2.4.1 ผลของการควบคุมอุณหภูมิ	166
4.2.4.2 ผลของการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง	167
4.2.4.2 ผลของการควบคุมสถานะไร้ออกซิเจน.....	168
4.2.4.4 ผลของการควบคุมระบบการกวน.....	170
4.2.4.5 ผลของการควบคุมนำสารเข้า-ออก.....	170
4.2.5 ผลการป้องกันการปนเปื้อนในการหมักโดยใช้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพ.....	171
4.2.6 ผลการหมักบิวทานอลโดยใช้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพต้นแบบ.....	172
4.2.7 การเจริญเติบโตของ <i>Clostridium cochlearium</i> ระหว่างการหมักในถังปฏิกรณ์ชีวภาพต้นแบบ.....	176
4.2.8 การใช้สารตั้งต้นระหว่างการหมักของ <i>Clostridium cochlearium</i> ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพต้นแบบ.....	177
4.3 การประเมินความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ (Economic Assessments).....	179
4.3.1 ต้นทุนในการผลิตบิวทานอลทางชีวภาพ (Costs).....	179
4.3.2 การสำรวจราคาขายของบิวทานอล (Price survey)	181
4.3.3 การประเมินความคุ้มค่าของการผลิตบิวทานอลทางชีวภาพ (Cost-Benefit Analysis)	181
บทที่ 5 สรุปผลการดำเนินงาน	183

ภาคผนวก.....	185
ภาคผนวก ก. อักษรย่อ (Abbreviations).....	185
ภาคผนวก ข. วิธีทำกราฟมาตรฐานความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส ด้วยวิธี DNS.....	188
ภาคผนวก ค. การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่างการหมัก บิวทานอลในขวดทดลอง	190
ภาคผนวก ง. การเปลี่ยนแปลงน้ำตาลกลูโคสระหว่างการหมักบิวทานอลในขวดทดลอง	191
ภาคผนวก จ. การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงระหว่างการหมักบิวทานอลในขวดทดลอง....	192
ภาคผนวก ฉ. การเปลี่ยนแปลงน้ำตาลกลูโคสระหว่างการหมักบิวทานอลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ต้นแบบ	194
ภาคผนวก ช. การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงระหว่างการหมักบิวทานอลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ต้นแบบ	195
ภาคผนวก ซ. ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารละลายอินทรีย์.....	197
ภาคผนวก ฌ. Source code ของอุปกรณ์วัด	199
ภาคผนวก ฎ. Source code สั่งการอุปกรณ์ควบคุมสถานะ	204
1. การสั่งงานรีเลย์.....	204
2. การส่งค่าจากบอร์ด Arduino ไปยังบอร์ด ESP8266.....	205
3. การรับค่าของบอร์ด Arduino ที่มาจากบอร์ด ESP8266	206
4. การส่งค่าจากบอร์ด ESP8266 ไปยังบอร์ด Arduino	207
5. การรับค่าของบอร์ด ESP8266 ที่มาจากบอร์ด Arduino	208
6. การควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง.....	209
7. การควบคุมอุณหภูมิ.....	214
8. การควบคุมการปริมาณแก๊สออกซิเจน	216
ภาคผนวก ฏ. Source code การเชื่อมต่อ NETPIE	218
ภาคผนวก ฐ. Source code การสร้างเว็บไซต์เชื่อมต่อ NETPIE	223
ภาคผนวก ฑ. คู่มือการใช้งาน NETPIE.....	225

ภาคผนวก ข. Source code การเชื่อมต่อ Google sheet.....	226
1. Source code บนบอร์ด ESP8266.....	226
2. Source code บน Google Apps Script.....	229
ภาคผนวก ค. Data sheet อุปกรณ์วัด	231
1. Thermocouple	231
2. pH meter.....	239
3. Oxygen sensor.....	247
ภาคผนวก ง. การปรับเทียบ (Calibration) อุปกรณ์วัด	251
1. การปรับเทียบ Thermocouple.....	251
2. การปรับเทียบ pH meter	252
3. การปรับเทียบ Oxygen sensor	254
ภาคผนวกที่ ด. สภาวะระหว่างการหมักบิวทานอลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพต้นแบบ	255
บรรณานุกรม.....	256
ประวัติย่อของผู้วิจัย.....	261

ตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1.1 ตัวแปรที่ศึกษา.....	4
ตารางที่ 2.1 อัตราส่วนของไบโกลและแผ่นกั้นการกวน (Doran, 1995).....	17
ตารางที่ 2.2 ข้อมูลจำเพาะของบอร์ด Arduino UNO R3 (ประกาศ สุวรรณเพชร, 2564).....	30
ตารางที่ 2.3 ข้อมูลจำเพาะของบอร์ด ESP8266 (สุวิทย์ กิระวิทยา, 2562).....	34
ตารางที่ 3.1 องค์ประกอบของ Cooked meat medium (R.C. Medium).....	40
ตารางที่ 3.2 องค์ประกอบของอาหาร Phosphate-carbonate medium.....	41
ตารางที่ 3.3 รายละเอียดส่วนหลักของถังปฏิกรณ์ชีวภาพ	52
ตารางที่ 3.4 ส่วนประกอบของไบโกล.....	56
ตารางที่ 4.1 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการสาดแสงยูวีและจำนวนเซลล์ที่อยู่รอด	129
ตารางที่ 4.2 ผลการทดสอบความทนต่อบิวทานอลของเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม	131
ตารางที่ 4.3 จำนวนโคโลนีที่สามารถอยู่รอดได้บนอาหารแข็ง Cooked meat ที่มีบิวทานอลความเข้มข้นร้อยละ 2.0 ของเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมและเชื้อกลายพันธุ์.....	132
ตารางที่ 4.4 ค่าการดูดกลืนแสงของเชื้อที่ได้จากการกล้าเชื้อต่อเวลาที่ใช้.....	134
ตารางที่ 4.5 ความเข้มข้นของสารละลายอินทรีย์ที่ได้จากการหมักบิวทานอลในขวดทดลอง	175
ตารางที่ 4.6 ต้นทุนของอาหารเลี้ยงเชื้อและอาหารหมัก.....	180
ตารางที่ 4.7 ราคาขายบิวทานอลในประเทศไทย.....	181
ตารางที่ ภาคผนวก ข.-1 ค่าการดูดกลืนแสงของน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	189
ตารางที่ ภาคผนวก ค.-2 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ต่างระหว่างการหมักบิวทานอลในขวดทดลอง	190
ตารางที่ ภาคผนวก ง.-3 การเปลี่ยนแปลงน้ำตาลกลูโคสระหว่างการหมักบิวทานอลในขวดทดลอง	191

ตารางที่ ภาคผนวก จ.-4 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงระหว่างการหมักบิวทานอลในขวดทดลอง	192
ตารางที่ ภาคผนวก ฉ.-5 การเปลี่ยนแปลงน้ำตาลกลูโคสระหว่างการหมักบิวทานอลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพต้นแบบ.....	194
ตารางที่ ภาคผนวก ช.-6 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงระหว่างการหมักบิวทานอลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพต้นแบบ.....	195



รูป

หน้า

รูปที่ 2.1 โครงสร้างของบิวทานอล (Lee et al., 2008).....	6
รูปที่ 2.2 วิธีของกระบวนการหมักแบบ Acetone-Butanol-Ethanol (ABE) ของแบคทีเรีย Clostridia (D. T. Jones, 2008).....	8
รูปที่ 2.3 ลักษณะทางกายภาพของ Clostridium cochlearium ที่ได้จากการย้อมแกรม (เอกชัย ไกลถิ่น, 2560).....	9
รูปที่ 2.4 ลักษณะโครงสร้างและรูปร่างสปอร์ของแบคทีเรีย Clostridium cochlearium (Pope & Rode, 1969).....	9
รูปที่ 2.5 ลักษณะของหัวถังแบบ Flat head (ณัฐพงศ์ ไชยสิทธิ์, 2560).....	12
รูปที่ 2.6 ลักษณะของหัวถังแบบ Conical head (ณัฐพงศ์ ไชยสิทธิ์, 2560).....	13
รูปที่ 2.7 ลักษณะของหัวถังแบบ Torispherical (ณัฐพงศ์ ไชยสิทธิ์, 2560).....	13
รูปที่ 2.8 ลักษณะของหัวถังแบบ Ellipsoidal head (ณัฐพงศ์ ไชยสิทธิ์, 2560).....	14
รูปที่ 2.9 ลักษณะของหัวถังแบบ Hemispherical head (ณัฐพงศ์ ไชยสิทธิ์, 2560).....	15
รูปที่ 2.10 ลักษณะของการไหลของของเหลวภายในถังปฏิกรณ์กรณีใส่แผ่นกั้นการกวน (ก.) ลักษณะการไหลมุมด้านข้าง (ข.) ลักษณะการไหลมุมด้านบน (Doran, 1995).....	16
รูปที่ 2.11 ตำแหน่งของใบกวนและแผ่นกั้นการกวน (Doran, 1995).....	16
รูปที่ 2.12 Overhead motor (ก.) ลักษณะของ Overhead motor (Spectrumchemical, 2020) และ (ข.) ตำแหน่งการติดตั้ง (Schmidt, 1998).....	18
รูปที่ 2.13 ลักษณะการให้ความร้อนแก่ถังปฏิกรณ์ (ก.) แบบ jacketed vessel (ข.) แบบ external coil (ค.) แบบ internal helical coil (ง.) แบบ internal baffle-type coil (จ.) แบบ external heat exchanger (Doran, 1995).....	19
รูปที่ 2.14 วิธีการสื่อสารของสิ่งต่าง ๆ ผ่าน NETPIE (คู่มือการใช้งาน NETPIE, 2017).....	23
รูปที่ 2.15 สัญญาอนุญาตให้ใช้สิทธิ์แบบเปิดประเภท ISC License ของ Microgear Library (คู่มือการใช้งาน NETPIE, 2017).....	25

รูปที่ 2.16 ลำดับในการเรียกฟังก์ชันพื้นฐานเพื่อเริ่มส่งข้อมูลของ Microgear Library (NECTEC, 2017)..... 26

รูปที่ 2.17 โปรแกรม Google Sheets..... 27

รูปที่ 2.18 โปรแกรม Google Apps Script 28

รูปที่ 2.19 ส่วนประกอบของบอร์ด Arduino UNO R3..... 30

รูปที่ 2.20 โปรแกรม Arduino IDE..... 32

รูปที่ 2.21 ส่วนประกอบของบอร์ด ESP8266..... 35

รูปที่ 3.1 ภาพรวมของขอบเขตการทดลอง..... 37

รูปที่ 3.2 การทำการกลายพันธุ์ Clostridium cochlearium โดยใช้การสาดแสงยูวี..... 42

รูปที่ 3.3 การทดสอบความทนต่อบิวทานอลของเชื้อหลายไอโซเลทในอาหารแข็งที่มีบิวทานอลความเข้มข้นค่าหนึ่ง (Patch)..... 44

รูปที่ 3.4 การหมักบิวทานอลในขวดทดลอง 46

รูปที่ 3.5 ขนาดของส่วนหลักของถังปฏิกรณ์ชีวภาพ..... 52

รูปที่ 3.6 ส่วนหัวและท้ายของถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ Ellipsoidal 54

รูปที่ 3.7 สัดส่วนโดยรวมของถังปฏิกรณ์ชีวภาพ..... 54

รูปที่ 3.8 การวางตำแหน่งของใบกวนภายในถังปฏิกรณ์ 56

รูปที่ 3.9 องศาการเอียงของใบกวนบนแท่ง Shaft 60

รูปที่ 3.10 ลักษณะของใบกวนแบบ Pitch Blade Impeller 61

รูปที่ 3.11 การจัดวางแผ่นกั้นการกวนภายในถังปฏิกรณ์ 63

รูปที่ 3.12 ขนาดและตำแหน่งของแผ่นกั้นการกวน 63

รูปที่ 3.13 ความกว้างของแจ็กเก็ตให้ความร้อน..... 65

รูปที่ 3.14 ความสูงของแจ็กเก็ต 66

รูปที่ 3.15 ลักษณะการถ่ายโอนความร้อนจากน้ำร้อนในแจ็กเก็ตไปยังของเหลวภายในถังปฏิกรณ์ (Bergman et al., 2011)..... 69

รูปที่ 3.16 ลักษณะของ thermal resistance (Bergman et al., 2011)..... 69

รูปที่ 3.17 การควบคุมสารเข้า-ออก (ก.) จากการออกแบบ (ข.) จากการติดตั้งจริง	73
รูปที่ 3.18 การควบคุมอุณหภูมิ (ก.) จากการออกแบบ (ข.) จากการติดตั้งจริง	74
รูปที่ 3.19 การควบคุมความเป็นกรด-ด่าง (ก.) จากการออกแบบ (ข.) จากการติดตั้งจริง	75
รูปที่ 3.20 การควบคุมออกซิเจน (anaerobic condition) (ก.) จากการออกแบบ (ข.) จากการติดตั้งจริง	76
รูปที่ 3.21 ระบบการกวน (mixing) (ก.) จากการออกแบบ (ข.) จากการติดตั้งจริง	77
รูปที่ 3.22 ภาพรวมของระบบควบคุมสถานะ (ก.) จากการออกแบบ (ข.) จากการติดตั้งจริง	78
รูปที่ 3.23 ระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบควบคุมผ่านระบบอินเทอร์เน็ตทุกสรรพสิ่ง	79
รูปที่ 3.24 วิธีการรับส่งข้อมูลระหว่างบอร์ด	82
รูปที่ 3.25 โปรแกรมส่งข้อมูลระหว่างบอร์ด	83
รูปที่ 3.26 โปรแกรมรับข้อมูลระหว่างบอร์ด	84
รูปที่ 3.27 การเชื่อมต่อสายรับและส่งข้อมูลระหว่างบอร์ด	85
รูปที่ 3.28 อุปกรณ์วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง รุ่น E-201-C	86
รูปที่ 3.29 การเชื่อมต่อ pH sensor probe ผ่าน BNC port บน pH meter module	87
รูปที่ 3.30 การเชื่อมต่อบอร์ด pH meter module เข้ากับบอร์ด Arduino	88
รูปที่ 3.31 โปรแกรมการทำงานหลัก ๆ ของอุปกรณ์วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)	89
รูปที่ 3.32 อุปกรณ์วัดค่าปริมาณแก๊สออกซิเจน รุ่น ME2-O2	89
รูปที่ 3.33 การเชื่อมต่อบอร์ดของอุปกรณ์วัด Gas O ₂ sensor v.1.1 ไปยังบอร์ด Arduino	90
รูปที่ 3.34 โปรแกรมการทำงานหลัก ๆ ของอุปกรณ์วัดค่าปริมาณแก๊สออกซิเจน	91
รูปที่ 3.35 อุปกรณ์วัดอุณหภูมิ K-Type Thermocouple รุ่น MAX6675	91
รูปที่ 3.36 การเชื่อมต่อแผงวัด Thermocouple เข้ากับบอร์ด MAX6675	92
รูปที่ 3.37 การเชื่อมต่อบอร์ด MAX6675 เข้ากับบอร์ด Arduino	92
รูปที่ 3.38 โปรแกรมการทำงานหลัก ๆ ของอุปกรณ์วัดอุณหภูมิ Thermocouple MAX6675	93
รูปที่ 3.39 การเชื่อมต่ออุปกรณ์เพื่อควบคุมฮีตเตอร์	94

รูปที่ 3.40 การเชื่อมต่ออุปกรณ์ในการควบคุม Peristaltic pump.....	96
รูปที่ 3.41 การเชื่อมต่อการควบคุมวาล์วโซลินอยด์	97
รูปที่ 3.42 การเชื่อมต่ออุปกรณ์เพื่อควบคุมปั้มนำเข้าสารและวาล์วโซลินอยด์สำหรับปล่อยออกสาร (ก.) ปั้มนำเข้าสาร (ข.) วาล์วโซลินอยด์สำหรับปล่อยออกสาร	99
รูปที่ 3.43 การเชื่อมต่ออุปกรณ์เพื่อควบคุมปั้มน้ำกวน	100
รูปที่ 3.44 โปรแกรมคำสั่งการเชื่อมต่อ NETPIE บนบอร์ด ESP8266.....	101
รูปที่ 3.45 หน้าเว็บไซต์ NETPIE หลังจากทำการ Login ระบบ.....	102
รูปที่ 3.46 การสร้าง NETPIE Applications.....	103
รูปที่ 3.47 การสร้าง Application Key	104
รูปที่ 3.48 การสร้าง NETPIE Freeboard	105
รูปที่ 3.49 การเลือกชนิดข้อมูลแบบ NETPIE Microgear	106
รูปที่ 3.50 การระบุแหล่งข้อมูลบน NETPIE Freeboard ในรูปแบบ NETPIE Microgear	107
รูปที่ 3.51 การเลือกชนิดข้อมูลแบบ NETPIE Feed.....	108
รูปที่ 3.52 การระบุแหล่งข้อมูลบน NETPIE Freeboard ในรูปแบบ NETPIE Feed.....	109
รูปที่ 3.53 การเลือกรูปแบบ Pane.....	110
รูปที่ 3.54 การกำหนดค่า Pane ในรูปแบบ Gauge.....	110
รูปที่ 3.55 Pane ในรูปแบบ Gauge	111
รูปที่ 3.56 การกำหนดค่า Pane ในรูปแบบ Toggle	112
รูปที่ 3.57 Pane ในรูปแบบ Toggle.....	112
รูปที่ 3.58 การกำหนดค่า Pane ในรูปแบบ Indicator Light	113
รูปที่ 3.59 Pane ในรูปแบบ Indicator Light.....	113
รูปที่ 3.60 การกำหนดค่า Pane ในรูปแบบ Text	114
รูปที่ 3.61 Pane ในรูปแบบ Text.....	114
รูปที่ 3.62 การกำหนดค่า Pane ในรูปแบบ HTML.....	115

รูปที่ 3.63 Pane ในรูปแบบ HTML	115
รูปที่ 3.64 การสร้าง NETPIE Feeds	116
รูปที่ 3.65 API key และการสร้างกราฟบน NIETPIE Feed	117
รูปที่ 3.66 โปรแกรม Adobe Dreamweaver 2021	117
รูปที่ 3.67 คำสั่งในภาษา HTML หลัก ๆ ในการเขียนหน้าเว็บไซต์	118
รูปที่ 3.68 การใช้งานฟังก์ชันของเว็บไซต์ที่สร้างขึ้น	119
รูปที่ 3.69 หน้า Login ของ NETPIE จากการเชื่อมโยงของหน้าเว็บไซต์ที่สร้างขึ้น	119
รูปที่ 3.70 การเข้าใช้งาน Drive To Web	120
รูปที่ 3.71 การสร้างลิงก์เข้าสู่หน้าเว็บไซต์จากบริการ Drive To Web	121
รูปที่ 3.72 หน้าเว็บไซต์ที่สร้างขึ้นโดยเข้าถึงด้วยลิงก์จากบริการ Drive To Web	121
รูปที่ 3.73 การแก้ไขสิทธิ์การเข้าถึงบน Google Sheet	122
รูปที่ 3.74 การเข้าใช้งาน Google App Script	123
รูปที่ 3.75 การเขียนโปรแกรมจัดเก็บค่าใน Google Apps Script	124
รูปที่ 3.76 การประกาศใช้งาน (Deploy) โปรแกรมจัดเก็บค่าบน Google Apps Script	125
รูปที่ 3.77 โปรแกรมคำสั่งหลัก ๆ บนบอร์ด ESP8266 ในการส่งค่าข้อมูลไปยัง Google Apps Script	126
รูปที่ 4.1 ผลการกล้าเชื้อ Clostridium cochlearium ก. ลักษณะของโคโลนีบนอาหารแข็ง Cooked meat medium ข. ลักษณะทางกายภาพของเซลล์จากการย้อมแกรมและส่องกล้องจุลทรรศน์	128
รูปที่ 4.2 กราฟแสดงจำนวนโคโลนีที่ระยะเวลาการสาดแสงยูวีต่าง ๆ เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อที่ยังไม่ได้รับการสาดแสงยูวีเป็นจำนวนอ้างอิง	130
รูปที่ 4.3 จำนวนโคโลนีบนอาหาร Cooked meat ที่ผสมบิวทานอลเข้มข้นร้อยละ 2.0 ของเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมเทียบกับเชื้อกลายพันธุ์	132
รูปที่ 4.4 ความทนต่อบิวทานอลของเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมและเชื้อกลายพันธุ์ที่ความเข้มข้นบิวทานอลร้อยละต่าง ๆ	133
รูปที่ 4.5 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและเวลาที่ใช้ในการหมัก	135

รูปที่ 4.6 สารละลายอินทรีย์ที่เชื้อกลายพันธุ์และเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมผลิตได้.....	137
รูปที่ 4.7 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสและค่าการดูดกลืนแสงระหว่างการหมักเปรียบเทียบระหว่างเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมและเชื้อกลายพันธุ์.....	141
รูปที่ 4.8 ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสหลังการหมัก (ก.) ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสคงเหลือหลังการหมัก (ข.) ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่ลดลง	142
รูปที่ 4.9 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป ความเข้มข้นของบิวทานอลและสารละลายอินทรีย์รวมที่ผลิตได้	144
รูปที่ 4.10 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไปและค่าการดูดกลืนแสงหลังการหมัก	145
รูปที่ 4.11 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง....	147
รูปที่ 4.12 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของสารละลายอินทรีย์รวมที่ผลิตได้ ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ใช้ไป และค่าความเป็นกรด-ด่างหลังการหมัก.....	148
รูปที่ 4.13 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสและการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง.....	149
รูปที่ 4.14 ลักษณะของอาหารหมัก Phosphate carbonate medium (ก.) ก่อนการหมัก (ข.) หลังการหมัก	151
รูปที่ 4.15 ลักษณะโดยรวมของถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่สร้างขึ้นจริงเทียบกับถังปฏิกรณ์ชีวภาพจากการออกแบบ	152
รูปที่ 4.16 สัดส่วนของถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่ได้จากการวัดจริง (ก.) ความสูงของตัวถัง ความยาวของส่วนโค้งบริเวณก้นถังและความหนาของชั้นแจ็คเก็ต (ข.) ความกว้างของตัวถัง (ค.) ความสูงโดยรวมของถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (รวมมอเตอร์) และความยาวของขาตั้ง (ง.) ขนาดใบกวนและแผ่นกั้นการกวน	155
รูปที่ 4.17 การทำงานระหว่างอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์สั่งการและอุปกรณ์ดำเนินการ.....	156
รูปที่ 4.18 การต่ออุปกรณ์วัดเข้ากับบอร์ดควบคุม Arduino และบอร์ดส่งค่า ESP8266	157
รูปที่ 4.19 หน้าเว็บไซต์สำหรับเข้าใช้งานระบบบนเว็บแอปพลิเคชัน NETPIE.....	160
รูปที่ 4.20 แอปพลิเคชันของ NETPIE บนโทรศัพท์มือถือ	161

รูปที่ 4.21 การควบคุมและสถานะการทำงานของอุปกรณ์บนเว็บแอปพลิเคชัน NETPIE (ก.) ส่วนของ
 อุปกรณ์ที่สามารถสั่งการเปิด-ปิดได้ (ข.) ส่วนของอุปกรณ์ที่แสดงเพียงสถานะการทำงาน (ค.) ส่วน
 ของการกำหนดค่าคงที่ของเซนเซอร์และช่วงค่าสภาวะ..... 162

รูปที่ 4.22 การแสดงผลค่าสภาวะแบบ Real-time ในรูปแบบ Gauge บนเว็บแอปพลิเคชัน NETPIE
 (ก.) ปริมาณของแก๊สออกซิเจนภายในถังปฏิกรณ์ (ข.) ค่าความเป็นกรด-ด่างและ (ค.) ค่าอุณหภูมิ
 ภายในถังปฏิกรณ์..... 162

รูปที่ 4.23 การแสดงผลค่าสภาวะในรูปแบบกราฟบนเว็บแอปพลิเคชัน NETPIE (ก.) อุณหภูมิภายใน
 ถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (ข.) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (ค.) ปริมาณแก๊สออกซิเจนภายในถังปฏิกรณ์และ (ง.)
 กราฟแสดงรวม (overview)..... 164

รูปที่ 4.24 ความสัมพันธ์ของอุณหภูมิของถังต้มน้ำร้อนและอุณหภูมิภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ 167

รูปที่ 4.25 ผลของการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ 168

รูปที่ 4.26 ผลการควบคุมปริมาณแก๊สออกซิเจนภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ 169

รูปที่ 4.27 เชื้อ Clostridium cochlearium (ก.) จากน้ำหมักหลังการหมัก (ข.) จากเชื้อตั้งต้น 172

รูปที่ 4.28 ผลการหมักบิวทานอลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ณ เวลาต่าง ๆ 175

รูปที่ 4.29 เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงในการหมักในขวดทดลอง (500 มิลลิลิตร) และในถัง
 ปฏิกรณ์ชีวภาพ (10 ลิตร) 177

รูปที่ 4.30 การเปรียบเทียบความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่ใช้ในการหมักในขวดทดลอง (500
 มิลลิลิตร) และในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (10 ลิตร) 179

รูปที่ ภาคผนวก ข.-1 กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส 189

รูปที่ ภาคผนวก ข.-2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารละลายอินทรีย์ของการหมักในขวดทดลอง 197

รูปที่ ภาคผนวก ข.-3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารละลายอินทรีย์ของการหมักในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ
 198

รูปที่ ภาคผนวกที่ ณ.-4 การปรับเทียบ Thermocouple..... 251

รูปที่ ภาคผนวก ณ.-5 การปรับเทียบ pH meter ด้วยสารละลายมาตรฐาน (ก.) pH 4 (ข.) pH 7 และ
 (ค.) pH 10..... 253

รูปที่ ภาคผนวก ณ.-6 การปรับเทียบ Oxygen sensor..... 254



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย

บิวทานอลเป็นสารละลายประเภทแอลกอฮอล์ที่มีความสำคัญในหลายอุตสาหกรรม โดยส่วนมากใช้เป็นตัวทำละลายในกระบวนการผลิต หรือใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ อาทิ อุตสาหกรรมการเคลือบ (coatings) อุตสาหกรรมน้ำยาทำความสะอาด อุตสาหกรรมเครื่องสำอางและอุตสาหกรรมยา เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีอุตสาหกรรมเชื้อเพลิงและพลังงานที่ใช้สารบิวทานอลมาใช้เป็นสารเชื้อเพลิง (liquid fuel) โดยตรงหรือใช้ในการเป็นสารปรับแต่งเชื้อเพลิง โดยบิวทานอลนั้นสามารถนำมาใช้ผสมกับก๊าซโซลีนซึ่งให้พลังงานและผสมได้มากกว่าสารเอทานอลและไม่จำเป็นต้อง (Lee et al., 2008) ทำการดัดแปลงเครื่องยนต์ บิวทานอลจึงเป็นสารที่สามารถนำมาใช้เป็นพลังงานทางเลือกเพื่อลดการใช้พลังงานจากปิโตรเลียมลง การผลิตบิวทานอลในอุตสาหกรรมนั้นเป็นการผลิตมาจากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี โดยส่วนใหญ่มาจากปิโตรเลียมซึ่งเป็นกระบวนการที่ไม่ยั่งยืนและไม่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม แต่อย่างไรก็ตามสารบิวทานอลนั้นยังสามารถผลิตได้จากกระบวนการทางชีวภาพได้โดยผ่านกระบวนการหมักแบบเอ บี อี (ABE Fermentation) ซึ่งใช้จุลินทรีย์ในการย่อยสลายสารตั้งต้นให้กลายเป็นสารผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าและมีความสำคัญทางอุตสาหกรรมถึง 3 ชนิด ได้แก่ อะซิโตน (Acetone) เอทานอล (Ethanol) และบิวทานอล (Butanol) (Millat & Winzer, 2017) นอกจากนี้สารตั้งต้นที่ใช้คือน้ำตาลกลูโคสซึ่งสามารถนำมาจากวัตถุดิบของเหลือจากการเกษตรได้ ซึ่งเหมาะสมกับประเทศไทยที่เป็นประเทศเกษตรกรรม แต่อย่างไรก็ตามกระบวนการผลิตบิวทานอลทางชีวภาพในปัจจุบันยังพัฒนาไม่เพียงพอให้มีความคุ้มค่าในการผลิตเชิงอุตสาหกรรมได้ เนื่องจากปริมาณของบิวทานอลที่ผลิตได้ยังมีความเข้มข้นต่ำ ซึ่งปัจจัยที่ส่งผลต่อปริมาณบิวทานอลที่ผลิตได้จากกระบวนการทางชีวภาพหลัก ๆ ได้แก่ความสามารถในการผลิตสารบิวทานอลของเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการผลิตและสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตบิวทานอลของเชื้อจุลินทรีย์ ดังนั้นการพัฒนาเชื้อจุลินทรีย์ให้มีความสามารถในการผลิตบิวทานอลสูงขึ้นและมีสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตบิวทานอลจึงเป็นการพัฒนากระบวนการผลิตบิวทานอลทางชีวภาพอย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งการพัฒนาเชื้อจุลินทรีย์ให้มีความสามารถในการผลิตบิวทานอลสูงขึ้นนั้นจะต้องมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพันธุกรรม (genetic) ของเชื้อที่เป็นตัวควบคุมอัตราการผลิตสารภายในเซลล์ โดยวิธีที่ง่ายและสามารถเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพคือการใช้รังสียูวี และเมื่อได้เชื้อเกิดจากการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพันธุกรรมให้มีความสามารถในการผลิตสารบิวทานอลที่สูงขึ้นหรือที่เรียกว่าเชื้อกลายพันธุ์ (mutant) (Eakkachai, Kompon, & Yanisa, 2018)

แล้วนั้นจะต้องมีทำการหาสถานะที่เหมาะสมต่อการผลิตบิวทานอลของเชื้อกลายพันธุ์และทำการควบคุมสถานะนั้น ๆ เพื่อให้การผลิตสารบิวทานอลได้ความเข้มข้นมากที่สุด ซึ่งในทางอุตสาหกรรม อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตสารบิวทานอลและสามารถควบคุมสถานะได้นั้นคือ ถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ดังนั้น การออกแบบให้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพมีระบบควบคุมสถานะที่มีประสิทธิภาพจึงมีความสำคัญต่อ ประสิทธิภาพการผลิต และในกระบวนการผลิตเชิงอุตสาหกรรมที่มีกระบวนการต่าง ๆ ในการผลิตค่อนข้างมาก การอำนวยความสะดวกในการดำเนินงานในการผลิตจึงเป็นสิ่งที่ เป็นประโยชน์ต่อผู้ดำเนินงาน ในปัจจุบันมีเทคโนโลยีต่าง ๆ ที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้เพื่อให้เกิดความสะดวกต่อการดำเนินงานในกระบวนการได้ ซึ่งเทคโนโลยีอินเทอร์เน็ตของสรรพสิ่ง (internet of thing) เป็นเทคโนโลยีที่สามารถนำประยุกต์ใช้กับถังปฏิกรณ์ชีวภาพได้ (W. Zhang, Ma, Ren, & Yang, 2021) นอกจากนี้จะทำให้เกิดความสะดวกต่อการดำเนินการแล้วยังเป็นการพัฒนาเทคโนโลยีและอุปกรณ์ทางอุตสาหกรรมชีวภาพให้มีความสามารถที่หลากหลายและมีประสิทธิภาพมากขึ้น

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเป็นการพัฒนาความสามารถในการผลิตสารบิวทานอลของเชื้อจุลินทรีย์ โดยการกลายพันธุ์และ ออกแบบและสร้างถังปฏิกรณ์ที่มีระบบควบคุมสถานะที่มีประสิทธิภาพและยังสามารถอำนวยความสะดวกต่อผู้ดำเนินงานด้วยการควบคุมผ่านระบบอินเทอร์เน็ตของสรรพสิ่งเพื่อพัฒนาสู่อุตสาหกรรมการผลิตในอนาคต

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

สำหรับงานวิจัยการพัฒนาเชื้อ *C. cochlearium* โดยใช้วิธีกลายพันธุ์ด้วยแสงยูวี และการออกแบบเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพสำหรับการสร้างแบบจำลองกระบวนการเพื่อปรับปรุงการผลิตบิวทานอลทางชีวภาพ มีวัตถุประสงค์เฉพาะดังต่อไปนี้

- 1) เพื่อพัฒนาเชื้อ *C. cochlearium* ให้มีความสามารถในการผลิตสารบิวทานอลได้มากขึ้น
- 2) เพื่อสร้างถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่ใช้ระบบควบคุมแบบอินเทอร์เน็ตของสรรพสิ่ง (IoT) ที่มีความจำเพาะต่อกระบวนการผลิตบิวทานอลทางชีวภาพ

1.3 สมมติฐานงานวิจัย

- 1) เชื้อกลายพันธุ์ด้วยแสงยูวีที่มีความสามารถในการทนต่อบิวทานอลที่ความเข้มข้นสูงจะมีความสามารถในการผลิตบิวทานอลได้ในความเข้มข้นที่สูง
- 2) ถังปฏิกรณ์ชีวภาพและระบบควบคุมสถานะที่สร้างขึ้น โดยควบคุมผ่านระบบอินเตอร์เน็ต ทุกสรรพสิ่งสามารถควบคุมสถานะตามเป้าหมายและใช้ในการควบคุมการผลิตบิวทานอลทางชีวภาพได้

1.4 ขอบเขตของงานวิจัย

การทดลองนี้จะใช้เชื้อ *C. cochlearium* มาทำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้แสงยูวี ซึ่งมีระยะเวลาในการสาด (exposure time) แสงยูวีไปยังเชื้อที่อยู่บนอาหารแข็งเป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 วินาที ตามลำดับ และมีการคัดเลือกเชื้อกลายพันธุ์ด้วยอาหารเพื่อการคัดเลือก (selective medium) ที่มีการเติมบิวทานอลลงไปร้อยละ 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0 ตามลำดับ เมื่อได้เชื้อที่สามารถทนต่อบิวทานอลได้สูงที่สุดแล้วจึงทำการทดลองหมักเพื่อทดสอบการผลิตบิวทานอลในอาหาร Phosphate-carbonate medium ที่น้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 300 มิลลิตร เป็นกระบวนการหมักแบบ Acetone-Butanol-Ethanol (ABE) รูปแบบของการหมักเป็นแบบกะ (batch) ใช้ระยะเวลา 5 วัน มีการควบคุมอุณหภูมิของการหมักอยู่ที่ 30 องศาเซลเซียส ค่า pH เริ่มต้นอยู่ที่ 6.5 มีการใช้แก๊สไนโตรเจนในการฟลัช (flashing) เพื่อให้เกิดสภาวะไร้ออกซิเจนในช่วงเริ่มต้นการหมัก วิเคราะห์และเปรียบเทียบการไหลสารตั้งต้นคือน้ำตาลกลูโคสของเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมและเชื้อกลายพันธุ์ด้วยวิธี DNS และวิเคราะห์หาความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์โดยใช้เครื่อง GC-MS จากนั้นคัดเลือกเชื้อกลายพันธุ์ที่สามารถผลิตบิวทานอลได้สูงที่สุดมาทำการทดลองผลิตในถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่ได้ทำการออกแบบไว้คือ เป็นถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่มีขนาดในการบรรจุของเหลวได้ปริมาตร 10 ลิตร (working volume) มีการควบคุมสถานะของถังปฏิกรณ์ซึ่งได้แก่ อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด ต่าง ปริมาณของแก๊สออกซิเจนและการนำสารเข้า-ออก โดยสั่งการผ่านระบบอินเตอร์เน็ตของสรรพสิ่ง มีการติดตั้งระบบเซิร์ฟเวอร์ (Server) เพื่อเป็นตัวกลางในการรับส่งข้อมูลจากเว็บแอปพลิเคชัน (web application) ไปยังบอร์ด Arduino ซึ่งเป็นบอร์ดควบคุมการทำงานของอุปกรณ์และเซนเซอร์ต่าง ๆ ได้แก่ ป้อน, วาล์วอิเล็กทรอนิกส์, thermocouple, เซนเซอร์วัดค่าความเป็นกรด-ต่าง และฮีตเตอร์ (Heater)

1.5 ตัวแปรที่ศึกษา

ในงานวิจัยนี้มีตัวแปรที่ศึกษาได้แก่ ตัวแปรต้น ตัวแปรตามและตัวแปรควบคุม โดยมีรายละเอียดดังตารางที่ 1.1

ตารางที่ 1.1 ตัวแปรที่ศึกษา

ตัวแปร	ข้อศึกษา
ตัวแปรต้น	<ol style="list-style-type: none"> 1) เวลาที่ใช้ในการสาธตแสงยูวีเพื่อทำการกลายพันธุ์ของเชื้อ <i>C. cochlearium</i> 2) ความเข้มข้นของบิวทานอลที่ใช้ในการคัดเลือกเชื้อกลายพันธุ์ 3) การควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่างกระบวนการหมัก 4) อุณหภูมิของน้ำร้อนที่ส่งไปยังชุดให้ความร้อนแบบครอบ (jacket heater) ของถังปฏิกรณ์ชีวภาพ
ตัวแปรตาม	<ol style="list-style-type: none"> 1) เชื้อแบคทีเรีย <i>C. cochlearium</i> ชนิดดั้งเดิม (wild type) และเชื้อชนิดกลายพันธุ์ (mutant) 2) ความเข้มข้นของบิวทานอลสูงสุดที่เชื้อกลายพันธุ์สามารถเจริญได้ 3) ปริมาณสารอินทรีย์ที่ผลิตได้จากเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมและเชื้อกลายพันธุ์ 4) อุณหภูมิของน้ำร้อนที่ส่งไปยังชุดให้ความร้อนแบบครอบ (jacket heater) ของถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่สามารถควบคุมให้อุณหภูมิภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพอยู่ที่ 30 องศาเซลเซียส
ตัวแปรควบคุม	<ol style="list-style-type: none"> 1) อุณหภูมิที่ใช้ในการหมักเท่ากับ 30 องศาเซลเซียส 2) ค่า pH เริ่มต้นก่อนการหมักของอาหารหมักอยู่ที่ 6.5 3) หมักในสภาวะไร้ออกซิเจนเป็นเวลา 5 วัน 4) เป็นกระบวนการหมักแบบกะ 5) หมักในอาหาร Phosphate-carbonate medium ที่มีกลูโคสเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร 6) ปริมาตรที่ใช้ในการหมักเพื่อทดสอบการผลิตบิวทานอลของเชื้อกลายพันธุ์เท่ากับ 500 มิลลิลิตร 7) ปริมาตรที่ใช้หมักเพื่อทดสอบการผลิตบิวทานอลเท่ากับ 10 ลิตร 8) ลักษณะการควบคุมอุปกรณ์ของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเป็นการสั่งการผ่านระบบอินเตอร์เน็ตของสรรพสิ่ง (IoT)

1.6 ประโยชน์ที่ได้รับ

องค์ความรู้และผลผลิตที่ได้จากงานวิจัยนี้ คาดว่าจะเป็นประโยชน์ดังต่อไปนี้

1) ได้เชื้อ *C. cochlearium* ที่มีความสามารถในการผลิตสารบิวทานอลสูงขึ้นและเหมาะสมต่อการผลิตเชิงอุตสาหกรรมได้

2) ได้ถึงปฏิกรณ์ชีวภาพต้นแบบที่มีระบบควบคุมโดยใช้อินเทอร์เน็ตของสรรพสิ่งที่จำเพาะต่อการควบคุมสถานะของการผลิตบิวทานอลทางชีวภาพ ซึ่งสามารถใช้เป็นต้นแบบในการผลิตเชิงอุตสาหกรรมได้



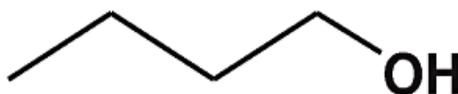
บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ทฤษฎี

2.1.1 บิวทานอล

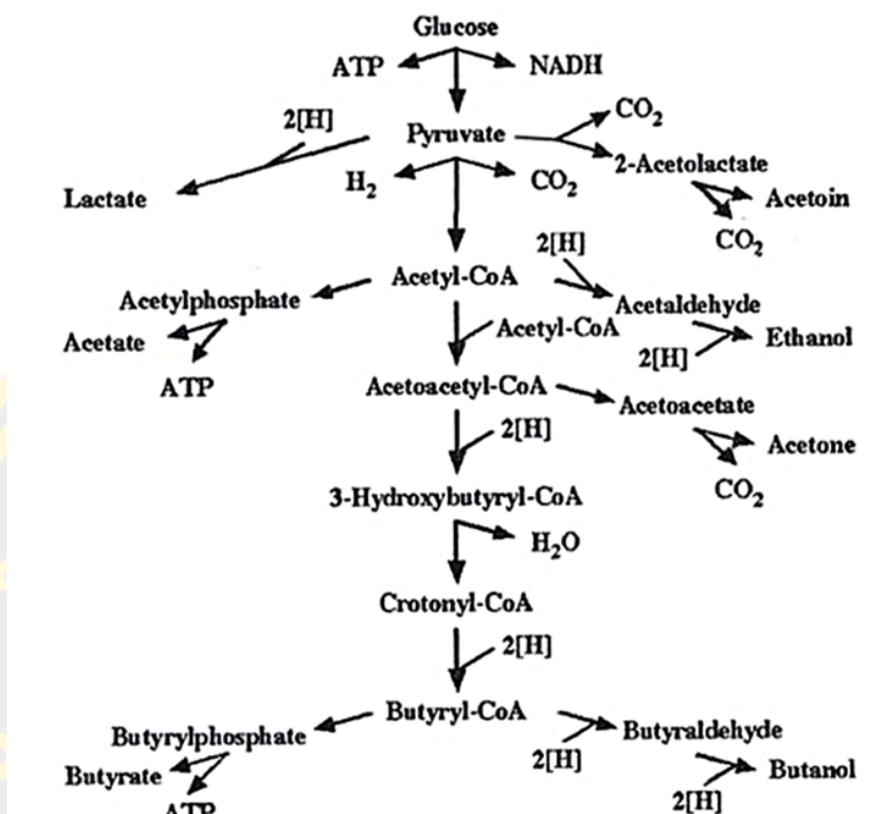
บิวทานอล (butanol), (IUPAC Nomenclature, 1-butanol; CAS no. 71-36-3) หรือ บิวริลแอลกอฮอล์ (Butyl alcohol) บิวทานอลจัดว่าเป็นแอลกอฮอล์ปฐมภูมิ (primary alcohol) มีสูตรโครงสร้างคือ $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$ สูตรทางเคมีคือ $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$ และสูตรทั่วไปคือ R-OH มีหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group ; $-\text{OH}$) เป็นหมู่ฟังก์ชัน ดังรูปที่ 2.1 มีความเสถียรภายใต้สภาวะปกติ มีมวลโมเลกุล 74.123 กรัมต่อโมล ความดันไอ 5.5 ถึง 6.7 hPa ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส จุดเดือดอยู่ที่ 116 ถึง 118 องศาเซลเซียส มีจุดหลอมเหลว 89.5 องศาเซลเซียส บิวทานอลเป็นสารละลายใส ไม่มีสี มีคุณสมบัติติดไฟได้ มีกลิ่นคล้ายกล้วยหอมและแอลกอฮอล์ สามารถละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ ความสามารถในการละลายน้ำอยู่ที่ 7.7 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส (American College of Cardiology, 2013) บิวทานอลสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้มากมายหลากหลายด้าน อย่างเช่นใช้เป็นสารละลายในอุตสาหกรรมสิ่งทอ ใช้เป็นตัวทำละลายของสารเคลือบในอุตสาหกรรมเคลือบผิว (Coatings) เช่น น้ำยาเคลือบ (lacquers) เป็นต้น และมีการใช้ในอุตสาหกรรมน้ำยาทำความสะอาด และน้ำยาขัดพื้น และยังใช้เป็นสารสกัดในการผลิตยาในอุตสาหกรรมยาใช้เป็นส่วนผสมหรือตัวทำละลายในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง และผลิตภัณฑ์ของใช้ส่วนตัว เช่น ผลิตภัณฑ์ระงับกลิ่น น้ำยาล้างเล็บ น้ำหอม เป็นต้น และยังใช้เป็นตัวทำละลายในอุตสาหกรรมหมึกพิมพ์ และสามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงและสารเติมแต่งเชื้อเพลิงเผาไหม้ในเครื่องยนต์ เป็นต้น (The Dow Chemical Company Product Safety Assessment, 2013)



รูปที่ 2.1 โครงสร้างของบิวทานอล (Lee et al., 2008)

2.1.2 การผลิตบิวทานอลทางชีวภาพ

บิวทานอลสามารถสังเคราะห์ได้จากกระบวนการทางชีวภาพ โดยอาศัยกระบวนการหมักซึ่งใช้แบคทีเรียตระกูล *Clostridium sp.* โดยแบคทีเรียตระกูลนี้จะใช้น้ำตาลเป็นอาหาร (Inui et al., 2008) ดังนั้นจึงสามารถใช้สารตั้งต้นได้หลากหลาย เช่น ของเสียจากอุตสาหกรรมเกษตรหรือวัตถุดิบทางการเกษตร เช่น ข้าว มันสำปะหลัง ผลไม้ อ้อย กากน้ำตาล เป็นต้น ซึ่งวัตถุดิบเหล่านี้มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบ และหากวัตถุดิบชนิดใดมีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบในปริมาณที่มากก็จะใช้เวลาในการหมักน้อย เนื่องจากว่าเซลล์แบคทีเรียสามารถนำน้ำตาลเข้าสู่เซลล์เพื่อทำปฏิกิริยาย่อยสลายและเกิดการสังเคราะห์เป็นแอลกอฮอล์ได้เลย แต่หากวัตถุดิบที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบเป็นส่วนมากนั้นจะใช้เวลาในการหมักที่นานขึ้น เนื่องจากต้องมีการเปลี่ยนแปลงให้เป็นน้ำตาลก่อนโดยอาศัยเอนไซม์หรือกรด วัตถุดิบที่สามารถนำมาใช้ในกระบวนการหมักได้แต่ต้องผ่านกระบวนการปรับสภาพก่อนนั้นได้แก่ วัตถุดิบจำพวกลิกโนเซลลูโลส ซึ่งโดยส่วนแล้วเป็นวัตถุดิบจำพวกชีวมวล เช่น เศษจากการเลื่อยไม้ ชังข้าว กากอ้อย ฟางข้าว วัชพืชทั้งหลาย เป็นต้น (สุโฮลา สาและ, 2559) ซึ่งวัตถุดิบเหล่านี้จะมี เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน เป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสนั้นสามารถไฮโดรไลซิสให้กลายเป็นน้ำตาลได้ แต่ลิกนินนั้นจำเป็นต้องกำจัดออกก่อนจึงต้องมีการปรับสภาพเบื้องต้นเพื่อกำจัดลิกนิน แต่ข้อดีของวัตถุดิบประเภทนี้คือ มักจะเป็นวัตถุดิบเหลือใช้หรือเป็นของเสีย มีมูลค่าค่อนข้างน้อย ดังนั้นการนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในกระบวนการหมักให้เกิดเป็นแอลกอฮอล์นั้นถือว่าการนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์มากขึ้นอีกด้วย (Ndaba, Chiyanzu, & Marx, 2015) ในกระบวนการหมักดังกล่าวจะได้สารผลิตภัณฑ์คือ อะซิโตน บิวทานอลและเอทานอล ซึ่งในกระบวนการหมักนี้แบคทีเรียจะใช้สารตั้งต้นจำพวกน้ำตาลเข้าสู่เซลล์ และเกิดกลไกในการย่อยสลายโมเลกุลของน้ำตาลให้กลายเป็นสารที่มีโมเลกุลขนาดเล็กลง เพื่อเปลี่ยนไปเป็นสารผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ดังรูปที่ 2.2 ซึ่งกระบวนการหมักแบบนี้จะเรียกว่ากระบวนการหมักแบบ ABE (acetone-butanol-ethanol) (D. T. Jones, 2008)

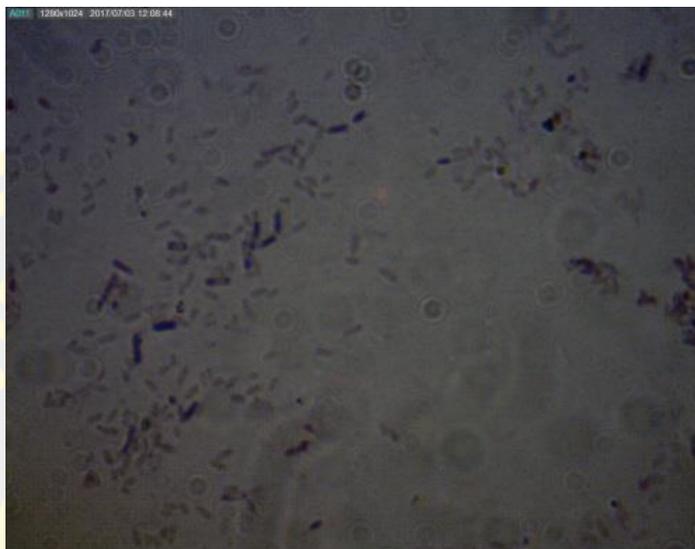


รูปที่ 2.2 วิธีของกระบวนการหมักแบบ Acetone-Butanol-Ethanol (ABE) ของแบคทีเรีย Clostridia (D. T. Jones, 2008)

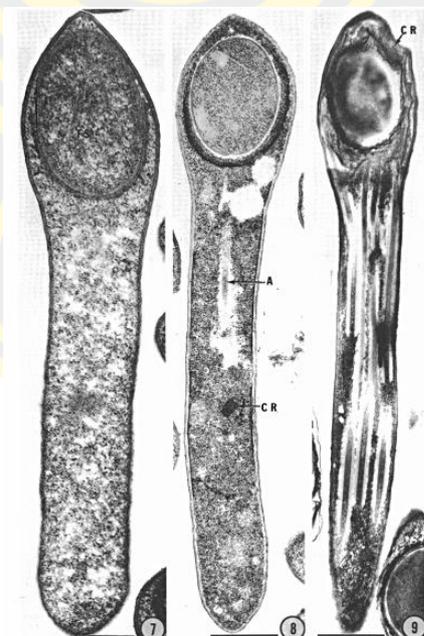
2.1.3 *Clostridium cochlearium*

แบคทีเรีย *clostridium cochlearium* จัดอยู่ในกลุ่มสกุลของ Clostridium จัดอยู่ในตระกูล Bacillaceae ลักษณะโดยทั่วไปส่วนมากจะเหมือนกับแบคทีเรีย *Clostridium sp.* อื่น ๆ เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (Gram positive bacteria) มีรูปร่างเป็นท่อน (Rod shape) ดังรูปที่ 2.3 มีความยาวตั้งแต่ 3 ถึง 8 ไมโครเมตร และมีความกว้างตั้งแต่ 0.4 ถึง 1.2 ไมโครเมตร แบคทีเรียประเภทนี้ส่วนใหญ่จะพบได้ในดิน เป็นแบคทีเรียที่สามารถสร้างสปอร์ได้ ในการสร้างสปอร์ (Spore forming) (Pope & Rode, 1969) ดังรูปที่ 2.4 นั้นจะเป็นสภาวะที่ไร้ออกซิเจน (Anaerobic) พบได้ในสภาพแวดล้อมที่เป็นน้ำเน่าเสีย หรือในดิน แบคทีเรียชนิดนี้สามารถเจริญเติบโตได้ทั้งในสภาวะมีออกซิเจน (Aerobic) และสภาวะไร้ออกซิเจน (Anaerobic) ซึ่งในสภาวะปกติโดยทั่วไปแบคทีเรีย *C. cochlearium* จะเจริญเติบโตได้ดีในอุณหภูมิประมาณ 37 องศาเซลเซียส การนำแบคทีเรีย *C. cochlearium* ไปใช้ประโยชน์ เช่น ในกระบวนการผลิตแอลกอฮอล์จากกระบวนการ

หมัก เนื่องจากแบคทีเรียชนิดนี้มีความสามารถในการย่อยสลายน้ำตาลกลูโคสให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารละลายแอลกอฮอล์ได้ (พลอยไพลิน สิมมา และ สุจารวี ทริสมบัติ, 2559)



รูปที่ 2.3 ลักษณะทางกายภาพของ *Clostridium cochlearium* ที่ได้จากการย้อมแกรม (เอกชัย ไกลถิ่น, 2560)



รูปที่ 2.4 ลักษณะโครงสร้างและรูปร่างสปอร์ของแบคทีเรีย *Clostridium cochlearium* (Pope & Rode, 1969)

2.1.4 การกลายพันธุ์

การกลายพันธุ์ หรือ Mutation มาจากภาษาละตินคำว่า Hugo de Vries หมายถึง เปลี่ยน การกลายพันธุ์คือการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมในลำดับของดีเอ็นเอ อาจจะมีผลต่อหรือไม่มีผลต่อจีโนไทป์ของสิ่งมีชีวิต การกลายพันธุ์ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของยีน ซึ่งยีนเหล่านี้อาจมีอิทธิพลที่ส่งผลดีหรือไม่ดีต่อลักษณะของสิ่งมีชีวิตได้ ทำให้เกิดความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ และความแตกต่างกันนี้มีความสำคัญอย่างมากต่อวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต กระบวนการของการกลายพันธุ์เรียกว่า mutagenesis ส่วนตัวที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์เรียกว่า mutagen สิ่งมีชีวิตที่ถูกเลือกเป็นสายพันธุ์อ้างอิง เรียกว่า wild type และรุ่นลูกหลานที่เกิดการกลายพันธุ์เรียกว่า mutants การเปลี่ยนแปลงลำดับของดีเอ็นเอแม่แบบ อาจส่งผลต่อผลิตภัณฑ์ประเภทโปรตีนที่ผลิตได้อย่างมาก เนื่องจากการยีนเป็นตัวควบคุมการสังเคราะห์โปรตีนของสิ่งมีชีวิตการเปลี่ยนแปลงของลำดับในยีนจะส่งผลทำให้ยีนเปลี่ยนไปและส่งผลให้การสังเคราะห์โปรตีนนั้น ๆ เปลี่ยนแปลงไปด้วย การกลายพันธุ์ที่เกิดจาก ultraviolet irradiation รังสีอัลตราไวโอเล็ต หรือรังสียูวี (opt 250 นาโนเมตร) เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดพันธะระหว่างเบส pyrimidine ที่อยู่ติดกันในสาย polynucleotide เดียวกัน โดยส่วนมากจะเรียกว่า thymine dimers ถึงแม้ว่าจะเป็นผลที่เกิดจากเบส cytosine ก็ตาม ซึ่งการเกิดเช่นนี้จะเรียกว่า pyrimidine dimers และรังสียูวียังทำให้เกิดพันธะโคเวเลนต์กันระหว่าง pyrimidine dimers ทำให้เกิดการผิดรูปของโครงสร้างดีเอ็นเอ นอกจากนั้นยังเป็นตัวที่ยับยั้งกระบวนการ DNA replication และ transcription (Najafi & Pezeshki, 2013)

2.1.5 สถานะที่มีผลต่อการผลิตบิวทานอลของ *Clostridium cochlearium*

2.1.5.1 อาหารและความเข้มข้นของสารตั้งต้น โดยชนิดของอาหารและความเข้มข้นส่งผลต่อกระบวนการย่อยสลายสารอาหาร (metabolism) เนื่องจากเป็นกระบวนการที่จะเป็นจากสารอาหารที่เป็นสารตั้งต้น ไปเป็นสารอื่น ๆ ที่สามารถผลิตเป็นสารผลิตภัณฑ์ด้วย หากสารอาหารนั้นเป็นสารตั้งต้นที่มีความเกี่ยวเนื่องและส่งเสริมกระบวนการผลิตบิวทานอลภายในเซลล์ ก็จะสามารถทำให้เซลล์ผลิตสารบิวทานอลได้ในปริมาณที่สูงขึ้นด้วย (พลอยไพลิน สิมมา และ สุจารวี หริสมบัติ, 2559)

2.1.5.2 อุณหภูมิ โดย *C. cochlearium* เป็นแบคทีเรียที่สามารถพบอยู่ในสภาพแวดล้อม เช่น ดินตะกอน หรือในเลน โดยสามารถเจริญเติบโตได้ดีในสถานะอุณหภูมิประมาณ 30 ถึง 37 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นการเจริญเติบโตตามธรรมชาติ แต่ในสถานะที่ทำให้ *C. cochlearium* สามารถผลิตบิวทานอลที่ดีที่สุด มีอุณหภูมิอยู่ที่ 37 องศาเซลเซียส แต่ทั้งนี้ก็เป็นเพียงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตบิวทานอลของสายพันธุ์ดั้งเดิม โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิต

บิวทานอลนี้จะมีการเปลี่ยนแปลงไปตามลักษณะทางพันธุกรรมหรือเปลี่ยนแปลงไปตามสายพันธุ์ได้ (พลอยไพลิน สิมมา และ สุจารวี หริสมบัติ, 2559)

2.1.5.3 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) จากความสัมพันธ์ของลักษณะทางกายภาพของเอนไซม์ Butanol dehydrogenase ที่มีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์บิวทานอลของเซลล์สามารถทำงานได้ดีในช่วงหนึ่ง ๆ แต่เนื่องจากกระบวนการหมัก เซลล์จะสร้างสารละลายที่เป็นกรดออกมา (Acidogenesis phase) ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายในกระบวนการมีค่าความเป็นกรดสูงขึ้น (pH มีค่าลดลง) ดังนั้นจึงต้องมีการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นให้มีความเหมาะสม เพื่อให้ได้ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์บิวทานอลของเซลล์ (Butanol dehydrogenase) มากที่สุดตลอดระยะเวลาของการหมัก (พลอยไพลิน สิมมา และ สุจารวี หริสมบัติ, 2559)

2.1.5.4 ออกซิเจน มีผลต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์แบคทีเรีย *C. cochlearium* หากมีการสัมผัสกับออกซิเจนในปริมาณมากเป็นเวลานาน (Aerobic condition) จะทำให้อัตราการใช้น้ำตาลกลูโคสลดลง การเจริญเติบโตและกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์จะลดลงถึงขั้นหยุดชะงัก รวมถึงกระบวนการสร้าง ATP ก็ลดลงด้วย ดังนั้นในกระบวนการหมักจึงต้องทำให้มีปริมาณของออกซิเจนให้น้อยที่สุดหรือไม่มีออกซิเจน (Anaerobic condition) เพื่อที่จะให้เซลล์เกิดการเมตาบอลิซึมเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสไปสารผลิตภัณฑ์ได้มากที่สุด โดยอาจจะมีการใช้ก๊าซชนิดอื่นเพื่อไล่ก๊าซออกซิเจนออก เช่น ก๊าซไนโตรเจน เป็นต้น (Pope & Rode, 1969)

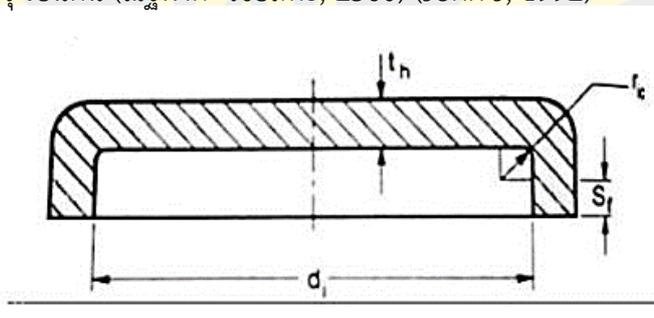
2.1.6 หลักการออกแบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบถังกวนชนิดกะ (batch stirred tank bioreactor)

ถังปฏิกรณ์ชีวภาพชนิดแบบกะ (batch) เป็นถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบมีการนำเข้าสารและนำสารออกเพียงครั้งเดียว กล่าวคือเมื่อมีการนำสารเข้าสู่ถังปฏิกรณ์ชีวภาพแล้ว จะปล่อยให้เกิดการทำปฏิกิริยาจนเสร็จสมบูรณ์จึงนำสารผลิตภัณฑ์หลังการทำปฏิกิริยาออกมา ในระหว่างที่มีการทำปฏิกิริยาภายในถังปฏิกรณ์นั้นเพื่อความทั่วถึงและการกระจายตัวของสารภายในถังปฏิกรณ์มักมีการใช้ระบบการกวน (stirred) เข้ามาช่วย เพื่อให้สารเกิดการกระจายตัวได้ดีมากขึ้น ในการสร้างปฏิกรณ์ชีวภาพสามารถนำเอาระบบต่าง ๆ เหล่านี้มาประยุกต์ใช้ร่วมกันได้ เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพการผลิตที่ดี แต่อย่างไรก็ตามในการนำระบบใดมาใช้จำเป็นต้องมีการออกแบบระบบให้สามารถทำงานร่วมกันได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนั้นจำเป็นต้องมีการคำนึงถึงสภาวะของการผลิตที่ใช้ดำเนินการด้วย การออกแบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบถังกวนชนิดกะโดยส่วนมากจะมีองค์ประกอบของถังคือ ตัวถัง ระบบท่อนำเข้าและท่อส่งออกสาร ระบบการกวน และระบบควบคุมสภาวะต่าง ๆ เช่น อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-ด่าง เป็นต้น การออกแบบนั้นจะต้องคำนึงถึงปริมาตรที่ใช้ในการ

ดำเนินการด้วย (สามารถ มูลอามาตย์, 2541) โดยทั่วไปจะต้องออกแบบจากปริมาตรของเหลวที่ใช้ให้ มีค่าอยู่ที่ร้อยละ 70 ถึง 80 ของปริมาตรถังทั้งหมด ในส่วนของตัวถังจะมีการออกแบบเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนของตัวถังและส่วนของ หัว และท้ายตัวถัง ส่วนของตัวถังโดยปกติจะออกแบบให้มีลักษณะแบบ ทรงกระบอก มีอัตราส่วนความสูงอยู่ที่ 1.5 เท่าของเส้นผ่านศูนย์กลาง (Doran, 1995) ในส่วนของหัว และท้ายถังนั้นจะรูปแบบอยู่หลายรูปแบบดังนี้

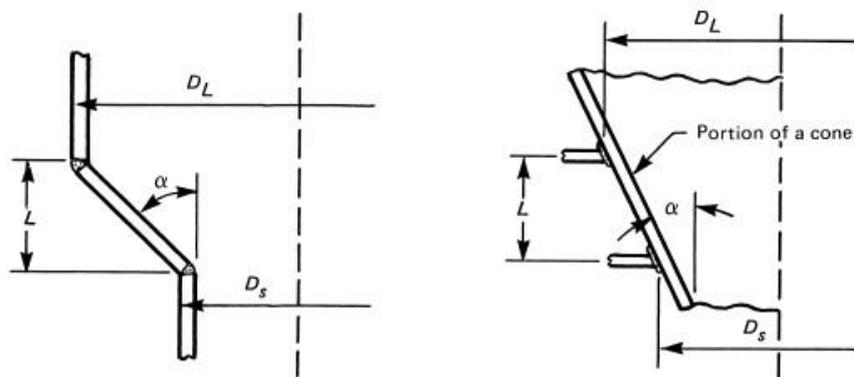
2.1.6.1 ลักษณะของหัวถังปฏิกรณ์ (Vessel Head)

1) แบบ Flat head เป็นลักษณะของหัวถังแบบตัดตรงหรือเรียบตรง ดังรูป ที่ 2.5 หัวถังในลักษณะนี้จะไม่เหมาะกับถังที่ต้องมีการใช้แรงดัน (pressure vessel) เนื่องจาก ความสามารถในการรองรับแรงในการออกแบบของหัวถังประเภทนี้ค่อนข้างน้อย โดยทั่วไปแล้วจะ นิยมใช้รับแรงได้ไม่เกิน 5 บาร์ จึงเหมาะกับภาชนะที่รับแรงดันต่ำ เช่น รับแรงดันเฉพาะจาก static head ในตัวกลางที่บรรจุ เป็นต้น (ณัฐพงศ์ ไชยสิทธิ์, 2560) (John J, 1992)



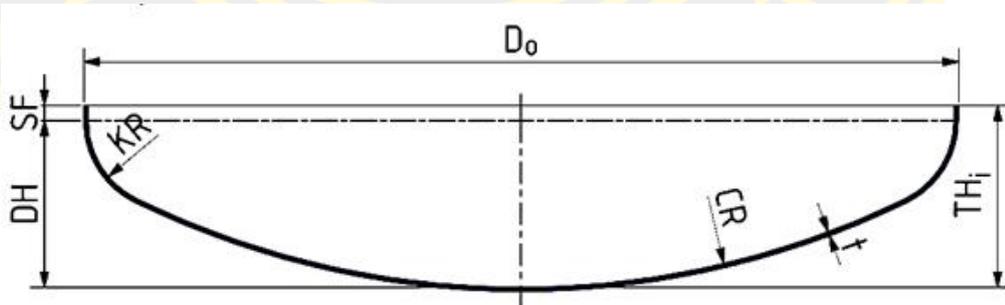
รูปที่ 2.5 ลักษณะของหัวถังแบบ Flat head (ณัฐพงศ์ ไชยสิทธิ์, 2560)

2) แบบ Conical head จัดอยู่ในประเภทหัวถังที่สามารถรับแรงดันได้ หรือ pressure on the convex side (minus head) เป็นหัวถังที่มีลักษณะเป็นโคน หรือทรงกรวย (ดังรูปที่ 2.6) มีความสามารถในการรับแรงดันได้มากกว่าหัวถังแบบ flat head เนื่องจาก stress ที่กระทำต่อหัวถังไม่ได้เป็นแนวตรงตั้งฉากแบบ flat head แต่อย่างไรก็ตามหัวถังแบบ conical head นี้มีความสามารถในการรับแรงดันได้แต่ก็ยังไม่มาก จึงไม่เป็นที่นิยมนำมาใช้กับถังที่มีการใช้แรงดัน โดยทั่วไปมักใช้กับถังที่มีแรงดันน้อยกว่า 10 บาร์ หัวถังประเภทนี้มักใช้กับถังประเภทแนวตั้ง (vertical type) เพื่อให้ง่ายต่อการเท (drain) สิ่งสกปรก ของตะกอน สนิม ตะกรัน รวมถึง เศษสิ่งไม่ พึงประสงค์ต่าง ๆ ออกได้ง่ายขึ้น การออกแบบ conical head ที่มีกำหนดใน ASME code คือ ครึ่งหนึ่งของมุม apex หรือมุมแหลมของกรวยต้องห้ามเกิน 60 องศา (มุม α) (ณัฐพงศ์ ไชยสิทธิ์, 2560) (John J, 1992)



รูปที่ 2.6 ลักษณะของหัวถังแบบ Conical head (ณัฐพงศ์ ไชยสิทธิ์, 2560)

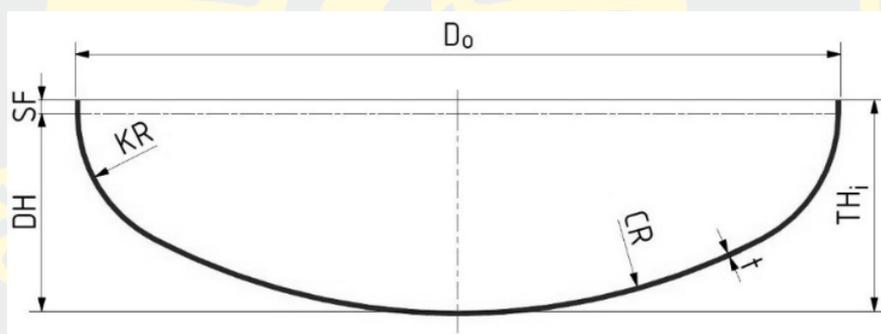
3) แบบ Torispherical head หัวถังแบบ torispherical จัดอยู่ในประเภทหัวถังที่สามารถรับแรงดันได้ หรือ pressure on the convex side (minus head) เช่นเดียวกันกับ conical head โดยจะประกอบไปด้วยส่วนโค้งของวงกลม 2 ส่วนด้วยกัน โดยมีรัศมีตามชื่อเรียกคือ crown radius (บางตำราเรียก spherical radius) : R_{cr} คือส่วนโค้งด้านบนสุดของหัวถังอันเป็นส่วนประกอบส่วนหลักของหัวถัง knuckle radius (RKR) โดยส่วนนี้ จะอยู่ที่ขอบหรือมุม เป็นส่วนที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลง (transition) จากรูปทรงกระบอกเข้าสู่หัวถัง โดย ASME code กำหนดให้ Knuckle radius มีค่า เท่ากับร้อยละ 6 ของ crown radius และ inside crown radius มีค่าเท่ากับ outside diameter หรือ $RKR = 1D_o$ ดังรูปที่ 2.7 (ณัฐพงศ์ ไชยสิทธิ์, 2560) (John J, 1992)



รูปที่ 2.7 ลักษณะของหัวถังแบบ Torispherical (ณัฐพงศ์ ไชยสิทธิ์, 2560)

4) แบบ Ellipsoidal head หัวถังในลักษณะนี้มีความคล้ายกับหัวถังแบบ torispherical แต่อาจมีข้อแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยในส่วนของอัตราส่วนและองศาของแต่ละสัดส่วนของหัวถัง โดยทั่วไปมักนิยมใช้แบบ semi-elliptical หรือ 2 ต่อ 1 ellipsoidal ประกอบด้วยส่วนโค้งของวงรี 2 ส่วนมาประกอบอยู่ด้วยกัน คือ ส่วนของ minor axis (แกนรอง) และ major axis (แกนหลัก) ในระบบ ASME code จะกำหนดให้ ความสูงหรือความลึก (DH) ซึ่งเป็นแกน minor axis โดย

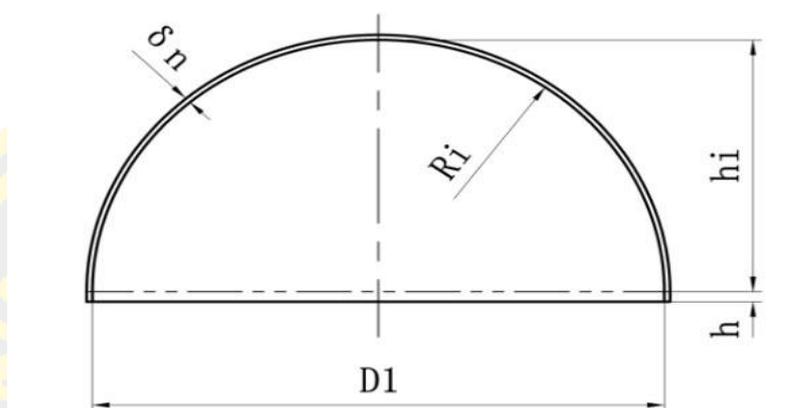
ระยะ DH มีค่าเท่ากับ 1 ใน 4 ของ inside diameter ในส่วน skirt (ระยะ SF) กล่าวคือแกน minor axis จะเป็นครึ่งหนึ่งของแกน major axis จึงเป็นที่มาของอัตราส่วน 2 ต่อ 1 ($DH = (1/4) Di$) ค่า Knuckle radius มีค่าเป็น 0.17 เท่าของเส้นผ่านศูนย์กลาง ($0.17D$) และค่า Spherical crown radius มีค่าเป็น 0.9 เท่าของเส้นผ่านศูนย์กลาง ($0.9D$) ดังรูปที่ 2.8 เมื่อพิจารณาจึงเห็นข้อแตกต่างระหว่าง Ellipsoidal กับ torispherical คือ Ellipsoidal มีความนูนมากกว่า torispherical เนื่องจาก Ellipsoidal head มีส่วนของ knuckle radius ที่ $0.17D$ ในขณะที่ torispherical ส่วนของ knuckle อยู่ที่ $0.06D$ ดังนั้น จะเห็นได้ว่าลักษณะทางกายภาพว่าระยะหักหลบ หรือมุมความป้าน ความนูนหัวถึงในจุดที่เริ่ม transition จากรูปทรงกระบอกไปนั้น torispherical มีมากกว่า เนื่องจากมุมของ knuckle ที่น้อยกว่า (รัศมี knuckle ต่างกันเกินครึ่งหนึ่งของ ellipsoidal) จึงเป็นผลให้ ความต่อเนื่องในส่วนระยะโค้ง (arc) ellipsoidal มีมากกว่า มีความเป็นส่วนโค้งที่มากกว่ารวมไปถึง crown radius พิจารณาที่ความหนาเดียวกัน การรับแรงดันในส่วนของแรงดันจากภายใน (internal pressure) ellipsoidal มีความสามารถในการรับแรงที่มากกว่า torispherical (ณัฐพงศ์ ไชยสิทธิ์, 2560) (John J, 1992)



รูปที่ 2.8 ลักษณะของหัวถังแบบ Ellipsoidal head (ณัฐพงศ์ ไชยสิทธิ์, 2560)

5) แบบ Hemispherical head จัดอยู่ในประเภทหัวถังที่สามารถรับแรงดันได้ หรือ pressure on the convex side (minus head) มีลักษณะเป็นครึ่งวงกลม ดังรูปที่ 2.9 มีความสามารถในการรับแรงดันได้มากกว่า conical, torisphere และ ellipsoidal head เนื่องจากค่า stress หรือแรงกระทำ ณ ตำแหน่งใด ๆ มีค่าเท่ากันหมด ($stress = PR/2t$) โดยหากพิจารณา stress เทียบกับลักษณะของหัวถังประเภท torisphere และ ellipsoidal แล้ว stress ที่นำมาพิจารณา มีค่าที่ต้องพิจารณาทั้งในส่วนของตัว crown และส่วน knuckle โดยรูปทรงที่ไม่ symmetry จะพิจารณาค่า stress ที่เพิ่มขึ้นมาซึ่งมีทั้ง meridional stress และ latitudinal stress ต่างจาก hemisphere ที่มีรัศมี (R) คงที่ ดังนั้นการกระจายแรงของ Hemispherical head ในทุกจุดจึงมีค่าเท่ากันเสมอ แต่อย่างไรก็ตามแม้ว่าหัวถังประเภทนี้สามารถทนแรงดันได้มากแต่ก็ทำให้มีความ

เปลือกพื้นที่หรือไม่สะดวกต่อการจัดเก็บเนื่องจากมีความนูนที่มากกว่าหัวถังประเภทอื่น ๆ (ณัฐพงศ์ ไชยสิทธิ์, 2560) (John J, 1992)

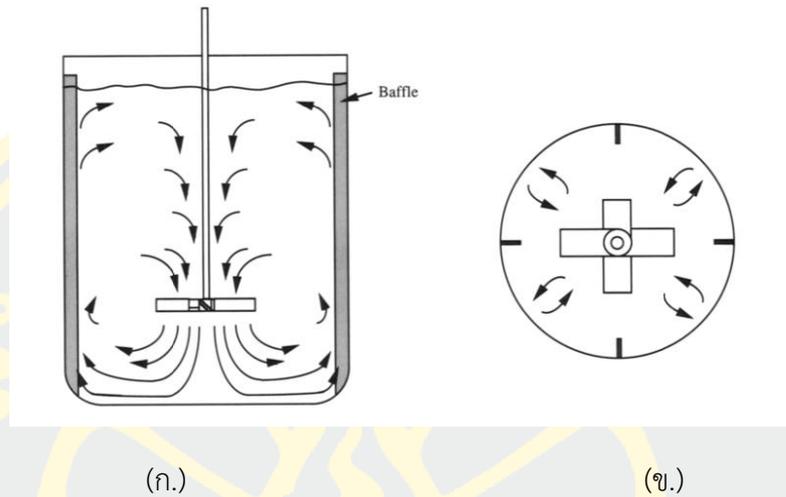


รูปที่ 2.9 ลักษณะของหัวถังแบบ Hemispherical head (ณัฐพงศ์ ไชยสิทธิ์, 2560)

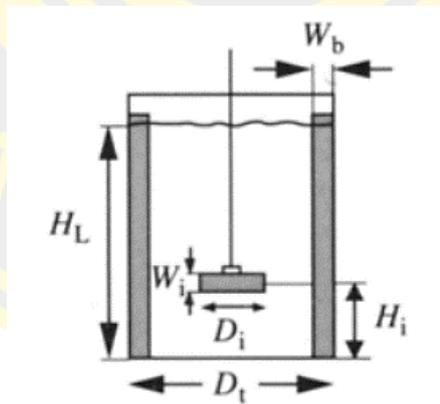
2.1.6.2 การออกแบบใบกวนและแผ่นกั้นการกวน (baffle)

การออกแบบใบกวนมีตัวแปรในการออกแบบหลายตัวแปร เช่น สัดส่วนและขนาดของถังปฏิกรณ์ ตำแหน่งของการติดตั้งใบกวน จำนวนและสัดส่วนของแผ่นกั้นการกวน (baffle) เป็นต้น ตัวแปรในการออกแบบต่าง ๆ นี้มีผลต่อปัจจัยหลายอย่าง เช่น อัตราการไหลหรือการกวนของเหลว รูปแบบของความเร็วในการไหลที่เกิดขึ้นจากการกวน รวมทั้งพลังงานที่ต้องการการกวน การออกแบบที่ดีต้องขึ้นอยู่กับการกำหนดค่าตัวแปรต่าง ๆ ข้างต้น ในทางปฏิบัติได้กำหนดแบบมาตรฐานไว้เพื่อใช้เป็นจุดเริ่มต้นของการออกแบบ โดยทั่วไปใบกวนมีทั้งหมด 4 ใบใน 1 ชุด แต่ละใบเอียงทำมุม 45 องศากับแท่ง shaft เพื่อให้เกิดกระแสการกวนในแนวราบและแนวตั้ง เส้นผ่านศูนย์กลางของใบกวนมีค่าเป็น 1 ใน 3 ของเส้นผ่านศูนย์กลางถังปฏิกรณ์ ส่วนความกว้างของใบกวนมีค่าเป็น 1 ใน 5 ของเส้นผ่านศูนย์กลางของใบกวน ตำแหน่งการติดตั้งใบกวนอยู่เหนือถังปฏิกรณ์ขึ้นมาเป็นระยะเท่ากับเส้นผ่านศูนย์กลางของใบกวน ส่วนแผ่นกั้นการกวนนั้นใช้เพื่อให้เกิดกระแสการไหลของของเหลวภายในถังปฏิกรณ์ให้มีทิศทางทั้งแนวระนาบและแนวตั้ง ดังรูปที่ 2.10 โดยปกติแล้วมี 4 หรือ 6 แผ่นจัดวางทิศทางตรงข้ามกันอย่างสมดุล ขนาดความกว้างของแผ่นกั้นการกวนนี้มีค่าเป็น 1 ใน 12 เท่าของเส้นผ่านศูนย์กลางของถัง ตำแหน่งของแผ่นกั้นการกวนนั้นปลายด้านล่างอยู่สูงจากถังถึงเป็นระยะ 1 ใน 12 เท่าของเส้นผ่านศูนย์กลางของใบกวน หรือในกรณีที่กั้นถังเป็นชนิดเรียบเสมอ (flat) สามารถให้ปลายด้านล่างของแผ่นกั้นการกวนเสมอกันถังได้ และปลายด้านบนมีความสูง

เสมอกับระดับของของเหลวสูงสุดภายในถังปฏิกรณ์ ดังรูปที่ 2.11 และมีค่าอัตราส่วนดังตารางที่ 2.1 (Doran, 1995) (สามารถ มูลอามาตย์, 2541)



รูปที่ 2.10 ลักษณะของการไหลของของเหลวภายในถังปฏิกรณ์กรณีใส่แผ่นกั้นการกวน (ก.) ลักษณะการไหลมุมด้านข้าง (ข.) ลักษณะการไหลมุมด้านบน (Doran, 1995)



รูปที่ 2.11 ตำแหน่งของใบกวนและแผ่นกั้นการกวน (Doran, 1995)

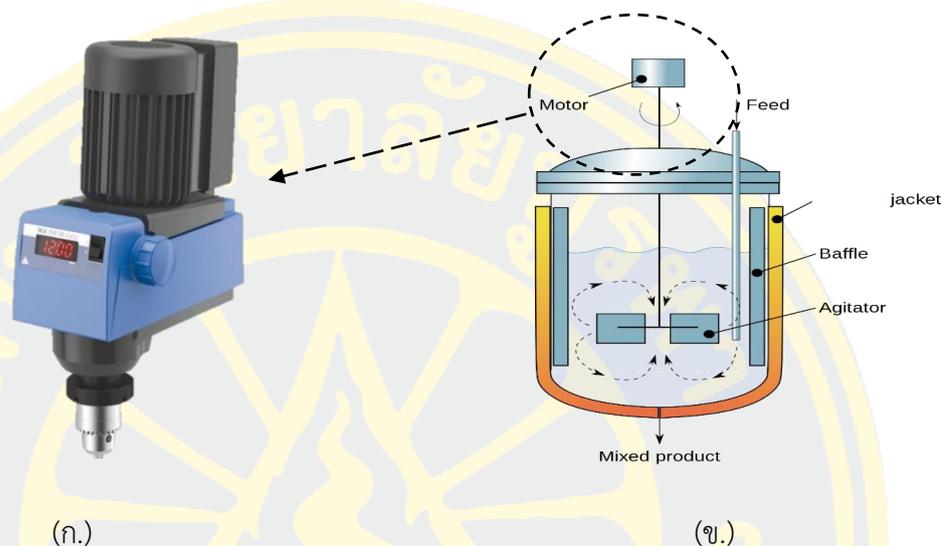
ตารางที่ 2.1 อัตราส่วนของใบกวนและแผ่นกั้นการกวน (Doran, 1995)

ชนิดใบกวน	จำนวน	D_i / D_t	W_i / D_i	แผ่นกั้นการกวน	
				W_b / D_t	จำนวน
Pitch Blade	4	1/3	1/5	1/12	4 – 6
Impeller					

2.1.6.3 การออกแบบขนาด shaft และการเลือกขนาดมอเตอร์

Shaft คือส่วนที่เชื่อมต่อระหว่างมอเตอร์และเป็นที่ติดตั้งของใบกวน การออกแบบขนาดของ shaft ต้องคำนึงถึงปัจจัยต่าง ๆ ทั้งชนิดของ shaft เช่น ชนิดแท่งกลมตัน หรือแท่งกลมกลวง เป็นต้น วัสดุที่นำมาทำ shaft และปัจจัยที่สำคัญคือแรงโหดจากใบกวน ซึ่งเป็นผลมาจากชนิด จำนวน ความเร็วรอบของใบกวน รวมไปถึงแรงต้านการกวนอันเกิดจากของเหลวที่กวน เช่น ความหนืดของของเหลว เป็นต้น การคำนวณขนาดของ shaft ตามทฤษฎีนั้นสามารถคำนวณได้จากหลากหลายสมการ เช่น สมการของการหา Torsional stress และ Circular fraction เป็นต้น ขึ้นอยู่กับค่าตัวแปรที่ทราบ แต่อย่างไรก็ตามการคำนวณขนาดของ shaft ตามทฤษฎีเป็นการคำนวณหาขนาดของ shaft ที่เล็กที่สุดที่สามารถรับแรงโหดจากใบกวนได้ (minimum size of shaft) แต่ในทางปฏิบัติแล้ว การออกแบบขนาดของ shaft มักขึ้นอยู่กับความเหมาะสมของใบกวน เช่น องศาของการติดตั้งใบกวน ขนาดใบกวน ชนิดของของใบกวน เป็นต้น ในส่วนของการเลือกมอเตอร์จำเป็นต้องมีการคำนวณหาพลังงานที่ต้องการของมอเตอร์ โดยปกติแล้วการคำนวณเชิงทฤษฎีเป็นการคำนวณในอุดมคติ กล่าวคือไม่มีการสูญเสียพลังงานเปล่าประโยชน์ (energy loss) ดังนั้นในทางทฤษฎีการทำงานของมอเตอร์ที่คำนวณได้จะมีประสิทธิภาพการทำงานร้อยละ 100 แต่ในความเป็นจริงนั้นการทำงานของมอเตอร์มักมีการสูญเสียพลังงานหรือมีการเปลี่ยนรูปของพลังงานไปเป็นพลังงานอย่างอื่น เช่น พลังงานเสียง พลังงานความร้อน เป็นต้น ทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของมอเตอร์ต่อพลังงานที่ใช้ไปนั้นไม่ถึงร้อยละ 100 ซึ่งโดยทั่วไปมักมีประสิทธิภาพการทำงานหลังจากการสูญเสียพลังงานแล้วอยู่ที่ร้อยละ 70 ถึงร้อยละ 80 ดังนั้นเมื่อมีการคำนวณกำลังของมอเตอร์จากทฤษฎีแล้วต้องมีการหักลบค่าการสูญเสียพลังงานร้อยละ 20 ถึงร้อยละ 30 นี้ด้วยซึ่งจะส่งผลให้ค่าการใช้พลังงานของมอเตอร์นั้นเพิ่มมากขึ้นด้วย แต่อย่างไรก็ตามค่าที่ได้จากการคำนวณกำลังของมอเตอร์และค่ากำลังมอเตอร์จริงที่มีจำหน่าย ผู้ผลิตมักมีการผลิตมอเตอร์ออกมาเป็นค่ากำลังต่าง ๆ เช่น 0.5, 1, 1.5 และ 2 แรงม้า (hp.) เป็นต้น ดังนั้นเมื่อได้ค่าที่ได้จากการคำนวณแล้วต้องนำมาเปรียบเทียบค่ากำลังมอเตอร์จริงที่มีจำหน่ายโดยเลือกมอเตอร์ที่มีจำหน่ายให้มีค่ากำลังใกล้เคียงกับค่ากำลังที่ได้จากการคำนวณตามทฤษฎี โดยต้องเลือกมอเตอร์ที่มีค่ากำลังสูงกว่าค่ากำลัง

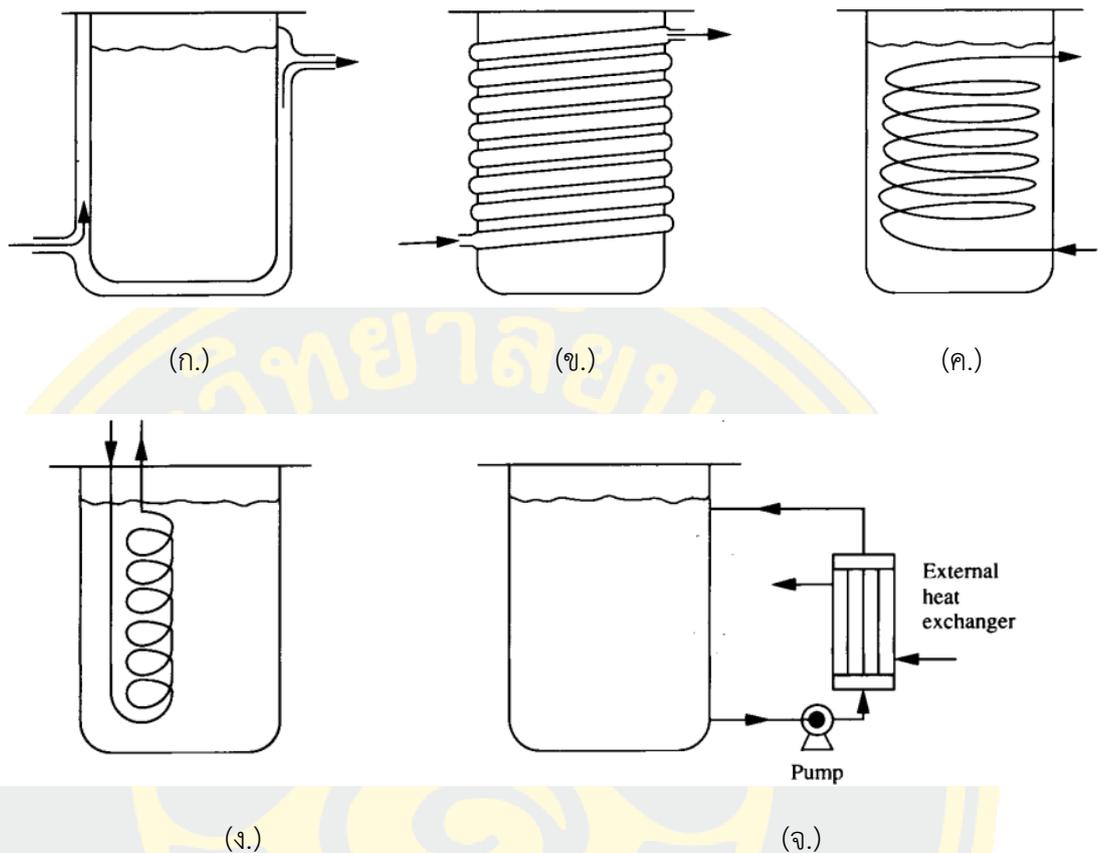
ที่คำนวณได้ตามทฤษฎี ซึ่งโดยปกติแล้วมอเตอร์ที่ใช้ในถังปฏิกรณ์จะติดตั้งไว้บริเวณฝาถัง ดังนั้นชนิดของมอเตอร์มักเป็นในรูปแบบ overhead motor ดังรูปที่ 2.12 (Goswami & Kreith, 2007) (ฤชากร จีรกาลวสาน, 2550)



รูปที่ 2.12 Overhead motor (ก.) ลักษณะของ Overhead motor (Spectrumchemical, 2020) และ (ข.) ตำแหน่งการติดตั้ง (Schmidt, 1998)

2.1.6.4 การให้ความร้อนถึงปฏิกรณ์

การให้ความร้อนแก่ถังปฏิกรณ์นั้นเพื่อเป็นการควบคุมอุณหภูมิของถังปฏิกรณ์ให้คงที่หรือให้ได้อุณหภูมิตามความต้องการ ซึ่งโดยปกติส่วนใหญ่แล้วถังปฏิกรณ์ทางชีวภาพมักเกี่ยวข้องกับการใช้จุลินทรีย์ ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ หรืออุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตสารที่ต้องการนั้นอาจมีอุณหภูมิที่สูงกว่าอุณหภูมิห้องปกติ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องให้ความร้อนเพิ่มให้แก่ถังปฏิกรณ์ การควบคุมอุณหภูมิที่ดีควรต้องมีการควบคุมให้อุณหภูมิมีความคงที่ ไม่แกว่ง การให้ความร้อนแก่ถังปฏิกรณ์มีหลากหลายรูปแบบ ดังรูปที่ 2.13 ทั้งการให้ความร้อนโดยตรงโดยใช้ heater หรือเป็นการให้ความร้อนผ่านตัวพาความร้อน เช่น น้ำร้อน หรือของเหลวชนิดอื่น ๆ เป็นต้น (Bergman, Incropera, DeWitt, & Lavine, 2011) (Doran, 1995)



รูปที่ 2.13 ลักษณะการให้ความร้อนแก่ถังปฏิกรณ์ (ก.) แบบ jacketed vessel (ข.) แบบ external coil (ค.) แบบ internal helical coil (ง.) แบบ internal baffle-type coil (จ.) แบบ external heat exchanger (Doran, 1995)

แต่อย่างไรก็ตามการเลือกรูปแบบการให้ความร้อนแก่ถังปฏิกรณ์นั้นควรคำนึงถึงความเหมาะสมของกระบวนการที่ใช้ อาทิอาจใช้น้ำร้อนที่ได้จากกระบวนการอื่นนำมาใช้ให้ความร้อนแก่ถังปฏิกรณ์ได้ จึงไม่มีความจำเป็นต้องใช้ heater ให้ความร้อนโดยตรงแก่ถังปฏิกรณ์ แต่อาจใช้เป็นการไหลวนของน้ำร้อนแทน หรือเลือกตามความเหมาะสมตามสภาวะอุณหภูมิที่ใช้เนื่องจากหากมีการใช้อุณหภูมิที่ค่อนข้างสูง การใช้ความร้อนโดยตรงแก่ของเหลวภายในถังปฏิกรณ์ที่มีจุลินทรีย์ที่มีชีวิตอยู่ด้วยนั้นอาจทำให้จุลินทรีย์สัมผัสกับขดลวดให้ความร้อนโดยตรง และตายได้เนื่องจากการควบคุมอุณหภูมิของถังปฏิกรณ์ต้องให้ความร้อนที่ขดลวดให้ความร้อนที่สูงกว่าอุณหภูมิของของเหลวที่ต้องการ เนื่องจากในสภาวะความเป็นจริงมีการสูญเสียความร้อน (heat loss) แก่สภาวะรอบนอกทำให้อุณหภูมิของของเหลวบริเวณที่อยู่ใกล้กับบริเวณที่มีการสูญเสียความร้อน เช่น บริเวณขอบถังในกรณีที่ขดลวดให้ความร้อนอยู่ภายในหรือกึ่งกลางของถัง เป็นต้น จึงทำให้อุณหภูมิของของเหลวลดลงเรื่อย ๆ ในกรณีสามารถแก้ไขได้โดยการใช้หม้อนวนจะช่วยทำให้อัตราการสูญเสียความร้อนนั้นลดลง

ได้ และอีกประการหนึ่งคืออัตราการถ่ายโอนความร้อนของของเหลว เนื่องจากของเหลวบริเวณที่อยู่ใกล้ขดลวดให้ความร้อนจะมีอุณหภูมิที่สูงกว่าบริเวณที่อยู่ไกลออกไป ในกรณีหากของเหลวที่มีการอยู่นิ่ง ไม่มีการกวนให้เกิดการเคลื่อนที่ของของเหลว ผลต่างของอุณหภูมิจะแปรผันโดยตรงกับระยะห่างกับขดลวดให้ความร้อนอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งสามารถลดได้โดยการทำให้เกิดการไหลหรือการเคลื่อนที่ของของเหลว ทำให้อุณหภูมิของของเหลวภายในถังปฏิกรณ์นั้นได้รับความร้อนจากขดลวดให้ความร้อนอย่างทั่วถึง จึงทำให้ผลความแตกต่างของอุณหภูมิของของเหลวจากระยะห่างของขดลวดให้ความร้อนน้อยลง แต่หากถังปฏิกรณ์มีระยะรัศมีที่เล็กจะทำให้ระยะห่างของของเหลวบริเวณที่มีการสูญเสียความร้อนและขดลวดให้ความร้อนนั้นน้อยผลความแตกต่างของอุณหภูมิของของเหลวจึงน้อยตามกล่าวคือการเลือกรูปแบบการให้ความร้อนแก่ถังปฏิกรณ์ ต้องคำนึงถึงปัจจัยที่เกี่ยวข้องต่าง ๆ ทั้งสถานะที่ต้องดำเนินการ ลักษณะและขนาดของถังปฏิกรณ์ คุณสมบัติของของเหลวและความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ เป็นต้น (Bergman et al., 2011) (Doran, 1995)

2.1.6.5 การเลือกวัสดุในการผลิตถังปฏิกรณ์

กระบวนการทางชีวภาพที่เกิดขึ้นในถังปฏิกรณ์เพื่อใช้ในการผลิตสารทางชีวภาพต่าง ๆ เป็นกระบวนการหมักโดยใช้จุลินทรีย์ในการเปลี่ยนสารตั้งต้นให้เกิดเป็นสารผลิตภัณฑ์ขึ้น ซึ่งในการหมักบางสถานะจะเกิดสารที่มีความเป็นกรดขึ้นมาซึ่งมีคุณสมบัติในการกัดกร่อนได้ ดังนั้นการเลือกวัสดุที่นำมาทำเป็นถังปฏิกรณ์นั้นจึงมีความจำเป็นต้องพิจารณาสถานะของกระบวนการด้วยเพื่อให้ไม่ก่อให้เกิดปัญหาต่อถังปฏิกรณ์ ในกรณีที่กระบวนการมีสารที่มีฤทธิ์กัดกร่อนขึ้นมาวัสดุที่นำมาใช้ทำถังปฏิกรณ์นั้นก็ควรเป็นวัสดุที่สามารถทนการกัดกร่อนได้ด้วย อาทิ วัสดุจำพวกเครื่องแก้ว พลาสติกบางชนิดที่สามารถทนการกัดกร่อนได้ หรือใช้เป็นสแตนเลสซึ่งมีอยู่หลายชนิดที่สามารถทนสารจำพวกที่มีฤทธิ์กัดกร่อนได้ เช่น ชนิด 304, 304L, 316 และ 316L เป็นต้น จะเห็นได้ว่า มีวัสดุหลากหลายชนิดที่มีคุณสมบัติทนต่อการกัดกร่อนได้ แต่ก็ต้องคำนึงอื่น ๆ อย่างขนาดของถังปฏิกรณ์ที่เป็นตัวแปรสำคัญในการเลือกวัสดุโดยหากถังปฏิกรณ์ที่มีขนาดเล็กการเลือกใช้วัสดุที่นำมาทำอาจจะไม่ค่อยมีผลต่อถังปฏิกรณ์มาก แต่หากต้องการสร้างถังปฏิกรณ์ที่มีขนาดใหญ่ (มากกว่า 20 ลิตร) การเลือกใช้วัสดุจะมีผลค่อนข้างมากทั้งในเรื่องของความทนทานต่อการแตกหัก การรับแรงดันและน้ำหนักของของเหลวในปริมาณมาก ๆ ความคุ้มค่าในการสร้างหรือผลต่อการควบคุมสถานะต่าง ๆ นอกจากนั้นสถานะที่ใช้ในการดำเนินการก็มีผลต่อการเลือกวัสดุ อาทิ ในกระบวนการมีการใช้แรงดันแก๊สหรือมีการเกิดแก๊สขึ้นทำให้เกิดแรงดัน วัสดุที่นำมาใช้ก็ควรที่จะสามารถรับแรงเหล่านั้นได้ด้วย และปัจจัยสถานะอีกประการที่สำคัญคือการควบคุมอุณหภูมิของถังปฏิกรณ์ บางรูปแบบการให้ความร้อนแก่ถังปฏิกรณ์จำเป็นต้องอาศัยการนำความร้อนของวัสดุของถัง

ปฏิกรณ์เพื่อเป็นตัวนำส่งความร้อนไปยังของเหลวที่อยู่ภายในถังปฏิกรณ์ โดยวัสดุที่นำมาใช้ทำถังปฏิกรณ์ควรจะต้องมีการนำความร้อนที่ดี เพื่อให้การควบคุมอุณหภูมินั้นเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ และมีความคุ้มค่าต่อพลังงานความร้อนที่ใช้ไปมากที่สุด ซึ่งวัสดุที่นำความร้อนได้ดีจะเป็นวัสดุที่เป็นโลหะ เช่น เหล็ก ทองเหลือง หรือที่นิยมใช้กันมากที่สุดคือสแตนเลส เนื่องจากมีความแข็งแรง คงทน ทนทานต่อการกัดกร่อน ทนต่อแรงดันไม่แตกสลายหรือฉีกขาดได้ง่าย ทนต่อการเกิดสนิม และสามารถนำความร้อนได้ดี แต่อย่างไรก็ตามการใช้วัสดุที่มีความสามารถในการนำความร้อนได้ดีนี้จะเป็นประโยชน์ต่อการนำความร้อนจากแหล่งให้ความร้อนไปยังถังปฏิกรณ์ได้ดีแล้วนั้น แต่ข้อเสียก็คือวัสดุเหล่านี้สามารถทำให้เกิดการสูญเสียพลังงานความร้อนได้โดยง่ายจากคุณสมบัติการนำความร้อนที่ดีนี้ ดังนั้นวิธีการแก้ไขปัญหานี้คือ การหุ้มด้วยวัสดุที่ไม่นำความร้อนหรือฉนวนในบริเวณที่ไม่ต้องการให้นำความร้อนหรือบริเวณที่มีการสูญเสียความร้อนเกิดขึ้น (Doran, 1995) (สามารถ มูลอามาตย์, 2541)

2.1.7 เทคโนโลยีอินเทอร์เน็ตของสรรพสิ่ง (IoT)

เทคโนโลยีอินเทอร์เน็ตของสรรพสิ่ง (Internet of thing : IoT) บางแห่งเรียก M2M ย่อมาจาก Machine to Machine ถูกคิดค้นขึ้นโดย Kevin Ashton ในปี ค.ศ. 1999 ณ มหาวิทยาลัย Massachusetts Institute of Technology (MIT) ภายใต้โครงการที่ชื่อว่า Auto-ID Center ซึ่งมาจากเทคโนโลยี RFID ที่ทำให้เป็นมาตรฐานระดับโลกสำหรับ RFID Sensors ต่าง ๆ ที่เชื่อมต่อกันได้ ต่อมาได้มีแนวคิดเกี่ยวกับเทคโนโลยีอินเทอร์เน็ตของสรรพสิ่งเมื่อยุคหลังปี 2000 โลกมีอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ออกมาเป็นจำนวนมากและมีการใช้คำว่า Smart ซึ่งในที่นี้หมายถึงอุปกรณ์ในลักษณะของจำพวกที่เป็น smart device, smart grid, smart home, smart network, smart intelligent transportation เป็นต้น ซึ่ง Kevin ได้นิยามไว้ว่าเป็น internet-like หรือมีความหมายว่า อุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์สามารถสื่อสารกันเองได้ ศัพท์คำว่า Things หมายถึงอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ต่าง ๆ เทคโนโลยีอินเทอร์เน็ตของสรรพสิ่งจึงหมายถึง การที่สิ่งต่าง ๆ ถูกเชื่อมโยงทุกสิ่งทุกอย่างเข้าสู่โลกอินเทอร์เน็ตทำให้มนุษย์สามารถสั่งการ ควบคุมใช้งานอุปกรณ์ต่าง ๆ ผ่านทางเครือข่ายอินเทอร์เน็ต เช่น การสั่งเปิดหรือปิดอุปกรณ์เครื่องใช้ไฟฟ้า รถยนต์ โทรศัพท์มือถือ เครื่องมือสื่อสาร เครื่องใช้สำนักงาน เครื่องมือทางการเกษตร เครื่องจักรในโรงงานอุตสาหกรรม อาคาร บ้านเรือน เครื่องใช้ในชีวิตรประจำวันต่าง ๆ ได้ผ่านเครือข่ายอินเทอร์เน็ต เป็นต้น โดยเทคโนโลยีนี้เป็นประโยชน์ แต่ก็มีความเสี่ยงเพราะหากระบบรักษาความปลอดภัยของอุปกรณ์และเครือข่ายอินเทอร์เน็ตไม่ดีพอ จะทำให้ผู้ไม่ประสงค์ดีเข้ามากระทำการที่ไม่พึงประสงค์ต่ออุปกรณ์ข้อมูลสารสนเทศหรือความเป็นส่วนตัวของบุคคลได้ ดังนั้นการพัฒนาไปสู่เทคโนโลยีอินเทอร์เน็ตของสรรพสิ่งมีความจำเป็นต้อง

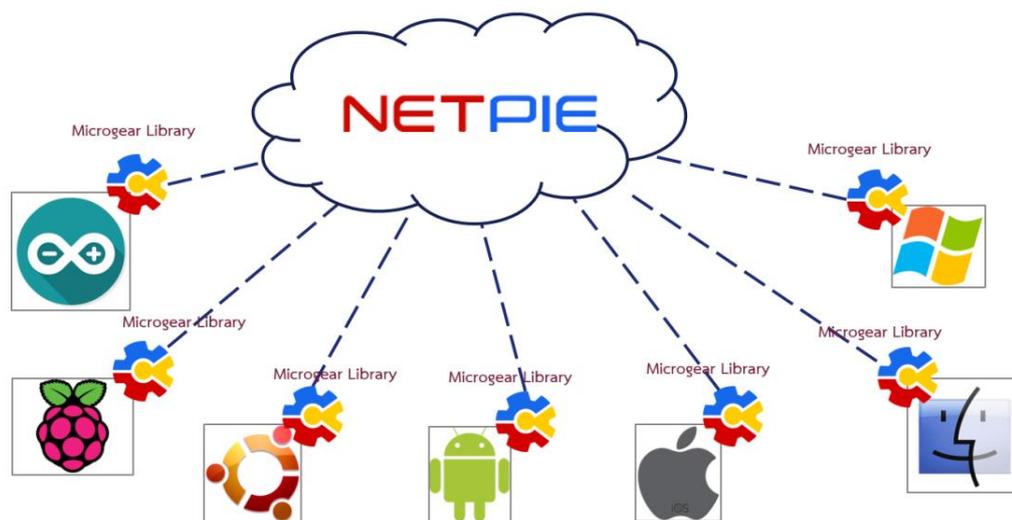
พัฒนามาตรการและเทคนิคในการรักษาความปลอดภัยทางสารสนเทศควบคู่กันไปด้วย ปัจจุบันมีการแบ่งกลุ่มเทคโนโลยีอินเทอร์เน็ตของสรรพสิ่งถูกแบ่งออกตามตลาดการใช้งานเป็น 2 กลุ่มได้แก่

2.1.7.1 กลุ่ม Industrial IoT คือ แบ่งจาก local network ที่มีหลายเทคโนโลยีที่แตกต่างกันในโครงข่าย Sensor nodes โดยตัวอุปกรณ์ IoT Device ในกลุ่มนี้จะเชื่อมต่อแบบ IP network เพื่อเข้าสู่อินเทอร์เน็ต

2.1.7.2 กลุ่ม Commercial IoT คือ แบ่งจาก local communication ที่เป็น Bluetooth หรือ Ethernet (wired or wireless) โดยตัวอุปกรณ์ IoT Device ในกลุ่มนี้ สื่อสารภายในกลุ่ม Sensor nodes เดียวกันเท่านั้นหรือเป็นแบบ local devices เพียงอย่างเดียวเท่านั้นซึ่งอาจไม่ได้เชื่อมต่อสู่ระบบอินเทอร์เน็ต (Asghar, Negi, & Mohammadzadeh, 2015) (ธีรโชติ บุญคุ้ม, 2561)

2.1.8 ระบบบริการ Network Platform for Internet of Everything (NETPIE)

ระบบบริการ NETPIE เป็นระบบที่ถูกพัฒนาขึ้นโดยศูนย์เทคโนโลยีอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ (NECTEC) สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) ซึ่งได้เปิดตัวเวอร์ชันแรกให้ใช้ในปี 2558 (2015) โดยเป็นระบบ IoT (Internet of Things) Cloud Platform ซึ่งมี Web Portal ที่ให้สามารถลงทะเบียนและจัดการตัวตนและสิทธิ์ของแอปพลิเคชันและอุปกรณ์ได้ที่เว็บไซต์ <https://netpie.io> เป็น Middleware ที่มีหัวใจหลัก (นอกเหนือจากส่วนอื่น ๆ) เป็น Distributed MQTT Brokers เหมือนจุดเชื่อมต่อให้สิ่งต่าง ๆ (Thing) มาติดต่อสื่อสารและทำงานร่วมกันโดยใช้วิธีการติดต่อสื่อสารกันแบบการส่งข้อความในรูปแบบ Publish/Subscribe โครงสร้างสถาปัตยกรรมของ NETPIE เป็นแบบ Cloud ในทุกองค์ประกอบทำให้สามารถขยายตัวได้อย่างอัตโนมัติ (Auto-scale) สามารถจัดการซ่อมแซมตัวเองได้อัตโนมัติเมื่อส่วนใดส่วนหนึ่งของระบบเกิดความเสียหายไม่สามารถใช้งานได้ (Self-healing, Self-recovery) การบริหารจัดการระบบเป็นแบบ Plug-and-Play ไม่ต้อง Configure หรือปรับแต่งในฝั่งอุปกรณ์ NETPIE มี Client Library หรือที่เรียกว่า Microgear ซึ่งทำหน้าที่สร้างและดูแลช่องทางสื่อสารระหว่างอุปกรณ์กับ NETPIE รวมไปถึงรักษาความปลอดภัยในการส่งข้อมูล Microgear เป็น Open Source และสามารถดาวน์โหลดได้จาก <https://github.com/netpieio> โดย ณ ปัจจุบันมี Microgear สำหรับ OS และ Embedded Board หลักๆ ที่เป็นที่นิยมในหมู่นักพัฒนาเกือบทุกชนิด โมเดลการสื่อสารของ NETPIE แสดงไว้ในรูปที่ 2.14



รูปที่ 2.14 วิธีการสื่อสารของสิ่งต่าง ๆ ผ่าน NETPIE (คู่มือการใช้งาน NETPIE, 2017)

2.1.8.1 ประโยชน์ของการใช้บริการ NETPIE

1) ช่วยลดการใช้ทรัพยากรของการเชื่อมต่อ คือ NETPIE ช่วยให้อุปกรณ์สามารถสื่อสารกันได้โดยผู้ใช้งานไม่ต้องกังวลว่า อุปกรณ์นั้นจะอยู่ที่ใด เพียงแค่นำ Microgear Library ไปติดตั้งในอุปกรณ์ NETPIE จะรับหน้าที่ดูแลเชื่อมต่อให้ทั้งหมด ไม่ว่าจะอุปกรณ์นั้นจะอยู่ในเครือข่ายชนิดใด ลักษณะใด หรือแม้กระทั่งเคลื่อนย้ายไปอยู่ที่ใด ผู้ใช้งานสามารถตัดปัญหาในการเข้าถึงอุปกรณ์จากระยะไกล (Remote Access) ด้วยวิธีการแบบเดิม ๆ เช่น การใช้ Fixed Public IP Address หรือการตั้ง Port Forwarding ในเราท์เตอร์และการต้องไปลงทะเบียนกับผู้ให้บริการ Dynamic DNS ซึ่งทั้งหมดล้วนมีความยุ่งยาก ลดความยืดหยุ่นของระบบ ไม่เพียงเท่านั้น NETPIE ยังช่วยให้การเริ่มต้นใช้งานเป็นไปโดยง่ายโดยออกแบบให้อุปกรณ์ถูกค้นพบและเข้าสู่บริการโดยอัตโนมัติ (Automatic Discovery, Plug-and-Play)

2) ช่วยลดภาระด้านความปลอดภัยของข้อมูล NETPIE ถูกออกแบบให้มีระดับและสิทธิ์ในการเข้าถึงในระดับ Fine Grain กล่าวคือผู้ใช้งานสามารถออกแบบได้เองทั้งหมดว่าสิ่งใดมีสิทธิ์คุยกับสิ่งใด สิ่งใดมีสิทธิ์หรือไม่เพียงใดในการอ่านหรือเขียนข้อมูล และสิทธิ์เหล่านี้จะมีอายุการใช้งานนานเท่าใด หรือจะถูกเพิกถอนภายใต้เงื่อนไขใด เป็นต้น

3) ยืดหยุ่นต่อการขยายระบบ NETPIE มีสถาปัตยกรรมเป็นคลาวด์ เซิร์ฟเวอร์อย่างแท้จริงในทุกองค์ประกอบของระบบทำให้เกิดความยืดหยุ่นและคล่องตัวสูงในการขยายตัวนอกจากนี้โมดูลต่าง ๆ ยังถูกออกแบบให้ทำงานแยกจากกันเพื่อให้เกิดสถานะ Loose Coupling และสื่อสารกันด้วยวิธี Asynchronous Messaging ช่วยให้แพลตฟอร์มมีความน่าเชื่อถือ

ได้สูง นำไปใช้ซ้ำและพัฒนาต่อได้ง่าย ดังนั้นผู้พัฒนาไม่จำเป็นต้องกังวลกับการขยายตัวเพื่อรับโหลดที่เพิ่มขึ้นในระบบ (คู่มือการใช้งาน NETPIE, 2017)

2.1.9 Microgear Library

Microgear คือ software Library ของ NETPIE ที่ติดตั้งอยู่บนอุปกรณ์ที่ต้องการเชื่อมต่อสื่อสารผ่านคลาวด์ของ NETPIE Microgear เปรียบเสมือนตัวกลางและผู้ช่วยในการสร้างและดูแลการเชื่อมต่อให้มีความเสถียร ปลอดภัย และให้การสื่อสารแลกเปลี่ยนข้อมูลระหว่างอุปกรณ์เป็นไปอย่างราบรื่น บทบาทหน้าที่ของ Microgear สามารถแบ่งออกเป็น 4 ด้านคือ

1) ด้านการสื่อสาร (Communication) Microgear จะเป็นผู้ช่วยในการสร้างการเชื่อมต่อ (Connection) ไปยังคลาวด์ของ NETPIE และคอยตรวจสอบสถานะของการเชื่อมต่อ หากการเชื่อมต่อมีปัญหา Microgear สามารถช่วยเชื่อมต่อให้ใหม่เพื่อให้การสื่อสารเป็นไปได้อย่างราบรื่น นอกจากนี้ Microgear ยังช่วยอำนวยความสะดวกในการสร้างช่องทางการสื่อสารแบบเข้ารหัสในกรณีที่ผู้ใช้ต้องการส่วนการแลกเปลี่ยนข้อมูลระหว่าง Microgear และคลาวด์ของ NETPIE จะใช้โพรโทคอล MQTT ในการสื่อสาร

2) ด้านการยืนยันตัวตน (Authentication) ในขั้นตอนการสร้างการเชื่อมต่อ Microgear จะช่วยยืนยันตัวตนของอุปกรณ์กับคลาวด์ของ NETPIE โดยการพิสูจน์ตัวตน (Identity) ของอุปกรณ์จะใช้ข้อมูลประกอบกัน 3 ส่วนคือ App ID, App Key และ Token

3) ด้านการขออนุญาตสิทธิ์ (Authorization) การขออนุญาตสิทธิ์ในการสื่อสารจะเกิดขึ้นในขั้นตอนการสร้างการเชื่อมต่อ ควบคู่กับการยืนยันตัวตน คลาวด์ของ NETPIE จะเป็นผู้ออกใบอนุญาต (Token) ที่ระบุว่าอุปกรณ์ตัวนี้สามารถสื่อสารได้กับอุปกรณ์ตัวใดบ้าง ในกรณีปกติอุปกรณ์ที่อยู่ภายใต้กลุ่ม App ID เดียวกันเท่านั้นจึงจะมีสิทธิ์สื่อสารกันได้

4) ด้านการประสานงาน (Coordination) Microgear มีฟังก์ชันที่ช่วยให้อุปกรณ์ต่าง ๆ ภายในกลุ่ม App ID เดียวกันทราบสถานะของกันและกัน เช่น ทราบว่ามีอุปกรณ์ใดออนไลน์เข้ามาใหม่ในกลุ่ม หรือมีอุปกรณ์ใดออกไปจากกลุ่ม รวมถึงทราบการเปลี่ยนแปลงสถานะของอุปกรณ์ที่สนใจติดตาม จากข้อมูลดังกล่าวผู้ใช้สามารถกำหนดบทบาทหน้าที่ให้อุปกรณ์ในกลุ่มตามสถานะของอุปกรณ์อื่น ๆ ในกลุ่ม เช่น หากเป็นอุปกรณ์ตัวแรกในกลุ่มให้ทำหน้าที่เป็นหัวหน้ากลุ่ม เป็นต้น

Microgear ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อให้ทำงานได้กับอุปกรณ์ที่หลากหลาย ในส่วนของซอฟต์แวร์มี Microgear ให้เลือกใช้กับภาษาโปรแกรม (Programming Language) ได้แก่ Node.js Python HTML5 Java Android และ C# สำหรับอุปกรณ์ฮาร์ดแวร์ประเภทไมโครคอนโทรลเลอร์ Microgear เปรียบเสมือน Firmware ซึ่งมี Microgear ที่รองรับ Arduino with Ethernet Shield (ใช้ได้กับ

Arduino Mega) และ Microgear สำหรับ Wi-Fi ไมโครคอนโทรลเลอร์ ESP8266 Microgear ที่พัฒนาขึ้นทั้งหมดถูกรวบรวมไว้ที่ <https://github.com/netpieio> โดยมีสัญญาอนุญาตให้ใช้สิทธิ์แบบเปิดประเภท ISC License ซึ่งอนุญาตให้ทำซ้ำตัดแปลง และหรือส่ง Library นี้ได้ทั้งในการใช้งานเชิงสาธารณประโยชน์และเชิงพาณิชย์รายละเอียดของสัญญาอนุญาตให้ใช้สิทธิ์แบบ ISC License มีดังรูปที่ 2.15

ISC License

Copyright (c)2015, NECTEC <@nectec.or.th>

Permission to use, copy, modify, and/or distribute this software for any purpose with or without fee is hereby granted, provided that the above copyright notice and this permission notice appear in all copies.

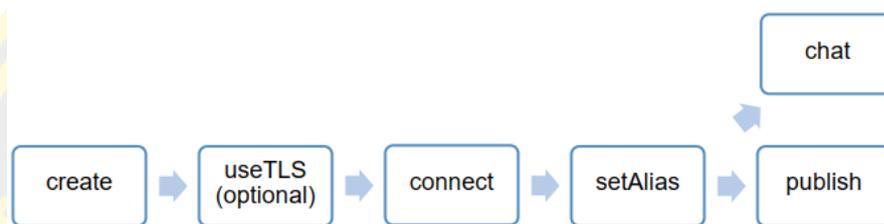
THE SOFTWARE IS PROVIDED "AS IS" AND THE AUTHOR DISCLAIMS ALL WARRANTIES WITH REGARD TO THIS SOFTWARE INCLUDING ALL IMPLIED WARRANTIES OF MERCHANTABILITY AND FITNESS. IN NO EVENT SHALL THE AUTHOR BE LIABLE FOR ANY SPECIAL, DIRECT, INDIRECT, OR CONSEQUENTIAL DAMAGES OR ANY DAMAGES WHATSOEVER RESULTING FROM LOSS OF USE, DATA OR PROFITS, WHETHER IN AN ACTION OF CONTRACT, NEGLIGENCE OR OTHER TORTIOUS ACTION, ARISING OUT OF OR IN CONNECTION WITH THE USE OR PERFORMANCE OF THIS SOFTWARE.

รูปที่ 2.15 สัญญาอนุญาตให้ใช้สิทธิ์แบบเปิดประเภท ISC License ของ Microgear Library (คู่มือการใช้งาน NETPIE, 2017)

2.1.9.1 ฟังก์ชันหลักของ Microgear

Microgear แต่ละชนิดอาจมีชื่อและชนิดของฟังก์ชันแตกต่างกันตามลักษณะของการเขียนโปรแกรมในภาษานั้น ๆ ในที่นี้ขอยกตัวอย่างฟังก์ชันที่มีเหมือนกันอยู่ในหลาย Microgear โดยขออ้างอิงชื่อฟังก์ชันจาก HTML5 Microgear สำหรับรายละเอียดฟังก์ชันของแต่ละชนิด Microgear สามารถดูได้จากเว็บไซต์ <https://github.com/netpie.io> โดยมีฟังก์ชันหลัก ๆ ดังนี้ฟังก์ชัน create คือการสร้าง Microgear เพื่อเริ่มต้นใช้งาน ฟังก์ชัน connect เชื่อมต่อ Microgear เข้ากับคลาวด์ของ NETPIE ฟังก์ชัน setAlias คือการกำหนดชื่อเล่นของอุปกรณ์เพื่อใช้ระบุตัวตนของอุปกรณ์ภายใน NETPIE ฟังก์ชัน chat คือการส่งข้อความแบบเจาะจงผู้รับ ฟังก์ชัน publish คือการส่งข้อความแบบไม่เจาะจงผู้รับไปยังหัวข้อสนทนาที่กำหนด ฟังก์ชัน subscribe คือการระบุความสนใจในหัวข้อสนทนาบอกรับข้อความที่เกิดขึ้นบนหัวข้อนั้น ๆ ฟังก์ชัน unsubscribe

คือการยกเลิกการบอกรับข้อความในหัวข้อสนทนาที่เคย subscribe ไว้ ฟังก์ชัน resetToken คือการยกเลิกใบอนุญาต (Token) และลบใบอนุญาตออกจาก cache บนอุปกรณ์ ฟังก์ชัน useTLS คือการระบุว่าต้องการสร้างการเชื่อมต่อแบบเข้ารหัสระหว่าง Microgear กับคลาวด์ของ NETPIE และ ฟังก์ชัน on คือการตอบสนองต่อเหตุการณ์ที่สนใจผ่านการเรียก Callback Function ซึ่งลำดับของการเรียกฟังก์ชันพื้นฐานเพื่อเริ่มส่งข้อมูลเป็นดังในรูปที่ 2.16 (NECTEC, 2017)



รูปที่ 2.16 ลำดับในการเรียกฟังก์ชันพื้นฐานเพื่อเริ่มส่งข้อมูลของ Microgear Library (NECTEC, 2017)

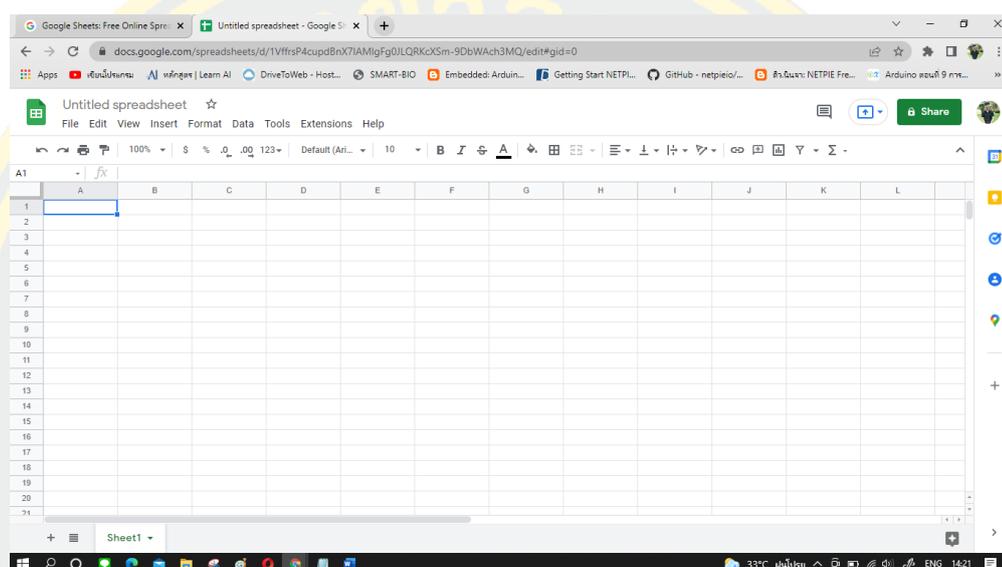
การทำงานของ Microgear เป็นแบบ Event-driven จึงต้องตอบสนองต่อเหตุการณ์ต่าง ๆ ด้วยการเขียน Callback Function ซึ่งชนิดของเหตุการณ์ที่สามารถเกิดขึ้นมีดังนี้ ฟังก์ชัน connected เกิดขึ้นเมื่อ Microgear เชื่อมต่อกับ NETPIE สำเร็จ ฟังก์ชัน closed เกิดขึ้นเมื่อ Microgear ปิดการเชื่อมต่อกับ NETPIE ฟังก์ชัน error เกิดขึ้นเมื่อมีความผิดพลาดเกิดขึ้นกับ Microgear ฟังก์ชัน message เกิดขึ้นเมื่อมีข้อความเข้ามาที่อุปกรณ์ ฟังก์ชัน present เกิดขึ้นเมื่อมีอุปกรณ์ใน App ID เดียวกันเชื่อมต่อเข้ามาบน NETPIE และฟังก์ชัน absent เกิดขึ้นเมื่อมีอุปกรณ์ใน App ID เดียวกันหายไปจากการเชื่อมต่อกับ NETPIE (NECTEC, 2017)

2.1.10 Google sheet และ Google Apps Script

2.1.10.1 Google sheet

Google Sheets เป็นโปรแกรมฟรีบนเว็บสำหรับการสร้างและแก้ไข Spread sheet ซึ่งเป็นโปรแกรมในกลุ่มของ Google Drive เป็นนวัตกรรมของ Google มีลักษณะการทำงานคล้ายกันกับ Microsoft Excel คือสามารถสร้าง Column, Row สามารถใส่ข้อมูลต่าง ๆ ลงไปใน Cell และ คำนวณสูตรต่าง ๆ ได้ ลักษณะของโปรแกรม Google Sheets มีลักษณะดังรูปที่ 2.17 ข้อดีของการใช้ Google Sheets ได้แก่ 1) เป็นบริการให้บริการฟรีจาก Google 2) สามารถ

ทำงานร่วมกันได้ใน Spreadsheet ณ เวลาเดียวกันนอกจากนี้ยังสามารถแชร์งาน แก้ไขแบบ Real time นอกจากนั้นยังสามารถแชทและแสดงความคิดเห็นกับบุคคลใดก็ได้ 3) มีการบันทึกโดยอัตโนมัติ และยังสามารถใช้ประวัติการแก้ไขเพื่อดูเวอร์ชันเก่า ๆ ของ Spreadsheet เดียวกันโดยจัดเรียงตามวันที่และคนที่แก้ไข และ 4) สามารถทำงานได้กับ Microsoft Excel โดยสามารถเปิด แก้ไข และ บันทึกเป็นไฟล์ Microsoft Excel ได้ (Google, 2022)

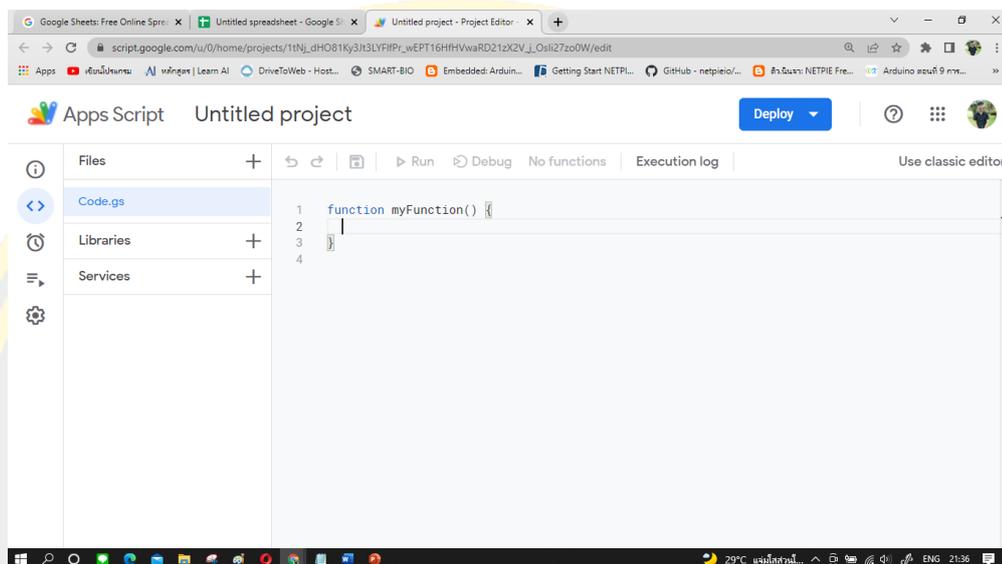


รูปที่ 2.17 โปรแกรม Google Sheets

2.1.10.2 Google Apps Script

Google Apps Script คือวิธีการสั่งงาน Google Apps โดยการเขียนโปรแกรมในฐานภาษา JavaScript เพื่อให้ Google Apps ทำงานตามคำสั่งของโปรแกรมที่เขียน โดย Google Apps Script มีลักษณะดังแสดงไว้ในรูปที่ 2.18 ซึ่งข้อดีของ Google Apps Script คือสามารถเขียนได้ง่าย สามารถเขียนบนโปรแกรม Browser ได้โดยไม่ต้องลงโปรแกรมใด ๆ และ Script จะถูก host และ run บน server ของ Google ดังนั้น จึงสามารถพัฒนาและใช้งานได้บนเครื่องคอมพิวเตอร์ทุกแบบทั้งในรูปแบบของ PC, MacBook, Chromebook, Smartphone และ Tablet โดย Google Apps Script แบ่งเป็น 3 ประเภท คือประเภทที่ 1 ประเภท Standalone Scripts ซึ่งคือ Script ที่อยู่เดี่ยว ๆ ไม่ผูกกับ Google apps แต่ยังสามารถเรียกใช้ Google Apps ได้และจะปรากฏให้เห็นบน Google Drive เหมือนไฟล์อื่น ๆ ประเภทที่ 2 ประเภท Scripts Bound to Google Sheets, Docs หรือ Forms Script ประเภทนี้ถูกสร้างขึ้นจากไฟล์ Google Apps อื่น เช่น Sheets, Forms และจะผูกอยู่กับไฟล์นั้นเป็นส่วนหนึ่งของไฟล์นั้น ดังนั้นจึงไม่ปรากฏอยู่ใน Drive

และประเภทที่ 3 ประเภท Web Apps and Google Sites Gadgets โดยหากมีการสร้าง User Interface ให้ Script เช่น html. และ CSS จะทำให้สามารถ Publish เป็น Web apps ได้ โดยผู้ใช้งานสามารถเรียกใช้งานได้โดยตรงผ่าน Browser เช่นเดียวกับ Web apps ทั่วไป (Google Developers, 2022)



รูปที่ 2.18 โปรแกรม Google Apps Script

2.1.11 บอร์ด Arduino และโปรแกรม Arduino IDE

2.1.11.1 บอร์ด Arduino

บอร์ด Arduino เป็นไมโครคอนโทรลเลอร์ (Microcontroller) แบบเปิด (Open source) คือมีการเปิดเผยข้อมูลทั้งฮาร์ดแวร์และซอฟต์แวร์สู่สาธารณะ ซึ่งหมายความว่าทั้งฮาร์ดแวร์และซอฟต์แวร์ของ Arduino สามารถนำไปใช้ในงานแจกจ่ายได้ฟรีและยังสามารถนำไปพัฒนาต่อยอดได้อีกด้วย ถึงแม้ว่าบอร์ด Arduino จะมีขนาดเล็กแต่สามารถทำงานได้หลาย ๆ อย่าง ด้วยการเขียนโปรแกรมสั่งงานลงไป ดังนั้นจึงสามารถนำเอาบอร์ด Arduino ไปประยุกต์ใช้งานได้มากมายอาทิ การนำเอาบอร์ด Arduino ไปประยุกต์ใช้งานด้านการเกษตร เช่น นำไปวัดอุณหภูมิและความชื้นภายในดินพร้อมทั้งทำระบบเปิดและปิดน้ำแบบอัตโนมัติ เป็นต้น การประยุกต์ใช้สำหรับงานกักกันเช่น สร้างหุ่นยนต์ใต้น้ำที่มีระบบอุปกรณวัด (Sensor) ตรวจจับการเคลื่อนไหว สามารถวัดระยะทาง และสามารถควบคุมแบบไร้สายด้วยรีโมทคอนโทรล เป็นต้น การประยุกต์ใช้สำหรับควบคุมอุปกรณ์ภายในบ้านผ่านระบบอินเทอร์เน็ตเช่น การเปิดหรือปิดไฟตามจุดต่าง ๆ การเปิด-ปิดประตูบ้าน การตรวจสอบการรั่วของแก๊ส เป็นต้น และการประยุกต์ใช้สำหรับงานอัตโนมัติต่าง ๆ เช่น ระบบนับสต็อกสินค้าอัตโนมัติเมื่อสินค้าผ่านจุดที่กำหนดพร้อมทั้งส่งข้อมูลไปเก็บยัง Server เป็นต้น

เนื่องจากบอร์ด Arduino เป็นเพียงไมโครคอนโทรลเลอร์ขนาดเล็กเท่านั้น ไม่ได้มีระบบประมวลผลและหน่วยความจำที่มากนัก ดังนั้นบอร์ด Arduino จึงไม่ได้เน้นเรื่องการคิดคำนวณหรือประมวลผลข้อมูลขนาดใหญ่ แต่มีหน้าที่หลักเพียง 2 ประการดังนี้ ประการแรก ใช้สำหรับตรวจจับ (Sense) เพื่อรับค่า Input ที่มาจากอุปกรณ์ Input ต่าง ๆ ตัวอย่างเช่น รับค่าอุณหภูมิและความชื้นมาจากอุปกรณ์วัด เป็นต้น ประการที่สอง ใช้เพื่อส่ง Output สำหรับควบคุมอุปกรณ์ต่าง ๆ เช่น ควบคุมความเร็วและทิศทางของมอเตอร์ ควบคุมการปิด เปิดไฟภายในบ้านหรือใช้ควบคุมการเคลื่อนที่ของแขนกล เป็นต้น

บอร์ด Arduino ปัจจุบันมีอยู่หลายรุ่น ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น 3 ประเภทได้แก่ ประเภทที่ 1 บอร์ด Arduino สำหรับผู้เริ่มต้น โดยบอร์ด Arduino ในกลุ่มนี้ได้แก่ บอร์ด Arduino UNO, Arduino LEONARDO และ Arduino NANO บอร์ดในกลุ่มนี้เป็นบอร์ดที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการศึกษาเนื่องจากมีโครงสร้างที่ไม่ซับซ้อน สามารถใช้งานได้ง่ายและมีราคาไม่แพง ประเภทที่ 2 บอร์ด Arduino สำหรับงานที่ต้องการคุณสมบัติที่สูงขึ้น ได้แก่บอร์ด Arduino MEGA และ Arduino DUE บอร์ดในกลุ่มนี้เหมาะสำหรับงานที่ต้องการความสามารถของ CPU และหน่วยความจำที่สูงขึ้น หรือต้องการ Input และ Output จำนวนมากและประเภทที่ 3 บอร์ด Arduino สำหรับงานด้าน IoT (Internet of thing) ได้แก่บอร์ด Arduino YUN, Arduino BLUETOOTH และ Arduino Ethernet บอร์ดในกลุ่มนี้สามารถเชื่อมต่อไปยังอินเทอร์เน็ตได้ง่ายขึ้น เช่นบอร์ด Arduino YUN จะมีโมดูลสำหรับเชื่อมต่อกับ Wi-Fi และยังสามารถเชื่อมต่อกับระบบเครือข่ายผ่านสายแลนได้ เป็นต้น (จิราวุธ วารินทร์, 2564)

1) ข้อมูลจำเพาะของบอร์ด Arduino UNO R3 บอร์ด Arduino UNO R3 เป็นบอร์ดรุ่นที่ได้รับความนิยมเนื่องจากง่ายต่อการนำมาศึกษาเพราะมีโครงสร้างของบอร์ดที่ไม่ซับซ้อน โดยบอร์ดรุ่นนี้มีข้อมูลจำเพาะดังแสดงไว้ในตารางที่ 2.2

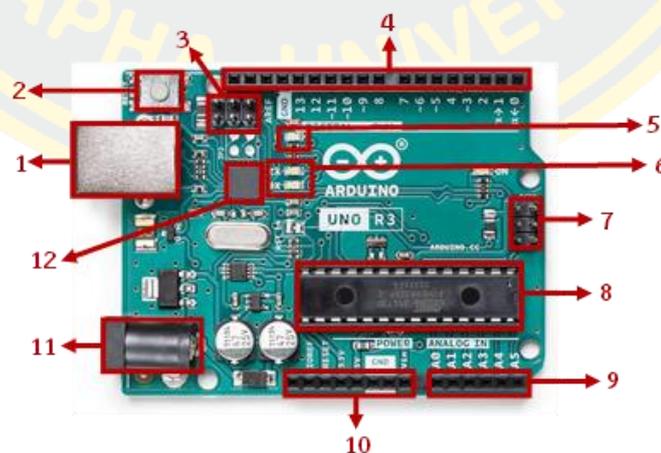
ตารางที่ 2.2 ข้อมูลจำเพาะของบอร์ด Arduino UNO R3 (ประกาศ สุวรรณเพชร, 2564)

รายละเอียด	ข้อมูลจำเพาะ
ชิปไอซีไมโครคอนโทรลเลอร์	ATmega 328
การใช้แรงดันไฟฟ้า	5 V.
รองรับการจ่ายแรงดันไฟฟ้าที่แนะนำ	7-12 V.
รองรับการจ่ายแรงดันไฟฟ้าที่จำกัด	6-20 V.
Digital I/O port	14 ขา (Output แบบ PWM จำนวน 6 port)
Analog Input port	6 ขา
กระแสไฟฟ้า DC ต่อ I/O port	40 mA
กระแสไฟฟ้าออก DC สำหรับ 3.3 V. port	50 mA
Flash Memory	32 KB (ATmega328)
SRAM	2 KB (ATmega328)
EEPROM	1 KB (ATmega328)
Clock Speed	16 MHz
ขนาด	30x18 mm.

2) ส่วนประกอบของบอร์ด Arduino UNO R3

รายละเอียดส่วนประกอบของ Arduino UNO R3 ดังแสดงไว้ใน

รูปที่ 2.19



รูปที่ 2.19 ส่วนประกอบของบอร์ด Arduino UNO R3

โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

หมายเลข 1 USB Port ใช้ในการเชื่อมต่อเข้ากับคอมพิวเตอร์เพื่ออัปโหลดโปรแกรมเข้าสู่ MCU และเป็นช่องทางในการจ่ายไฟให้กับบอร์ด Arduino UNO R3

หมายเลข 2 Reset Button ใช้สำหรับรีเซ็ตบอร์ด สามารถกดได้เมื่อต้องการให้บอร์ดเริ่มต้นการทำงานใหม่อีกครั้ง

หมายเลข 3 ICSP Port สำหรับ USB interface เป็นพอร์ทซึ่งใช้ในการเชื่อมต่อโปรแกรม Visual Com Port บน ATmega16U2

หมายเลข 4 I/O Port หรือเรียกอีกชื่อว่า Digital I/O Pin เป็นช่อง input และ output ของบอร์ด Arduino UNO R3 ซึ่งมีขาตั้งแต่ D0 ถึง D13 นอกจากนี้ในบางพินเองยังสามารถทำหน้าที่อื่น ๆ เพิ่มเติม เช่น Pin 3, 5, 6, 10, และ 11 เป็นขา PWM หรือ Rx, Tx สามารถเป็น Serial in และ out ได้ด้วยเช่นเดียวกัน

หมายเลข 5 LED Status Rx/Tx ทำหน้าที่เป็นไฟแสดงสถานะเพื่อบ่งบอกว่า บอร์ด Arduino UNO R3 ยังคงทำงานอยู่ในขณะนั้น

หมายเลข 6 LED Pin 13 เป็นไฟแสดงสถานะการณเชื่อมต่อกับช่อง I/O Pin 13 ของบอร์ด

หมายเลข 7 ICSP Port: Atmaga328 เป็นช่องสำหรับใช้เชื่อมต่อกับโปรแกรม Bootloader

หมายเลข 8 MCU: ATmega328 เป็น Microcontroller ซึ่งอยู่บน บอร์ด Arduino UNO R3 เมื่อมีการเขียนโปรแกรมลงไป โปรแกรมที่ถูกเขียนนั้น จะถูกบรรจุและทำงานภายใน Microcontroller ตัวนี้

หมายเลข 9 I/O Port ประกอบด้วยช่อง A0 ถึง A3 และ A4 เป็นช่อง I2C SDA ส่วนช่อง A5 เป็นช่อง I2C SCL ช่องทั้งหมดนี้เป็นสัญญาณแบบ Analog และเป็น Digital I/O ได้ด้วยเช่นกัน

หมายเลข 10 Power Port มีหน้าที่ในการจ่ายไฟเลี้ยงบอร์ดในกรณีที่ต้องการจ่ายไฟให้แก่วงจรภายนอก ซึ่งประกอบด้วย ขาไฟเลี้ยง +3.3 V, +5 V, GND, และ V_{in}

หมายเลข 11 Power Jack ทำหน้าที่รับไฟจาก adapter ซึ่งมีแรงดันไฟอยู่ระหว่าง 7 ถึง 12 V

หมายเลข 12 MCU: ATmega16U2 เป็น MCU ทำหน้าที่เปรียบเสมือน USB to serial โดย Atmega328 จะทำการติดต่อกับคอมพิวเตอร์ผ่าน Atmega16U2

2.1.11.2 โปรแกรม Arduino IDE

โปรแกรม Arduino IDE มีชื่อเต็มว่า Arduino® Integrated Development Environment (IDE) ดังรูปที่ 2.20 โดย IDE คือ ส่วนเสริมของระบบพัฒนาซึ่งทำหน้าที่ช่วยเหลือนักพัฒนาในการเขียนซอฟต์แวร์ต่าง ๆ เพื่อเสริมให้เกิดความถูกต้อง รวดเร็ว แม่นยำยิ่งขึ้น ในบางครั้งอาจเรียกว่า Arduino® Environment ตัวโปรแกรมถูกออกแบบมาสำหรับการเขียนซอฟต์แวร์ในแพลตฟอร์มแบบ Open source ซึ่งเป็นแพลตฟอร์มที่ได้รับความนิยมเป็นอย่างมากจากทั่วโลก เนื่องด้วยตัวโปรแกรมถูกออกแบบมาให้สามารถใช้งานได้ง่าย ไม่ซับซ้อน อีกทั้งราคาของอุปกรณ์ยังสามารถเข้าถึงได้ง่าย ไม่สูงมากนัก สามารถนำไปประยุกต์ใช้งานได้หลากหลายด้าน ยกตัวอย่าง เช่น นำไปควบคุมอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ขนาดเล็ก หรือเป็นการอ่านค่าเซนเซอร์วัดค่าคุณภาพสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ ไม่ว่าจะเป็น อุณหภูมิ หรือความเข้มแสง เป็นต้น และโปรแกรม Arduino IDE สามารถติดตั้งได้ทั้งในระบบปฏิบัติการแบบ Windows และ MacOS X ส่วนการใช้งานโปรแกรมจำเป็นต้องใช้ควบคู่กับการใช้ภาษาของ Arduino (Arduino Programming Language) ซึ่งอ้างอิงตามภาษา C/C++ (ประภาส สุวรรณเพชร, 2564)



รูปที่ 2.20 โปรแกรม Arduino IDE

2.1.12 บอร์ด ESP8266

บอร์ด ESP8266 เป็นชิปโมดูลซึ่งใช้สำหรับการติดต่อสื่อสารบนมาตรฐาน Wi-Fi ทำงานในลักษณะ Serial to Wi-Fi ข้อดีคือช่วยให้อุปกรณ์ต่าง ๆ เชื่อมต่อกับอินเทอร์เน็ตได้โดยใช้ขา Rx/Tx ซึ่งใช้คำสั่ง AT ในการทำงาน ที่แรงดันไฟฟ้า 3.0 ถึง 3.6 V. และใช้กระแสไฟเฉลี่ยในการทำงานที่ 80 mA สามารถนำไปใช้งานร่วมกับเซนเซอร์ อื่น ๆ ที่แรงดันไฟฟ้า 5 V. แต่ต้องใช้วงจรแบบแบ่งแรงดันเข้ามาช่วยเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดความเสียหายต่อตัวโมดูล โดย Teo Swee Ann ชาวสิงคโปร์ ภายใต้บริษัท Espressif System เป็นผู้พัฒนา

ESP8266 ประกอบด้วยชิป Microcontroller และ Wi-Fi Module มีพื้นที่ในตัวเองมากถึง 4 MB และมีความสามารถในการประหยัดพลังงานในตัวเองโดยรองรับคำสั่ง deep sleep และสามารถ wake up กลับมาพร้อมที่จะส่งข้อมูลในระยะเวลาน้อยกว่า 2 มิลลิวินาที มีวงจรเป็นแบบ analog digital converter ซึ่งสามารถอ่านค่า analog ได้ที่ความละเอียด 10-bit อีกทั้งยังสามารถทำงานภายใต้อุณหภูมิติดลบ 40 ถึง 125 องศาเซลเซียส การใช้งานบอร์ด ESP8266 ทำงานตามคำสั่งภาษา C/C++ (สุวิทย์ กิระวิทยา, 2562)

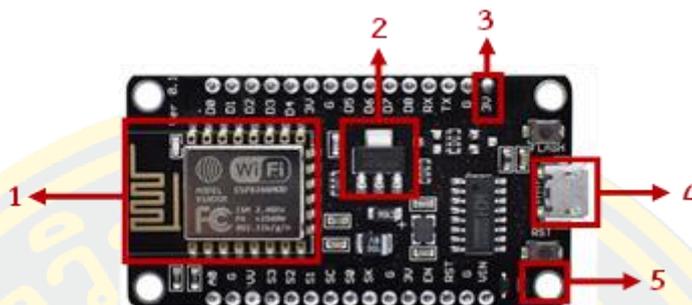
2.1.12.1 ข้อมูลจำเพาะของบอร์ด ESP8266 ปัจจุบันระบบ IoT (internet of things) กำลังเป็นที่นิยมจากทั่วโลก เนื่องด้วยอุปกรณ์ต่าง ๆ มีขนาดเล็ก ราคาไม่สูง เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการพัฒนาระบบ IoT ต่าง ๆ มากมายโดยบอร์ดรุ่นนี้จะมีข้อมูลจำเพาะดังแสดงไว้ในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ข้อมูลจำเพาะของบอร์ด ESP8266 (สุวิทย์ กิระวิทยา, 2562)

รายละเอียด	ข้อมูลจำเพาะ
CPU	Tensilica L106 32-bit processor 80MHz
RAM	64 kB Instruction RAM & 96kB Data RAM
Memory	External QSPI Flash up to 16MB supported
Interface	UART/SDIO/SPI/I2C/I2S/GPIO/ADC/PWM
GPIO	16
Operating Voltage	2.5 ~ 3.6 V.
Operating Current	80 mA
Operating Temperature	-40 ~ 125 °C
Wi-Fi Mode	Station/SoftAP/SoftAP+Station
Security	WPA/WPA2
Firmware Upgrade	UART Download / OTA
Software Development	Supports Cloud Server Development / Firmware and SDK
Network Protocols	IPv4, TCP/UDPต่อชั่วโมงTTP
User Configuration	AT Instruction Set, Cloud Server, Android/iOS App
Certification	Wi-Fi Alliance
Protocols	802.11 b/g/n (HT20)
Encryption	WEP/TKIP/AES
Frequency Range	2.4G ~ 2.5G (2400M ~ 2483.5M)
TX Power	802.11 b: +20 dBm
	802.11 g: +17 dBm
	802.11 n: +14 dBm
	802.11 b: -91 dbm (11 Mbps)
RX Sensitivity	802.11 g: -75 dbm (54 Mbps)
	802.11 n: -72 dbm (MCS7)

2.1.12.2 ส่วนประกอบของบอร์ด ESP8266

รายละเอียดส่วนประกอบของ บอร์ด ESP8266 ดังแสดงไว้ในรูปที่ 2.21



รูปที่ 2.21 ส่วนประกอบของบอร์ด ESP8266

โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

หมายเลข 1 คือ ESP-12E Chip with 2.4 GHz Antenna เป็น Microprocessor Tensilica Xtensa® 32-bit LX106 RISC สามารถทำงานได้ที่ระดับความถี่ 80 ถึง 160 MHz อีกทั้งยังสามารถปรับแต่งได้และรองรับ RTOS มี Internal Ram ที่ 128 kB และ 4 MB สำหรับ external flash

หมายเลข 2 คือ 3.3 V. LDO Voltage Regulator ทำหน้าที่ในการควบคุมแรงดันไฟฟ้าให้คงที่ที่แรงดันไฟฟ้า 3.3 V.

หมายเลข 3 คือ 3.3 V. Output of Regulator ทำหน้าที่จ่ายพลังงานให้แก่อุปกรณ์เชื่อมต่อภายนอก

หมายเลข 4 คือ Micro USB Connector ทำหน้าที่ในการจ่ายไฟให้แก่บอร์ด ESP8266 อีกทั้งยังเป็นช่องทางในการอัปเดตโปรแกรมลงสู่บอร์ดอีกด้วย

หมายเลข 5 คือ Reset button ทำหน้าที่ในการรีเซ็ตบอร์ด เมื่อบอร์ดมีอาการค้างหรือหน่วงจากการใช้งานเป็นระยะเวลาานาน

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Xiao-Bo Liu, et al. (2012) ได้ทำการพัฒนาเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* ด้วยการกลายพันธุ์โดยใช้ Nitrogen Ion Beam Implantation ที่ 15 keV ในช่วง 0.2×10^{16} ถึง 1.2×10^{16} ions/cm² โดยเชื่อก่อนการทำการกลายพันธุ์สามารถผลิตบิวทานอลได้ 13 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีความสามารถในการทนต่อบิวทานอลได้น้อยกว่าร้อยละ 2 เมื่อทำการกลายพันธุ์ใช้วิธีการคัดเลือกโดยใช้ความทนบิวทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 0, 1, 1.5, 2, 2.5 และ 3 ผลการทดลองพบว่าเชื้อกลายพันธุ์สามารถทนต่อบิวทานอลได้ที่ความเข้มข้นสูงสุดที่ร้อยละ 3 และสามารถผลิตบิวทานอลได้ความเข้มข้นสูงสุดที่ 22.3 กรัมต่อลิตร

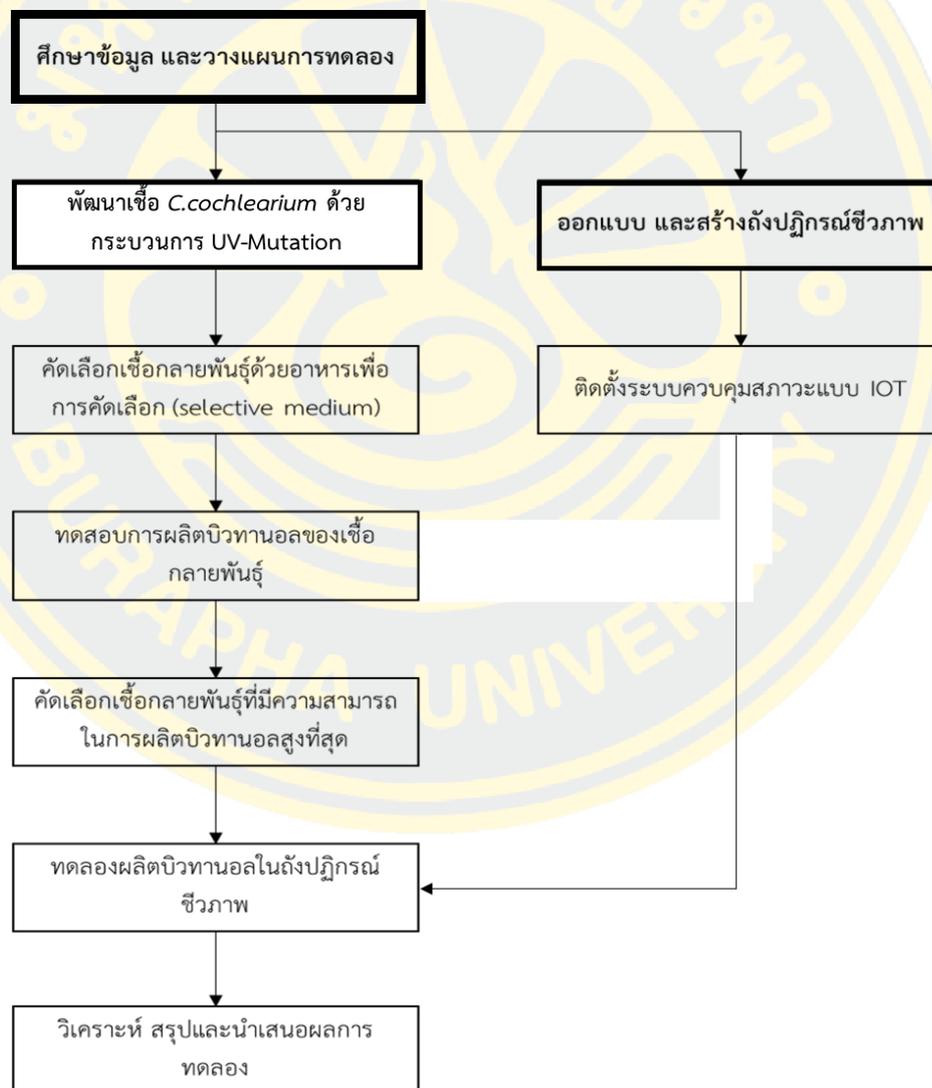
เอกชัย ไกลถิ่น (2560) ทำการพัฒนาเชื้อ *Clostridium cochlearium* โดยการกลายพันธุ์ด้วยรังสียูวี เป็นเวลา 2, 4 และ 6 นาทีของเชื้อที่อยู่ในอาหารเหลวและอาหารแข็ง จากนั้นทำการคัดเลือกด้วยอาหารเพื่อการคัดเลือก BCP Agar และนำโคโลนีที่มีลักษณะเป็นสีเหลืองมาทำการทดสอบการผลิตบิวทานอลโดยกระบวนการหมักแบบ ABE ผลการทดลองพบว่าเชื้อกลายพันธุ์ที่สามารถผลิตบิวทานอลได้สูงสุดอยู่ที่ความเข้มข้น 0.02106 กรัมต่อลิตร ซึ่งมากกว่าเชื่อก่อนการกลายพันธุ์ที่สามารถผลิตบิวทานอลได้ที่ความเข้มข้น 0.01782 กรัมต่อลิตร

พลอยไพลิน สิมมาและสุจารวี หริสมบัติ (2559) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเพื่อผลิตบิวทานอลโดยใช้แบคทีเรีย *Clostridium cochlearium* ซึ่งได้แก่การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักและการเปรียบเทียบผลผลิตบิวทานอลระหว่างอาหาร phosphate limited medium, Phosphate-carbonate medium และ Reinforced clostridial medium ซึ่งจากงานวิจัยพบว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สามารถผลิตบิวทานอลได้มากสุดในอาหาร Phosphate-carbonate medium ซึ่งมีความเข้มข้นเท่ากับ 0.0518 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการผลิตเท่ากับ เท่ากับ 4.317×10^{-4} กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง จะได้ผลได้ (Yield) จากการหมักเท่ากับ 6.457×10^{-3} กรัมต่อกรัม

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงาน

การศึกษาดังกล่าวในครั้งนี้จะประกอบด้วยส่วนของการทดลอง 2 ส่วน ได้แก่ ส่วนที่ 1 การพัฒนาเชื้อ *Clostridium cochlearium* และส่วนที่ 2 การออกแบบ สร้างและติดตั้งระบบควบคุมสถานะของถังปฏิกรณ์ชีวภาพและการทดสอบประสิทธิภาพการผลิตบิวทานอลของเชื้อที่ได้จากกระบวนการพัฒนาสายพันธุ์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพและระบบควบคุมสถานะ โดยภาพรวมของขอบเขตการทดลองดังแสดงไว้ในรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 ภาพรวมของขอบเขตการทดลอง

3.1 วัสดุ อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

3.1.1 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

ในการศึกษาครั้งนี้ใช้เชื้อแบคทีเรีย *Clostridium cochlearium* ที่แยกได้จากตะกอนเลนบ่อกึ่งในพื้นที่ตำบลท่าข้าม อำเภอนนทบุรี จังหวัดชลบุรี โดยถูกระบุสายพันธุ์ด้วยวิธี 16 s rRNA sequencing และการ BLAST กับ NCBI database พบว่าเป็นสายพันธุ์ *Clostridium cochlearium* (Kamonwan et al., 2021) และเป็นจุลินทรีย์ชนิดเดียวกันกับงานวิจัยของเอกชัย ไกลถิ่น และคณะ (Eakkachai et al., 2021)

3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

- | | |
|---|----------------------------|
| 1. กล้องติดตั้งบอร์ดอิเล็กทรอนิกส์ | 16. ปุ่ม |
| 2. คอมพิวเตอร์ | 17. ปุ่มน้ำสำหรับการกวนผสม |
| 3. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง | 18. ปลั๊กไฟ |
| 4. เครื่องนึ่งไอน้ำมาเชื้อ | 19. ปลั๊กแบบ USB |
| 5. เครื่องแก้ว | 20. แผ่นฉนวนกันความร้อน |
| 6. เครื่องสำรองไฟ (UPS) | 21. วาล์วอิเล็กทรอนิกส์ |
| 7. เครื่อง UV-visible spectrophotometer | 22. สายยางและท่อน้ำ |
| 8. ตู้บ่มเชื้อ | 23. สายไฟเชื่อมบอร์ด |
| 9. ตูปลอดเชื้อ | 24. เร้อยเตอร์ Wi-Fi |
| 10. ตูอบไให้ความร้อน | 25. Heater |
| 11. ตะเกียงแอลกอฮอล์ | 26. Node MCU |
| 12. ถังน้ำ | 27. Oxygen sensor |
| 13. ถังปฏิกรณ์ชีวภาพ | 28. pH sensor |
| 14. ถังแก๊สไนโตรเจน | 29. Relay |
| 15. บอร์ด Arduino | 30. Thermocouple |

3.1.3 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

- | | |
|----------------------|------------------------------------|
| 1. Agar powder | 9. Potassium dihydrogen phosphate |
| 2. Butanol | 10. Resazurin |
| 3. Dettol | 11. Sodium hydrogen carbonate |
| 4. Distillated water | 12. Sodium hydroxide |
| 5. Ethanol | 13. Sodium thioglycolate |
| 6. Glucose | 14. Trypticase peptone |
| 7. Glycerol | 15. Yeast extract |
| 8. Hydrochloric acid | 16. Magnesium sulfate heptahydrate |

3.1.4 ซอฟต์แวร์ (Software)

- | | |
|---------------------------|-----------------------------|
| 1. Adobe Dreamweaver 2021 | 4. Google sheet |
| 2. Arduino IDE | 5. NETPIE IoT Platform 2015 |
| 3. Google Apps Script | |

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.2.1.1 อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Cooked meat medium

อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Cooked meat medium เป็นอาหารที่ใช้ในการกล้าเชื้อ โดยการเตรียมอาหารเหลว Cooked meat medium นั้นจะใช้ Cooked meat medium (R.C. Medium) ปริมาณ 12.5 กรัม ผสมลงในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้อุณหภูมิลดลงจนถึงอุณหภูมิห้อง องค์ประกอบของ Cooked meat medium (R.C. Medium) ดังที่แสดงไว้ในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 องค์ประกอบของ Cooked meat medium (R.C. Medium)

สารองค์ประกอบ	ความเข้มข้น (กรัมต่อลิตร)
Beef heart, solids	98.00
Proteose peptone	20.00
Sodium chloride	5.00
Dextrose	2.00

3.2.1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Cooked meat medium

สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Cooked meat medium จะใช้ในการเลี้ยงเชื้อให้ได้โคโลนีของเชื้อ ซึ่งเตรียมได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Cooked meat medium โดยการเติมสาร Agar powder Bacteriological 1.5 กรัม ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Cooked meat medium ปริมาตร 100 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้อุณหภูมิลดลงจนถึง 45 องศาเซลเซียส จากนั้นเทใส่ถาดเลี้ยงเชื้อ (Plate) แล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็นจนกว่าอาหารจะแข็งตัว

3.2.1.3 อาหารเพื่อการคัดเลือก (Selective medium)

อาหารเพื่อการคัดเลือก (Selective medium) เป็นอาหารสำหรับใช้ในการคัดเลือกเชื้อหลังการกลายพันธุ์เพื่อคัดเลือกเชื้อที่มีความสามารถในการทนต่อบิวทานอลที่ความเข้มข้นสูงที่สุด ซึ่งอาหารเพื่อการคัดเลือกนี้สามารถเตรียมได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Cooked meat medium โดยเติมสาร Agar powder Bacteriological 1.5 กรัม ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Cooked meat medium ปริมาตร 100 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้อุณหภูมิลดลงจนถึง 45 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมสารละลายบิวทานอลลงไปให้ได้ร้อยละความเข้มข้นอยู่ที่ 2, 4 และ 6 ตามลำดับ และเทใส่ถาดเลี้ยงเชื้อ (Plate) แล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็นจนกว่าอาหารจะแข็งตัว

3.2.1.4 อาหารหมัก Phosphate-carbonate medium

อาหารเลี้ยงเชื้อ Phosphate-carbonate medium เป็นอาหารที่ใช้สำหรับใช้ทำการหมักเพื่อผลิตบิวทานอล ซึ่งมีองค์ประกอบดังตารางที่ 3.2 ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ยกเว้นสารละลายกลูโคสและโซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต จะใช้ปริมาตร 887 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้ให้อุณหภูมิลดลงจนถึงอุณหภูมิห้อง จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนตที่ฆ่าเชื้อแล้วร้อยละ 0.4 ของน้ำหนักต่อปริมาตร โดยใช้ปริมาตร 80 มิลลิลิตร และสารละลายกลูโคสที่ฆ่าเชื้อแล้วร้อยละ 60 ของน้ำหนักต่อปริมาตร และใช้ปริมาตร 33 มิลลิลิตร

ตารางที่ 3.2 องค์ประกอบของอาหาร Phosphate-carbonate medium

สารองค์ประกอบ	ความเข้มข้น (กรัมต่อลิตร)
Glucose solution	20.00
Trypticase peptone	10.00
Yeast extract	6.00
Sodium hydrogen carbonate	4.00
Potassium dihydrogen phosphate	3.38
Magnesium sulfate heptahydrate	2.46
Sodium thioglycolate	0.50
Cobalt (II) chloride hexahydrate	0.0119
Resazurin	0.001

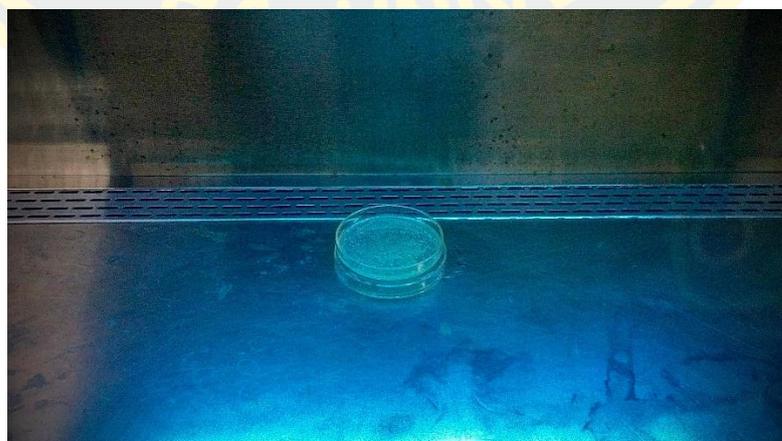
3.2.2 การพัฒนาเชื้อ *Clostridium cochlearium*

3.2.2.1 การกล้ำเชื้อ *Clostridium cochlearium*

นำเชื้อ *C. cochlearium* จากที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นำมาบ่มในน้ำแข็งจนเชื้อละลาย จากนั้นปิเปตมาปริมาตร 3 ไมโครลิตร ใส่ลงในอาหารเหลว Cooked meat medium ปริมาตร 3 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะไร้ออกซิเจน เป็นเวลา 1 วัน หลังจากนั้นทำการถ่ายโอนเชื้อไปเลี้ยงในอาหารแข็ง Cooked meat medium โดยปิเปตเชื้อจากในอาหารเหลวที่เลี้ยงไว้มาปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร หยดลงบนอาหารแข็ง Cooked meat medium จากนั้นทำการ steak plate เสร็จแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะไร้ออกซิเจน เป็นเวลา 2 วัน จากนั้นทำการเชยเชื้อ 1 โคลนิน ไปเลี้ยงในอาหารเหลว Cooked meat medium ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และเชยเชื้อ 1 โคลนิน ไปทำการ steak plate ลงบนอาหารแข็ง Cooked meat medium แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน ในสภาวะไร้ออกซิเจนเพื่อเตรียมเชื้อสำหรับการทำการกลายพันธุ์ต่อไป

3.2.2.2 การทำการกลายพันธุ์ด้วยรังสียูวี (UV-Mutation)

การทำการกลายพันธุ์ของเชื้อ *C. cochlearium* จะอาศัยกระบวนการกลายพันธุ์โดยการสาด (expose) แสงยูวีชนิดรังสี UV-C ไปยังเชื้อที่ได้จากการบ่มบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Cooked meat medium จนเกิดเป็นโคลนิน ซึ่งการสาดแสงยูวีไปยังเชื้อนั้นจะมีการกำหนดระยะเวลาในการสาดแสงคือ 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 วินาทีตามลำดับ โดยการสาดแสงยูวีนี้อาจมีการดำเนินการในตู้ปลอดเชื้อ เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้ออื่น ๆ ดังรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 การทำการกลายพันธุ์ *Clostridium cochlearium* โดยใช้การสาดแสงยูวี

3.2.2.3 การคัดเชื้อกลายพันธุ์ด้วยอาหารเพื่อการคัดเลือก (Selective medium)

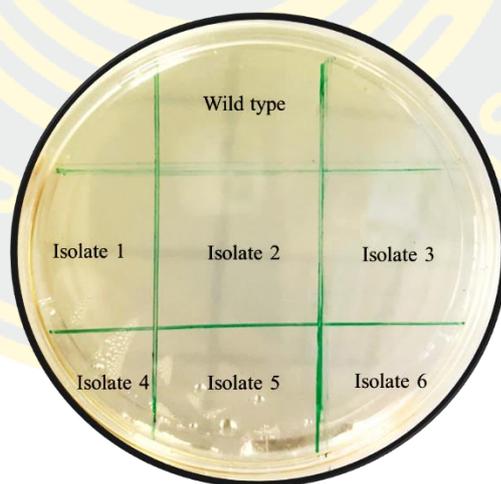
1) การหาความเข้มข้นของบิวทานอลเริ่มต้นในอาหารเพื่อการคัดเลือก

ในการทดสอบความทนต่อบิวทานอลของเชื้อนั้นเป็นการทดสอบความอยู่รอดของเชื้อบนอาหารเพื่อการคัดเลือกซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีบิวทานอลผสมอยู่ความสามารถในการทนต่อบิวทานอลของเชื้อจะมีความแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ที่มีความแตกต่างกันทางด้านลักษณะของสารพันธุกรรม ดังนั้นเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมและเชื้อกลายพันธุ์อาจมีความแตกต่างกันของสารพันธุกรรมในเซลล์ จึงอาจส่งผลต่อความทนต่อบิวทานอลของเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมและเชื้อกลายพันธุ์เอง การทดสอบความทนต่อบิวทานอลนั้นมีวัตถุประสงค์เพื่อหาเชื้อที่มีความทนต่อบิวทานอลได้ในความเข้มข้นสูงที่สุด การทนต่อบิวทานอลในความเข้มข้นที่สูงอาจมีโอกาในการผลิตบิวทานอลของเชื้อที่สูงด้วย การทดสอบความทนต่อบิวทานอลเป็นการทดสอบเชื้อกลายพันธุ์และเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม เพื่อหาเชื้อกลายพันธุ์ที่มีคุณสมบัติในการทนต่อบิวทานอลได้มากกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม ดังนั้นจึงจำเป็นต้องทราบความเข้มข้นสูงสุดที่เชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมสามารถทนได้ ดังนั้นในการทดลองนี้จึงได้ออกแบบการทดลองในการผสมบิวทานอลลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Cooked meat medium ในร้อยละความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แก่ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0 เพื่อเป็นการทดสอบเบื้องต้นในการหาความเข้มข้นเริ่มต้นที่ใช้ในอาหารเพื่อการคัดเลือกในการใช้ทดสอบเชื้อกลายพันธุ์ต่อไป

2) การทดสอบความทนต่อบิวทานอลของเชื้อกลายพันธุ์

จากการทดลองการหาความเข้มข้นของบิวทานอลเริ่มต้นในอาหารเพื่อการคัดเลือก เมื่อทราบผลแล้วว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมสามารถทนต่อบิวทานอลได้สูงสุดที่ร้อยละ 2.0 ดังนั้นจึงใช้ความเข้มข้นของบิวทานอลร้อยละ 2.0 ในการผสมในอาหาร Cooked meat medium เพื่อใช้ในการทดสอบเชื้อกลายพันธุ์ที่สามารถเจริญได้ในอาหารที่มีบิวทานอลผสมอยู่ในความเข้มข้นที่เท่ากับเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมสามารถเจริญได้ ในการทดสอบเชื้อกลายพันธุ์นั้นจะเริ่มจากการนำเชื้อที่ผ่านการสาธยายยวี่ที่อยู่บนอาหารแข็งมาทำให้เกิดการผสมกันทุก ๆ โคลนีก่อนโดยการใช้อาหารเหลว Cooked meat medium ปริมาตร 1 มิลลิลิตร หยดลงไปบนอาหารแข็งที่มีเชื้อกลายพันธุ์อยู่แล้วจึงทำการใช้แท่งแก้วรูปสามเหลี่ยมในการกวาดผสมเชื้อทุกโคลนให้อยู่ในอาหารเหลวที่หยดลงไป แล้วใช้ลูปที่เผาไฟให้ร้อนแดงทิ้งไว้จนเย็นจุ่มลงในอาหารเหลวที่มีเชื้อกลายพันธุ์อยู่แล้วทำการ Streak plate ลงบนอาหารที่มีความเข้มข้นของบิวทานอลร้อยละ 2.0 โดยทำทุก ๆ เชื้อกลายพันธุ์ที่เวลาในการสาธยายยวี่ต่าง ๆ เมื่อทำเสร็จแล้วให้นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะไร้ออกซิเจนเป็นเวลา 2 วันจากนั้นจะเห็นโคโลนีของเชื้อ ให้ใช้ลูปที่เผาไฟให้ร้อนแดงทิ้งไว้จน

เย็นในการเชื้อโคลนที่เป็นโคลนเดี่ยว ๆ (Single colony) ที่สามารถเจริญเป็นโคลนได้ดีที่สุด สามารถสังเกตเห็นได้ชัดเจนมาทำการเลี้ยงด้วยการ Spread plate ลงบนอาหารแข็งที่มีบิวทานอล ความเข้มข้นที่ครอบคลุมความเข้มข้นสูงสุดที่เชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมสามารถเจริญได้นั้นคือร้อยละ 2.0 ดังนั้นในการทดลองนี้จึงได้ใช้ความเข้มข้นของบิวทานอลที่ร้อยละ 1.9, 2.0, 2.1, 2.2, 2.4, 2.6, 2.8 และ 3.0 ซึ่งที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.9 เป็นความเข้มข้นที่ต่ำกว่าความเข้มข้นสูงสุดที่เชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมสามารถเจริญได้เพื่อเป็นการยืนยันว่าที่ความเข้มข้นต่ำกว่าร้อยละ 2.0 หรือต่ำกว่าความเข้มข้นสูงสุดที่เชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมสามารถเจริญได้ เชื้อกลายพันธุ์ก็สามารถเจริญได้เช่นกัน และที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.1, 2.2, 2.4, 2.6, 2.8 และ 3.0 เพื่อหาเชื้อกลายพันธุ์ที่สามารถทนบิวทานอลได้สูงกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมและเพื่อหาร้อยละความเข้มข้นของบิวทานอลที่เชื้อกลายพันธุ์สามารถทนได้ ซึ่ง 1 หนึ่งค่าร้อยละความเข้มข้นของบิวทานอลในอาหารแข็งสามารถทดสอบเชื้อได้หลายไอโซเลท (Patch) ดังรูป 3.3 แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะไร้ออกซิเจนเป็นเวลา 2 วัน จากนั้นคัดเลือกเชื้อที่สามารถเจริญได้ในอาหารที่มีร้อยละความเข้มข้นของบิวทานอลสูงที่สุดโดยการใช้ลูปเช็ยเชื้อโคลนของเชื้อแล้วนำไปจุ่มลงในอาหารเหลว Cooked meat medium แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 วัน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะไร้ออกซิเจนเป็นเวลา 2 วัน นำเชื้อที่อยู่ในอาหารเหลวไปทำการเก็บรักษาไว้เพื่อใช้เป็นเชื้อตั้งต้น (Stock culture)



รูปที่ 3.3 การทดสอบความทนต่อบิวทานอลของเชื้อหลายไอโซเลทในอาหารแข็งที่มีบิวทานอลความเข้มข้นค่าหนึ่ง (Patch)

3.2.2.4 การเก็บรักษาเชื้อหลังการกลายพันธุ์

เมื่อได้เชื้อที่มีความสามารถในการทนต่อสารบิวทานอลได้สูงที่สุดแล้ว จะต้องทำการขยายจำนวนของเชื้อก่อนโดยการเชื้อโคโลนีของเชื่อนั้นไปเลี้ยงในอาหารเหลว Cooked meat medium แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน เมื่อครบแล้วจึงนำมาเก็บรักษาด้วยการเติม glycerol ลงไปให้ได้ร้อยละ 25 ของเชื้อ โดยจะปิเปตเชื้อมาปริมาตร 750 ไมโครลิตร ใส่ลงไปในหลอด micro tube จากนั้นเติม glycerol บริสุทธิ์ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ปิดฝาหลอดแล้วทำการเขย่าให้เข้ากัน แล้วจึงพันด้วย parafilm ที่ฝาหลอดให้สนิทแล้วเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

3.2.3 การทดลองการผลิตบิวทานอลของเชื้อกลายพันธุ์

3.2.3.1 การทดลองหมักบิวทานอลในขวดทดลอง

การทดลองการผลิตบิวทานอลหรือการหมักบิวทานอลนั้น หลังจากที่ได้เชื้อกลายพันธุ์ที่มีความสามารถในการทนต่อบิวทานอลแล้วนั้นจะต้องทำการทดสอบการผลิตบิวทานอลของเชื้อ โดยการนำเชื้อกลายพันธุ์ที่ผ่านการกล่าเชื้อแล้วนั้น ปิเปตเชื้อมาปริมาตร 5 มิลลิตร เติมนลงไปในช่วงรูปชมพู่ (flask) ขนาด 1000 มิลลิตร ที่บรรจุอาหารหมัก phosphate-carbonate medium ปริมาตร 500 มิลลิตร จะได้อัตราส่วนปริมาตรของเชื้อต่อปริมาตรของอาหารหมักอยู่ที่ 1 ต่อ 100 โดยการหมักเริ่มแรกจะต้องทำการปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ให้ได้เท่ากับ 6.5 จากนั้นทำการไล่ออกซิเจนด้วยการฟลักซ์ (flushing) ไนโตรเจนเพื่อให้เกิดเป็นสภาวะไร้ออกซิเจน (anaerobic condition) โดยจะฟลักซ์ไนโตรเจนเป็นเวลา 15 นาที ก่อนทำการปิดฝาขวดให้สนิทแล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 วัน แต่อย่างไรก็ตามกระบวนการหมักนั้นจะเกิดการผลิตแก๊สจากการย่อยสลายสารอาหารของจุลินทรีย์ จึงจำเป็นต้องทำการต่อช่องระบายแก๊ส โดยใช้ท่อสายยางต่อหนึ่งด้านเข้ากับภายในขวดหมักอีกหนึ่งด้านให้นำไปจุ่มน้ำเพื่อป้องกันแก๊สออกซิเจนเข้ามาในขวดหมักดังรูปที่ 3.4 และมีการคำนวณค่าอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อโดยใช้สมการที่ 3.1 (Pepper, Gerba, Gentry, & Maier, 2011)

$$\mu \text{ (hr}^{-1}\text{)} = \frac{\ln_{(O.D.) t=x} - \ln_{(O.D.) t=0}}{t \text{ (hr.)}} \quad 3.1$$



รูปที่ 3.4 การหมักบิวทานอลในขวดทดลอง

3.2.3.2 การทดลองหมักบิวทานอลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ

ในการหมักบิวทานอลในถังปฏิกรณ์ที่สร้างขึ้นนั้นมีปริมาตรที่ใช้ในการทดลองคือ 10 ลิตร ประกอบด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Phosphate carbonate medium ปริมาตร 9 ลิตร เชื้อที่เจริญในอาหารเหลว Cooked meat medium ปริมาตร 1 ลิตร ในการควบคุมสภาวะการหมักจะใช้ระบบการควบคุมสภาวะที่สร้างขึ้น ซึ่งมีการควบคุมสภาวะดังนี้ อุณหภูมิภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพอยู่ที่ 30 องศาเซลเซียส โดยเป็นการควบคุมอุณหภูมิของน้ำร้อนภายในถังต้มน้ำร้อนที่จะไหลวนในชั้นของแจ็กเก็ตรอบตัวถังปฏิกรณ์ซึ่งอุณหภูมิในถังต้มน้ำร้อนจะถูกตั้งไว้ที่ 31 ถึง 35 องศาเซลเซียส เพื่อรักษาให้อุณหภูมิของน้ำในถังต้มน้ำร้อนอยู่ที่ 33 องศาเซลเซียส เนื่องจากความแตกต่างของอุณหภูมিরะหว่างถังต้มน้ำร้อนจะสูงกว่าอุณหภูมิภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ 3 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่างควบคุมให้อยู่ในช่วง 6.45 ถึง 7.50 เพื่อให้ค่าเป็นกรด-ด่างใกล้เคียงค่า 6.5 ซึ่งในการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้มีค่าที่ต่ำลง (ลดค่า pH) จะใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ส่วนการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างขึ้น (เพิ่มค่า pH) จะใช้สารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) และสภาวะไร้ออกซิเจนโดยการใช้แก๊สไนโตรเจนพ่นบริเวณอากาศผิวหน้า (Surface flushing) ของสารละลายน้ำหมักเพื่อไร้ออกซิเจนออกจนหมดให้เกิดเป็นสภาวะไร้ออกซิเจน ในส่วนของการป้องกันการปนเปื้อน (Contamination) เชื้อที่ใช้ในการหมักเพื่อให้ได้บิวทานอลนั้นจะถูกผลิตมาจากเชื้อ *C. cochlearium* ซึ่งในการทดลองหมักบิวทานอลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพนี้จะใช้เชื้อกลายพันธุ์ที่ผ่านการทดลองหมักบิวทานอลจากขวดทดลองแล้วได้ความเข้มข้นของบิวทานอลที่ผ่านได้สูงที่สุด

หากมีการปนเปื้อนเชื้ออื่น ๆ อาจทำให้เชื้อกลายพันธุ์ *C. cochlearium* ไม่สามารถผลิตสารผลิตภัณฑ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพเนื่องจากมีเชื้อชนิดอื่นรบกวนในการใช้สารตั้งต้นร่วม ความหนาแน่นของเชื้อที่ปนเปื้อนอาจจะรบกวนการเจริญเติบโตของเชื้อที่เราใช้ในการผลิตบิวทานอลได้ ดังนั้นการป้องกันการปนเปื้อนจึงเป็นสิ่งที่สำคัญ ในปริมาณที่ใช้ในการหมักคือ 10 ลิตร ซึ่งเป็นปริมาณที่ค่อนข้างเยอะและถึงปฏิกรณ์ชีวภาพที่มีอุปกรณ์ภายในหลายชั้น อาทิ อุปกรณ์วัดค่าสภาวะต่าง ๆ ไบโกลวน แผ่นกั้นการกวน ท่อทางเข้าและออกของสาร วาล์วควบคุมสารเข้าออกและท่อทางเข้าออกของแก๊ส ทำให้การทำความสะอาดค่อนข้างยากเพราะอุปกรณ์บางชิ้นไม่สามารถทนต่ออุณหภูมิที่สูงและไม่สามารถทนต่อการนำไปแช่ในของเหลวฆ่าเชื้อได้ ดังนั้นการทำให้ปลอดเชื้อในการทดลองนี้จะถูกแบ่งเป็น 2 ส่วนได้แก่ 1. ส่วนที่สามารถทนต่อความร้อนได้ซึ่งได้แก่ อาหารเลี้ยงเชื้อ และเครื่องแก้วต่าง ๆ นั้นจะถูกนำไปฆ่าเชื้อโดยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที ส่วนที่ 2 คือส่วนที่ไม่สามารถทนต่อความร้อนได้และสามารถแช่ของเหลวเพื่อฆ่าเชื้อได้ซึ่งได้แก่ ถึงปฏิกรณ์ชีวภาพ ท่อ วาล์ว สายยาง สายแก๊ส ถังน้ำ แผ่นกั้นการกวนและไบโกลวนจะถูกแช่ในไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 3 เป็นเวลา 15 นาที รวมถึงถึงปฏิกรณ์ชีวภาพจะถูกแช่ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นเวลา 15 นาที พร้อมกับเปิดระบบการกวน จากนั้นนำไปล้างน้ำสะอาดที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อแล้วเป็นจำนวน 3 รอบเพื่อล้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ออกเนื่องจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์นั้นเป็นสารที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ ซึ่งหากล้างออกไม่หมดจะทำให้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์นั้นส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อได้ เมื่อทุกอย่างทั้งอุปกรณ์และอาหารเลี้ยงเชื้อถูกทำให้ปลอดเชื้อแล้วจึงทำการนำอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการหมักเทใส่ในถึงปฏิกรณ์ชีวภาพพร้อมกับติดตั้งอุปกรณ์ในระบบถึงปฏิกรณ์ชีวภาพจากนั้นจึงเทเชื้อกลายพันธุ์ที่ต้องการนำมาหมักลงไปและปิดฝาถึงปฏิกรณ์ชีวภาพทำการเริ่มการหมักและนำสายทางออกแก๊สไปจุ่มลงในขวดที่บรรจุน้ำยาฆ่าเชื้อ Dettol โดยผสมที่ครึ่งฝา Dettol ต่อน้ำ 500 มิลลิลิตร เพื่อป้องกันเชื้อที่จะเข้าสู่ถึงปฏิกรณ์ชีวภาพจากสายยางทางออกของแก๊ส ทำการหมักและมีการวัดค่าการดูดกลืนแสงเพื่อนำมาคำนวณค่าอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อโดยใช้สมการที่ 3.1

3.2.4 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคสด้วยวิธี DNS

เป็นการตรวจวัดเพื่อหาปริมาณน้ำตาลคงเหลือจากกระบวนการหมักของอาหารหมัก เพื่อตรวจสอบการใช้ไปของสารตั้งต้นของจุลินทรีย์ ซึ่งมีความสัมพันธ์ต่อการเปลี่ยนสารตั้งต้นไปเป็นสารผลิตภัณฑ์ โดยการวัดปริมาณน้ำตาลด้วยวิธี DNS นี้เป็นการวัดเพื่อหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing Sugar) ซึ่งนั่นคือน้ำตาลกลูโคส โดยวิธีนี้จำเป็นต้องมีการสร้างกราฟมาตรฐาน (Standard curve) เพื่อเปรียบเทียบค่าปริมาณน้ำตาลของตัวอย่าง การสร้างกราฟมาตรฐานนั้นจะเป็นกราฟที่มีค่าความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสอยู่ในช่วง 0 ถึง 20 กรัมต่อลิตร มาทำปฏิกิริยากับสารละลาย DNS และวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-visible spectrophotometer เนื่องจากเป็นการวัดค่าการดูดกลืนแสง ดังนั้นความเข้มข้นของสีจึงส่งผลต่อค่าการดูดกลืนแสง จึงต้องเติมอาหารหมัก phosphate-carbonate medium ลงไปด้วยเพื่อให้สีเหมือนกับตัวอย่างที่ต้องการตรวจวัด การเตรียมสารละลายกลูโคสที่ทราบค่าความเข้มข้นนั้นจะเตรียมที่ความเข้มข้น 8, 16, 24, 32 และ 40 กรัมต่อลิตร เพื่อให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายหลังผสมกับสารละลาย DNS และอาหารหมัก phosphate-carbonate medium แล้วจะได้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 2, 4, 6, 8 และ 10 กรัมต่อลิตร เมื่อเตรียมสารละลายกลูโคสที่มีค่าความเข้มข้นต่าง ๆ แล้ว ให้ปิเปตมาปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร อาหารเลี้ยงเชื้อ phosphate-carbonate medium ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองที่มีสารละลาย DNS ปริมาตร 4 มิลลิลิตร แล้วนำไปต้มในน้ำร้อนเดือดเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำมาแช่ในน้ำเย็นจนอุณหภูมิลดลงถึงอุณหภูมิห้องแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร โดยใช้สารละลายที่ประกอบด้วยสารละลาย DNS ปริมาตร 4 มิลลิลิตร และอาหารเลี้ยงเชื้อ phosphate-carbonate medium ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เป็นตัววัดเทียบ (blank) จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงของน้ำตาลที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ไปสร้างกราฟเส้นตรง เมื่อได้กราฟมาตรฐานแล้ว จึงนำตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้ตัววัดเทียบ (blank) เดิม เมื่อได้ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างจึงนำไปเทียบเป็นค่าความเข้มข้นของน้ำตาลในสารละลายตัวอย่างจากกราฟมาตรฐาน

3.2.5 การวิเคราะห์ผลได้จากกระบวนการผลิตบิวทานอลทางชีวภาพ

เมื่อทำการทดสอบการผลิตบิวทานอลแล้วนั้น จะสามารถคำนวณเพื่อหาค่าอัตราการผลิตบิวทานอลในกระบวนการหมักแบบกะ (Productivity) ได้จากสมการที่ 3.2 และค่าผลได้ร้อยละ (Yield) ดังสมการที่ 3.3 เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตบิวทานอลของเชื้อได้

$$\text{อัตราการผลิต} = \frac{\text{ความเข้มข้นของบิวทานอลที่ผลิตได้ (กรัมต่อลิตร)}}{\text{เวลาที่ใช้ในการหมัก (ชั่วโมง)}} \quad 3.2$$

$$\text{ผลได้ร้อยละ} = \frac{\text{ปริมาณของบิวทานอลที่ผลิตได้ (กรัม)}}{\text{ปริมาณน้ำตาลที่ใช้ไป (กรัม)}} \quad 3.3$$

3.2.6 การออกแบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพ

3.2.6.1 สมดุลมวลรวมภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (total mass balance)

ถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบกะจะมีการนำเข้าสารเพียงครั้งเดียวและจะทำปฏิกิริยาจนเสร็จสิ้นจึงมีการนำสารออกจากถังปฏิกรณ์ กล่าวคือ ระหว่างดำเนินการภายในถังปฏิกรณ์นั้นจะไม่มีการเข้าออกของสารภายในถังปฏิกรณ์ สมดุลมวลสารของถังปฏิกรณ์แบบกะจะได้ดังสมการต่อไปนี้ (Doran, 1995)

มวลสารรวมภายในถังปฏิกรณ์ = มวลสารที่นำเข้าสู่ถังปฏิกรณ์ - มวลสารที่ออกจากถังปฏิกรณ์

$$m_{\text{accumulation}} = m_{\text{in}} - m_{\text{out}}$$

เมื่อไม่มีการนำสารออกจากระบบ ดังนั้น $m_{\text{out}} = 0$ จะได้

$$m_{\text{accumulation}} = m_{\text{in}} - m_{\text{out}}$$

$$m_{\text{accumulation}} = m_{\text{in}}$$

มวลสารรวมภายในถังปฏิกรณ์ = มวลสารที่นำเข้าสู่ถังปฏิกรณ์

3.2.6.2 วัสดุ (material)

การเลือกวัสดุที่ใช้ในการทำถังปฏิกรณ์ชีวภาคนั้นต้องคำนึงถึงปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นด้วย เพราะอาจจะมีสารที่คุณสมบัติในการกัดกร่อนได้ ปฏิกิริยาการผลิตบิวทานอลทางชีวภาคนั้นเมื่อมีการหมักไประยะเวลาหนึ่งจุลินทรีย์จะย่อยสลายสารตั้งต้น เข้าสู่ระยะของการผลิตกรด (Acidogenesis phase) ก่อนเข้าสู่ระยะของการผลิตสารผลิตภัณฑ์ (solventogenesis phase) ซึ่งระยะของการผลิตกรดนี้เซลล์จุลินทรีย์จะมีการปล่อยสารที่เป็นกรดออกนอกเซลล์ ทำให้สภาวะของสารที่หมักมีความเป็นกรดสูงขึ้น การเลือกวัสดุที่ใช้ในการทำถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่ใช้ในการผลิตบิวทานอลนี้จำเป็นต้องเลือกวัสดุที่ทนต่อการกัดกร่อนของกรดเหล่านี้ได้ด้วย โดยวัสดุทั่วไปที่สามารถทนต่อกรดได้และนิยมใช้กัน คือ วัสดุจำพวกสแตนเลส หรือแก้วที่ทนต่อกรดได้ แต่อย่างไรก็ตามการเลือกใช้

วัสดุนั้นจะต้องคำนึงถึงเหตุผลอีกประการคือลักษณะการให้ความร้อนแก่ถังปฏิกรณ์ เนื่องจากถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่มีการออกแบบนั้น ถูกรออกแบบให้มีการให้ความร้อนแบบการใช้น้ำร้อนไหลวนในชั้นให้ความร้อนที่ครอบภายนอกถังอยู่ (jacket) ดังนั้นวัสดุที่ใช้ในการทำถังปฏิกรณ์นี้จึงจำเป็นต้องนำความร้อนได้ดีด้วย ซึ่งสแตนเลสก็เป็นวัสดุที่สามารถนำความร้อนได้ดีเนื่องจากเป็นโลหะและสามารถทนการกัดกร่อนได้ โดยสแตนเลสนั้นโดยทั่วไปมีอยู่หลายเกรดด้วยกันซึ่งเกรดที่นำมาใช้ในการทำถังปฏิกรณ์นี้คือสแตนเลส 316 เนื่องจากมีคุณสมบัติในการทนการกัดกร่อนได้ดีจึงใช้ในงานที่ต้องสัมผัสกับกรดและสารเคมีได้ (สามารถ มูลอำมาตย์, 2541)

3.2.6.3 ขนาดและสัดส่วนของถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (Dimension of tank)

คำนวณขนาดและปริมาตรของถังปฏิกรณ์โดยการคำนวณหาปริมาตรและสัดส่วนของส่วนหลักของปฏิกรณ์ก่อน (ไม่รวมในส่วนของหัวและท้าย) ดังนี้ (Doran, 1995)

1) กำหนดปริมาตรรวมของถังปฏิกรณ์ โดยให้ปริมาตรของเหลว (working volume) เป็นร้อยละ 70 ของปริมาตรทั้งหมดของถัง (V) สามารถคำนวณปริมาตรของถังได้จากสมการ

$$V = \frac{10 \text{ L.} \times 100 \%}{70\%} \quad 3.4$$

$$V = 14.2857 \text{ L.}$$

2) คำนวณหาความสูงและเส้นผ่านศูนย์กลางของถัง โดยมีสัดส่วนของความสูงของถังหลักจะเป็น 1.5 เท่าของเส้นผ่านศูนย์กลาง สามารถคำนวณได้จากสมการ

$$V = \pi \frac{D_T^2}{4} L_T \quad 3.5$$

$$V = \pi \frac{D_T^2}{4} 1.5D_T \quad 3.5.1$$

$$V = \frac{3}{8} \pi D_T^3 \quad 3.5.2$$

3) แทนค่าปริมาตรที่ต้องการดำเนินการในสมการ (3.5.2) จากนั้นแก้สมการเพื่อหาค่า D_T จะได้ค่าเส้นผ่านศูนย์กลางของถังปฏิกรณ์

$$0.0142857 \text{ m}^3 = \frac{3}{8} \pi D_T^3 \quad 3.5.3$$

$$D_T = 0.22978 \text{ m}^3$$

$$D_T = 229.78 \text{ mm.}$$

$$D_T \approx 230 \text{ mm.}$$

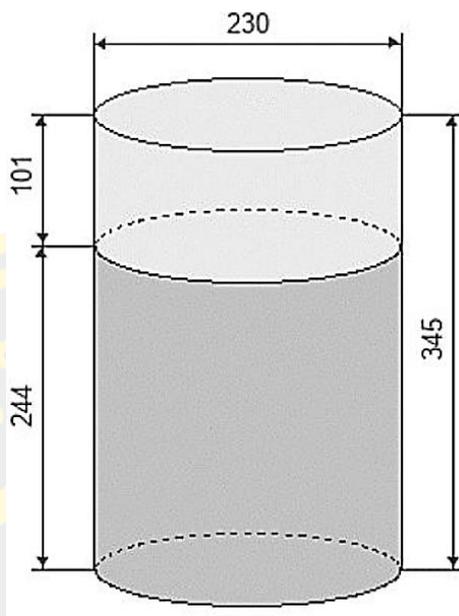
4) ความสูงของถังมีสัดส่วนเป็น 1.5 เท่าของเส้นผ่านศูนย์กลาง เมื่อแทนค่าเส้นผ่านศูนย์กลางของถังลงในสมการที่ 3.6 จะได้ค่าความสูงของถังปฏิกรณ์

$$L_T = 1.5D_T \quad 3.6$$

$$L_T = 1.5 \times 230 \text{ mm.}$$

$$L_T = 345 \text{ mm.}$$

จากการคำนวณข้อที่ 1 ถึงข้อที่ 4 จะได้สัดส่วนหลักของถังปฏิกรณ์ชีวภาพดังรูปที่ 3.5



รูปที่ 3.5 ขนาดของส่วนหลักของถังปฏิกรณ์ชีวภาพ

และมีรายละเอียดการออกแบบส่วนหลักของถังปฏิกรณ์ชีวภาพดังที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3.3
ตารางที่ 3.3 รายละเอียดส่วนหลักของถังปฏิกรณ์ชีวภาพ

รายละเอียด	ขนาด	หน่วย
ความสูงของถัง	345	mm.
เส้นผ่านศูนย์กลางถัง	230	mm.
ความสูงของของเหลว	244	mm.
ความสูงพื้นที่ว่างภายในถัง	101	mm.
ปริมาตรถัง	14.3	L.
ปริมาตรของเหลว	10	L.
ปริมาตรพื้นที่ว่าง	4	L.
พื้นที่รวมด้านข้างของถัง	0.2493	m. ²

5.) ส่วนหัวและท้ายของถังปฏิกรณ์ชีวภาพถูกออกแบบให้มีลักษณะแบบที่เรียกว่า Ellipsoidal จะมีลักษณะที่โค้งมน ความลึกของส่วนนี้ (Dish Depth: H_D) จะมีค่าเป็น 1 ใน 4 เท่า (D_T) มีค่า crown radius (CR) เป็น 0.9 เท่า และค่า knuckle radius (KR) เป็น 0.17 เท่าของเส้นผ่านศูนย์กลางถังปฏิกรณ์ สามารถคำนวณได้จากสมการ

โดยค่าความลึกของฝาลังคำนวณได้จากสมการ

$$H_D = \frac{D_T}{4} \quad 3.7$$

แทนค่า D_T เพื่อหาค่า H_D จะได้;

$$H_D = \frac{345\text{mm.}}{4}$$

$$H_D = 57.5 \approx 58 \text{ mm.}$$

ค่า crown radius (CR) คำนวณได้จากสมการ

$$CR = 0.9 D_T \quad 3.8$$

แทนค่า D_T ในหน่วยมิลลิเมตร ในสมการที่ (3.8) จะได้;

$$CR = 0.9 \times 230$$

$$CR = 207^\circ$$

ค่า knuckle radius (KR) คำนวณได้จากสมการ

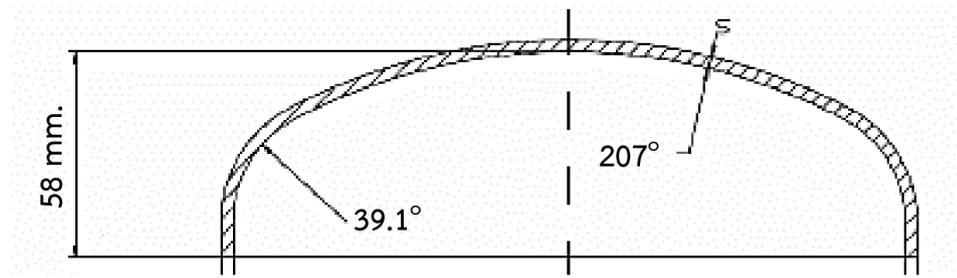
$$KR = 0.17 D_T \quad 3.9$$

แทนค่า D_T ในหน่วยมิลลิเมตร ในสมการที่ (3.9) จะได้

$$KR = 0.17 \times 230$$

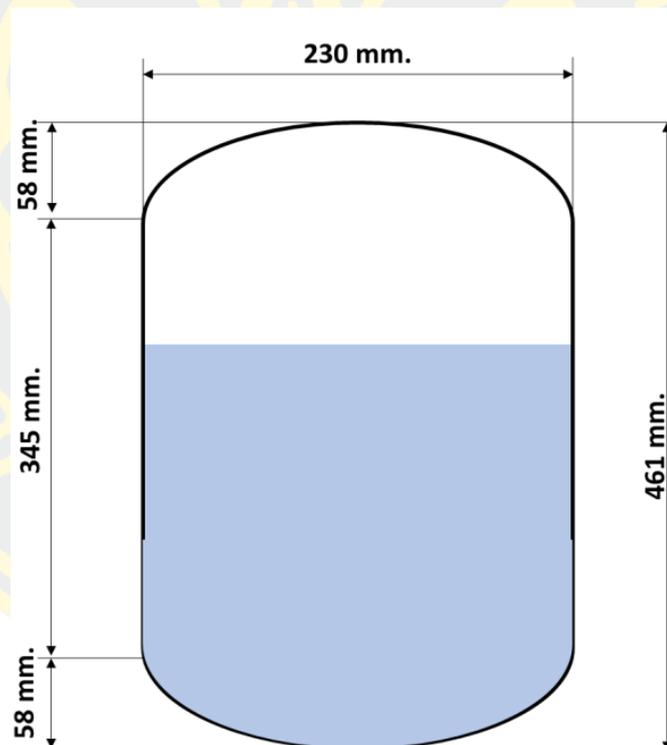
$$KR = 39.1^\circ$$

จากการคำนวณในข้อที่ 5 จะได้ขนาดและสัดส่วนของส่วนหัวและท้ายของถังปฏิกรณ์ชีวภาพ
ดังรูปที่ 3.6



รูปที่ 3.6 ส่วนหัวและท้ายของถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ Ellipsoidal

เมื่อนำส่วนของถังหลักและส่วนหัว-ท้ายถังปฏิกรณ์มาประกอบรวมกันจะได้ถังในลักษณะตามรูปที่ 3.7



รูปที่ 3.7 สัดส่วนโดยรวมของถังปฏิกรณ์ชีวภาพ

3.2.6.4 การออกแบบใบกวน

ใบกวนจะใช้ใบกวนแบบ Pitch Blade Impeller เนื่องจากให้ช่วงการกวนของความหนืดของเหลวที่กว้าง แข็งแรง และมีการออกแบบที่ไม่ซับซ้อน โดยใบกวนจะมีทั้งหมด 4 ใบ ใน 1 ชุด แต่ละใบจะเอียงทำมุม 45 องศากับแท่ง shaft เพื่อให้เกิดกระแสการกวนในแนวราบและแนวตั้ง เส้นผ่านศูนย์กลางของใบกวนนั้นจะมีค่าเป็น 1 ใน 3 ของเส้นผ่านศูนย์กลางถังปฏิกรณ์ ส่วนความกว้างของใบกวนจะมีค่าเป็น 1 ใน 5 ของเส้นผ่านศูนย์กลางของใบกวน ตำแหน่งการติดตั้งใบกวนนั้นจะอยู่เหนือถังปฏิกรณ์ขึ้นมาเป็นระยะเท่ากับเส้นผ่านศูนย์กลางของใบกวน (สามารถ มูลอามาตย์, 2541) (Doran, 1995).

เส้นผ่านศูนย์กลางของใบกวนคำนวณได้จาก

$$D_{\text{impeller}} = \frac{D_T}{3} \quad 3.10$$

แทนค่าเส้นผ่านศูนย์กลางของถังปฏิกรณ์ (D_T) ลงในสมการที่ (3.10) จะได้

$$D_{\text{impeller}} = \frac{230 \text{ mm.}}{3}$$

$$D_{\text{impeller}} = 76.67 \text{ mm.}$$

ความกว้างของใบกวนคำนวณได้จาก

$$W_{\text{impeller}} = \frac{D_{\text{impeller}}}{5} \quad 3.11$$

แทนค่าเส้นผ่านศูนย์กลางของใบกวน (D_{impeller}) ลงในสมการที่ (3.11) จะได้;

$$W_{\text{impeller}} = \frac{76.67 \text{ mm.}}{5}$$

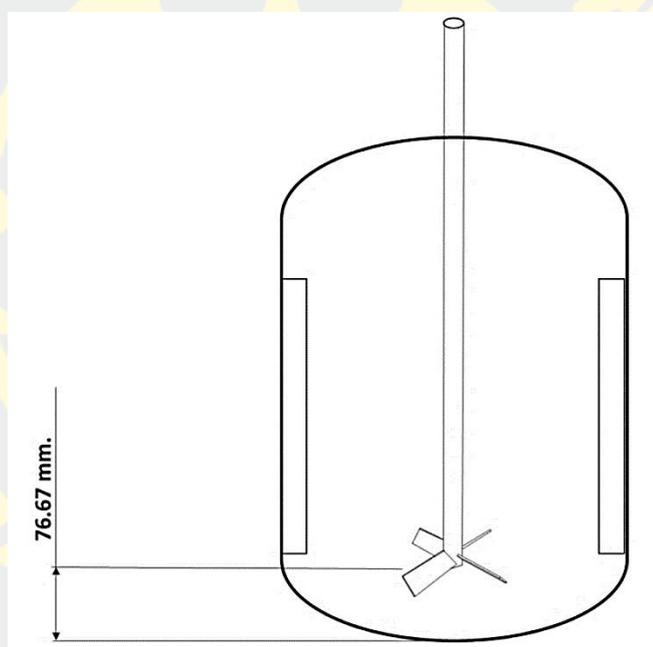
$$W_{\text{impeller}} = 15.33 \text{ mm.}$$

ตำแหน่งการติดตั้งของใบกวนนั้นอยู่สูงจะกันถึงปฏิกรณ์เป็นระยะเท่ากับเส้นผ่านศูนย์กลางของใบกวน

$$H_{\text{impeller}} = D_{\text{impeller}}$$

$$H_{\text{impeller}} = 76.67 \text{ mm.}$$

ดังนั้นจะได้ตำแหน่งการติดตั้งใบกวนเท่ากับ 76.67 มิลลิเมตร ดังรูปที่ 3.8



รูปที่ 3.8 การวางตำแหน่งของใบกวนภายในถังปฏิกรณ์

จากการคำนวณทำให้ได้สัดส่วนของใบกวนดังตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.4 ส่วนประกอบของใบกวน

ส่วนประกอบของใบกวน	สัญลักษณ์	อัตราส่วน	ขนาด (mm.)
เส้นผ่านศูนย์กลางของใบกวน	D_{impeller}	$D_T/3$	76.67
ความกว้างของใบกวน	W_{impeller}	$D_{\text{impeller}}/5$	15.33
ตำแหน่งติดตั้งของใบกวนวัดจากก้นถัง	H_{impeller}	D_{impeller}	76.67

Shaft คือแกนหรือแท่งที่เชื่อมต่อมาจากมอเตอร์ เป็นที่ใช้ติดตั้งใบกวน การหาขนาดของ shaft นั้นจะหาได้จากโหนดของใบกวน ซึ่งเป็นการหาขนาด shaft ที่สามารถรองรับแรงจากใบกวนได้ตามทฤษฎี (minimum size of shaft) จากนั้นจึงคำนวณตามขนาดของใบกวนให้ได้ขนาดของ shaft ที่พอดีที่จะติดตั้งใบกวนลงไปได้ สามารถคำนวณได้ดังนี้

การหาขนาดของ shaft จากโหนดของใบกวนสามารถคำนวณได้จาก

กำหนดความเร็วรอบที่ใช้คือ 100 rpm และเปลี่ยนให้อยู่ในหน่วยของความเร็วเชิงมุม rad/s ดังนี้

$$\frac{\text{rad}}{\text{s}} = \frac{100 \text{ rev.}}{60 \text{ sec.}} \times 2\pi \quad 3.12$$

$$\omega = 10.47 \text{ rad/s}$$

หาความเร็วเชิงเส้นโดยมี r คือรัศมีของใบกวน ($D_{\text{impeller}}/2$)

$$v = \omega r_{\text{impeller}} \quad 3.13$$

แทนค่าความเร็วเชิงมุมและรัศมีใบกวนลงในสมการที่ (3.13) เพื่อหาความเร็วเชิงเส้นจะได้;

$$v = (10.47 \text{ rad/s})(0.038 \text{ m.})$$

$$v = 0.4 \text{ m/s}$$

กำหนดค่า Drag coefficient (C_D) ของใบกวนแบบ Pitch Blade Impeller มีค่าเท่ากับ 1.1 สามารถหาค่า Drag force จากสมการ

$$F_D = \frac{1}{2} C_D \rho A_{\text{impeller}} v^2 \quad 3.14$$

$$F_D = \frac{1}{2} C_D \rho \left(\frac{D_{\text{impeller}}}{2} \right) W_{\text{impeller}} v^2 \quad 3.14.1$$

แทนค่าในสมการ (3.14.1) เพื่อหาค่า Drag force จะได้;

$$F_D = \frac{1}{2} (1.1) (1000 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3}) \left(\frac{0.077 \text{ m.}}{2} \right) (0.01533 \text{ m.}) (0.4 \frac{\text{m}}{\text{s}})^2$$

$$F_D = 0.052 \text{ N.}$$

ใบกวนมีทั้งหมด 4 ใบ ดังนั้นจะได้;

$$F_D = 0.052 \times 4 = 0.21 \text{ N.}$$

หาค่า Shear yield stress ของ stainless steel จากสมการ เมื่อกำหนดค่า Tension yield stress (TYS) ของ stainless steel มีค่าเท่ากับ 215 MPa

$$SYS = 0.58 \times \text{TYS} \quad 3.15$$

แทนค่า Tension yield stress (TYS) ของ stainless steel ลงในสมการที่ (3.15) จะได้;

$$SYS = 0.58 \times 215 \text{ MPa}$$

$$SYS = 124.7 \text{ MPa}$$

หาค่า Torsional stress (T_r) จากสมการ

$$T_r = (F_D \times \frac{r_{\text{impeller}}}{2}) \times 2 \quad 3.16$$

แทนค่า F_D และ r_{impeller} ในสมการที่ (3.16) จะได้;

$$T_r = (0.21 \text{ N.} \times \frac{0.038 \text{ m.}}{2}) \times 2$$

$$T_r = 0.008 \text{ Nm.}$$

ค่า Circular fraction (J) มีค่าเท่ากับ

$$J = 0.098 D_{\text{shaft}}^4 \quad 3.17$$

ค่า Torque (τ) ที่ 50 rpm. และความหนาแน่น 1000 Kg/m^3 มีค่าเท่ากับ $124.7 \times 10^6 \text{ Pa}$

$$\tau = \frac{T_r}{J} \quad 3.18$$

แทนค่าเพื่อหาค่าเส้นผ่านศูนย์กลางของ shaft (D_{shaft}) จากสมการ (3.18) จะได้;

$$124.7 \times 10^6 \text{ Pa} = \frac{(0.008 \text{ Nm.})(D_{\text{shaft,min.}})(0.5)}{0.098 D_{\text{shaft,min.}}^4}$$

$$D_{\text{shaft,min.}} = \sqrt[3]{\frac{0.008 \times 0.5}{0.098 \times 124.7 \times 10^6}}$$

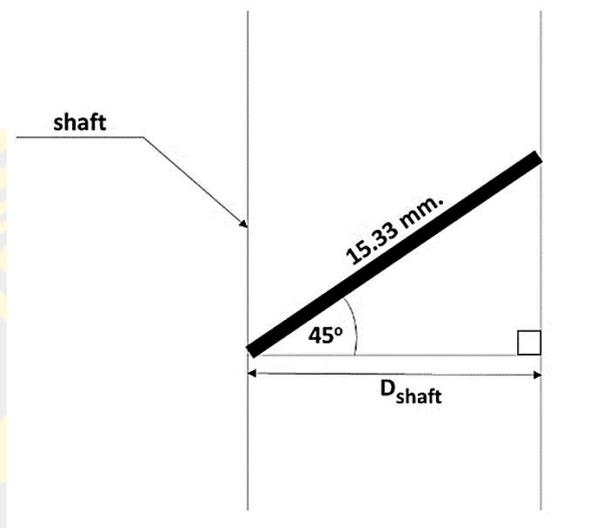
$$D_{\text{shaft,min.}} = 0.7 \text{ mm.}$$

แก้สมการเพื่อหาเส้นผ่านศูนย์กลางของ shaft (D_{shaft}) จะได้เส้นผ่านศูนย์กลางของ shaft ตามทฤษฎี โดยค่าที่คำนวณคือขนาดของ shaft ที่เล็กที่สุดที่สามารถรับแรงโหลดจากใบกวนได้ แต่อย่างไรก็ตามขนาดของ shaft ต้องคำนึงถึงขนาดของใบกวนให้สามารถติดตั้งบนแท่ง shaft ได้ตั้งนั้น จึงต้องมีการคำนวณขนาดของ shaft ที่เหมาะสมต่อขนาดใบกวน สามารถคำนวณได้จากสมการ

$$\cos \theta = \frac{D_{\text{shaft}}}{W_{\text{impeller}}} \quad 3.19$$

เมื่อ θ คือ องศาความเอียงของใบกวน

ใบกวนกว้าง 15.33 มิลลิเมตร เอียงทำมุม 45 องศา ดังรูปที่ 3.9 แทนค่าในสมการที่ (3.19) จะได้;



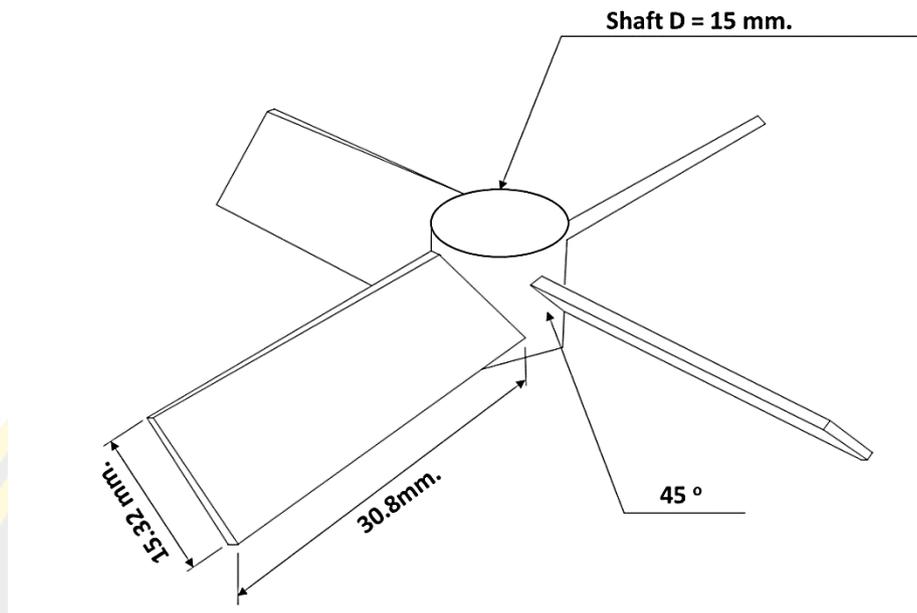
รูปที่ 3.9 องศาการเอียงของใบกวนบนแท่ง Shaft

$$\cos 45^\circ = \frac{D_{shaft}}{15.33 \text{ mm.}}$$

$$D_{shaft} = \left(\frac{1}{2} \times 15.33 \text{ mm.} \right)$$

$$D_{shaft} = 7.665 \approx 8 \text{ mm.}$$

เพื่อให้สามารถรับกำลังมอเตอร์ทั่วไปได้ดังนั้นก็จึงเลือกขนาดของ shaft ที่ใกล้เคียงกันระหว่างขนาดที่ได้จากการคำนวณและขนาดที่รับกับมอเตอร์ทั่วไป จึงเลือกใช้ขนาดของ shaft ที่ 15 มิลลิเมตร ดังรูป 3.10



รูปที่ 3.10 ลักษณะของใบกวนแบบ Pitch Blade Impeller

3.2.6.5 แผ่นกั้นการกวน (baffle)

เป็นแผ่นที่ติดตั้งบริเวณผิวด้านข้างของด้านในถังกวน เพื่อช่วยปรับเปลี่ยนทิศทางการไหล ป้องกันการเกิดวอร์เท็กซ์ (vortex) โดยปกติแล้วแผ่นกั้นการกวนนี้จะมี 4 แผ่นจัดวางทิศทางตรงข้ามกันอย่างสมดุล (มีระยะห่างแต่ละแผ่นที่เท่ากัน) โดยขนาดความกว้างของแผ่นกั้นการกวนนี้จะค่าเป็น 1 ใน 12 เท่าของเส้นผ่านศูนย์กลางของถัง ตำแหน่งของแผ่นกั้นการกวนนั้นปลายด้านล่างจะอยู่สูงจากก้นถังเป็นระยะ 1 ใน 12 เท่าของเส้นผ่านศูนย์กลางของใบกวน และปลายด้านบนจะมีความสูงเสมอกับระดับของของเหลวสูงสุดภายในถังปฏิกรณ์ดังรูปที่ 3.11 และสามารถคำนวณได้จากสมการดังต่อไปนี้ (สามารถ มูลอามาตย์, 2541)

ความกว้างของแผ่นกั้นการกวนคำนวณได้จากสมการ

$$w_B = \frac{D_T}{12} \quad 3.20$$

แทนค่า D_T ในสมการ (3.20) จะได้;

$$w_B = \frac{230 \text{ mm.}}{12}$$

$$w_B = 19.167 \approx 19.2 \text{ mm.}$$

ตำแหน่งปลายด้านล่างวัดจากกันถึงปฏิกรณ์สามารถคำนวณได้จาก

$$h_B = \frac{D_{\text{impeller}}}{12} \quad 3.21$$

แทนค่าเส้นผ่านศูนย์กลางของใบกวนในสมการ (3.21) จะได้;

$$h_B = \frac{76.6 \text{ mm.}}{12}$$

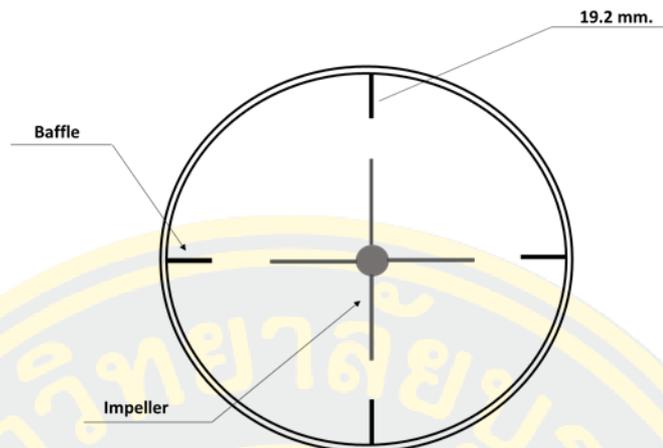
$$h_B = 6.38 \approx 6.4 \text{ mm.}$$

ตำแหน่งปลายด้านบนเสมอเท่าความสูงของของเหลว ดังนั้นความยาวของแผ่นกั้นการกวนสามารถ คำนวณได้จากสมการ

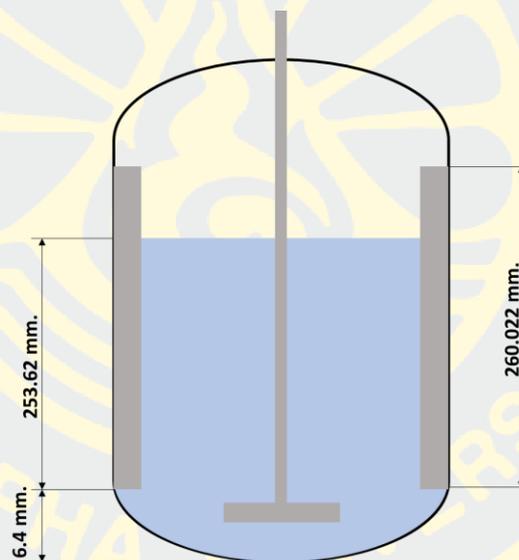
$$L_B = h_{\text{liquid}} \quad 3.22$$

$$L_B = 260.022 \text{ mm.}$$

การคำนวณความสูงของของเหลวในถังปฏิกรณ์นั้นจะเป็นการคำนวณจากความสูงของของเหลวที่คำนวณจากการออกแบบส่วนของถังหลัก แต่การคำนวณตำแหน่งจากกันถึงปฏิกรณ์จะใช้การคำนวณจากถังที่มีส่วนของกันถังแล้ว ดังนั้นตำแหน่งปลายด้านบนของแผ่นกั้นกวนจะอยู่สูงกว่าระดับของของเหลวเป็นระยะเท่ากับ 1 ใน 12 ของเส้นผ่านศูนย์กลางใบกวน (h_B) ดังรูปที่ 3.12



รูปที่ 3.11 การจัดวางแผ่นกั้นการกวนภายในถังปฏิกรณ์



รูปที่ 3.12 ขนาดและตำแหน่งของแผ่นกั้นการกวน

3.2.6.6 ความต้องการพลังงานของมอเตอร์

ค่าความต้องการพลังงานของมอเตอร์เป็นผลมาจากแรงไหลของใบกวน ความหนืดของของเหลว การคำนวณค่าความต้องการพลังงานของมอเตอร์ตามทฤษฎี จะเป็นการหาค่าพลังงานของมอเตอร์ที่ทำงานเต็มที่ร้อยละ 100 แต่ในความเป็นจริงมอเตอร์ไม่สามารถทำงานได้เต็มที่ตามทฤษฎีได้เนื่องจากการสูญเสียพลังงาน ดังนั้นการคำนวณจึงต้องมีการคำนวณการทำงานของมอเตอร์ที่ร้อยละ 75 ซึ่งสามารถคำนวณได้จากสมการ (Goswami & Kreith, 2007)

ค่าความต้องการพลังงานของมอเตอร์ (Power ; P) คำนวณได้จาก

$$P = \frac{N_p N^3 D_{impeller}^5 \rho}{g_c} \quad 3.23$$

แทนค่าในสมการ (3.23) จะได้

$$P = \frac{(1.27)(10.47 \frac{\text{rad}}{\text{s}})^3 (0.0766 \text{ m.})^5 (1000 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3})}{9.81 \frac{\text{m}}{\text{s}^2}}$$

$$P = 0.4 \text{ hp.}$$

ประสิทธิภาพของมอเตอร์ที่ร้อยละ 75 คำนวณได้จาก

$$\text{Actual Power} = \frac{P}{0.75} \quad 3.24$$

$$\text{Actual Power} = 0.533 \text{ hp.}$$

ดังนั้นควรเลือกใช้มอเตอร์ขนาด (P) ครึ่งแรงหรือ 0.5 hp.

3.2.6.7 แจ็คเก็ตให้ความร้อนและการถ่ายโอนความร้อน (Heat Transfer)

สภาวะโดยทั่วไปของการผลิตบิวทานอลทางชีวภาพโดยส่วนมากมีการดำเนินการที่อุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิของของเหลวในอุณหภูมิห้อง (ในกระบวนการนี้คือ 30 °C) ดังนั้นจำเป็นต้องมีการให้ความร้อนแก่ของเหลวภายในถังปฏิกรณ์ แจ็คเก็ตให้ความร้อนแบบครอบ โดยใช้น้ำร้อนไหลวนเพื่อให้ความร้อนแก่ถังปฏิกรณ์เป็นหนึ่งในวิธีการให้ความร้อนที่มีประสิทธิภาพ เนื่องจากการให้ความร้อนโดยน้ำจะทำให้อุณหภูมิมักมีการเปลี่ยนแปลงที่ไม่เร็วจนเกินไป ลดการเกิด overshoot และน้ำร้อนที่ไหลวนออกจากถังปฏิกรณ์แล้วยังสามารถนำไปใช้ได้อีกด้วย การออกแบบขนาดของแจ็คเก็ตให้ความร้อนนี้จะมีการกำหนดให้สัมพันธ์กับขนาดของถังปฏิกรณ์ เนื่องจากหากถังปฏิกรณ์มีขนาดใหญ่จะต้องใช้ปริมาณน้ำและแรงดันที่สูงกว่าถังปฏิกรณ์ขนาดเล็ก โดยจะกำหนดให้ระยะห่างระหว่างแจ็คเก็ตและถังปฏิกรณ์ (L_{jacket}) อยู่ที่ 1 ใน 10 ของเส้นผ่านศูนย์กลางถังปฏิกรณ์ สามารถคำนวณได้จาก (Bergman et al., 2011)

ระยะห่างระหว่างแจ๊คเก็ตและถังปฏิกรณ์ (L_{jacket}) คำนวณได้จากสมการ

$$L_{\text{jacket}} = \frac{D_t}{10} \quad 3.25$$

แทนค่าในสมการ (3.25) จะได้ ;

$$L_{\text{jacket}} = \frac{0.23 \text{ m.}}{10}$$

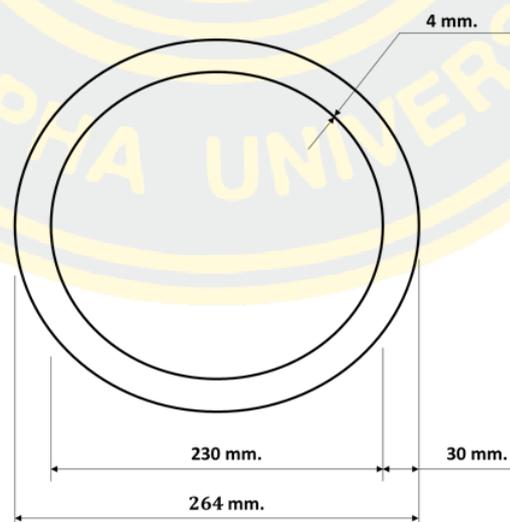
$$L_{\text{jacket}} = 0.023 \text{ m.}$$

เมื่อน้ำของถังปฏิกรณ์มีความหนาเท่ากับ 4 มิลลิเมตร จะได้;

$$L_{\text{jacket}} = 0.023 \text{ m.} + 0.004 \text{ m.}$$

$$L_{\text{jacket}} = 0.027 \approx 0.03 \text{ m.}$$

จะได้ระยะห่างระหว่างแจ๊คเก็ตและถังปฏิกรณ์เท่ากับ 3 เซนติเมตร ดังรูปที่ 3.13



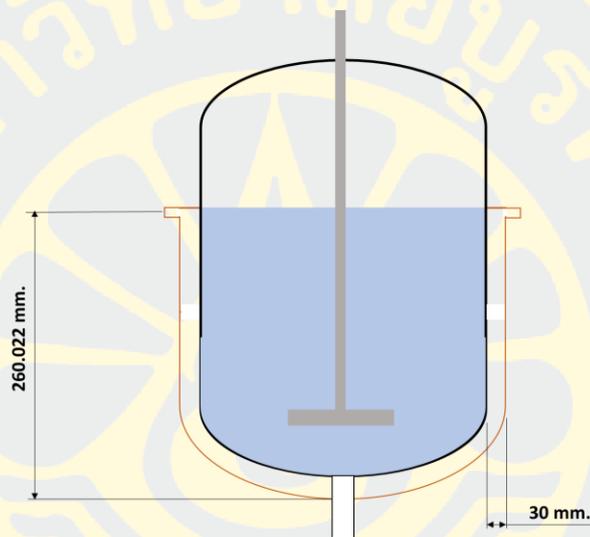
รูปที่ 3.13 ความกว้างของแจ๊คเก็ตให้ความร้อน

ส่วนความสูงของแจ็กเก็ต มีค่าเท่ากับความสูงของของเหลวดังนี้

$$H_{\text{jacket}} = h_{\text{liquid}} \quad 3.26$$

$$H_{\text{jacket}} = 260.022 \text{ mm.}$$

แจ็กเก็ตจะมีความสูง 260.022 มิลลิเมตร ดังรูปที่ 3.14



รูปที่ 3.14 ความสูงของแจ็กเก็ต

การคำนวณหาพื้นที่การถ่ายโอนความร้อน (Heat Transfer Area) ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีการถ่ายโอนความร้อนจากน้ำร้อนที่ไหลอยู่ภายในแจ็กเก็ต (heated jacket) ไปยังบริเวณผนังของถังปฏิกรณ์ ดังนั้นพื้นที่ที่สัมผัสกับน้ำร้อนดังกล่าวก็คือพื้นที่ที่ถูกแจ็กเก็ตครอบไว้ โดยแจ็กเก็ตจะถูกออกแบบให้ครอบยังบริเวณก้นถังปฏิกรณ์สูงขึ้นไปถึงระดับของเหลวสูงสุดภายในถังปฏิกรณ์ การคำนวณพื้นที่การถ่ายโอนความร้อนของถังปฏิกรณ์นั้นสามารถคำนวณได้ดังนี้

พื้นที่การถ่ายโอนความร้อน = พื้นที่ของถังหลักสูงขึ้นไปยังระดับของของเหลว + พื้นที่บริเวณก้นถัง

$$A_{\text{HTA}} = A_{\text{cylinder}} + A_{\text{Ellipsoidal}} \quad 3.27$$

$$A_{\text{HTA}} = 2\pi \frac{D_t}{2} L + \frac{\pi}{4} (1.147D_t)^2 \quad 3.27.1$$

แทนค่าความสูงของระดับของเหลวในถังหลัก (L) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.25362 m. และเส้นผ่านศูนย์กลางถังปฏิกรณ์ (D) มีค่าเท่ากับ 0.23 m. ลงในสมการ (3.27.1) จะได้;

$$A_{HTA} = 2\pi \frac{0.23 \text{ m.}}{2} (0.25362 \text{ m.}) + \frac{\pi}{4} (1.147 \times 0.23 \text{ m.})^2$$

$$A_{HTA} = (0.1832 + 0.0546) \text{ m}^2$$

$$A_{HTA} = 0.2378 \text{ m}^2$$

เส้นผ่านศูนย์กลางของแจ็กเก็ต (D_{jacket} ; D_j) คำนวณได้จากสมการ

$$D_j = D_{tank} + t_{tank} + L_{jacket} \quad 3.28$$

แทนค่าในสมการ (3.28) จะได้;

$$D_j = (0.23 + 0.004 + 0.025) \text{ m.}$$

$$D_j = 0.259 \text{ m.}$$

การคำนวณหาพื้นที่ของแจ็กเก็ตสามารถคำนวณได้จากสมการ

$$A_{jacket} = \left[2\pi \frac{D_j}{2} L_{liquid} - 2\pi \frac{D_t}{2} L_{liquid} \right] + \left[\frac{\pi}{4} (1.147D_j)^2 - \frac{\pi}{4} (1.147D_t)^2 \right] \quad 3.29$$

เมื่อทำการแทนค่าในสมการ (3.29) จะได้;

$$A_{jacket} = \left[2\pi \frac{0.264 \text{ m.}}{2} (0.25362 \text{ m.}) - 2\pi \frac{0.23 \text{ m.}}{2} (0.25362 \text{ m.}) \right] + \left[\frac{\pi}{4} (1.147 \times 0.264 \text{ m.})^2 - \frac{\pi}{4} (1.147 \times 0.23)^2 \right]$$

$$A_{\text{jacket}} = (0.027+0.017) \text{ m}^2$$

$$A_{\text{jacket}} = 0.044 \text{ m}^2$$

การคำนวณหาค่า Overall Heat Transfer Coefficient (U) ซึ่งสามารถคำนวณได้จากสมการดังนี้

กำหนดให้

$$\text{Prandtl's number} = N_{\text{pr}} = C_p \times \frac{\mu}{K} \quad 3.30$$

$$v = \frac{Q}{A_{\text{jacket}}} \quad 3.31$$

กำหนดค่าความหนาแน่น (ρ) ของของเหลวภายในถังปฏิกรณ์เท่ากับ 1000 Kg/m^3 และปริมาตรของของเหลวตามที่ต้องการ สามารถคำนวณน้ำหนักของของเหลวภายในถังปฏิกรณ์ได้จากสมการ

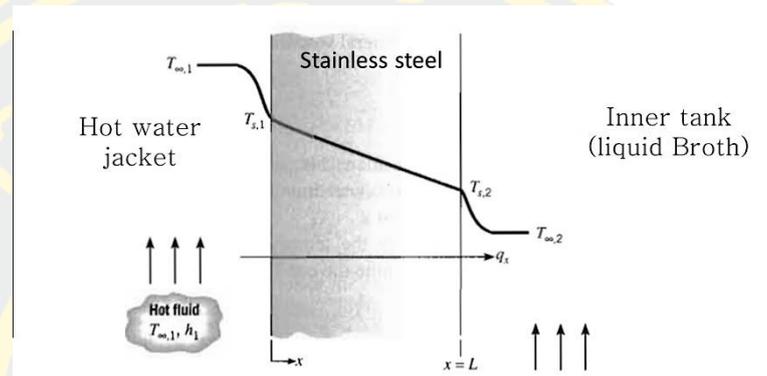
$$m = \rho V_L \quad 3.32$$

$$\text{Reynold's number} = N_{\text{re}} = D \times v \times \frac{\rho}{\mu} \quad 3.33$$

แทน (3.31) ใน (3.33) จะได้

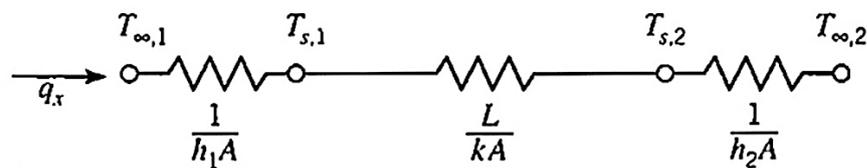
$$N_{\text{re}} = D \times \frac{Q}{A_{\text{jacket}}} \times \frac{\rho}{\mu} \quad 3.34$$

เมื่อพิจารณาการถ่ายโอนความร้อนระหว่างน้ำร้อนภายในแจ็กเก็ตไปยังของเหลวที่อยู่ภายในถังปฏิกรณ์ จะได้ว่าลักษณะการถ่ายโอนความร้อนของน้ำร้อนในแจ็กเก็ตเกิดไปยังผนังของถังปฏิกรณ์จะเป็นแบบการพาความร้อน (convection) จากนั้นผนังของถังปฏิกรณ์ซึ่งเป็นสแตนเลสเมื่อได้รับความร้อนจะเกิดการนำความร้อน (conduction) และถ่ายโอนความร้อนไปยังของเหลวภายในถังปฏิกรณ์แบบการพาความร้อนอีกรอบ จะได้ลักษณะการถ่ายโอนความร้อนดังรูป 3.15



รูปที่ 3.15 ลักษณะการถ่ายโอนความร้อนจากน้ำร้อนในแจ็กเก็ตไปยังของเหลวภายในถังปฏิกรณ์ (Bergman et al., 2011)

เมื่อพิจารณาถึง thermal resistance ของการถ่ายโอนความร้อนของน้ำร้อนในแจ็กเก็ตไปยังของเหลวภายในถังปฏิกรณ์แล้วจะได้ลักษณะของ thermal resistance ดังรูป 3.16



รูปที่ 3.16 ลักษณะของ thermal resistance (Bergman et al., 2011)

กำหนดให้

$$h_1 = \left[\frac{0.023 \times (N_{re})^{0.8} (N_{pr})^{0.33} \left(\frac{\mu}{\mu_w} \right)^{0.14}}{D} \right] K \quad 3.35$$

และ

$$h_2 = \left[\frac{0.53 \times (N_{re})^{0.66} (N_{pr})^{0.33} \left(\frac{\mu}{\mu_w}\right)^{0.24}}{D} \right] K \quad 3.36$$

และ

$$\frac{1}{U} = \frac{1}{h_1} + \frac{1}{h_2} + F_j + F_v + \frac{X}{K} \quad 3.37$$

แทน (3.30) และ (3.33) ถึง (3.36) ใน (3.37) จะได้

$$\begin{aligned} \frac{1}{U} = & \frac{D_t}{\left[0.023 \times \left(D_t \times \frac{Q}{A_{jacket}} \times \frac{\rho}{\mu} \right)^{0.8} \left(C_p \times \frac{\mu}{K} \right)^{0.33} \left(\frac{\mu}{\mu_w} \right)^{0.14} \right] K} \\ & + \frac{D_t}{\left[0.53 \times \left(D_t \times \frac{Q}{A_{jacket}} \times \frac{\rho}{\mu} \right)^{0.66} \left(C_p \times \frac{\mu}{K} \right)^{0.33} \left(\frac{\mu}{\mu_w} \right)^{0.24} \right] K} + F_j + F_v + \frac{X}{K} \quad 3.38 \end{aligned}$$

จากนั้นแทนค่าใน (3.38) เพื่อหาค่า U จะได้;

$$\begin{aligned} \frac{1}{U} = & \frac{0.23}{\left[0.023 \times \left(0.23 \times \frac{0.06}{0.044} \times \frac{1000}{0.036} \right)^{0.8} \left(0.9 \times \frac{0.036}{13.75776} \right)^{0.33} \left(\frac{0.036}{0.036} \right)^{0.14} \right] 13.75776} \\ & + \frac{0.23}{\left[0.53 \times \left(0.23 \times \frac{0.06}{0.044} \times \frac{1000}{0.036} \right)^{0.66} \left(0.9 \times \frac{0.036}{13.75776} \right)^{0.33} \left(\frac{0.036}{0.036} \right)^{0.24} \right] 13.75776} \\ & + 0.0002 + 0.0002 + \frac{0.004}{13.75776} \end{aligned}$$

$$U = 0.694 \frac{\text{Kcal}}{\text{hr.m}^2}$$

กำหนดค่าความหนาแน่น (ρ) ของของเหลวภายในถังปฏิกรณ์เท่ากับ 1000 Kg/m^3 ซึ่งสามารถคำนวณน้ำหนักของของเหลวภายในถังปฏิกรณ์ได้ดังนี้

$$m = \rho V_L \quad 3.39$$

แทนค่าในสมการ (3.39) จะได้

$$m = (1000 \frac{\text{Kg}}{\text{m}^3}) (0.001 \text{m}^3)$$

$$m = 1 \text{ Kg}$$

ระยะเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อนจนถึงอุณหภูมิที่ต้องการโดยกำหนดอุณหภูมิเริ่มต้นของเหลวที่จะเข้าสู่ถังปฏิกรณ์เป็น 25 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่ต้องการเป็น 30 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิของน้ำร้อนในแจ็กเก็ตเป็น 33 องศาเซลเซียส สามารถคำนวณได้จากสมการ (Spiraxsarco, 2019)

$$\ln \frac{(T_{j, \text{in}} - T_{r, \text{in}})}{(T_{j, \text{in}} - T_{r, \text{f}})} = \left(\frac{UA_{\text{HTA}}}{mC_p} \right) \times \text{Time} \quad 3.40$$

$$\text{Time} = \frac{\ln \frac{(T_{j, \text{in}} - T_{r, \text{in}})}{(T_{j, \text{in}} - T_{r, \text{f}})}}{\left(\frac{UA_{\text{HTA}}}{mC_p} \right)} \quad 3.40.1$$

แทนค่าในสมการที่ 3.40.1 เพื่อคำนวณหาเวลาที่ใช้ในการเพิ่มอุณหภูมิของเหลวภายในถังปฏิกรณ์ให้ถึงอุณหภูมิเป้าหมายจะได้;

$$\text{Time} = \frac{\ln \frac{(33 - 25)}{(33 - 30)}}{\left(\frac{0.694 \times 0.2378}{1 \times 0.9} \right)}$$

$$\text{Time} = 5.35 \text{ hr.}$$

จากการคำนวณแฉีก่เกิดที่ออกแบบสามารถทำให้ของเหลวในถังปฏิกรณ์มีค่าเท่ากับอุณหภูมิเป้าหมายได้ (30 องศาเซลเซียส) โดยจะต้องใช้เวลาในการทำอุณหภูมิเท่ากับ 5.33 ชั่วโมง

3.2.6.8 ท่อและช่อง (Tube and slot)

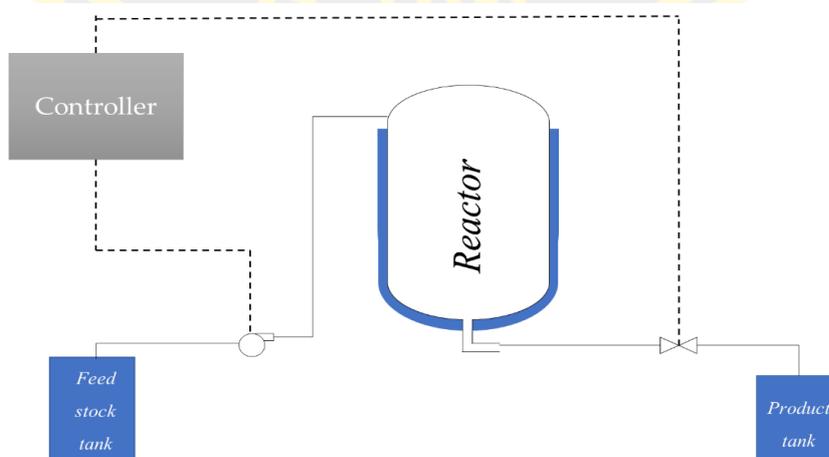
จะแบ่งเป็นท่อที่เชื่อมต่อกับส่วนของถังหลักได้แก่ ท่อนำสารออกจากถังปฏิกรณ์ และส่วนที่เชื่อมต่อกับแฉีก่เกิดได้แก่ ท่อทางเข้าน้ำร้อนและท่อทางออกน้ำร้อน และอีกส่วนคือบริเวณฝาของถังปฏิกรณ์จะประกอบด้วยช่อง shaft และท่อทางเข้าของกรด ท่อทางเข้าของเบส ท่อสำหรับ Thermocouple ท่อสำหรับทางออกของแก๊ส ท่อทางเข้าของสารเข้าไปยังถังปฏิกรณ์ ท่อสำหรับเซนเซอร์วัดแก๊สออกซิเจน และท่อสำหรับ pH meter

3.2.7 การออกแบบกระบวนการควบคุมการผลิตชีวภาพ

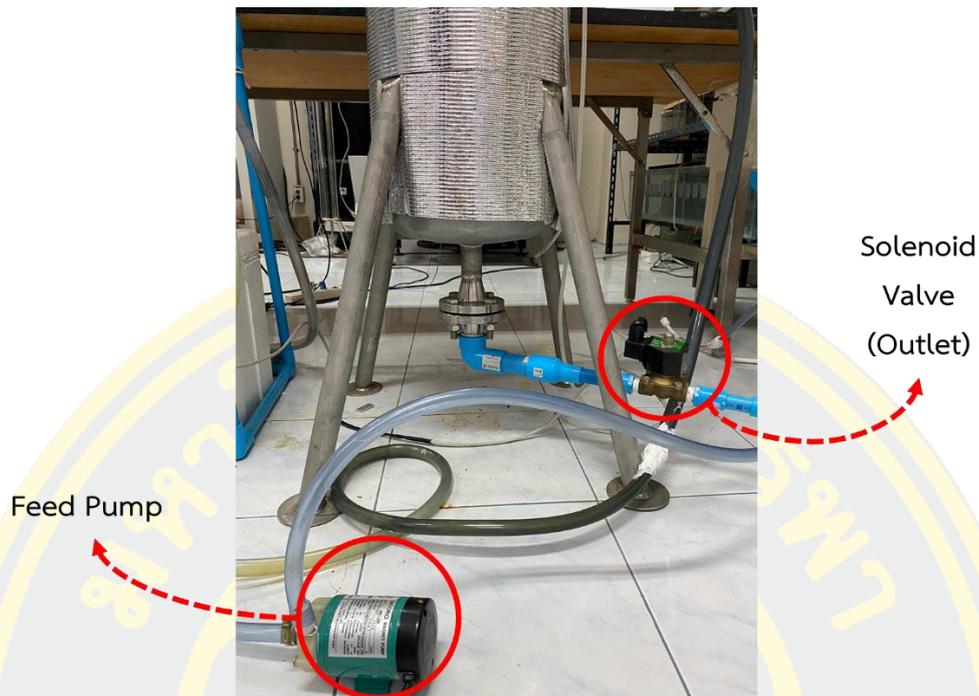
การควบคุมกระบวนการผลิตชีวภาพนั้นจำเป็นต้องมีการควบคุมสถานะของการผลิต โดยอาศัยอุปกรณ์วัด (sensor) และอุปกรณ์ที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงสถานะของกระบวนการดังนี้

3.2.7.1 การควบคุมการเข้า-ออกของสารภายในถังปฏิกรณ์

โดยการนำสารเข้าสู่ถังปฏิกรณ์จะใช้ปั๊มในการสูบสารตั้งต้นจากถังเก็บเข้าสู่ถังปฏิกรณ์ ส่วนการนำสารออกจากถังปฏิกรณ์นั้นจะใช้การควบคุมโดยผ่านวาล์วอิเล็กทรอนิกส์ ซึ่งจะมีกระบวนการในรูปแบบของการออกแบบดังรูป 3.17 (ก.) และมีกระบวนการในการติดตั้งจริงดังรูป 3.17 (ข.)



(ก.)

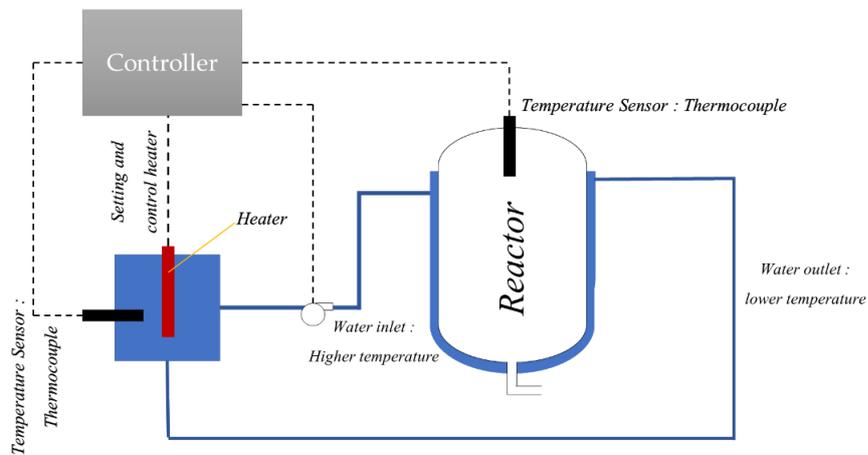


(ข.)

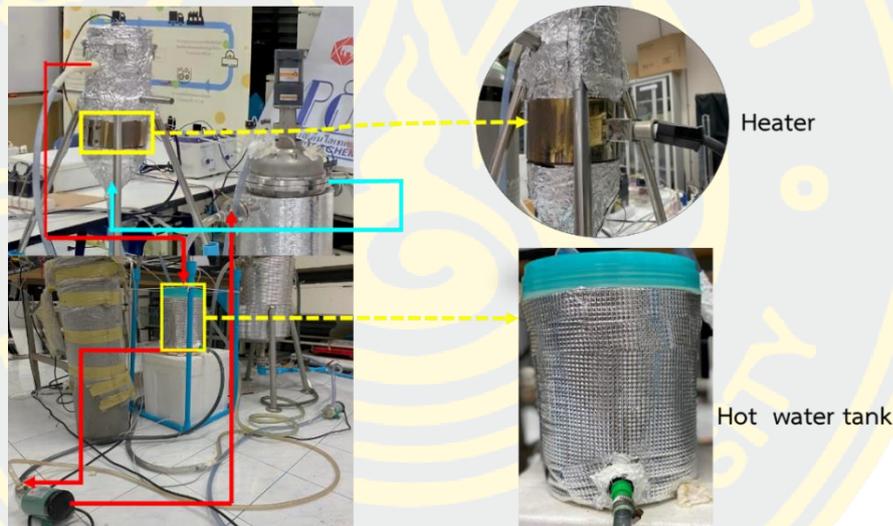
รูปที่ 3.17 การควบคุมสารเข้า-ออก (ก.) จากการออกแบบ (ข.) จากการติดตั้งจริง

3.2.7.2 การควบคุมอุณหภูมิ

ระบบควบคุมอุณหภูมิของถังปฏิกรณ์นี้จะเป็ระบบแบบใช้น้ำร้อนไหลวน (hot water circulation system) ซึ่งจะมีการนำน้ำร้อนจากถังต้มน้ำร้อนไปบริเวณรอบ ๆ ถังปฏิกรณ์ ภายในถังต้มน้ำร้อนจะใช้ heater ในการต้มน้ำ จากนั้นไหลวนโดยผ่านปั๊มไปยังถังปฏิกรณ์ การควบคุมอุณหภูมิจำเป็นต้องมีการวัดค่าอุณหภูมิทั้งในถังปฏิกรณ์และถังต้มโดยใช้อุปกรณ์วัด thermocouple วัดค่าอุณหภูมิเพื่อใช้ในการคำนวณเพื่อปรับค่าความร้อนของ heater ในการควบคุมอุณหภูมิ ซึ่งจะมีกระบวนการในรูปแบบของการออกแบบดังรูป 3.18 (ก.) และมีกระบวนการในการติดตั้งจริงดังรูป 3.18 (ข.)



(ก.)



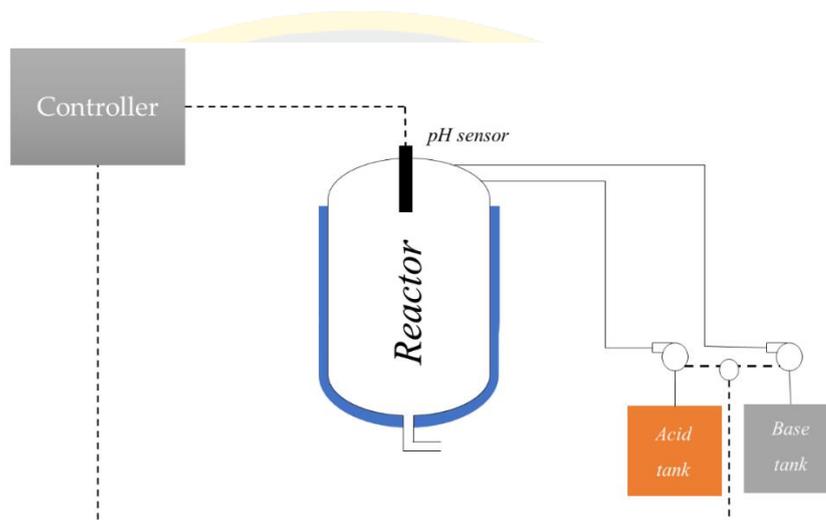
(ข.)

รูปที่ 3.18 การควบคุมอุณหภูมิ (ก.) จากการออกแบบ (ข.) จากการติดตั้งจริง

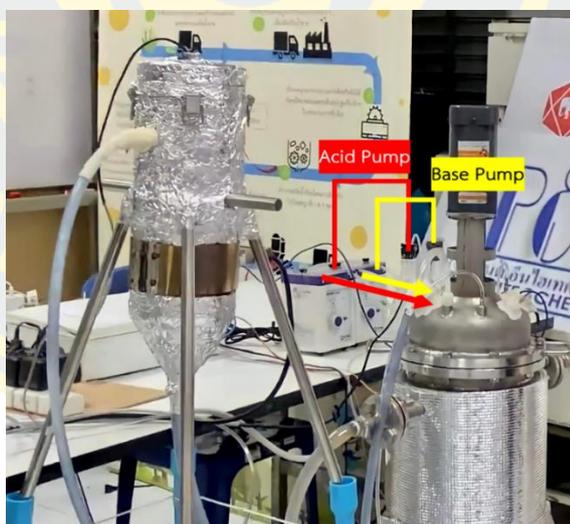
3.2.7.3 การควบคุมความเป็นกรด-ด่าง

เมื่อกระบวนการหมักถูกดำเนินการไปสักระยะจะเกิดสภาวะเป็นกรดขึ้นภายในกระบวนการ ทำให้สภาวะความเป็นกรด-ด่างอยู่ในค่าที่ไม่เหมาะสมต่อการผลิตชีวทานอลของจุลินทรีย์ดังนั้นจึงต้องทำการวัดค่าความเป็นกรด-ด่างในระหว่างการหมักโดยใช้ pH sensor และเมื่อมีความเป็นกรดเกิดขึ้นหรือไม่ได้อยู่ในช่วงค่าที่กำหนดไว้จะต้องทำการปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยใช้สารละลายที่มีสมบัติเป็นกรด หรือ ด่าง ในถังบรรจุผ่านปั๊มไปยังถังปฏิกรณ์และในระหว่างที่มีการปั๊มสารละลายเพื่อปรับความเป็นกรด-ด่างของกระบวนการอยู่จำเป็นต้องมีการเปิดการทำงานของ

มอเตอร์กวนเพื่อให้สารละลายที่ใช้ในการปรับค่ากรด-ด่างผสมและกระจายตัวได้ดีและเร็วขึ้น เมื่อ pH sensor วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ได้ช่วงค่าตามที่กำหนดแล้วจึงทำการหยุดปั๊มและมอเตอร์ ซึ่งจะมีกระบวนการในรูปแบบของการออกแบบดังรูป 3.19 (ก.) และมีกระบวนการในการติดตั้งจริงดังรูป 3.19 (ข.)



(ก.)

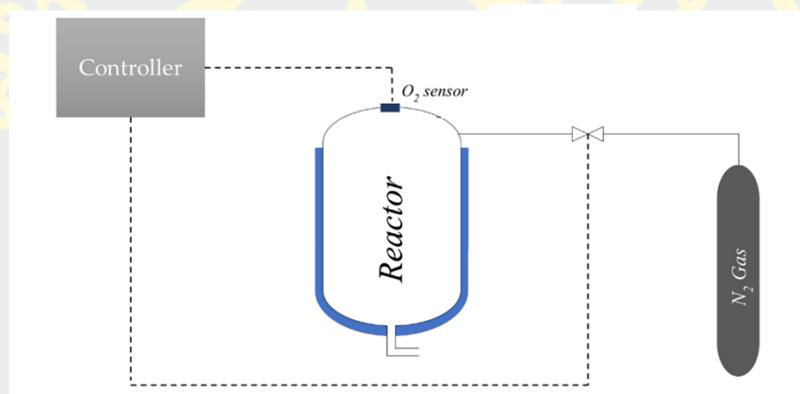


(ข.)

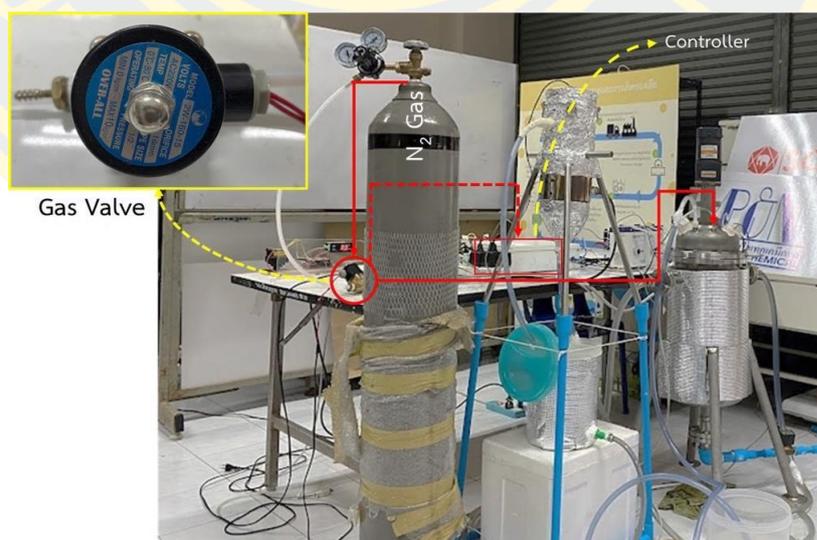
รูปที่ 3.19 การควบคุมความเป็นกรด-ด่าง (ก.) จากการออกแบบ (ข.) จากการติดตั้งจริง

3.2.7.4 การควบคุมสภาวะไร้ออกซิเจน (anaerobic)

การผลิตบิวทานอลของเชื้อนั้นจะเกิดขึ้นภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน ดังนั้นจึงต้องมีการกำจัดแก๊สออกซิเจนที่มีอยู่ในอากาศภายในถังปฏิกิริยาให้มีปริมาณของแก๊สออกซิเจนเท่ากับศูนย์ โดยใช้วิธีการฟลัช (flushing) แก๊สไนโตรเจนบริเวณผิวหน้าของอาหารหมักภายในถังปฏิกิริยาเพื่อไล่แก๊สออกซิเจน ซึ่งการฟลัชแก๊สไนโตรเจนนี้จะฟลัชไปตลอดจนกว่าอุปกรณ์วัดปริมาณแก๊สออกซิเจน (oxygen sensor) จะวัดค่าปริมาณแก๊สออกซิเจนได้เท่ากับศูนย์จึงจะทำการสั่งปิดวาล์วอิเล็กทรอนิกส์ของแก๊สไนโตรเจน ซึ่งจะมีกระบวนการในรูปแบบของการออกแบบดังรูป 3.20 (ก.) และมีกระบวนการในการติดตั้งจริงดังรูป 3.20 (ข.)



(ก.)

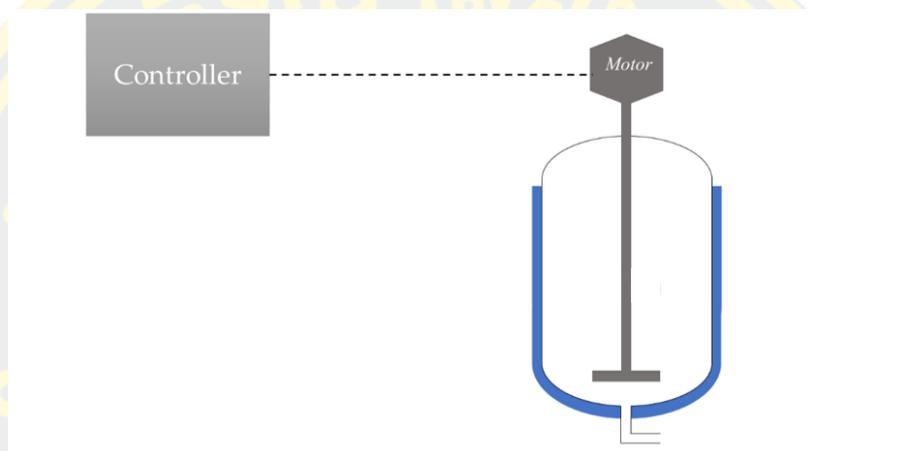


(ข.)

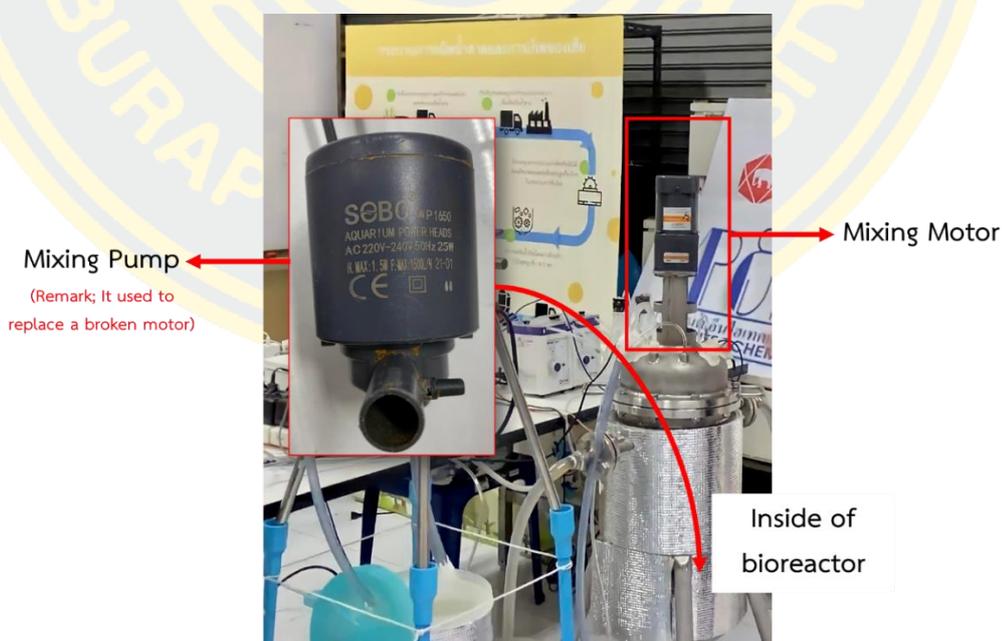
รูปที่ 3.20 การควบคุมออกซิเจน (anaerobic condition) (ก.) จากการออกแบบ (ข.) จากการติดตั้งจริง

3.2.7.5 ระบบการกวน (mixing)

จะใช้การกวนโดยใช้ใบกวนที่อยู่ภายในถังปฏิกรณ์ผ่านการทำงานของมอเตอร์ที่ติดตั้งอยู่ด้านบนของถังปฏิกรณ์ (overhead motor) การทำงานของระบบกวนจะทำงานแบบ 2 ลักษณะคือ 1. เมื่อผู้ใช้สั่งให้ทำงาน 2. ทำงานเมื่อมีการป้อนสารละลายเข้าเพื่อปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ซึ่งเป็นการทำงานโดยอัตโนมัติ ซึ่งจะมีกระบวนการในรูปแบบของการออกแบบดังรูป 3.21 (ก.) และมีกระบวนการในการติดตั้งจริงดังรูป 3.21 (ข.)



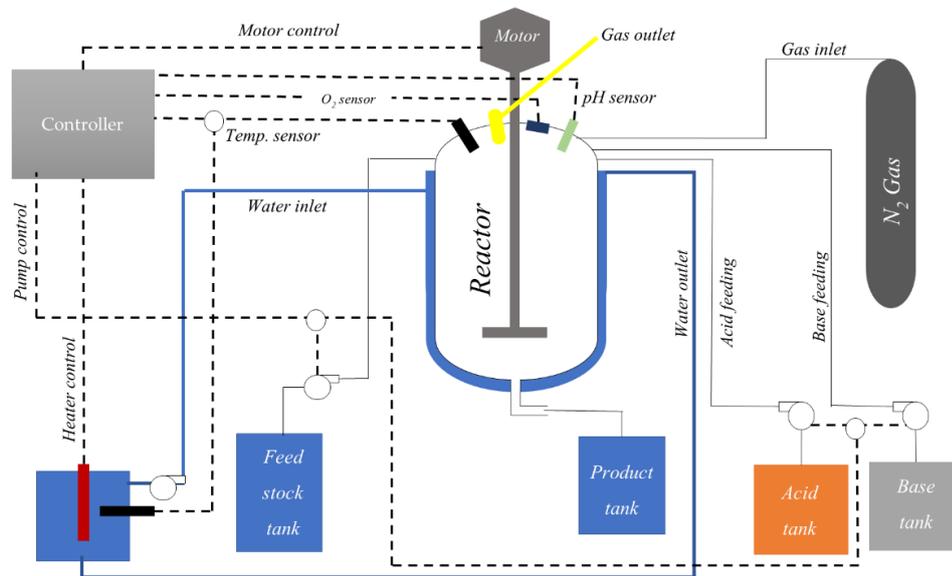
(ก.)



(ข.)

รูปที่ 3.21 ระบบการกวน (mixing) (ก.) จากการออกแบบ (ข.) จากการติดตั้งจริง

กระบวนการโดยรวมที่ควบคุมการผลิตชีวทานอลทางชีวภาพของเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ซึ่งจะมีกระบวนการในรูปแบบของการออกแบบดังรูป 3.22 (ก.) และมีกระบวนการในการติดตั้งจริงดังรูป 3.22 (ข.)



(ก.)

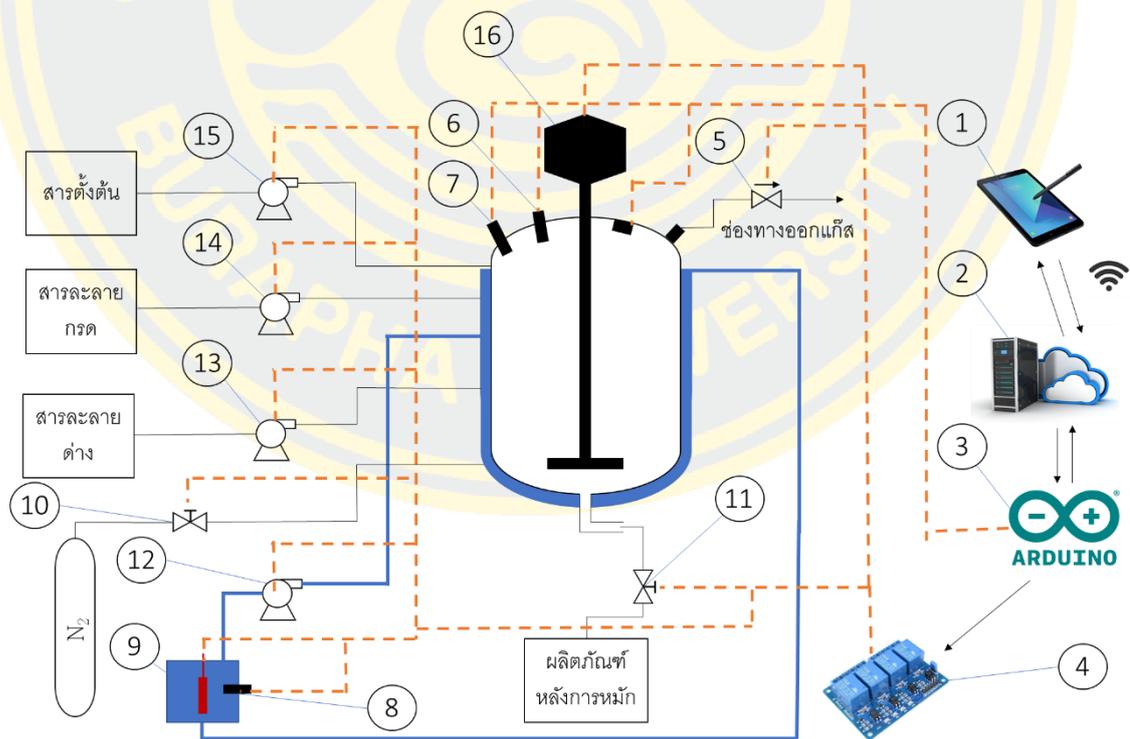


(ข.)

รูปที่ 3.22 ภาพรวมของระบบควบคุมสถานะ (ก.) จากการออกแบบ (ข.) จากการติดตั้งจริง

3.2.8 การออกแบบระบบควบคุมสถานะของถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่ควบคุมผ่านระบบอินเทอร์เน็ตของสรรพสิ่ง (IoT)

การนำเทคโนโลยีอินเทอร์เน็ตของสรรพสิ่งหรือ IoT เพื่อใช้ในการเชื่อมต่ออุปกรณ์ให้สามารถควบคุมผ่านระบบอินเทอร์เน็ตได้ ซึ่งในระบบถังปฏิกรณ์นี้ได้มีการใช้แผงควบคุม (Broad control) Arduino ซึ่งเป็น platform micro controller โดยมีหน้าที่คือการเชื่อมต่อเพื่อรับข้อมูล สั่งการ หรือควบคุมเครื่องมือ อุปกรณ์หรือเซนเซอร์ต่าง ๆ ในกระบวนการได้ โดยลักษณะการทำงานของกระบวนการคือ ผู้ใช้งานจะมีการสั่งงานหรือกำหนดค่าการควบคุมผ่านทางเว็บแอปพลิเคชัน (web application) (หมายเลข 1) จากนั้นจะมีการส่งต่อข้อมูลเพื่อทำการวิเคราะห์และประมวลผลจากโปรแกรมบนระบบ server (หมายเลข 2) เมื่อทำการประมวลผลเสร็จแล้วจึงทำการสั่งงานไปยัง Arduino (หมายเลข 3) ให้ไปสั่งงาน Relay (หมายเลข 4) เพื่อทำการเปิด-ปิด อุปกรณ์ควบคุมต่าง ๆ โดย Arduino จะทำหน้าที่ทั้งส่วนของการรับข้อมูลจากเซนเซอร์และอุปกรณ์ควบคุมต่าง ๆ (หมายเลข 5 ถึงหมายเลข 16) ดังรูปที่ 3.23



รูปที่ 3.23 ระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบควบคุมผ่านระบบอินเทอร์เน็ตทุกสรรพสิ่ง

โดยระบบและอุปกรณ์ที่ใช้ในการควบคุมสภาวะต่าง ๆ ของถังปฏิกรณ์ชีวภาพได้แก่

หมายเลข 1 คือ อุปกรณ์สำหรับดำเนินการเปิดเว็บแอปพลิเคชัน (web application)

หมายเลข 2 คือ เครื่องเซิร์ฟเวอร์ (server)

หมายเลข 3 คือ บอร์ดควบคุม Arduino

หมายเลข 4 คือ Relay

หมายเลข 5 คือ Check valve

หมายเลข 6 คือ pH sensor

หมายเลข 7 คือ Thermocouple (วัดอุณหภูมิภายในถังปฏิกรณ์)

หมายเลข 8 คือ Thermocouple (วัดอุณหภูมิภายในถังน้ำร้อน)

หมายเลข 9 คือ Heater

หมายเลข 10 คือ Control valve (สำหรับแก๊สไนโตรเจน)

หมายเลข 11 คือ Control valve (สำหรับนำสารผลิตภัณฑ์หลังการหมักออก)

หมายเลข 12 คือ ป้อน (สำหรับวนน้ำร้อน)

หมายเลข 13 คือ ป้อน (สำหรับสารละลายต่าง)

หมายเลข 14 คือ ป้อน (สำหรับสารละลายกรด)

หมายเลข 15 คือ ป้อน (สำหรับนำเข้าสารตั้งต้น)

หมายเลข 16 คือ มอเตอร์

โดยการสั่งงานควบคุมนี้จะมี 2 ลักษณะคือ

1) การสั่งงานให้มีการควบคุมแบบอัตโนมัติ คือผู้ใช้จะมีการกำหนดช่วงค่าของการควบคุมผ่านทางโปรแกรมควบคุม โดยค่าของตัวแปรที่ทำการควบคุมจะมีการรับค่ามาจากอุปกรณ์วัด หากค่าที่วัดได้จากอุปกรณ์วัดนั้นไม่ได้อยู่ในช่วงที่กำหนด จึงทำการสั่งเปิดการทำงานของอุปกรณ์ควบคุม ซึ่งการทำงานแบบการสั่งงานให้มีการควบคุมแบบอัตโนมัตินี้ จะมีการรับและตรวจสอบค่าแบบตลอดเวลา (real time) เพื่อปรับให้ระบบอยู่ในสภาวะที่เหมาะสม เนื่องจากตัวแปรที่ทำการควบคุมในลักษณะนี้เป็นตัวแปรสภาวะ (state variable) ที่สามารถเปลี่ยนแปลงได้ตลอดเวลา โดยตัวแปร

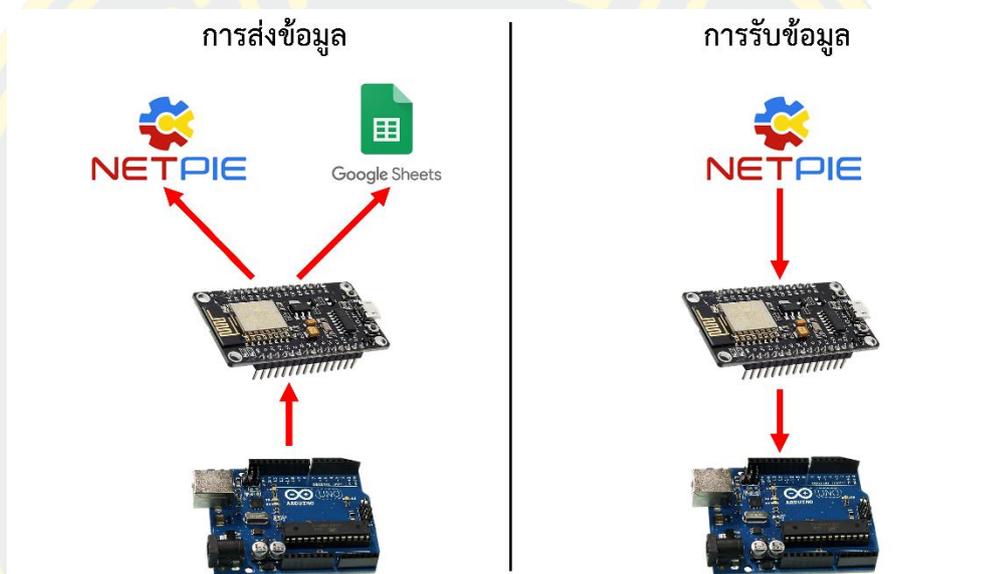
ดังกล่าวได้แก่ อุณหภูมิ, ค่าความเป็นกรด-ด่างและปริมาณของออกซิเจนภายในถังปฏิกรณ์ ซึ่งอุปกรณ์ที่ทำหน้าที่ในการควบคุมค่าตัวแปรดังกล่าวได้แก่ ชุดให้ความร้อนแบบครอบ (jacket heater), ป้อนน้ำเข้าสารละลายต่างและวาล์วอิเล็กทรอนิกส์นำเข้าแก๊สไนโตรเจน

2) การสั่งงานควบคุมโดยผู้ใช้งาน คือจะมีการควบคุมการทำงานของอุปกรณ์เมื่อผู้ใช้งานทำการสั่งงานผ่านทางโปรแกรมเท่านั้น และเป็นการทำงานเป็นครั้งต่อครั้ง กล่าวคือหนึ่งคำสั่งของผู้ใช้งานที่สั่งงานผ่านทางโปรแกรมควบคุม จะสามารถสั่งงานควบคุมอุปกรณ์ให้ทำงานได้หนึ่งครั้งเท่านั้น การสั่งการในลักษณะนี้จะเป็นการสั่งการของอุปกรณ์ไม่เกี่ยวข้องกันกับตัวแปรที่จำเป็นต้องมีการควบคุมตลอดเวลา และเป็นอุปกรณ์ที่ไม่มีการรับค่าจากอุปกรณ์วัด เป็นอุปกรณ์ที่รับคำสั่งงานจากผู้ใช้งานโดยตรงแต่เพียงอย่างเดียว อุปกรณ์ลักษณะนี้ได้แก่ ป้อนน้ำสารตั้งต้นเข้าสู่ถังปฏิกรณ์ โดยผู้ใช้งานจะมีการกำหนดปริมาณของสารที่ต้องการนำเข้าสู่ถังปฏิกรณ์และกดสั่งงานให้ปั๊มทำงาน และวาล์วอิเล็กทรอนิกส์ในการเปิดเอาสารผลิตภัณฑ์หลังการหมักออกสู่ถังเก็บสารผลิตภัณฑ์ นอกจากนั้นระบบนี้ยังสามารถเก็บบันทึกข้อมูลสถานะภายในถังปฏิกรณ์จากการวัดของอุปกรณ์วัดต่าง ๆ ให้สามารถจัดเก็บและบันทึกไว้ในรูปแบบของไฟล์ Excel ได้และในระหว่างการหมักยังสามารถแสดงค่าสถานะในรูปแบบของกราฟเชิงเส้นเพื่อง่ายต่อการสังเกตการเปลี่ยนแปลง และการวิเคราะห์แนวโน้มของสถานะภายในถังปฏิกรณ์ในระหว่างการหมักได้อย่างต่อเนื่องตลอดเวลา (real time) โดยแสดงผ่านโปรแกรมเว็บแอปพลิเคชันผ่านระบบอินเทอร์เน็ตได้อย่างสะดวก โดยข้อมูลที่ทำการแสดงและจัดเก็บเป็นข้อมูลสถานะของระบบภายในถังปฏิกรณ์ที่มีการเปลี่ยนแปลงและต้องทำการควบคุมตลอดเวลา ซึ่งได้แก่ อุณหภูมิ, ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณของแก๊สออกซิเจนภายในถังปฏิกรณ์ และมอเตอร์สำหรับการกวน

3.2.9 การเชื่อมต่อบอร์ด Arduino และบอร์ด ESP8266

ในการเชื่อมต่อระหว่างบอร์ด Arduino Uno R3 และบอร์ด ESP8266 หรือบอร์ด Node MCU นั้นจะเป็นการเชื่อมต่อทั้งในส่วนของฮาร์ดแวร์ (Hardware) คือมีการจิ้มสายเชื่อมต่อระหว่างบอร์ด โดยจะมีด้วยกัน 2 สายได้แก่ สายส่งทำหน้าที่ในการส่งข้อมูลจากบอร์ดส่งไปยังบอร์ดปลายทางหรือบอร์ดรับ และสายรับทำหน้าที่ในการรับข้อมูลจากบอร์ดต้นทางหรือบอร์ดส่ง ในการเชื่อมต่อสายของฮาร์ดแวร์นั้นจะทำงานควบคู่กับโปรแกรมคำสั่งการเชื่อมต่อบอร์ด (Software Serial) ในการกำหนดขารับและขาส่งระหว่างบอร์ดทั้ง 2 บอร์ด การเชื่อมต่อสายจะเป็นการเชื่อมต่อในขาที่ถูกกำหนดโดยโปรแกรมที่เขียนไว้ ในการทดลองนี้จะเป็นการเชื่อมต่อระหว่างบอร์ดด้วยการเขียนโปรแกรม Software Serial บนโปรแกรม Arduino IDE ซึ่งในส่วนของการเขียนโปรแกรมส่งค่า

บนบอร์ดจะมีทั้งการเขียนโปรแกรมรับค่าและการเขียนโปรแกรมส่งค่าทั้งในบอร์ด ESP8266 และบอร์ด Arduino เนื่องจากบอร์ด Arduino จะต้องมีการอ่านค่าจะอุปกรณ์วัดสถานะและทำการส่งค่าให้กับบอร์ด ESP8266 เพื่อให้บอร์ด ESP8266 ส่งค่าขึ้นไปเก็บหรือแสดงผลบนระบบ Cloud ต่อไป ส่วนบอร์ด ESP8266 นั้นจะต้องมีการรับค่าสถานะจากบอร์ด Arduino เพื่อส่งขึ้นระบบ Cloud และการรับค่าจากระบบ NETPIE ที่ผู้ใช้งานส่งมาได้แก่ค่าปรับจูนความถูกต้องของอุปกรณ์วัด (Calibration Factor) ค่าสถานะเป้าหมาย (Setpoint) ดังนั้นในบอร์ดทั้งสองจึงจำเป็นต้องมีการเขียนโปรแกรมรับส่งข้อมูลระหว่างกัน ดังรูปที่ 3.24



รูปที่ 3.24 วิธีการรับส่งข้อมูลระหว่างบอร์ด

ในส่วนของการเขียนโปรแกรมส่งข้อมูลระหว่างบอร์ด Arduino และบอร์ด ESP8266 มีการใช้งาน Library ที่ชื่อว่า Software Serial สามารถดาวน์โหลดเพื่อทำการติดตั้ง Library นี้ได้จากเว็บไซต์ Github (<https://github.com/PaulStoffregen/SoftwareSerial>) ซึ่ง Library นี้สามารถเขียนใช้งานได้ทั้งการรับและการส่งข้อมูลดังรูปที่ 3.25 ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

- 1) ทำการเรียกใช้ Library ผ่านคำสั่ง `#include <SoftwareSerial.h>`
- 2) กำหนดขารับ (Rx) และขาส่งสัญญาณ (Tx) ด้วยคำสั่ง `SoftwareSerial NodeSerial (D2, D3);` โดยกำหนดให้ขา D2 เป็นขา Rx และขา D3 เป็นขา Tx บนบอร์ด ESP8266 และ `SoftwareSerial ArduinoSerial (Rx, Tx);` โดยกำหนดให้ขา 2 เป็นขา Rx และขา 3 เป็นขา Tx บนบอร์ด Arduino

3) กำหนดอัตราเร็วในการรับส่งข้อมูล (data rate in bits per second หรือ baud) โดยทั่วไปจะกำหนดไว้ที่ค่า 4800 ผ่านคำสั่ง `NodeSerial.begin(4800)`; บนบอร์ด ESP8266 และ `ArduinoSerial.begin(4800)`; บนบอร์ด Arduino

4) กำหนดขานำเข้า (Input) และส่งออกสัญญาณ (Output) ผ่านคำสั่ง `pinMode` (Rx, INPUT); สำหรับขารับข้อมูล และ `pinMode` (Tx, OUTPUT); สำหรับขาส่งข้อมูล จากนั้นจึงทำการใส่ Number ของขาแทนใน Rx และ Tx จะได้เป็นขารับสัญญาณบนบอร์ด ESP8266 คือ `pinMode` (D2, INPUT); และขาส่งสัญญาณคือ `pinMode` (3, OUTPUT); ส่วนบนบอร์ด Arduino ขารับสัญญาณคือ `pinMode` (2, INPUT); และขาส่งสัญญาณคือ `pinMode` (3, OUTPUT);

5) คำสั่ง `ArduinoSerial.available()`; บนบอร์ด Arduino และ `NodeSerial.available()`; บนบอร์ด ESP8266 ใช้เพื่อตรวจสอบ Buffer (ส่วนหนึ่งของหน่วยความจำที่ใช้สำหรับพักข้อมูลเป็นการชั่วคราว เพื่อรอถ่ายโอนข้อมูลต่อไป) ว่ามีการรับข้อมูลไว้หรือไม่ โดยจะคืนค่าจำนวน byte ที่อยู่ใน Buffer

6) เมื่อทำการกำหนดค่ารับ ส่งข้อมูลและขานำเข้า ส่งออกสัญญาณแล้วนั้นจึงทำการเขียนโปรแกรมคำสั่งการส่งข้อมูลผ่านคำสั่ง `NodeSerial.print` (ตัวแปร/ข้อมูลที่ต้องการจะส่ง); ในบอร์ด ESP8266 และ `ArduinoSerial.print` (ตัวแปร/ข้อมูลที่ต้องการจะส่ง); บนบอร์ด Arduino ซึ่งเป็นการส่งออกข้อมูลผ่านพอร์ตอนุกรม

โปรแกรมส่งข้อมูลบนบอร์ด ESP8266

```
#include <SoftwareSerial.h>
SoftwareSerial NodeSerial (D2, D3); // (Rx, Tx)

void setup() {
  NodeSerial.begin(4800);
  pinMode (D2, INPUT);
  pinMode (D3, OUTPUT);
}
void loop() {
  NodeSerial.available();
  NodeSerial.print(10);
  NodeSerial.print("\n");
  delay(1000);
}
```

โปรแกรมส่งข้อมูลบนบอร์ด Arduino

```
#include <SoftwareSerial.h>
SoftwareSerial ArduinoSerial (2, 3); // (Rx, Tx)

void setup() {
  ArduinoSerial.begin(4800);
  pinMode (2, INPUT);
  pinMode (3, OUTPUT);
}
void loop() {
  ArduinoSerial.available();
  ArduinoSerial.print(10);
  ArduinoSerial.print("\n");
  delay(1000);
}
```

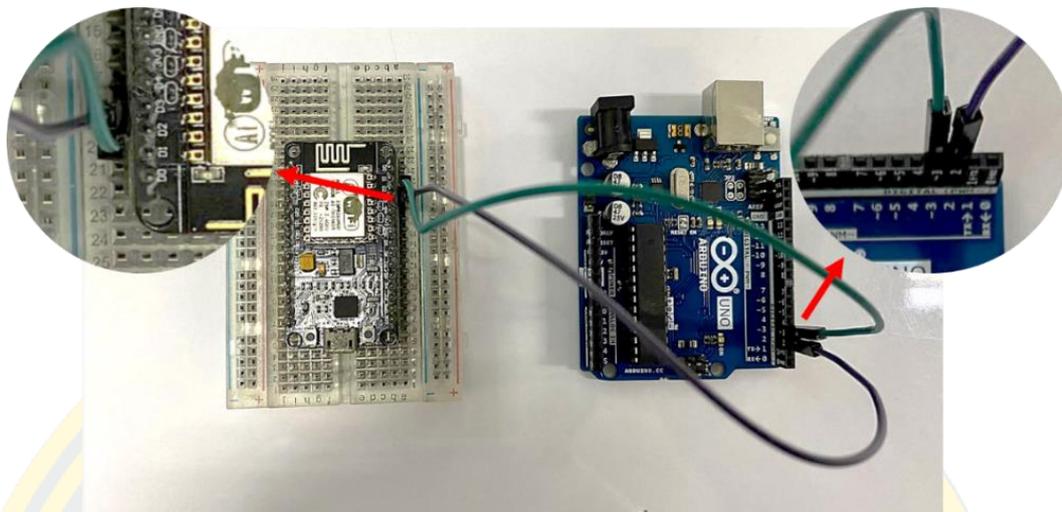
รูปที่ 3.25 โปรแกรมส่งข้อมูลระหว่างบอร์ด

การรับข้อมูลระหว่างจะมีโครงสร้างโปรแกรมคำสั่งที่เหมือนกับโปรแกรมคำสั่งการส่งข้อมูลระหว่างบอร์ดคือมีรายละเอียดโปรแกรมเหมือนโปรแกรมส่งข้อมูลตั้งแต่ข้อที่ 1 ถึงข้อที่ 5 แต่แตกต่างกันตรงคำสั่งจากการส่งข้อมูลเป็นคำสั่งการรับข้อมูล ซึ่งสามารถใช้คำสั่งการรับข้อมูลผ่านโครงสร้างคำสั่งคือ Data Type variable = ArduinoSerial.parseData Type(); ในรูปที่ 3.26 จะมีการกำหนด Data Type หรือชนิดของตัวแปรเป็นแบบ Float เพื่อให้รองรับค่าของข้อมูลที่เป็นทศนิยมได้ด้วย และมีการกำหนดชื่อของตัวแปรคือ variable มาเก็บค่าตัวแปรที่อ่านได้หรือที่ถูกส่งมาจากบอร์ดต้นทาง จึงเขียนคำสั่งของการอ่านค่าข้อมูลบนบอร์ด Arduino ได้เป็น float variable = ArduinoSerial.parseFloat(); และ float variable = NodeSerial.parseFloat(); บนบอร์ด ESP8266

โปรแกรมรับข้อมูลบนบอร์ด ESP8266	โปรแกรมรับข้อมูลบนบอร์ด Arduino
<pre>#include <SoftwareSerial.h> SoftwareSerial NodeSerial(D2, D3); // (Rx, Tx) void setup() { NodeSerial.begin(4800); pinMode(D2, INPUT); pinMode(D3, OUTPUT); } void loop() { NodeSerial.available(); float variable = NodeSerial.parseFloat(); NodeSerial.read() == '\n'; delay(1000); }</pre>	<pre>#include <SoftwareSerial.h> SoftwareSerial ArduinoSerial(2, 3); // (Rx, Tx) void setup() { ArduinoSerial.begin(4800); pinMode(2, INPUT); pinMode(3, OUTPUT); } void loop() { ArduinoSerial.available(); float variable = ArduinoSerial.parseFloat(); ArduinoSerial.read() == '\n'; delay(1000); }</pre>

รูปที่ 3.26 โปรแกรมรับข้อมูลระหว่างบอร์ด

จากการเขียนโปรแกรมคำสั่งรับและส่งค่าระหว่างบอร์ด ESP8266 และบอร์ด Arduino ทั้งสองจะมีการเขียนโปรแกรมกำหนดค่าขารับและขาส่ง ในการรับส่งข้อมูลจำเป็นจะต้องมีบอร์ดส่งและบอร์ดรับ ดังนั้นการเชื่อมต่อระหว่างสายรับและสายส่งนั้นจะต้องมีการต่อให้สาย Output ของบอร์ด ESP8266 ไปยังสาย Input ของบอร์ด Arduino และต่อสาย Input ของบอร์ด ESP8266 ไปยังสาย Output ของบอร์ด Arduino สลับกันเพื่อให้บอร์ดหนึ่งบอร์ดสามารถรับและส่งข้อมูลได้ทั้งสองอย่าง ดังรูปที่ 3.27



รูปที่ 3.27 การเชื่อมต่อสายรับและส่งข้อมูลระหว่างบอร์ด

3.2.10 การเชื่อมต่อและการเขียนโปรแกรมรับค่าจากอุปกรณ์วัด

การเขียนโปรแกรมสำหรับวัดค่าสถานะในการหมักนั้นเป็นการวัดค่าตัวแปร ได้แก่ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าปริมาณแก๊สออกซิเจน อุณหภูมิภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพและอุณหภูมิของน้ำร้อนในถังต้มน้ำร้อน ซึ่งค่าตัวแปรเหล่านี้ได้มาจากอุปกรณ์วัดหรือ sensors ได้แก่ pH meter สำหรับวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง Oxygen gas sensor สำหรับวัดปริมาณของแก๊สออกซิเจนและ Thermocouple สำหรับวัดอุณหภูมิ ซึ่งการเขียนโปรแกรมในการอ่านค่าจากอุปกรณ์เหล่านี้มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

3.2.10.1 อุปกรณ์วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) ในการทดลองนี้ใช้
อุปกรณ์วัด Analog pH sensor รุ่น E-201-C ดังรูปที่ 3.28



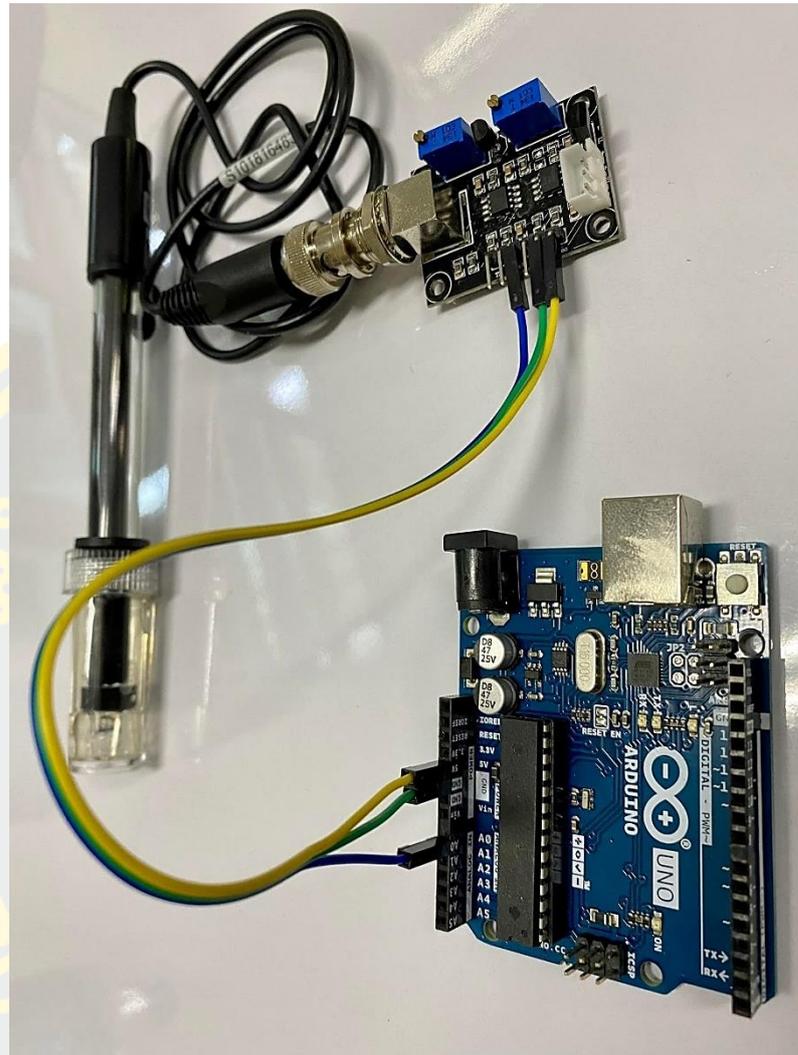
รูปที่ 3.28 อุปกรณ์วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง รุ่น E-201-C

ในการเชื่อมต่อ pH meter รุ่นนี้ต้องเชื่อมต่อระหว่าง pH sensor probe เข้ากับบอร์ด pH meter module โดยเชื่อมต่อ pH sensor probe ผ่าน BNC port บน pH meter module ดังรูปที่ 3.29



รูปที่ 3.29 การเชื่อมต่อ pH sensor probe ผ่าน BNC port บน pH meter module

จากนั้นจึงทำการเชื่อมต่อบอร์ด pH meter module เข้ากับบอร์ด Arduino โดยใช้สายจัมป์ ตัวเมีย-ตัวผู้ เชื่อมต่อขาบนบอร์ด pH meter module เข้าช่องบนบอร์ด Arduino ได้แก่ ขา VCC. เข้ากับช่องจ่าย 5 V. ขา GND. เข้ากับช่อง GND. และ ขา P0 เข้ากับช่อง A0 ดังรูปที่ 3.30



รูปที่ 3.30 การเชื่อมต่อบอร์ด pH meter module เข้ากับบอร์ด Arduino

เมื่อทำการเชื่อมต่ออุปกรณ์วัดเข้ากับบอร์ด Arduino แล้วจึงทำการเขียนโปรแกรมคำสั่งในโปรแกรม Arduino IDE เพื่ออ่านค่าจากอุปกรณ์วัด โดยโปรแกรมต้นฉบับ (Source code) แบบสมบูรณ์สามารถดูได้จากภาคผนวกที่ ๓. ซึ่งจะมีส่วนการทำงานหลัก ๆ ได้แก่ คำสั่งการกำหนดช่องรับสัญญาณจากอุปกรณ์วัดบนบอร์ด Arduino คือ `const int analogPhPin = A0` ซึ่งเป็นช่องที่เชื่อมต่อเข้ากับขา P0 บนบอร์ด pH meter module คำสั่ง `phTot += analogRead(A0);` เป็นการอ่านค่าสัญญาณที่ถูกส่งมาจากขา P0 คำสั่ง `float phAvg = phTot / 10;` เป็นการเฉลี่ยค่า 10 ค่าเป็น 1 ค่าเพื่อความแม่นยำในการวัด คำสั่ง `float phVoltage = phAvg * (5.0 / 1023.0);` เป็นการนำค่าเฉลี่ยที่วัดได้มาทำการแปลงค่าให้อยู่ในหน่วยมิลลิโวลต์ (mV.) โดยในหลักการทำงานของ pH meter นี้จะเป็นการทำแบบการเปลี่ยนค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าบน probe ในค่าความเป็นกรด-ด่าง

ต่าง ๆ ดังนั้นจึงมีการทำกราฟมาตรฐานจากผู้ผลิต เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าความต่างศักย์ในหน่วยมิลลิโวลต์ในแต่ค่าละความเป็นกรด-ต่างต่าง ๆ จากนั้นพลอตกราฟเป็นเส้นตรงจะได้สมการ $y = mx + c$ ซึ่งจากสมการเส้นตรง ค่า y จะเป็นค่าความเป็นกรด-ต่าง ค่า m คือค่าความชันของกราฟ ค่า x คือค่าความต่างศักย์ในหน่วยมิลลิโวลต์และค่า c คือ ค่าคงที่ของสมการจากกราฟ ดังนั้นเมื่อได้ค่า $phVoltage$ ซึ่งเป็นค่าความต่างศักย์ในหน่วยมิลลิโวลต์แล้วจึงทำการแก้สมการเพื่อหาค่าความเป็นกรด-ต่างหรือค่า y จึงสามารถเขียนคำสั่งได้เป็น `float pHValue = phVoltage * m + C;` ดังรูปที่ 3.31

```
const int analogPhPin = A0; //PH module pin P0 connected to analog pin A0
long phTot, temTot;
float phAvg, temAvg;
int x;
float C = 27.81; //Constant of straight line (Y = mx + C)
float m = -6.80; // Slope of straight line (Y = mx + C)

phTot += analogRead(A0);
float phAvg = phTot / 10;
float temVoltage = temAvg * (5000.0 / 1023.0); //convert sensor reading into milli volt
float phVoltage = phAvg * (5.0 / 1023.0); //convert sensor reading into milli volt
float pHValue = phVoltage * m + C;
```

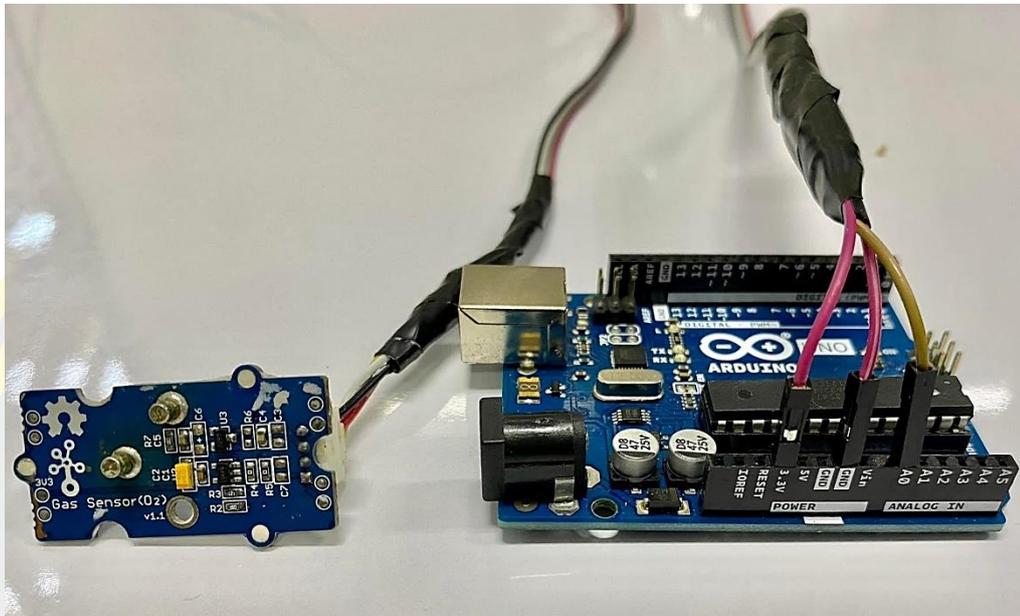
รูปที่ 3.31 โปรแกรมการทำงานหลัก ๆ ของอุปกรณ์วัดค่าความเป็นกรด-ต่าง (pH meter)

3.2.10.2. อุปกรณ์วัดค่าปริมาณแก๊สออกซิเจน (Oxygen gas sensor) ในการทดลองนี้ใช้ใช้อุปกรณ์วัด Seed Studio Grove-Oxygen Sensor รุ่น ME2-O2 ดังรูปที่ 3.32



รูปที่ 3.32 อุปกรณ์วัดค่าปริมาณแก๊สออกซิเจน รุ่น ME2-O2

ในการเชื่อมต่อจะเชื่อมต่อบอร์ดของอุปกรณ์วัด (Gas O₂ sensor v.1.1) ผ่านสาย Grove 4 Pin Buckled to male Cable ในการเชื่อมต่อบอร์ดของอุปกรณ์วัดไปยังบอร์ด Arduino จะต่อ 3 Pin ได้ VCC ไปยังช่องจ่ายไฟ 3.3 V. GND. ไปยังช่อง GND. และ SIG. ไปยัง A0 ดังรูปที่ 3.33



รูปที่ 3.33 การเชื่อมต่อบอร์ดของอุปกรณ์วัด Gas O₂ sensor v.1.1 ไปยังบอร์ด Arduino

เมื่อทำการเชื่อมต่อบอร์ดอุปกรณ์วัดและบอร์ด Arduino เข้าด้วยกันแล้ว จึงเขียนโปรแกรมในการอ่านค่าจากอุปกรณ์วัด โดยโปรแกรมต้นฉบับแบบสมบูรณ์สามารถดูได้จากภาคผนวกที่ ฅ. ซึ่งมีส่วนการทำงานหลัก ๆ ได้แก่ คำสั่งการกำหนดช่องรับสัญญาณจากอุปกรณ์วัดบนบอร์ด Arduino ได้แก่ การหนดขารับสัญญาณ `const int pinAdc = A0;` ซึ่งเป็นขาที่รับสัญญาณมาจากช่อง SIG. การกำหนดค่าแรงดันไฟที่จ่ายให้กับบอร์ดของอุปกรณ์วัด ซึ่งจ่ายอยู่ที่ 3.3 V. ด้วยคำสั่ง `const float VRefer = 3.3;` การอ่านค่าจากช่องสัญญาณ A0 ที่ถูกส่งมาจาก SIG. ด้วยคำสั่ง `sum += analogRead(pinAdc);` ซึ่งค่านี้จะถูกนำไปคำนวณโดยนำไปคูณกับค่า VRefer หารด้วย 1023.0 เพื่อแปลงค่าสัญญาณ Analog เป็นค่า 0 ถึง 5 โวลต์ ผ่านคำสั่ง `float MeasuredVout = sum * (VRefer / 1023.0);` จะได้ค่าความต่างศักย์ (Voltage output) จากนั้นนำไปคูณกับค่า 0.21 หารด้วย 2.0 ซึ่งเป็นค่าคงที่ที่ถูกคำนวณจากผู้ผลิตในการปรับจูนค่าผ่านคำสั่ง `float Concentration = MeasuredVout * 0.21 / 2.0;` จากนั้นคิดเป็นความเข้มข้นหน่วยร้อยละผ่านคำสั่ง `float Concentration_Percentage = Concentration * 100;` ดังรูปที่ 3.34 ก็จะได้ความเข้มข้นของแก๊สออกซิเจนในหน่วยร้อยละ

```

const float VRefer = 3.3;// voltage of adc reference---->Factor
const int pinAdc   = A0;

float readO2Vout() {
  long sum = 0;
  for (int i = 0; i < 32; i++) {
    sum += analogRead(pinAdc);
  }
  sum >>= 5;
  float MeasuredVout = sum * (VRefer / 1023.0);
  return MeasuredVout;
}

float readConcentration() {
  float MeasuredVout = readO2Vout();
  float Concentration = MeasuredVout * 0.21 / 2.0;
  float Concentration_Percentage = Concentration * 100;
  return Concentration_Percentage;
  delay(1000);
}

```

รูปที่ 3.34 โปรแกรมการทำงานหลัก ๆ ของอุปกรณ์วัดค่าปริมาณแก๊สออกซิเจน

3.2.10.3 อุปกรณ์วัดอุณหภูมิ (Thermocouple) ในการทดลองนี้ใช้อุปกรณ์วัด K-Type Thermocouple Module with Temperature Sensor Probe รุ่น MAX6675 ดังรูปที่ 3.35



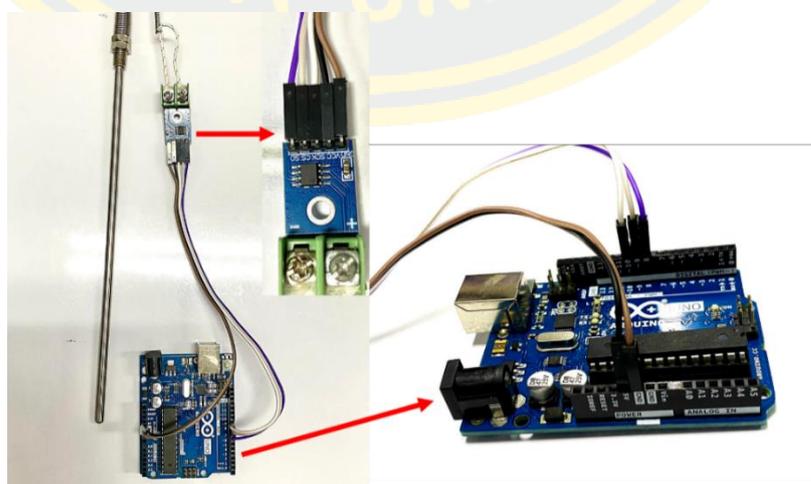
รูปที่ 3.35 อุปกรณ์วัดอุณหภูมิ K-Type Thermocouple รุ่น MAX6675

การเชื่อมต่อ Thermocouple ทำการเชื่อมต่อแท่งวัดเข้ากับบอร์ด MAX6675 ก่อนโดยสายที่เชื่อมต่อกับแท่งวัดจะมี 2 สาย คือสายสีน้ำเงินและสายสีแดง ให้ทำการเชื่อมต่อสายสีน้ำเงินเข้ากับขั้วลบบนบอร์ด และเชื่อมต่อสายสีแดงเข้ากับขั้วบวกบนบอร์ดดังรูปที่ 3.36



รูปที่ 3.36 การเชื่อมต่อแท่งวัด Thermocouple เข้ากับบอร์ด MAX6675

เมื่อทำการเชื่อมต่อแท่ง Thermocouple เข้ากับบอร์ด MAX6675 แล้วจึงทำการเชื่อมต่อบอร์ด MAX6675 เข้ากับบอร์ด Arduino เพื่อให้สามารถอ่านค่าจากอุปกรณ์วัดได้ การเชื่อมต่อจะใช้สายจัมป์ตัวเมีย-ตัวผู้ ทั้งหมด 5 สายเชื่อมระหว่างขาของบอร์ด MAX6675 ไปยังช่องของบอร์ด Arduino ดังนี้ ขา GND. เข้ากับช่อง GND. ขา VCC เข้ากับช่องไฟ 5 V. ขา SCK เข้ากับช่อง Digital ที่ 10 ขา CS เข้ากับช่อง Digital ที่ 9 และขา SO เข้ากับช่อง Digital ที่ 8 ดังรูปที่ 3.37



รูปที่ 3.37 การเชื่อมต่อบอร์ด MAX6675 เข้ากับบอร์ด Arduino

หลังจากทำการเชื่อมต่อ Thermocouple เข้ากับบอร์ด Arduino แล้วจึงการเขียนโปรแกรม ในการอ่านค่าอุณหภูมิจาก Thermocouple โดยโปรแกรมต้นฉบับแบบสมบูรณ์สามารถดูได้จาก ภาคผนวกที่ ฅ. ซึ่งมีส่วนการทำงานหลัก ๆ ได้แก่ คำสั่ง #include <Thermocouple.h> และ #include <MAX6675_Thermocouple .h> เป็นการเรียกใช้ Library ของ Thermocouple รุ่น MAX6675 คำสั่ง #define SCK_PIN 10, #define CS_PIN 9 และ #define SO_PIN 8 เป็นการ กำหนด port ที่เชื่อมต่อระหว่างบอร์ด MAX6675 กับบอร์ด Arduino คำสั่ง const double celsius = thermocouple->readCelsius(); เป็นการอ่านค่าสัญญาณที่ส่งมาจาก Thermocouple จากนั้นจึงทำการแปลงค่าสัญญาณเป็นค่าแรงดันไฟฟ้า 0 ถึง 5 โวลต์ ด้วยคำสั่ง float Voltage = celsius * (5.0 / 1023.0); จะได้ค่าแรงดันไฟฟ้าในหน่วยโวลต์ออกมา แต่ในส่วนของค่าอุณหภูมิใน เซนเซอร์นี้มีการต่อ port โดยใช้ Digital port อยู่แล้วดังนั้นจึงสามารถใช้ค่าที่อ่านได้มาเป็นค่า อุณหภูมิได้เลย แต่อย่างไรก็ตามก่อนการใช้งานผู้ทดลองได้ทำการตรวจสอบความถูกต้องของอุณหภูมิ โดยเทียบกับ Thermometer พบว่า Thermocouple มีค่าอุณหภูมิที่สูงกว่า Thermometer อยู่ 5 องศาเซลเซียส ดังนั้นผู้ทดลองจึงได้ทำการเขียนโปรแกรมปรับแก้ให้ค่าอุณหภูมิจาก Thermocouple ตรงกับค่าอุณหภูมิที่วัดได้จาก Thermometer คือมีการเขียนลบค่าอุณหภูมิที่อ่านได้จาก Thermocouple เท่ากับ 5 องศาเซลเซียส ผ่านคำสั่ง float DegreeCelsius = celsius - 5; ดังรูปที่ 3.38 ทำให้ค่าอุณหภูมิตมีความถูกต้องเมื่อเทียบกับค่าจาก Thermometer

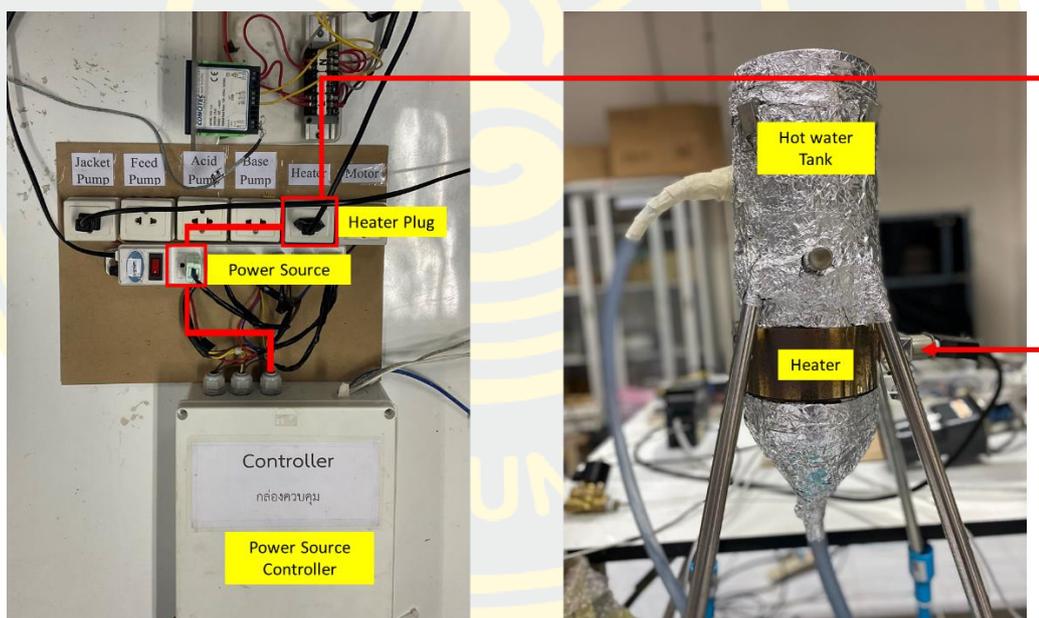
```
#include <Thermocouple.h>
#include <MAX6675_Thermocouple.h>
#define SCK_PIN 10
#define CS_PIN 9
#define SO_PIN 8

const double celsius = thermocouple->readCelsius();
float Voltage = celsius * (5.0 / 1023.0);
Serial.print("Voltage (mV) : ");
Serial.print(Voltage);
float DegreeCelsius = celsius - 5;
Serial.print("    Temperature is : ");
Serial.println(DegreeCelsius);
delay(1000);
```

รูปที่ 3.38 โปรแกรมการทำงานหลัก ๆ ของอุปกรณ์วัดอุณหภูมิ Thermocouple MAX6675

3.2.11 การเชื่อมต่ออุปกรณ์และการเขียนโปรแกรมควบคุมสถานะ

3.2.11.1 อุณหภูมิ การควบคุมอุณหภูมิภายในถังปฏิกรณ์ใช้ระบบการไหลวนของน้ำร้อนที่ต้มจากถังต้มน้ำร้อนไหลวนผ่านตามชั้นแจ็กเก็ตที่ล้อมรอบตัวถังปฏิกรณ์ ในการต้มน้ำร้อนในถังต้มน้ำร้อนอาศัยฮีตเตอร์แบบแจ็กเก็ต (Jacket Heater) ที่ครอบอยู่ตัวถังต้มน้ำร้อน ฮีตเตอร์นี้ควบคุมอุณหภูมิโดยการทำงานแบบเปิดเมื่ออุณหภูมิต่ำกว่าช่วงที่กำหนดและปิดเมื่ออุณหภูมิอยู่ในช่วงที่กำหนด ซึ่งช่วงที่อุณหภูมิที่กำหนดถูกระบุจากระบบ NETPIE และมี Thermocouple ภายในถังต้มน้ำร้อนในการวัดอุณหภูมิเปรียบเทียบกับอุณหภูมิในช่วงที่กำหนดเพื่อใช้ในการเปิด-ปิดฮีตเตอร์ การเปิด-ปิดการทำงานของฮีตเตอร์นี้จะอาศัยการควบคุมการจ่ายกระแสไฟฟ้าจากรีเลย์ ซึ่งรีเลย์จะถูกสั่งการมาจากบอร์ด Arduino อีกทีและมีอุปกรณ์วัด Thermocouple ในถังต้มน้ำร้อนเชื่อมต่อกับบอร์ด Arduino เพื่อวัดค่าอุณหภูมิ ณ เวลานั้น ๆ เปรียบเทียบช่วงค่าอุณหภูมิที่กำหนด ดังนั้นลักษณะการเชื่อมเพื่อควบคุมฮีตเตอร์จะเป็นดังแสดงไว้ในรูปที่ 3.39

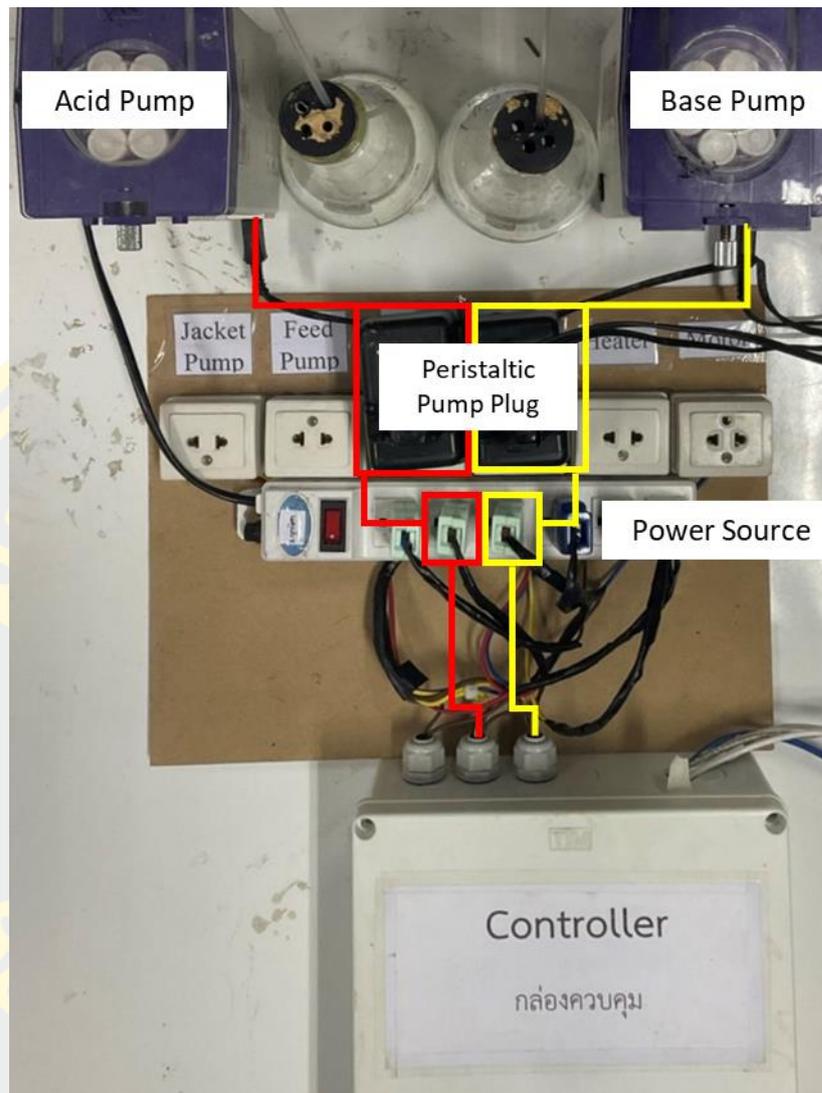


รูปที่ 3.39 การเชื่อมต่ออุปกรณ์เพื่อควบคุมฮีตเตอร์

ในส่วนของโปรแกรมที่เขียนขึ้นเพื่อใช้ในการควบคุมอุณหภูมิแบบสมบูรณจะถูกระบุไว้ในภาคผนวกที่ ๓. โดยจะมีโปรแกรมที่เขียนบนบอร์ด ESP8266 ซึ่งเป็นโปรแกรมในส่วนของการรับค่าอุณหภูมิจากบอร์ด Arduino ส่งขึ้นไปแสดงผลบน NETPIE หรือนำไปเก็บเป็นข้อมูลใน Google sheet และโปรแกรมที่เขียนบนบอร์ด Arduino จะเป็นส่วนที่ใช้ในการอ่านค่าอุณหภูมิจาก

Thermocouple และเปรียบเทียบค่าอุณหภูมิ ณ เวลานั้นกับอุณหภูมิในช่วงค่าที่ผู้ใช้งานกำหนดและสั่งการต่อรีเลย์ให้ปิดหรือเปิดการจ่ายกระแสไฟไปยังฮีตเตอร์ โดยคำสั่งหลัก ๆ ดังนี้

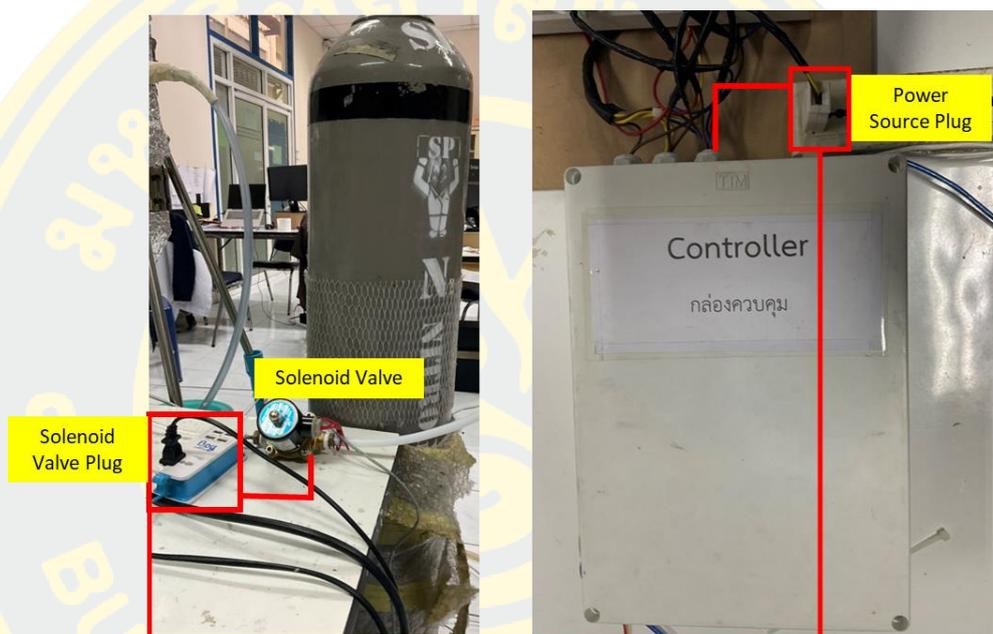
3.2.11.2 ค่าความเป็นกรด-ด่าง การควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างจะอาศัยการเติมสารละลาย NaOH ในกรณีที่ค่าสารละลายน้ำหมักมีค่าความเป็นกรดเกินกว่าที่กำหนด และเติมสารละลาย HCl ในกรณีที่สารละลายน้ำหมักมีค่าความเป็นด่างเกินกว่าที่กำหนด โดยสารละลาย NaOH และ HCl จะถูกบรรจุอยู่ในขวดรูปชมพู่ การเติมสารละลายเหล่านี้ลงในถังปฏิกรณ์จะอาศัยการทำงานของ Peristaltic pump ในการค่อย ๆ หยดสารละลายเหล่านี้ลงไปพร้อมทั้งกวนและวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายน้ำหมักหลังจากการเติมสารละลายปรับค่าความเป็นกรด-ด่างลงไปในการทำงานของโปรแกรมบนบอร์ด Arduino มีการทำงานแบบเรียงลำดับคำสั่งที่ละบรรทัด ดังนั้นการสั่งการอย่างอุปกรณ์ให้ทำงาน ณ ช่วงเวลาเดียวกันสามารถดำเนินการควบคุมอุปกรณ์ได้เพียงหนึ่งอุปกรณ์เท่านั้น เมื่อเสร็จสิ้นคำสั่งจึงสามารถทำตามคำสั่งต่อไปได้ ดังนั้นการควบคุม Peristaltic pump ในการเติมสารละลายกรด-ด่างต้องมีการเติมให้แล้วเสร็จก่อนจึงสามารถทำการวัดค่าความเป็นกรด-ด่างจาก pH meter ได้ ในการเขียนโปรแกรมควบคุมในครั้งนี้ผู้ทดลองจึงได้มีการกำหนดช่วงเวลาในการทำงานของ Peristaltic pump ไว้ที่ 10 วินาที แล้วจึงทำการวัดค่าความเป็นกรด-ด่างอีกที หากค่าที่วัดได้อยู่ในช่วงค่าที่กำหนดแล้วจะไม่สั่งให้ Peristaltic pump ทำงานอีกรอบ แต่หากค่าที่วัดได้ไม่อยู่ในช่วงค่าที่กำหนด ก็จะทำให้การสั่งการให้ Peristaltic pump ทำงานอีกรอบแล้วจึงทำการวัดอีกครั้งวนไปอย่างนี้เรื่อย ๆ จนค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วงที่กำหนด การควบคุมการทำงานของ Peristaltic pump อาศัยการจ่ายกระแสไฟจากรีเลย์ซึ่งถูกควบคุมมาจากบอร์ด Arduino อีกที และมี pH meter ในการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ณ เวลานั้น ๆ เทียบกับช่วงค่าที่กำหนดจึงมีลักษณะการเชื่อมต่ออุปกรณ์ดังที่แสดงไว้ในรูปที่ 3.40



รูปที่ 3.40 การเชื่อมต่ออุปกรณ์ในการควบคุม Peristaltic pump

ในส่วนของการเขียนโปรแกรมเพื่อควบคุม Peristaltic pump เพื่อใช้ควบคุมค่าความเป็นกรด-ต่างแบบสมบูรณ์จะถูกระบุไว้ในภาคผนวกที่ ๓. โดยจะมีโปรแกรมที่เขียนบนบอร์ด ESP8266 ซึ่งเป็นโปรแกรมในส่วนของการรับค่าความเป็นกรด-ต่างจากบอร์ด Arduino ส่งขึ้นไปแสดงผลบน NETPIE หรือนำไปเก็บเป็นข้อมูลใน Google sheet และโปรแกรมที่เขียนบนบอร์ด Arduino เป็นส่วนที่ใช้ในการอ่านค่าความเป็นกรด-ต่างจาก pH meter และเปรียบเทียบค่าความเป็นกรด-ต่าง ณ เวลานั้นกับค่าความเป็นกรด-ต่างในช่วงค่าที่ผู้ใช้งานกำหนดและสั่งการต่อรีเลย์ให้ปิดหรือเปิดการจ่ายกระแสไฟไปยัง Peristaltic pump

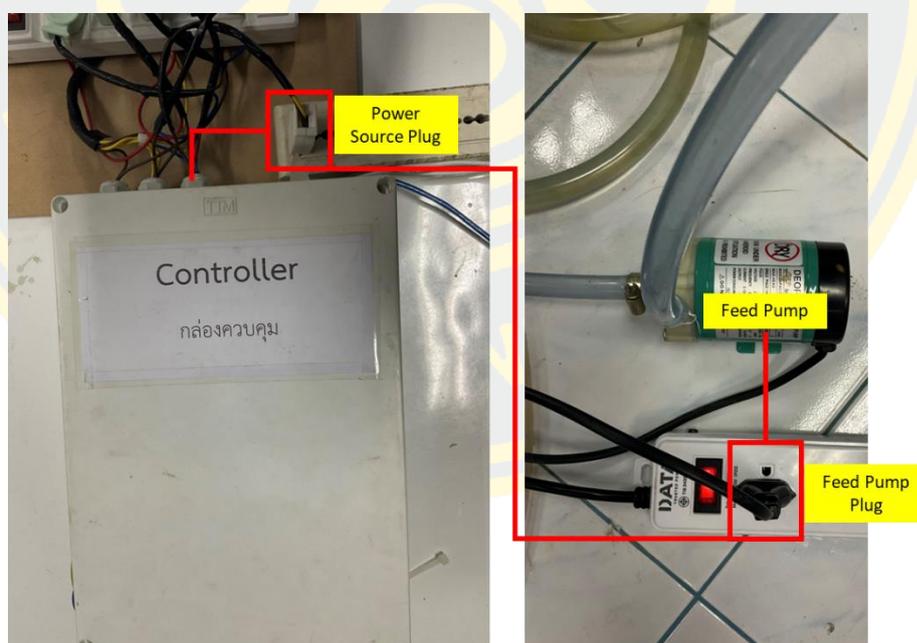
3.2.11.3 สภาวะไร้ออกซิเจน การคุมสภาวะไร้ออกซิเจนก็การทำให้ออกซิเจนในถังปฏิกรณ์ชีวภาพปราศจากแก๊สออกซิเจน ในการทดลองนี้ใช้วิธีการพ่นแก๊สไนโตรเจนในการไล่แก๊สออกซิเจนภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพออก ผู้ทดลองได้ทำการวางระบบการควบคุมการพ่นแก๊สไนโตรเจนเข้าสู่ถังปฏิกรณ์โดยการควบคุมผ่านวาล์วโซลินอยด์ ซึ่งวาล์วนี้เป็นวาล์วไฟฟ้าสั่งการปิดหรือเปิดได้ด้วยการจ่ายกระแสไฟฟ้า ซึ่งในการจ่ายกระแสไฟฟ้าให้กับวาล์ว ถูกควบคุมโดยรีเลย์ที่ถูกสั่งการโดยบอร์ด Arduino อีกที ดังนั้นลักษณะการเชื่อมต่อจึงเป็นดังแสดงไว้ในรูปที่ 3.41



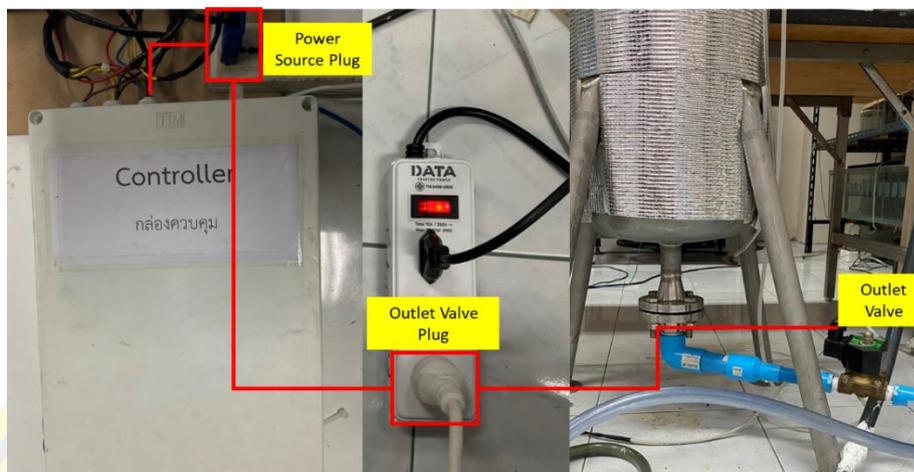
รูปที่ 3.41 การเชื่อมต่อการควบคุมวาล์วโซลินอยด์

ในส่วนของการเขียนโปรแกรมเพื่อควบคุมวาล์วโซลินอยด์เพื่อใช้ควบคุมปริมาณแก๊สออกซิเจนภายในถังปฏิกรณ์แบบสมบูรณ์ถูกระบุไว้ในภาคผนวกที่ ๓. โดยมีโปรแกรมที่เขียนบนบอร์ด ESP8266 ซึ่งเป็นโปรแกรมในส่วนของรับค่าปริมาณแก๊สออกซิเจนภายในถังปฏิกรณ์จากบอร์ด Arduino ส่งขึ้นไปแสดงผลบน NETPIE หรือนำไปเก็บเป็นข้อมูลใน Google sheet และโปรแกรมที่เขียนบนบอร์ด Arduino เป็นส่วนที่ใช้ในการอ่านค่าปริมาณแก๊สออกซิเจนภายในถังปฏิกรณ์จาก Grove oxygen sensor และเปรียบเทียบค่าปริมาณแก๊สออกซิเจน ณ เวลานั้นกับค่าปริมาณแก๊สออกซิเจนในช่วงค่าที่ผู้ใช้งานกำหนดและสั่งการต่อรีเลย์ให้ปิดหรือเปิดการจ่ายกระแสไฟไปยังวาล์วโซลินอยด์

3.2.11.4 การนำเข้าและส่งออกสาร เมื่อเริ่มต้นการหมัก มีการนำสารละลายอาหารหมักที่ผสมกับเชื้อกลายพันธุ์ที่ใช้หมักเข้าสู่ถังปฏิกรณ์ชีวภาพ และเมื่อสิ้นสุดการหมักจะมีการปล่อยผลิตภัณฑ์น้ำหมักออกสู่ถังเก็บ โดยการควบคุมการนำเข้าสารเข้าสู่ถังปฏิกรณ์ถูกนำเข้าโดยการปั๊มนำเข้า และการนำสารออกสู่ถังเก็บถูกควบคุมโดยการใช้วาล์วโซลินอยด์ ในการควบคุมการเปิดหรือปิดอุปกรณ์เหล่านี้ถูกควบคุมโดยการจ่ายกระแสไฟฟ้าผ่านทางรีเลย์ ซึ่งรีเลย์ถูกควบคุมและสั่งการโดยบอร์ด Arduino ซึ่งในการนำเข้าหรือปล่อยออกสารจะไม่ได้ถูกควบคุมแบบอัตโนมัติโดยการเปรียบเทียบกับช่วงค่าที่ถูกใช้กำหนดดังเช่นค่าอุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจนและค่าความเป็นกรด-ด่าง แต่ถูกควบคุมโดยการสั่งการด้วยตนเอง (Manual) ของผู้ใช้งานเอง ดังนั้นการสั่งการให้จ่ายไฟฟ้าแก่อุปกรณ์ของรีเลย์จากบอร์ด Arduino จะถูกรับส่งมาจากบอร์ด ESP8266 ที่รับคำสั่งมาจากระบบ NETPIE อีกที กล่าวคือเมื่อผู้ใช้งานมีการสั่งการปิดหรือเปิดอุปกรณ์ผ่านทางระบบ NETPIE ระบบ NETPIE จะนำคำสั่งส่งไปยังบอร์ด ESP8266 จากนั้นบอร์ด ESP8266 ทำการส่งต่อไปยังบอร์ด Arduino อีกทีเพื่อให้บอร์ด Arduino สั่งการไปที่รีเลย์ให้จ่ายหรือหยุดจ่ายกระแสไฟฟ้าแก่อุปกรณ์ทำให้อุปกรณ์ปิดหรือเปิดได้ ในการเชื่อมต่ออุปกรณ์ควบคุมปั๊มนำเข้าสารดังแสดงไว้ในรูปที่ 3.42 (ก.) และวาล์วโซลินอยด์สำหรับปล่อยออกสารดังแสดงไว้ในรูปที่ 3.42 (ข.)



(ก.)

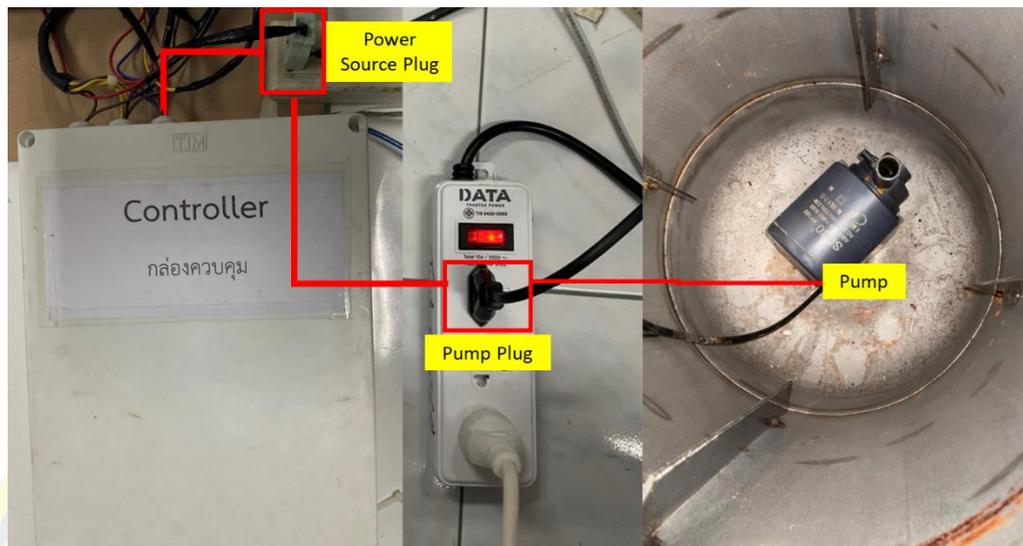


(ข.)

รูปที่ 3.42 การเชื่อมต่ออุปกรณ์เพื่อควบคุมปั้มน้ำเข้าสารและวาล์วโซลินอยด์สำหรับปล่อยออกสาร
(ก.) ปั้มน้ำเข้าสาร (ข.) วาล์วโซลินอยด์สำหรับปล่อยออกสาร

ในส่วนของการเขียนโปรแกรมเพื่อควบคุมปั้มน้ำและวาล์วโซลินอยด์เพื่อใช้ควบคุมน้ำเข้าหรือปล่อยออกสารในถังปฏิกรณ์แบบสมบูรณ์ถูกระบุไว้ในภาคผนวกที่ ๓. โดยมีโปรแกรมที่เขียนบนบอร์ด ESP8266 ซึ่งเป็นโปรแกรมรับคำสั่งจากผู้ใช้จากระบบ NETPIE และโปรแกรมบนบอร์ด Arduino ซึ่งเป็นโปรแกรมสั่งการต่อรีเลย์ให้ปิดหรือเปิดการจ่ายกระแสไฟไปยังปั้มน้ำหรือวาล์วโซลินอยด์โดยคำสั่งหลัก ๆ ดังนี้

3.2.11.5 การกวน ในการออกแบบการกวนผู้ทดลองได้ทำการออกแบบให้ใช้มอเตอร์ที่ต่อกับใบกวนเข้าสู่ถังปฏิกรณ์ใช้ในการกวนสารละลายในถังปฏิกรณ์ ซึ่งการทำงานของมอเตอร์จะอาศัยการจ่ายกระแสไฟฟ้าเข้าสู่กล่องควบคุมมอเตอร์โดยอาศัยรีเลย์การควบคุมการจ่ายกระแสไฟฟ้า โดยรีเลย์ถูกควบคุมมาจากบอร์ด Arduino ซึ่งบอร์ด Arduino รับคำสั่งมาจากบอร์ด ESP8266 ที่รับคำสั่งมาจากผู้ใช้งานจากระบบ NETPIE ดังเช่นการควบคุมปั้มน้ำเข้าสารและวาล์วโซลินอยด์ในการปล่อยออกสารในถังปฏิกรณ์ในข้อที่ 4 แต่อย่างไรก็ตามก่อนทำการทดลองผู้ทดลองพบว่ามอเตอร์มีการเกิดความเสียหายทำให้ไม่สามารถใช้งานได้ ผู้ทดลองจึงได้ทำการเปลี่ยนจากการใช้มอเตอร์มาใช้ปั้มน้ำกวนแทน ซึ่งผู้ทดลองได้ทำการเปลี่ยนจากการต่อรีเลย์เข้ากับกล่องควบคุมมอเตอร์มาเป็นต่อเข้ากับปั้มน้ำกวนแทน ซึ่งเป็นการควบคุมการกวนโดยใช้ปั้มน้ำกวนโดยระบบการควบคุมยังคงเหมือนการควบคุมการกวนด้วยมอเตอร์ การเชื่อมต่ออุปกรณ์โดยใช้ปั้มน้ำกวนเป็นดังแสดงไว้ในรูปที่ 3.43



รูปที่ 3.43 การเชื่อมต่ออุปกรณ์เพื่อควบคุมปั้มน้ำกวน

ในส่วนของการเขียนโปรแกรมเพื่อควบคุมปั้มน้ำกวนเพื่อใช้ควบคุมการกวนสารในถังปฏิกรณ์แบบสมบูรณ์จะถูกระบุไว้ในภาคผนวกที่ ๓. โดยจะมีโปรแกรมที่เขียนบนบอร์ด ESP8266 ซึ่งเป็นโปรแกรมรับคำสั่งจากผู้ใช้ในจากระบบ NETPIE และโปรแกรมบนบอร์ด Arduino ซึ่งเป็นโปรแกรมสั่งการต่อรีเลย์ให้ปิดหรือเปิดการจ่ายกระแสไฟไปยังปั้มน้ำกวนโดยคำสั่งหลัก ๆ ดังนี้

3.2.12 การเขียนโปรแกรมเพื่อเชื่อมต่อกับระบบ NETPIE การสร้าง NETPIE

Application NETPIE Freeboard และ NETPIE Feed

การเชื่อมต่อกับระบบ NETPIE นั้นจะอาศัยการเชื่อมต่อผ่านบอร์ด ESP8266 ซึ่งเป็นบอร์ดที่มีคุณสมบัติในการเชื่อมต่อกับสายพาย (Wi-Fi) ได้ โดยจะเป็นการเขียนโปรแกรมเพื่อเชื่อมต่อซึ่งจะมีด้วยกัน 2 ส่วนได้แก่ส่วนของโปรแกรมบนบอร์ด ESP8266 และส่วนของโปรแกรมบนระบบ NETPIE ดังนี้

1) โปรแกรมบนบอร์ด ESP8266 โดยโปรแกรมแบบสมบูรณ์จะถูกระบุไว้ในภาคผนวก ๓. ซึ่งจะมีคำสั่งหลักได้แก่ หมายเลข 1 เป็นการเรียกใช้ Library ของ NETPIE ผ่านคำสั่ง `#include <MicroGear.h>` หมายเลข 2 เป็นการเชื่อมต่ออินเทอร์เน็ต (Wi-Fi) ผ่านชื่อของ Wi-Fi และ Password หมายเลข 3 เป็นการระบุรหัสการเชื่อมต่อกับระบบ NETPIE ในส่วนของ APPID, KEY, SECRET เป็นส่วนที่ได้จาก NETPIE Application ส่วน ALIAS คือชื่อของ Device key ใน NETPIE Application ส่วนของ TARGETNAME คือ Data source ใน NETPIE Freeboard และของ Feeds

ID และ Feeds key คือส่วนที่ได้จาก NETPIE Feed หมายเลข 4 เป็นการตรวจจับ Key word ของข้อมูลที่ส่งมาเพื่อให้มีการแยกข้อมูลในการดำเนินการได้อย่างถูกต้อง หมายเลข 5 เป็นการระบุให้มีการเปิดรับค่าข้อมูลที่มี Key word ตามที่ระบุ หมายเลข 6 เป็นการส่งค่าของข้อมูลกลับไปยังระบบ NETPIE ดังรูปที่ 3.44

```
#include <ESP8266WiFi.h>
#include <MicroGear.h>

const char* ssid = "BIOREACTOR";
const char* password = "61910131";

#define APPID "BIOREACTOR"
#define KEY "gBPA0jevleOviLJ"
#define SECRET "cPQ48EaIZqzS8Qo8aQHkPEpdc"
#define ALIAS "TempMax"
#define TARGETNAME "Temp"
#define TARGETNAME1 "Heater"
#define FEEDS_ID "BioengFeed"
#define FEEDS_KEY "74BYtsPJukN1UJoXrv7xNKFAg7kHOvyF"

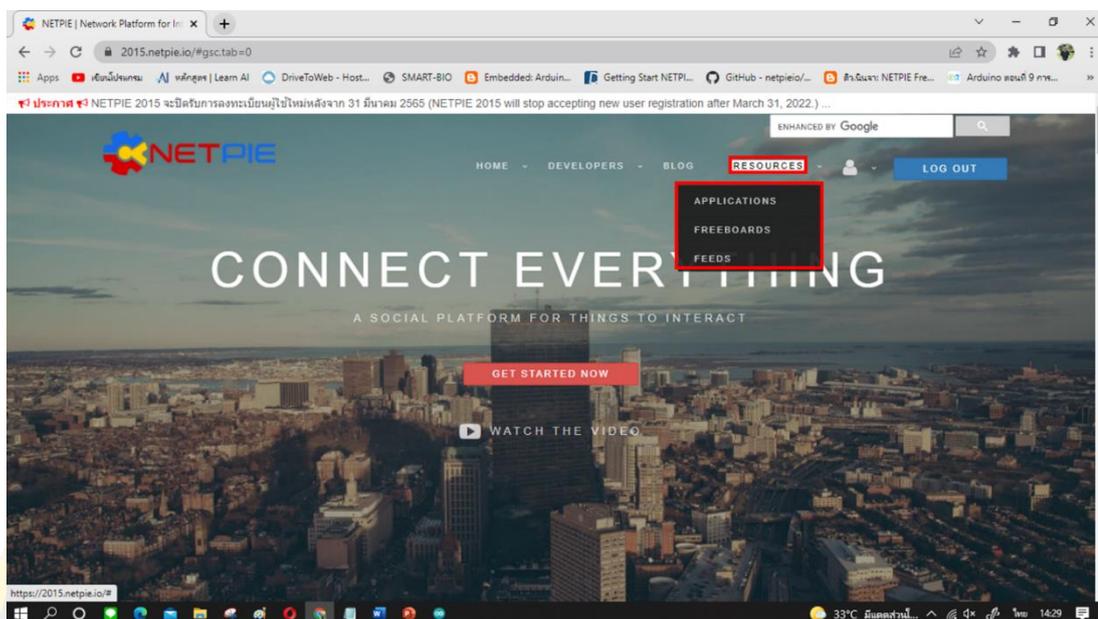
if (topicstring == "/BIOREACTOR/temp/set/FactorTemp")

microgear.subscribe("/temp/set/FactorTemp");
microgear.subscribe("/temp/set/Max");
microgear.subscribe("/temp/set/Min");

microgear.loop();
microgear.chat(TARGETNAME, DegreeCelsius);
```

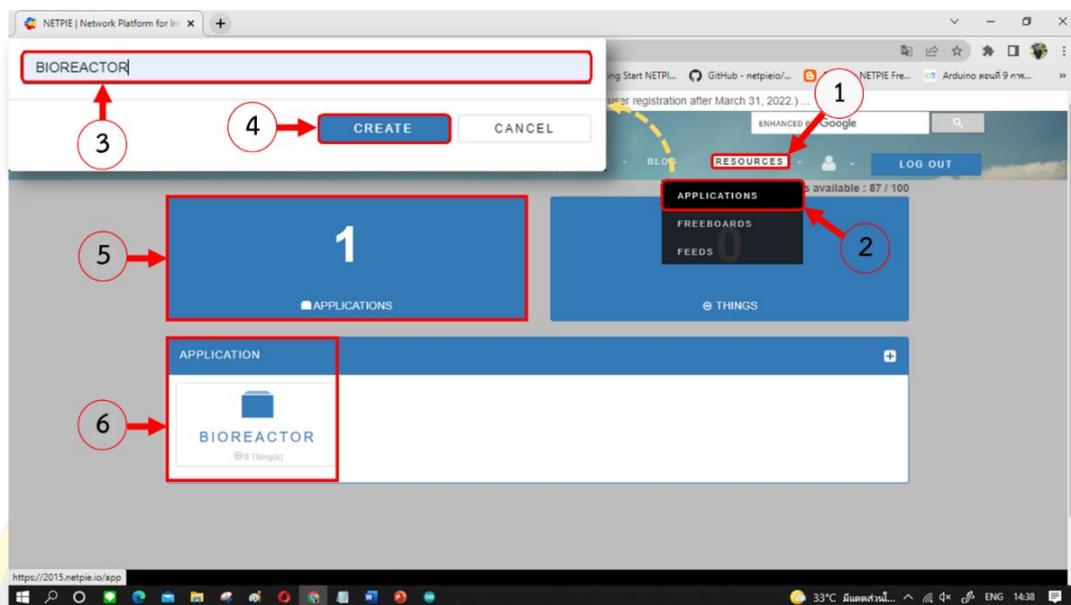
รูปที่ 3.44 โปรแกรมคำสั่งการเชื่อมต่อ NETPIE บนบอร์ด ESP8266

2) โปรแกรมบนระบบ NETPIE โดยโปรแกรมแบบสมบูรณ์จะถูกระบุไว้ในภาคผนวก ก. ซึ่งมีคำสั่งหลัก ๆ และวิธีการสร้างดังนี้ เมื่อทำการเข้าสู่เว็บบริการ NETPIE 2015 (เว็บไซต์ในการเข้าถึง <https://2015.netpie.io/#gsc.tab=0>) ต้องทำการสมัครสมาชิกก่อนเสร็จแล้วให้ทำการ Login เข้าสู่ระบบ จะพบหน้าเว็บไซต์ดังรูปที่ 3.45 เมื่อคลิกเลือกที่เมนู RESOURCES จะพบกับบริการ APPLICATIONS, FREEBOARDS และ FEEDS ซึ่งทั้ง 3 บริการจะถูกใช้ในการสร้างระบบสั่งการและแสดงผลสถานะของถังปฏิกรณ์ในการทดลองนี้



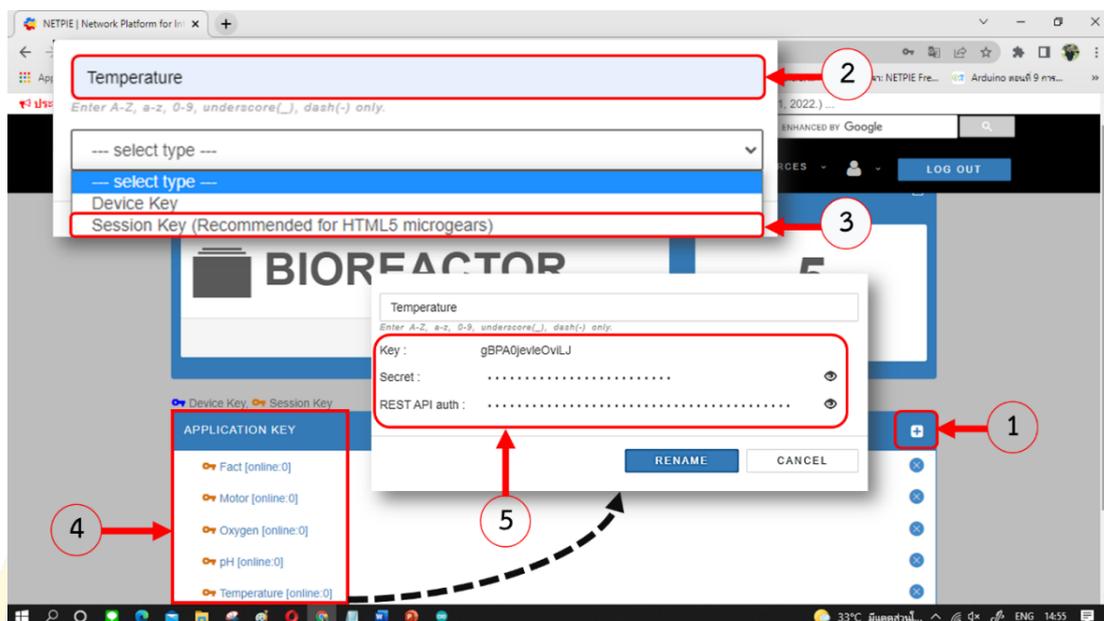
รูปที่ 3.45 หน้าเว็บไซต์ NETPIE หลังจากทำการ Login ระบบ

2.1) การสร้าง NETPIE Application เป็นการสร้างตำแหน่งของโครงการในการติดต่อสื่อสารกับบอร์ด ESP8266 ในการสร้าง NETPIE Application นั้นเมื่อทำการ Login เข้าสู่ระบบให้ทำการคลิกเลือกที่เมนู Resources (หมายเลข 1) และเลือกไปยัง Applications (หมายเลข 2) จะปรากฏช่องให้ทำการพิมพ์ตั้งชื่อ (หมายเลข 3) เมื่อตั้งชื่อโครงการเสร็จจึงกด Create (หมายเลข 4) เพื่อทำการสร้าง เมื่อทำการสร้างเสร็จจะพบว่ามีจำนวนของ Applications ที่สร้างขึ้น (หมายเลข 5) และมีชื่อโครงการหรือ Applications และจำนวนของอุปกรณ์ที่เชื่อมต่อ โดยสังเกตที่ได้ชื่อ Application ตรงคำว่า Thing(s) (หมายเลข 6) ดังรูปที่ 3.46



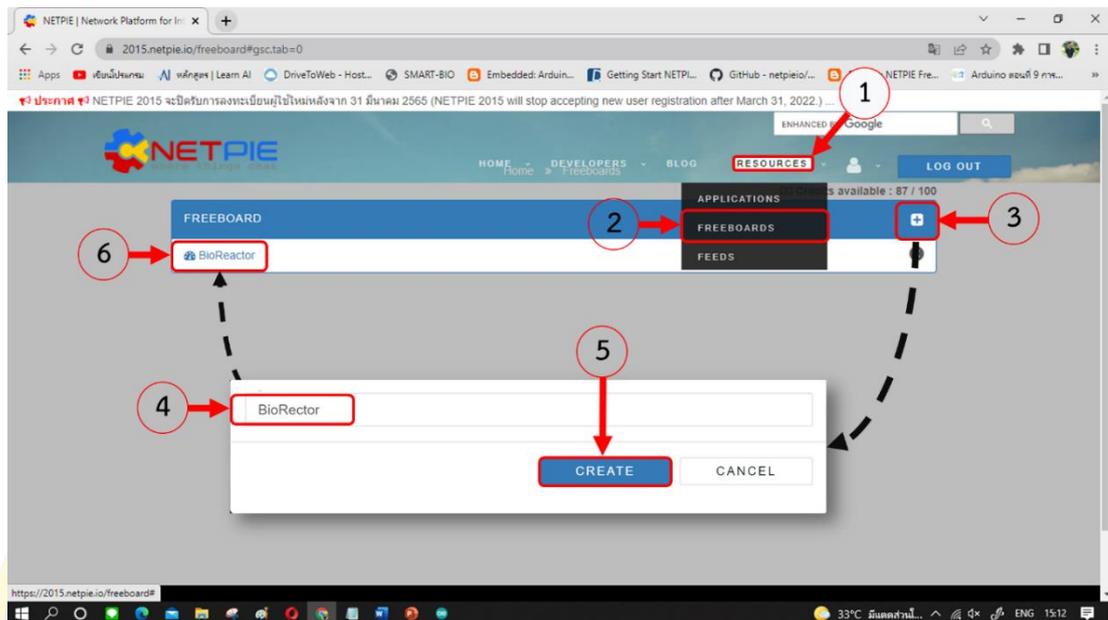
รูปที่ 3.46 การสร้าง NETPIE Applications

เมื่อสร้างทำการสร้าง NETPIE Applications แล้วให้ทำการเปิดโพลเดอร์ในหมายเลขที่ 6 รูปที่ 3.46 จะพบหน้าเว็บไซต์ดังรูปที่ 3.47 ให้ทำการสร้าง Application Key เพื่อเป็นการระบุรหัสประจำอุปกรณ์ที่จะทำการเชื่อมต่อ ให้มีการรับ ส่งข้อมูลแยกตามอุปกรณ์นั้น ๆ ในการสร้าง Application Key ให้ทำการการคลิกที่เครื่องหมายบวก (หมายเลข 1) จากนั้นจะพบช่องให้กรอกชื่ออุปกรณ์ (หมายเลข 2) ให้ทำการกรอกชื่ออุปกรณ์แล้วให้ทำการเลือกชนิดอุปกรณ์ให้เลือกเป็น Session Key (Recommended for HTML 5 microgear) (หมายเลข 3) เนื่องจากการทดลองครั้งนี้เป็นการติดต่อสื่อสารอุปกรณ์และระบบ NETPIE ผ่าน Library ที่ชื่อ Microgear เป็นการติดต่อสื่อสารแบบใช้ HTML5 Microgear เช่น Browser ที่มีการ Run HTML5 บนหน้าเว็บสำหรับ Monitor หรือเป็นอุปกรณ์เซนเซอร์จะเหมาะสมกับ Session Key มากกว่า Device Key ที่เหมาะกับอุปกรณ์ที่ไม่มี Monitor บนหน้าเว็บ เมื่อทำการตั้งชื่อและเลือกรูปแบบ Key แล้วให้กด Create เป็นการสร้างเสร็จสิ้น จากนั้นจะปรากฏรายชื่ออุปกรณ์ที่ทำการสร้าง (หมายเลข 4) ให้คลิกเลือกที่ชื่ออุปกรณ์จะปรากฏรหัส Key, Secret และ REST API auth (หมายเลข 5) ให้ทำการคัดลอก Key และ Secret (ยกเว้น REST API auth จะไม่ได้ใช้ในส่วนนี้) ไว้เพื่อใช้ในการเขียนโปรแกรมบนบอร์ด ESP8266 ในการติดต่อสื่อสารกับ NETPIE ในส่วนของอุปกรณ์นั้น ๆ



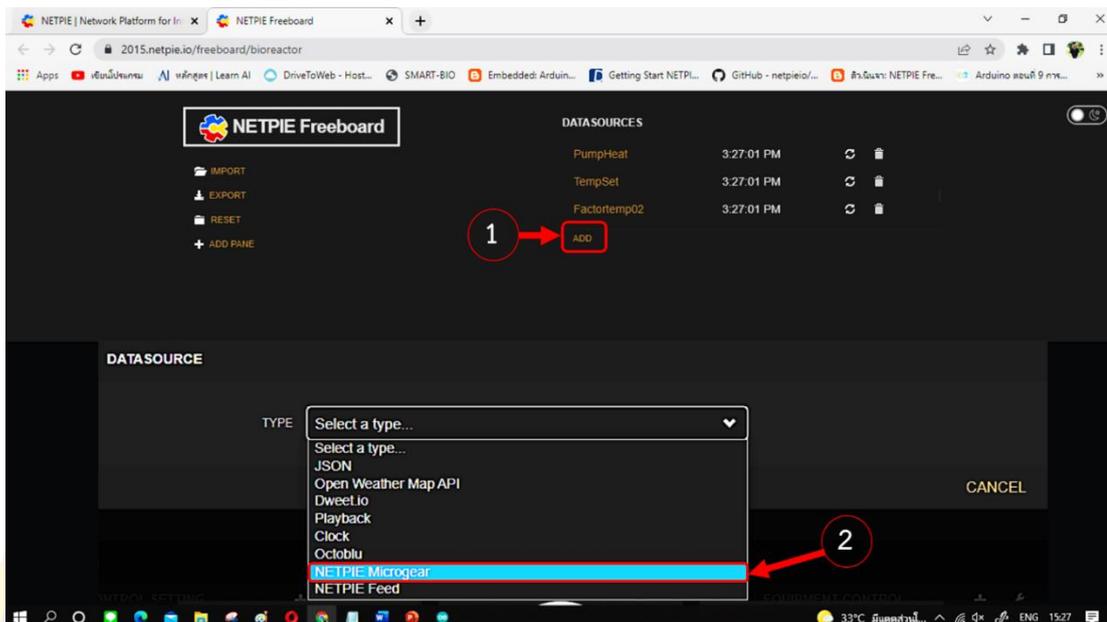
รูปที่ 3.47 การสร้าง Application Key

2.2) การสร้าง NETPIE Freeboard หลังจากสร้าง NETPIE Applications แล้ว จะต้องทำการสร้าง NETPIE Freeboard ซึ่งเป็นส่วนของการแสดงผลและสั่งการ มีขั้นตอนการสร้าง คือ คลิกเลือกที่ Resources (หมายเลข 1) หลังจาก Login เลือกไปยัง Freeboard (หมายเลข 2) จากนั้นให้ทำการเลือกไปยังเครื่องหมายบวก (หมายเลขที่ 3) จะปรากฏช่องให้กรอกชื่อ Freeboard (หมายเลข 4) ให้ทำการตั้งชื่อ Freeboard และคลิกเลือกที่ Create (หมายเลข 5) เพื่อเป็นการสร้าง เมื่อสร้างเสร็จจะเห็นมีรายการ Freeboard ปรากฏอยู่ (หมายเลข 6) ดังรูปที่ 3.48



รูปที่ 3.48 การสร้าง NETPIE Freeboard

เมื่อทำการสร้าง NETPIE Freeboard เสร็จแล้วให้คลิกเปิดรายการ NETPIE Freeboard ที่ได้ทำการสร้างเอาไว้ตรงตำแหน่งหมายเลข 6 ในรูปที่ 3.48 จะปรากฏหน้าเว็บไซต์ดังรูปที่ 3.49 จากนั้นทำการสร้างแหล่งนำเข้าข้อมูล ซึ่งเป็นการนำข้อมูลจาก NETPIE Applications ที่รับข้อมูลมาจากบอร์ด ESP8266 อีกที โดยการคลิกเลือกที่คำว่า Add (หมายเลข 1) จะขึ้นให้เลือกชนิดของข้อมูลว่ามีลักษณะการส่งมาแบบใด ให้คลิกเลือกที่ NETPIE Microgear เนื่องจากข้อมูลที่ถูกส่งมานั้นมีการติดต่อสื่อสารกันระหว่างบอร์ด ESP8266 กับ NETPIE Application แบบ Microgear (หมายเลข 2) เป็นการติดต่อสื่อสารแบบส่งค่าและรับค่าของข้อมูล



รูปที่ 3.49 การเลือกชนิดข้อมูลแบบ NETPIE Microgear

เมื่อทำการคลิกเลือกการนำเข้าแหล่งข้อมูล (Data source) แบบ Microgear ตามรูป 3.49 เรียบร้อยแล้วนั้นจะปรากฏหน้าเว็บให้กรอกข้อมูลดังรูปที่ 3.50 ได้แก่ Type ให้เลือกเป็น NETPIE Microgear, Name ให้ตั้งเป็นชื่อของข้อมูลที่ต้องนำเข้าเช่น Temperature, APP ID คือชื่อ NETPIE Application ที่ได้ทำการตั้งไว้ในขั้นตอนของการสร้าง NETPIE Application, KEY และ Secret มาจาก Application Key ใน NETPIE Application และ Subscribed Topics คือการระบุเพิ่มเติมว่าต้องการให้ข้อมูลที่นำเข้ามานี้ถูกใช้ในส่วนไหนบ้างและในส่วนของ Subscribed Topics นี้จะเชื่อมโยงกับโปรแกรมบนบอร์ด ESP8266 ที่ถูกส่งมาในมีการระบุให้ข้อมูลนี้ถูกใช้ใน Subscribed Topics นั้น ๆ เท่านั้นและข้อมูลที่ถูกส่งมาระบบ NETPIE จะสามารถนำไปประมวลผลได้เฉพาะส่วนที่มีการระบุหัวข้อ Subscribed Topics ที่ตรงกันเท่านั้น เมื่อทำการกรอกข้อมูลเสร็จแล้วจึงคลิกเลือก Save เป็นการเสร็จสิ้นการนำเข้าข้อมูลจาก NETPIE Applications มายัง NETPIE Freeboard

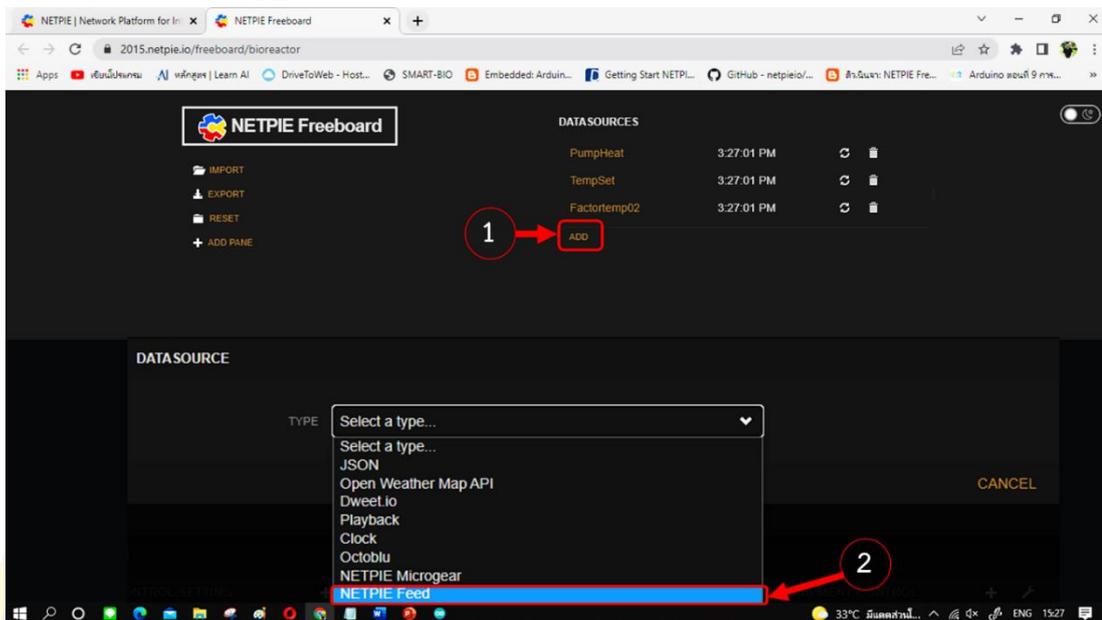
Connect to NETPIE as a microgear to communicate real-time with other microgears in the same App ID. The microgear of this datasource is referenced by microgear[DATASOURCENAME]

TYPE	NETPIE Microgear
NAME	Temperature
APP ID	BIOREACTOR <small>NETPIE App ID obtained from https://netpie.io/app</small>
KEY	gBPA0jevleOviLJ <small>Key</small>
SECRET	cPQ48EalZqzS8Qo8aQHKpEpdC <small>Secret</small>
SUBSCRIBED TOPICS	/temp/set <small>Topics of the messages that this datasource will consume, the default is /# which means all messages in this app ID.</small>
ONCREATED ACTION	 <small>JS code to run after a datasource is created</small>
ONCONNECTED ACTION	 <small>JS code to run after a microgear datasource is connected to NETPIE</small>

SAVE CANCEL

รูปที่ 3.50 การระบุแหล่งข้อมูลบน NETPIE Freeboard ในรูปแบบ NETPIE Microgear

ในการระบุแหล่งข้อมูลบน NETPIE Freeboard นอกจากจะระบุเป็นรูปแบบ NETPIE Microgear ซึ่งเป็นแบบการรับส่งข้อมูลแล้วนั้น เมื่อต้องการแสดงผลสถานะของถังปฏิกรณ์ชีวภาพในรูปแบบของกราฟจะต้องมีการระบุแหล่งของข้อมูลเป็นแบบ NETPIE Feed โดยการคลิกเลือกที่ Add (หมายเลข 1) จากนั้นคลิกเลือก NETPIE Feed (หมายเลข 2) ดังรูปที่ 3.51



รูปที่ 3.51 การเลือกชนิดข้อมูลแบบ NETPIE Feed

เมื่อทำการเลือกชนิดข้อมูลแบบ NETPIE Feed แล้วจะปรากฏหน้าเว็บให้กรอกข้อมูลดังรูปที่ 3.52 ซึ่งมีรายละเอียดที่ต้องการกรอกดังนี้ Type ให้เลือกเป็น FeedView คือให้แสดงในรูปแบบของกราฟ Title ให้กรอกชื่อกราฟที่ต้องการจะแสดง Data Source ให้กรอกเป็น datasources ["Feeds"]["data"] ซึ่งเป็นระบุเรียกข้อมูลจาก NETPIE Feed ส่วน Filter คือให้ระบุหัวข้อของข้อมูลที่ถูกตั้งบน NETPIE Feed จากนั้นจะเป็นการระบุส่วนของรูปแบบกราฟมีส่วนหลัก ๆ ดังนี้ Type of chart คือรูปแบบของกราฟให้เลือกเป็น Line ให้กราฟเส้น ส่วน X Axis title คือการระบุชื่อแกน X และ Y Axis title คือการระบุชื่อแกน Y เมื่อเสร็จแล้วให้เลือก Save เพื่อบันทึกการนำเข้าสู่ข้อมูลจาก NETPIE Feed มายัง NETPIE Freeboard

WIDGET

TYPE:

TITLE:

DATA SOURCE: + DATASOURCE JS EDITOR

FILTER:
Data fields separated with comma e.g. temp,humid,light. Blank means display all fields.

TYPE OF CHART:

X AXIS TITLE:

Y AXIS TITLE:

BEGIN AT 0: NO

LINE COLORS:
enter the color set separated by comma e.g. #f00000,#00f000,#0000ff or leave blank for the default color set.

MAKER: YES

MULTIPLE AXIS: YES

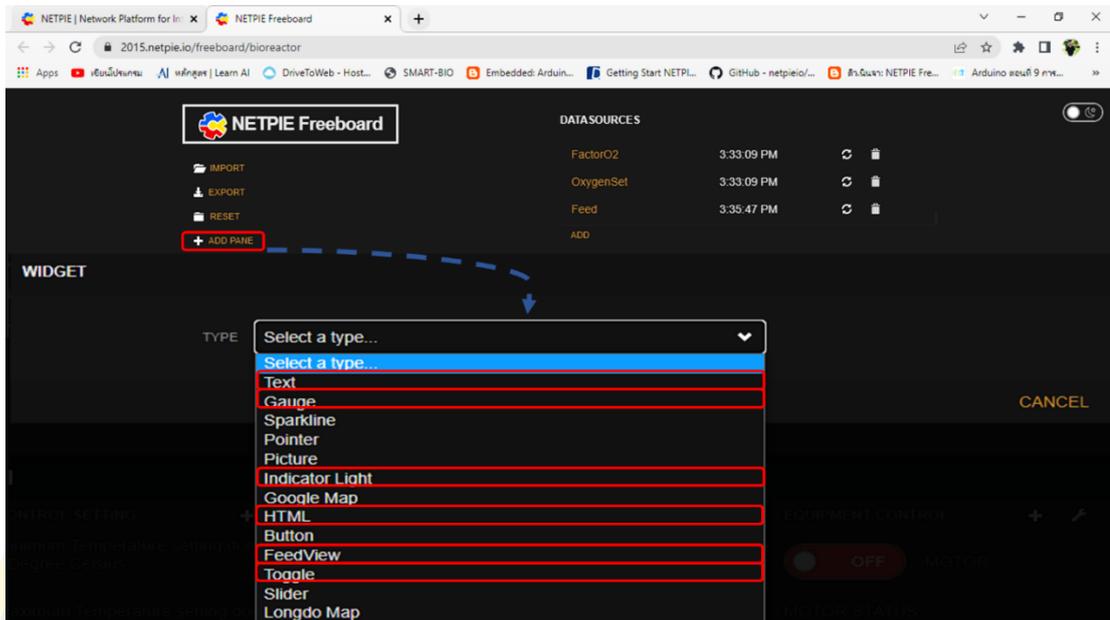
AUTO GAP: NO

HEIGHT BLOCKS:

SAVE CANCEL

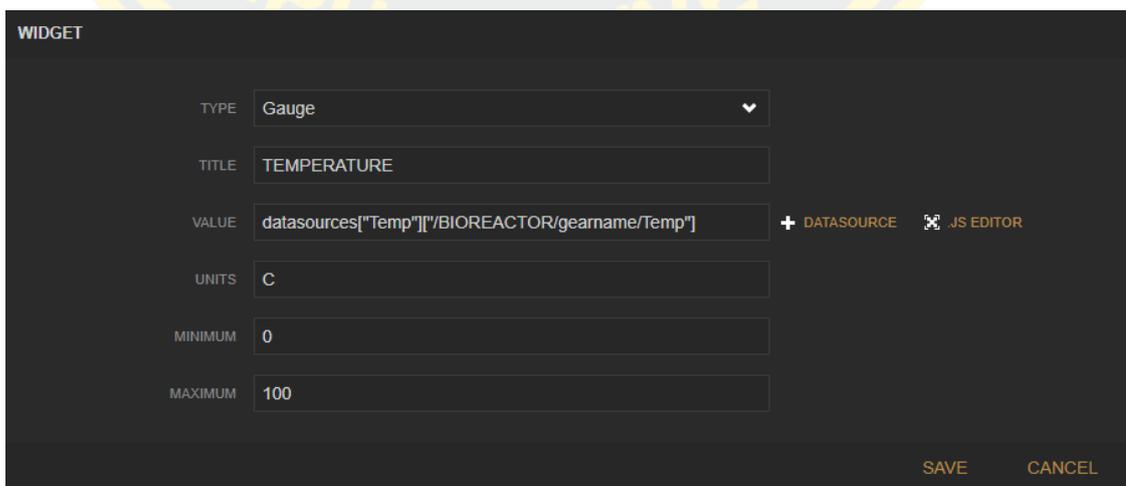
รูปที่ 3.52 การระบุแหล่งข้อมูลบน NETPIE Freeboard ในรูปแบบ NETPIE Feed

หลังจากทำการเพิ่มแหล่งข้อมูลลงใน NETPIE Freeboard แล้วจึงทำการสร้างส่วนของการแสดงข้อมูลและสั่งการ (Pane) โดยการกดที่ Add Pane จะปรากฏให้เลือกชนิดของ Pane ซึ่งชนิดของ Pane ที่นำมาใช้ในงานวิจัยนี้ได้แก่ Text, Gauge, Indicator Light, HTML, Feed View และ Toggle ดังรูปที่ 3.53

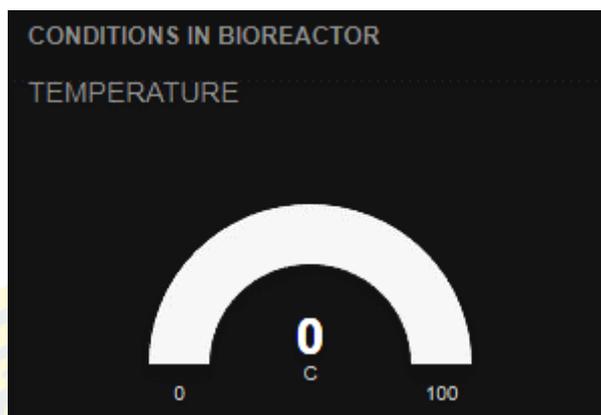


รูปที่ 3.53 การเลือกรูปแบบ Pane

Pane ในรูปแบบ Gauge เป็น Pane ที่ใช้ในการแสดงค่าของข้อมูลแบบ Real time การเลือก Pane ในรูปแบบ Gauge เมื่อคลิกเลือกแล้วจะปรากฏช่องให้กรอกข้อมูลคือ Title คือการตั้งหัวข้อของข้อมูล Value ให้คลิกเลือกตรงตำแหน่ง Data source ของข้อมูลที่ต้องการนำมาใช้ Units คือหน่วยของข้อมูลที่นำมาแสดง Minimum คือค่าต่ำสุดของ Gauge ข้อมูลและ Maximum คือค่าสูงสุดของ Gauge ข้อมูล เมื่อทำการกำหนดค่าทุกอย่างเสร็จเรียบร้อยแล้วจึงทำการ Save ดังรูปที่ 3.54 หน้า Freeboard จะแสดง Pane ในรูปแบบ Gauge ขึ้นดังรูปที่ 3.55



รูปที่ 3.54 การกำหนดค่า Pane ในรูปแบบ Gauge



รูปที่ 3.55 Pane ในรูปแบบ Gauge

Pane ในรูปแบบ Toggle เป็น Pane ที่ใช้ในการสั่งการปิด เปิดอุปกรณ์ผ่านรหัสคำสั่ง (Key word) ส่งไปยังบอร์ด ESP8266 บนบอร์ด ESP8266 จะทำการตรวจจับคำสั่งและดำเนินการตามที่ได้เขียนโปรแกรมไว้ภายใต้ Key word นั้นๆ การเลือก Pane ในรูปแบบ Gauge เมื่อคลิกเลือกแล้วจะปรากฏช่องให้กรอกข้อมูลคือ Toggle caption คือหัวข้อของ Toggle ว่ามีการดำเนินการไปยังอุปกรณ์ใด Toggle state คือตำแหน่งของข้อมูลที่บน NETPIE Application ที่จะนำมาเชื่อมโยงกับ Toggle ส่วนของ Text on และ Text off เป็นการระบุว่าจะเมื่อ Toggle มีการเปิดอยู่หรือ ON ให้แสดงข้อความใดบน Toggle และเมื่อ Toggle มีการปิดอยู่หรือ OFF ให้แสดงข้อความใดบน Toggle ในส่วนของ On toggle on จะเป็นการระบุการส่ง Key word ว่าหากมีการคลิก ON Toggle จะให้มีการส่ง Key word ใดไปยังบอร์ด ESP8266 และหากมีการคลิก OFF Toggle จะให้มีการส่ง Key word ใดไปยังบอร์ด ESP8266 เมื่อทำการกำหนดข้อมูลเสร็จแล้วให้ทำการเลือก Save ดังรูปที่ 3.56 เพื่อบันทึกรายละเอียด เสร็จแล้วจะปรากฏ Pane ในรูปแบบ Toggle ขึ้นบน Freeboard ดังรูปที่ 3.57

WIDGET

A simple toggle widget that can perform Javascript action.

TYPE: Toggle

TOGGLE CAPTION: MOTOR

TOGGLE STATE: `datasources["Motor"]["/BIOREACTOR/gearname/Motor"]=="ONMOTOR"` + DATASOURCE JS EDITOR
Add a condition to switch a toggle state here. Otherwise it just toggle by click.

ON TEXT: ON

OFF TEXT: OFF

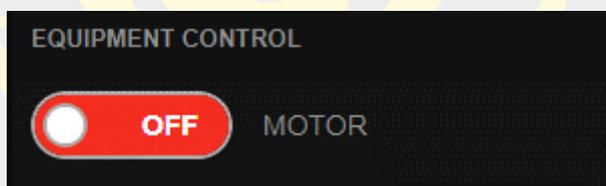
ONTOGGLEON ACTION: `microgear["Motor"].chat("Motor", "ONMOTOR");`
JS code to run when a toggle is switched to ON

ONTOGGLEOFF ACTION: `microgear["Motor"].chat("Motor", "OFFMOTOR");`
JS code to run when a toggle is switched to OFF

ONCREATED ACTION:
JS code to run after a toggle is created

SAVE CANCEL

รูปที่ 3.56 การกำหนดค่า Pane ในรูปแบบ Toggle



รูปที่ 3.57 Pane ในรูปแบบ Toggle

Pane ในรูปแบบ Indicator Light เป็น Pane ที่ใช้ในการแสดงสถานะของอุปกรณ์ โดยจะทำงานเชื่อมโยงกับ Pane แบบ Toggle และบอร์ด ESP8266 ซึ่งเมื่อมีการเปิด-ปิด บน Toggle จะมีการส่ง Key word ไปยังบอร์ด ESP8266 ซึ่งบอร์ดจะมีการส่งกลับมายังระบบ NETPIE ด้วย Key word เพื่อเป็นการยืนยันว่า Key word ที่ทำการส่งไปสามารถส่งถึงบอร์ด ESP8266 ได้จริง เมื่อมีการส่ง Key word กลับมาที่ระบบ NETPIE ตัว Indicator Light จะมีการตรวจจับ Key word และดำเนินการแสดงไฟสถานะปิด หรือเปิดตาม Key word ที่ถูกส่งมา ดังนั้นใน Indicator Light จึงต้องมีการตั้ง Key word ที่ตรงกับกับบอร์ด ESP8266 การเลือก Pane ในรูปแบบ Gauge เมื่อคลิกเลือกแล้วจะปรากฏช่องให้กรอกข้อมูลคือ Title คือหัวข้อ Indicator Light หรือชื่ออุปกรณ์ที่ต้องการแสดงไฟสถานะ Value คือแหล่งข้อมูลที่จะมีการส่งค่าจากบอร์ด ESP8266 ในส่วนของ On text แสดงถึง

ข้อความ Key word ที่จะให้ Indicator Light เปิดไฟสถานะ OFF text แสดงถึงข้อความ Key word ที่จะให้ Indicator Light ปิดไฟสถานะ เมื่อทำการกำหนดข้อมูลเสร็จแล้วจึงทำการกด Save เพื่อ บันทึกและสร้าง Indicator Light ดังรูป 3.58 เสร็จแล้วจะปรากฏ Pane แบบ Indicator Light บน Freeboard ดังรูปที่ 3.59

WIDGET

TYPE: Indicator Light

TITLE: OUTLET VALVE STATUS

VALUE: `datasources["Motor"]['"/BIOREACTOR/gearname/Motor']=="ON"` + DATASOURCE .JS EDITOR

ON TEXT: OUTLET VALVE ON + DATASOURCE .JS EDITOR

OFF TEXT: OUTLET VALVE OFF + DATASOURCE .JS EDITOR

SAVE CANCEL

รูปที่ 3.58 การกำหนดค่า Pane ในรูปแบบ Indicator Light

HEATER PUMP STATUS
 HEATER PUMP OFF

HEATER STATUS
 HEATER OFF

ACID PUMP
 ACID PUMP OFF

BASE PUMP
 BASE PUMP OFF

N2 VALVE
 N2 VALVE OFF

รูปที่ 3.59 Pane ในรูปแบบ Indicator Light

Pane ในรูปแบบ Text เป็น Pane ที่ใช้ในการแสดงข้อมูลแบบเป็นตัวอักษรหรือตัวเลข ในการทดลองนี้จะใช้ในการแสดงค่าของสภาวะเป้าหมาย (Set point) ที่ระบบ NETPIE ส่งไปยังบอร์ด ESP8266 และให้บอร์ด ESP8266 ส่งค่ากลับมาแสดงยังระบบ NETPIE เพื่อเป็นการยืนยันว่าสามารถส่งค่าไปยังบอร์ด ESP8266 ได้จริง เมื่อทำการคลิก Pane แบบ Text จะปรากฏช่องให้กรอกข้อมูล ได้แก่ Title คือหัวข้อของข้อมูลที่จะแสดง Size คือขนาดของค่าที่จะแสดง Value คือแหล่งข้อมูลที่จะนำข้อมูลมาแสดง (Data source) และ Units คือหน่วยของข้อมูลที่จะแสดง เมื่อกำหนดค่าเสร็จแล้วจึงทำการ Save ดังรูปที่ 3.60 เพื่อทำการบันทึกการกำหนดค่า จะปรากฏ Pane รูปแบบ Text ใน Freeboard ดังรูปที่ 3.61

WIDGET

TYPE: Text

TITLE: Minimum Temperature setting done!!!

SIZE: Regular

VALUE: `datasources[\"TempMin\"][\"/BIOREACTOR/temp/set/Min\"]` + DATASOURCE JS EDITOR

INCLUDE SPARKLINE: NO

ANIMATE VALUE CHANGES: YES

UNITS: Degree Celsius

SAVE CANCEL

รูปที่ 3.60 การกำหนดค่า Pane ในรูปแบบ Text

Minimum % of Oxygen setting done!!!
%

Maximum % of Oxygen setting done!!!
%

Oxygen sensor factor calibration

รูปที่ 3.61 Pane ในรูปแบบ Text

Pane ในรูปแบบ HTML เป็น Pane ที่สามารถเขียนคำสั่งโปรแกรมภาษา HTML ได้ ในการทดลองนี้จะใช้ในการส่งค่าสถานะเป้าหมายไปยังบอร์ด ESP8266 ซึ่งมีโปรแกรมคำสั่งดังนี้ คำสั่งในส่วนของหมายเลข 1 เป็นการเขียนโปรแกรมรับค่าจากผู้ใช้งาน คำสั่งในส่วนหมายเลข 2 เป็นส่วนในการเขียนปุ่มดำเนินการกับค่าที่ได้จากการกรอก ซึ่งในการทดลองนี้จะเป็นการดำเนินการเมื่อคลิกปุ่มด้วยการดำเนินการตามฟังก์ชัน ChatToNetpie(ค่าที่ต้องการส่ง) ส่วนหมายเลข 3 เป็นการเขียนฟังก์ชัน ChatToNetpie มีการส่งค่าด้วยการใช้คำสั่ง Microgaer[แหล่งที่ต้องการส่ง].publish(Key word ในการรับของแหล่งข้อมูล); เมื่อทำการเขียนโปรแกรมคำสั่งเสร็จแล้วจึงทำการ Save เพื่อบันทึกการกำหนดค่าดังรูปที่ 3.62 จะปรากฏ Pane ตามรูปแบบ HTML ที่เขียนขึ้นดังรูปที่ 3.63

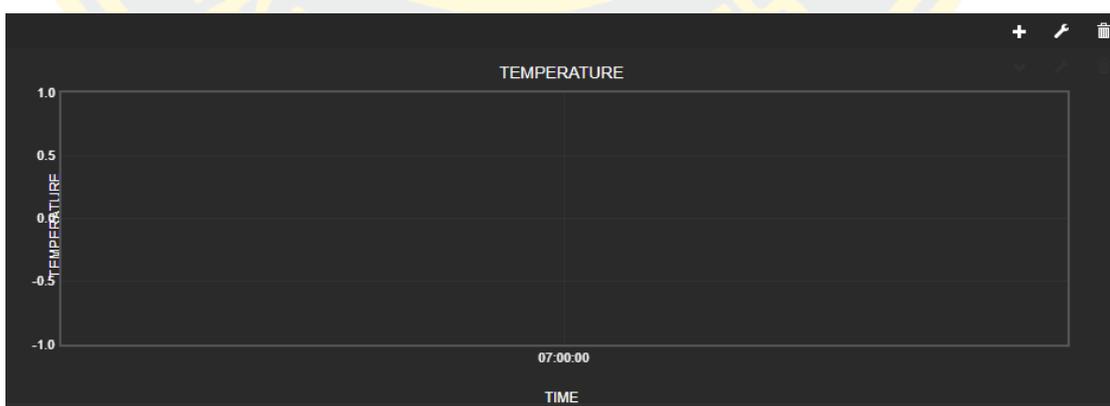
```

<form>
Please!! setting Temperature in degree C unit. <style="margin: 50px 0">
Min. Temp. : <style="margin: 25px 0">
<input id="valmintemp" type="number" maxlength="3" name="valmintemp" style="margin: 10px; width: 50%;"> ← 1
C <style="margin: 25px 0">
Max. Temp. : <style="margin: 25px 0">
<input id="valmaxtemp" type="number" maxlength="3" name="valmaxtemp" style="margin: 10px; width: 50%;">
C <style="margin: 25px 0">

Thermocouple calibration factor setting (default value is 1). <style="margin: 50px 0">
<input id="FactorTemp" type="number" maxlength="1" name="FactorTemp" style="margin: 10px; width: 50%;">
<br>
<input type="button" onclick="chatToNetpie(valmintemp,valmaxtemp,FactorTemp)" value="SET" style="color: LightSeaGreen; width: 100%; height: 28px; "> ← 2
</form>
<script>
function chatToNetpie(valmintemp,valmaxtemp,FactorTemp) {
var value = [valmintemp.value,valmaxtemp.value,FactorTemp.value];
microgear["TempSet"].publish("/temp/set",value);
microgear["TempSet"].publish("/temp/set/Min",valmintemp.value);
microgear["TempSet"].publish("/temp/set/Max",valmaxtemp.value);
microgear["Factortemp02"].publish("/temp/set/FactorTemp",value,FactorTemp.value);
microgear["Factortemp02"].publish("/temp/set/FactorTemp/01",FactorTemp.value);
}
</script>

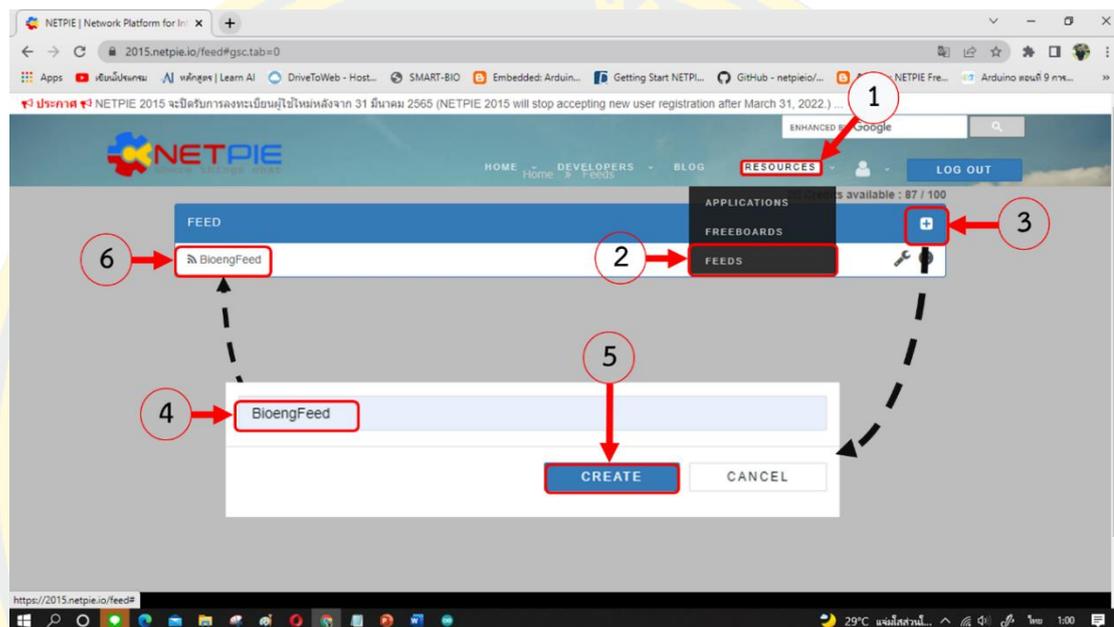
```

รูปที่ 3.62 การกำหนดค่า Pane ในรูปแบบ HTML



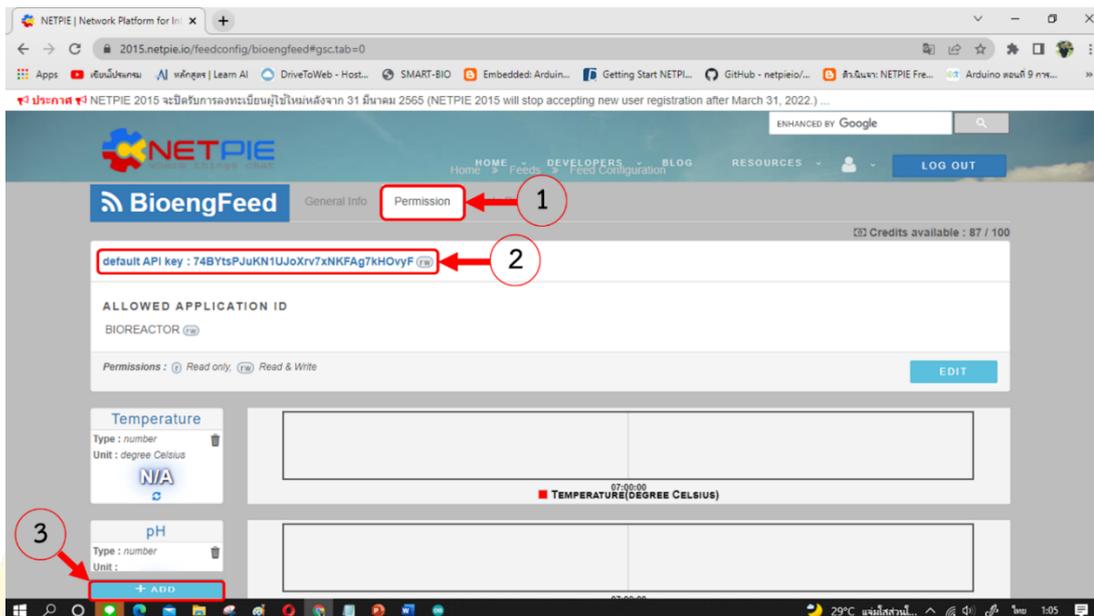
รูปที่ 3.63 Pane ในรูปแบบ HTML

2.3) การสร้าง NETPIE Feed เป็นส่วนที่มีการจัดการรับค่าข้อมูลแล้วให้มีการแสดงข้อมูลในรูปแบบของกราฟ ซึ่งจะมีวิธีการสร้างคือ คลิกเลือก Resources (หมายเลข 1) แล้วเลือก Feeds (หมายเลข 2) จากนั้นเลือกที่เครื่องหมายบวก (หมายเลข 3) จะปรากฏหน้าเว็บให้กรอกชื่อ Feed (หมายเลข 4) แล้วทำการ Create (หมายเลข 5) เพื่อทำการสร้าง Feed เสร็จแล้วจะปรากฏรายการ Feed ที่สร้างขึ้น (หมายเลข 6) ดังรูปที่ 3.64



รูปที่ 3.64 การสร้าง NETPIE Feeds

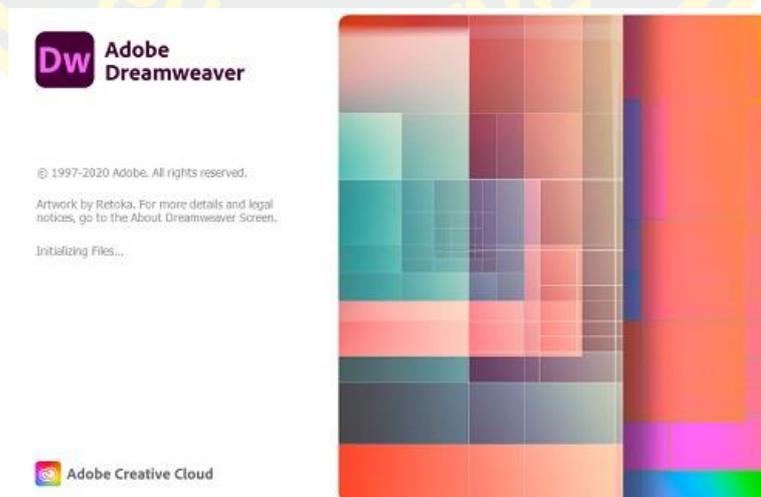
เมื่อทำการสร้าง NETPIE Feeds แล้วให้คลิกเลือกที่ชื่อ Feed ที่สร้างขึ้นเพื่อเปิด Feed และทำการกำหนดค่าดังนี้ เมื่อทำการเปิดเข้ายัง Feed ที่สร้างขึ้นจะพบกับหน้าเว็บดังรูปที่ 3.65 ให้ทำการคลิกเลือกไปยัง Permissions (หมายเลข 1) เพื่อนำรหัสของ NETPIE Feed (หมายเลข 2) ไปใช้ในการสร้างกราฟบน NETPIE Freeboard และนำไปเขียนโปรแกรมบนบอร์ด ESP8266 และให้ทำการสร้างกราฟข้อมูลเพื่อใช้ในการรับค่าข้อมูล โดยการคลิกเลือกที่คำว่า Add (หมายเลข 3) จากนั้นระบุชื่อกราฟและหน่วยของกราฟและบันทึกจะปรากฏกราฟของข้อมูลที่ได้ทำการสร้างไว้บน NETPIE Feed



รูปที่ 3.65 API key และการสร้างกราฟบน NIETPIE Feed

3.2.13 การเขียนหน้าเว็บไซต์เพื่อเข้าสู่ระบบ NETPIE

การเขียนหน้าเว็บไซต์ในการเข้าสู่ระบบ NETPIE นั้นเพื่อให้สะดวกต่อการเข้าใช้งาน และสามารถดาวน์โหลดคู่มือการใช้งานได้จากหน้าเว็บ ซึ่งจะเป็นคู่มือที่มีความเฉพาะต่อระบบการควบคุมสถานะถังปฏิกรณ์ชีวภาพบนระบบ NETPIE (คู่มือตามภาคผนวก ฐ.) ในขั้นตอนการสร้างหน้าเว็บไซต์นั้นจะถูกดำเนินการสร้างโดยใช้โปรแกรม Adobe Dreamweaver 2021 ดังรูปที่ 3.66 โดยสร้างด้วยภาษา HTML โปรแกรมต้นฉบับแบบสมบูรณ์จะถูกระบุไว้ในภาคผนวกที่ ฎ.



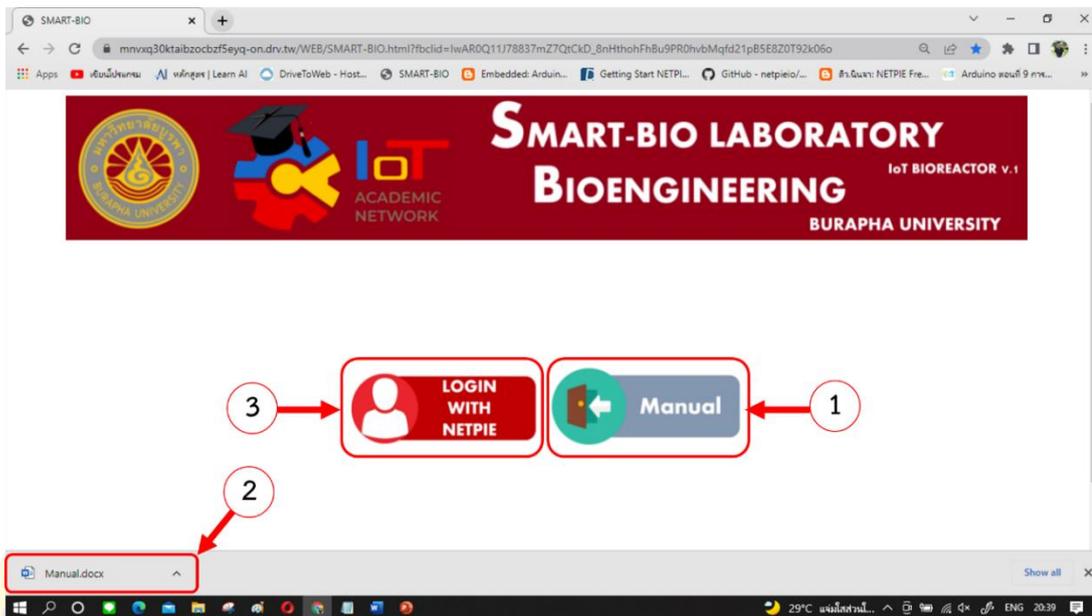
รูปที่ 3.66 โปรแกรม Adobe Dreamweaver 2021

รายละเอียดการเขียนโปรแกรมหน้าเว็บไซต์เข้าสู่ระบบ NETPIE มีคำสั่งหลัก ๆ ดังนี้ คำสั่งการนำเข้ารูปภาพ `` ตัวอย่างเช่นในบรรทัดที่ 12 ในรูปที่ 3.67 คำสั่ง `` เป็นการเชื่อมโยงไปยังเว็บไซต์อื่น ๆ ที่ถูกระบุไว้หรือไฟล์ข้อมูลที่ถูกระบุไว้ดังเช่นในบรรทัดที่ 18 และ 19

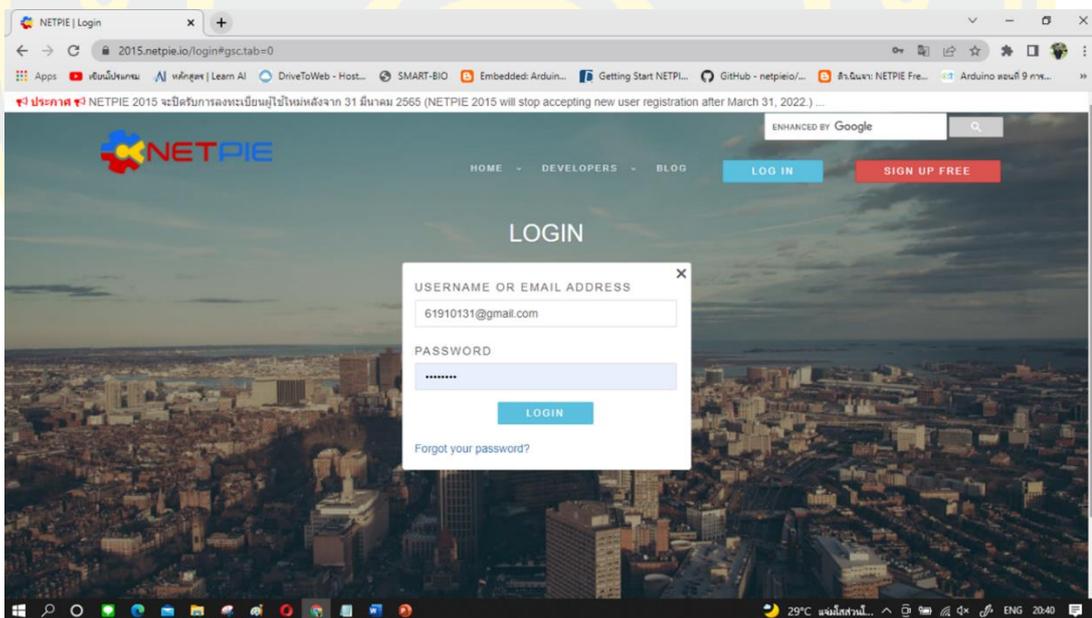
```
SMART-BIO.html *
<!doctype html>
<html>
<head>
4 <meta charset="utf-8">
5 <title>SMART-BIO</title>
6 </head>
7
8 <body>
9 <table align="center" width="1334" height="1077" border="0" cellpadding="1" cellspacing="1">
10 <tbody>
11 <tr>
12 <td width="8666" height="203"></td>
13 </tr>
14 <tr>
15 <td height="818"><table align="center" width="567" border="0" cellspacing="1" cellpadding="1">
16 <tbody>
17 <tr>
18 <td width="277" height="166"><p><a href="https://2015.netpie.io/login#gsc.tab=0"><img
19 <td width="300"><p><a href="Manual.docx"></a></p>
<figcaption></figcaption></td>
20 </tr>
21 </tbody>
22 </table></td>
23 </tr>
24 </tr>
25 <tr>
26 <td height="52"></td>
27 </tr>
28 </tbody>
29 </table>
30 </body>
31 </html>
```

รูปที่ 3.67 คำสั่งในภาษา HTML หลัก ๆ ในการเขียนหน้าเว็บไซต์

เสร็จแล้วให้ทำการบันทึกหน้าเว็บในนามสกุลไฟล์ HTML และทำการเปิดเว็บไซต์ที่สร้างขึ้นบน Web browser เมื่อทำการคลิกที่รูป Manual (หมายเลข 1) จะปรากฏการดาวน์โหลดไฟล์คู่มือ (หมายเลข 2) และเมื่อทำการคลิกที่รูป LOG IN WITH NETPIE (หมายเลข 3) ดังรูปที่ 3.68 จะเข้าสู่หน้า Login ของเว็บไซต์ NETPIE ดังรูป 3.69

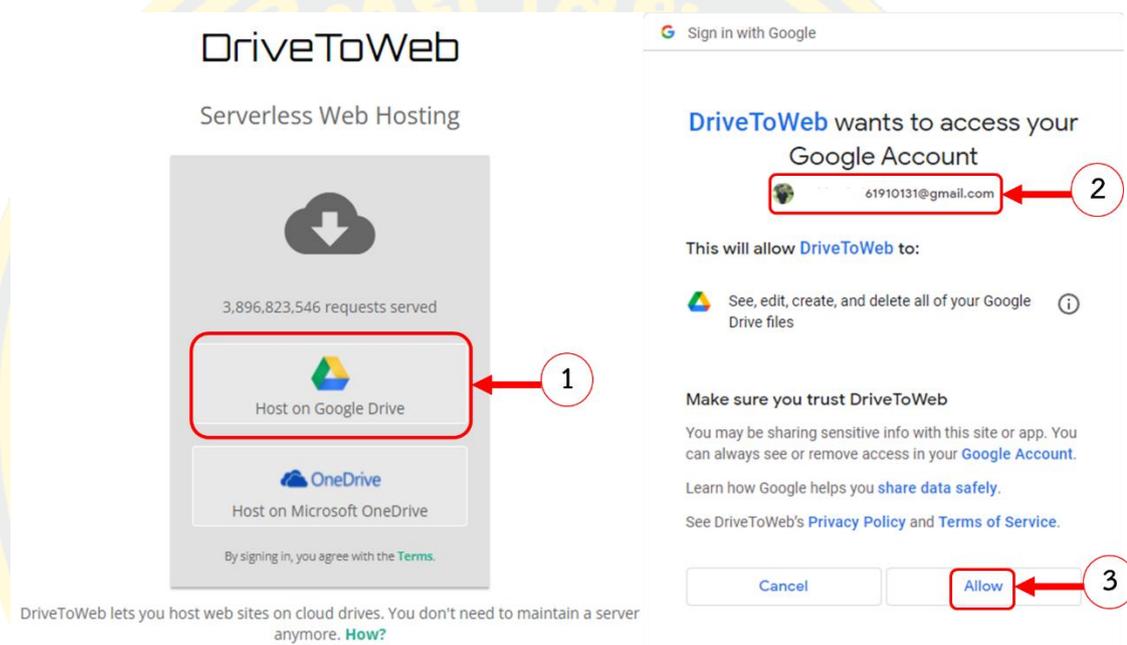


รูปที่ 3.68 การใช้งานฟังก์ชันของเว็บไซต์ที่สร้างขึ้น



รูปที่ 3.69 หน้า Login ของ NETPIE จากการเชื่อมโยงของหน้าเว็บไซต์ที่สร้างขึ้น

เมื่อทำการสร้างหน้าเว็บแล้วจึงทำการบันทึกและทำให้เว็บสามารถเข้าถึงในช่องทางออนไลน์ได้นั้นจำเป็นต้องการระบบ Server ซึ่งในการทดลองนี้จะเป็นการใช้ Google Drive ในการใช้เป็นระบบ Server โดยใช้บริการ Drive To Web ซึ่งสามารถเข้าถึงได้จาก <https://www.driveto.com/> เมื่อเข้าสู่เว็บไซต์ให้คลิกเลือก Google Drive (หมายเลข 1) จากนั้นเว็บไซต์จะให้ Login เข้าสู่ Google Drive ให้เลือกอีเมลของ Google Drive (หมายเลข 2) ที่ต้องการใช้งาน จากนั้น Allow (หมายเลข 3) เพื่ออนุญาตสิทธิในการค้นหาไฟล์ HTML ในการสร้างลิงก์เพื่อเข้าถึงดังรูปที่ 3.70



รูปที่ 3.70 การเข้าใช้งาน Drive To Web

ทำการอัปโหลดไฟล์เว็บไซต์ที่สร้างขึ้นไปยัง Google Drive ที่ได้ทำการเลือกไว้ในบริการ Drive To Web (หมายเลข 1) จากนั้นทำการกด Reload เว็บไซต์ Drive To Web ที่ได้ทำการสมัครไว้จะปรากฏลิงก์เว็บไซต์ตามชื่อไฟล์ HTML ที่ได้ทำการอัปโหลดลง Google Drive (หมายเลข 2) ดังรูปที่ 3.71 และเมื่อทำการคลิกลิงก์จะสามารถเข้าสู่หน้าเว็บไซต์ที่สร้างขึ้นได้ดังรูปที่ 3.72 โดยสามารถนำลิงก์ดังกล่าวไปใช้ในการเข้าถึงหน้าเว็บไซต์ได้

Admin Panel

Congratulations!

In a moment, you will find links to your shared web pages below.

Your pages are cached by us for faster access. As a result, your edits may not be shown immediately. **After you change your content, you may press CTRL-F5 or SHIFT-F5 in your browser to refresh your page.**

Read the [DriveToWeb Docs](#) and learn about:

- **Blogg**ing with static generators;
- Using a **your own domain name** to build your branded website;
- Using a **CDN** to accelerate content access and provide security.

You can access this administrative panel when you sign in from **DriveToWeb**. This admin page is only visible to you, the owner of this cloud drive account.

Have a suggestion for improvement? **Tell us** by email. Please send us your generous **support**.

Your web pages

You can now share the following web pages to everyone. Click to open:

<https://mrvxq30ktaibzocbzf5eyq-on.driv.tw/WEB/SMART-BIO.html>

รูปที่ 3.71 การสร้างลิงก์เข้าสู่หน้าเว็บไซต์จากบริการ Drive To Web

SMART-BIO LABORATORY
BIOENGINEERING
IoT BIOREACTOR v.1
BURAPHA UNIVERSITY

LOGIN WITH NETPIE **Manual**

BIOENGINEERING PROGRAMME, FACULTY OF ENGINEERING, BURAPHA UNIVERSITY, 2021

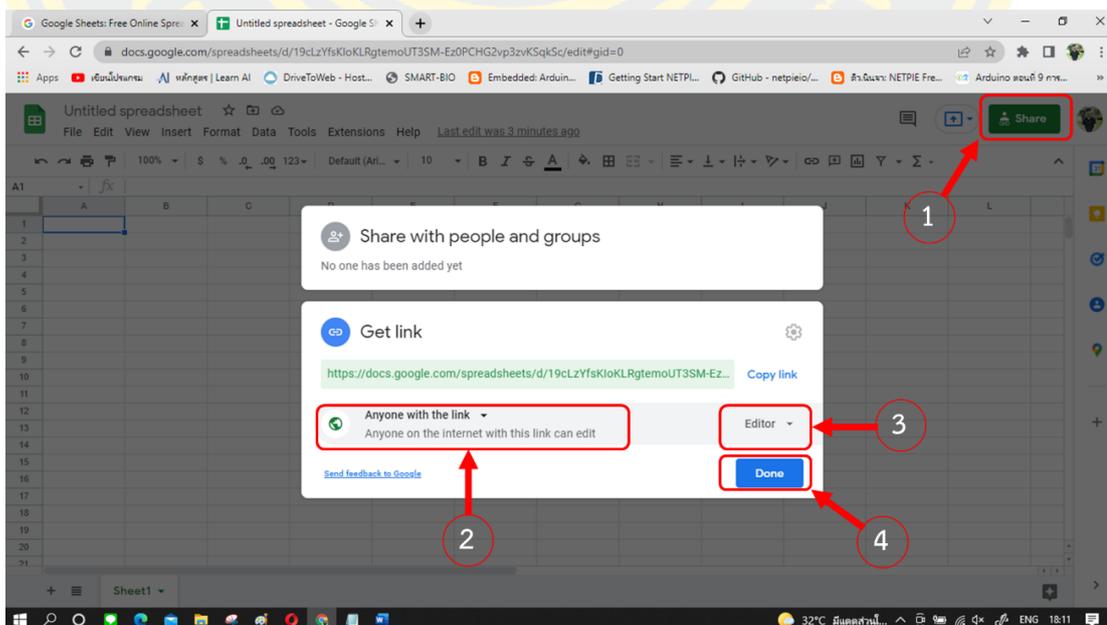
รูปที่ 3.72 หน้าเว็บไซต์ที่สร้างขึ้นโดยเข้าถึงด้วยลิงก์จากบริการ Drive To Web

3.2.14 การเขียนโปรแกรมเก็บข้อมูลบน Google Sheet

การเขียนโปรแกรมเพื่อเก็บข้อมูลสถานะได้แก่ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าปริมาณแก๊สออกซิเจนภายในถังปฏิกรณ์ ค่าอุณหภูมิภายในถังปฏิกรณ์และค่าอุณหภูมิของถังต้มน้ำร้อน ซึ่งจะเป็นการเก็บข้อมูลเทียบกับเวลาทุก ๆ 10 วินาทีต่อข้อมูล 1 ค่า บน Google Sheet ในการเขียนโปรแกรมจะแบ่งออกเป็น 2 ส่วนได้แก่ ส่วนของโปรแกรมที่ถูกเขียนบนบอร์ด ESP8266 และส่วนของโปรแกรมที่ถูกเขียนบน Google Apps Script เพื่อเชื่อมโยงข้อมูลไปเก็บยัง Google Sheet การเขียนโปรแกรมเพื่อเก็บข้อมูลใน Google Sheet นี้ดัดแปลงมาจากวิธีการของ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กิตติพงษ์ สุวรรณราช อาจารย์ประจำคณะคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม ซึ่งโปรแกรมสมบูรณ์จะถูกระบุไว้ดังในผนวกที่ ๗. โดยจะมีส่วนของคำสั่งหลัก ๆ ดังนี้

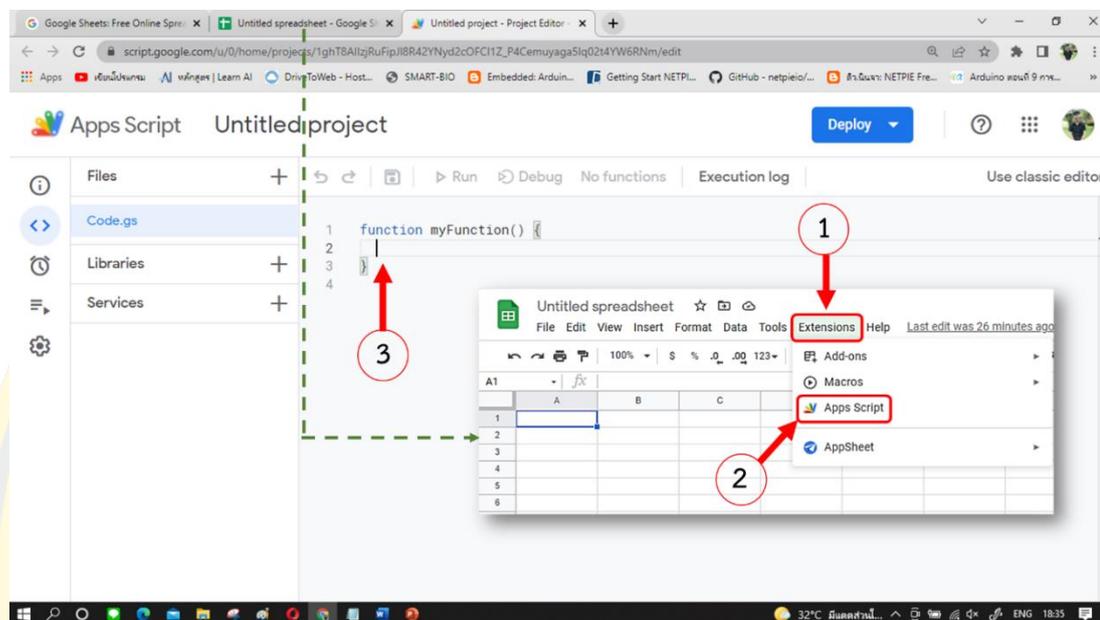
3.2.14.1 ส่วนของ Google Apps Script จะมีวิธีการสร้างและส่วนหลักของโปรแกรมดังนี้

1) เข้าไปยัง Google Sheet สร้างหน้ากระดาษเปล่า Blank และทำการปลดล็อคสิทธิ์การเข้าถึงและแก้ไข โดยให้เลือกไปที่คำว่า Share (หมายเลขที่ 1) จากนั้นเปลี่ยนสิทธิ์การเข้าถึงเป็น Anyone with the link (หมายเลขที่ 2) อนุญาตสิทธิ์เป็นแบบ Editor (หมายเลขที่ 3) และกด Done (หมายเลขที่ 4) ดังรูปที่ 3.73



รูปที่ 3.73 การแก้ไขสิทธิ์การเข้าถึงบน Google Sheet

2) จากนั้นทำการเข้าไปเขียนโปรแกรมคำสั่งใน Google Apps Script โดยกดเลือกแถบเครื่องมือ Extensions (หมายเลข 1) และเลือก Apps Script (หมายเลข 2) จะได้แถบเครื่องมือสำหรับการแก้ไขโปรแกรม Apps Script (หมายเลข 3) ดังรูปที่ 3.74



รูปที่ 3.74 การเข้าใช้งาน Google App Script

3) การเขียนโปรแกรมรับค่าจากบอร์ด ESP8266 แล้วนำไปจัดเก็บใน Google Sheet เป็นภาษา JavaScript ซึ่งจะมีคำสั่งหลัก ๆ ดังนี้ คำสั่ง `var sheet_id = 'Spreadsheet ID'`; เป็นคำสั่งในการระบุตำแหน่ง Google Sheet ที่ต้องการนำข้อมูลไปจัดเก็บโดยการใช้เลข Spreadsheet ID ซึ่งคือเลขบริเวณ `/spreadsheets/d/` จนก่อนถึง `/edit#gid=0` (หมายเลข 1) นำไปใส่แทนตำแหน่ง Spreadsheet ID (หมายเลข 2) คำสั่ง `var Curr_Date = new Date()`; เป็นการระบุวันที่โดยยึดตามวันที่ปัจจุบัน คำสั่ง `rowData[0] = Curr_Date`; เป็นการสั่งให้บันทึกวันที่ลงในคอลัมน์ A (หมายเลข 3) คำสั่ง `var Curr_Time = Utilities.formatDate(Curr_Date, "Asia/Bangkok", 'HH:mm:ss')`; เป็นคำสั่งในการระบุเวลาตามเวลาของกรุงเทพฯ คำสั่ง `rowData[1] = Curr_Time`; เป็นการสั่งให้บันทึกวันที่ลงในคอลัมน์ B (หมายเลข 4) คำสั่ง `case 'ตัวแปรที่จะจัดเก็บค่า': เป็นการระบุตัวแปรที่ต้องนำมาดำเนินการ คำสั่ง rowData[3] = value; เป็นคำสั่งที่ระบุให้มีการบันทึกค่าใน คอลัมน์ C คำสั่ง result = 'ค่าที่ต้องเขียนลงในคอลัมน์ C'; เป็นการเขียนบันทึกค่าลงในคอลัมน์ C คำสั่ง break; คือจบคำสั่งรายการนั้น ๆ ให้ไปทำรายการต่อไป (หมายเลข 5) ดังรูปที่ 3.75`

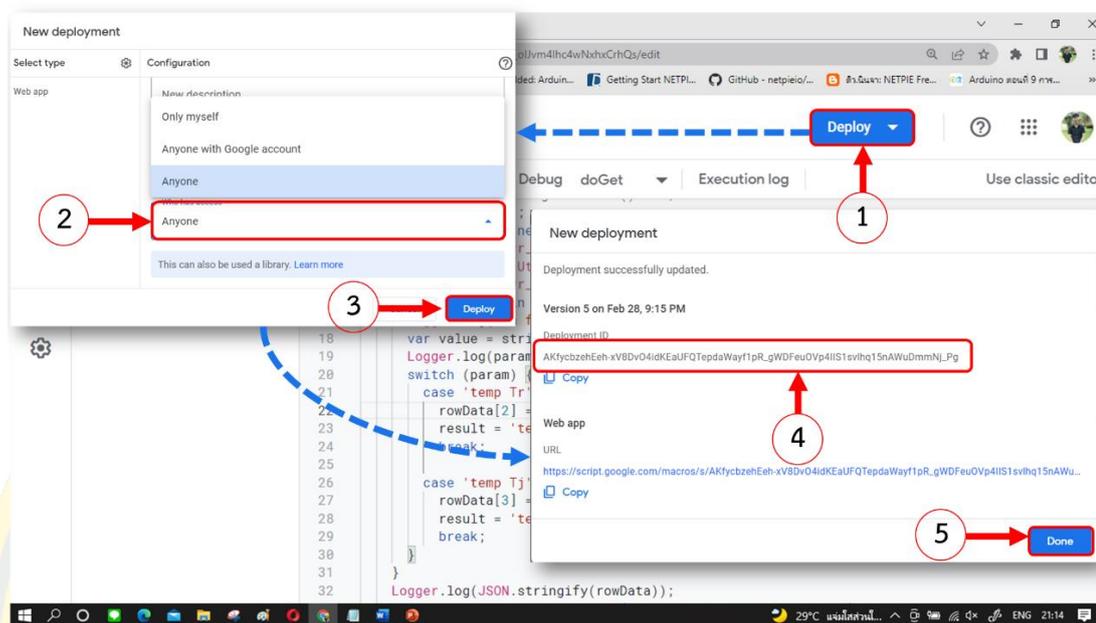
```

var sheet_id = '19cLzYfsKIoKLRgtemoUT3SM-Ez0PCHG2vp3zvKSqkSc'; // Spreadsheet ID
var sheet = SpreadsheetApp.openById(sheet_id).getActiveSheet();
var newRow = sheet.getLastRow() + 1;
var rowData = [];
var Curr_Date = new Date();
rowData[0] = Curr_Date; // Date in column A
var Curr_Time = Utilities.formatDate(Curr_Date, "Asia/Bangkok", 'HH:mm:ss');
rowData[1] = Curr_Time; // Time in column B
for (var param in e.parameter) {
  Logger.log('In for loop, param=' + param);
  var value = stripQuotes(e.parameter[param]);
  Logger.log(param + ':' + e.parameter[param]);
  switch (param) {
    case 'temp Tr':
      rowData[2] = value; // Temperature in column C
      result = 'temp Tr Written on column C';
      break;
  }
}

```

รูปที่ 3.75 การเขียนโปรแกรมจัดเก็บค่าใน Google Apps Script

เมื่อทำการเขียนโปรแกรมจัดเก็บค่าใน Google Apps Script เสร็จแล้วต้องทำการประกาศการใช้งานโดยการคลิกที่ Deploy (หมายเลข 1) จะปรากฏให้เลือกผู้ใช้งานที่สามารถเข้าถึงได้ ให้เลือกเป็นแบบ Anyone (หมายเลข 2) และคลิก Deploy (หมายเลข 3) จะปรากฏเลข Deployment ID (หมายเลข 4) ให้ทำการคัดลอกหมายเลขดังกล่าวไว้เพื่อใช้ในการเขียนโปรแกรมบนบอร์ด ESP8266 ให้สามารถสื่อสารกับโปรแกรมบน Google Apps Script นั้น ๆ ได้ จากนั้นคลิก Deploy (หมายเลข 5) จึงเสร็จกระบวนการเขียนโปรแกรมบน Google Apps Script ดังรูปที่ 3.76



รูปที่ 3.76 การประกาศใช้งาน (Deploy) โปรแกรมจัดเก็บค่าบน Google Apps Script

3.2.14.2 ส่วนของโปรแกรมบนบอร์ด ESP8266 จะมีส่วนของโปรแกรมที่ใช้ติดต่อสื่อสารกับ Google Sheet ผ่าน Google App Script หลัก ๆ จะมีคำสั่ง `#include <WiFiClientSecure.h>` เป็นการเรียกใช้ Library ของการเชื่อมต่อ Wi-Fi แบบมีรหัสผ่าน โดย Wi-Fi ที่ใช้ในการทดลองนี้สามารถเข้าถึงได้จาก คำสั่ง `const char* ssid = "Wi-Fi Name";` คือชื่อ Wi-Fi และคำสั่ง `const char* password = "Wif Password";` คือรหัสผ่าน Wi-Fi จากนั้นจะเป็นการระบุตำแหน่งที่ต้องการจะเชื่อม นั่นคือ Google Apps Script สามารถเข้าถึงได้โดยการระบุที่อยู่เว็บผ่านคำสั่ง `const char* host = "script.google.com";` ซึ่งคือการระบุว่าการเข้าถึงยังเว็บ `script.google.com` คำสั่ง `const int httpsPort = 443;` เป็นการระบุ Port การเชื่อมต่อแบบ HTTPS ซึ่งมีค่ามาตรฐาน Port คือ 443 คำสั่ง `String GAS_ID = "Deployment ID";` เป็นการระบุ ID ของ Google Apps Script ที่ได้ทำการเขียนโปรแกรมจัดเก็บค่าไว้ คำสั่ง `sendData(ข้อมูลที่ต้องการบันทึก);` เป็นคำสั่งในการส่งค่าข้อมูลขึ้นไปยัง Google Apps Script คำสั่ง `void sendData(float value)` เป็นการประกาศฟังก์ชัน `sendData` ซึ่งเป็นฟังก์ชันการส่งข้อมูลเป็นการกำหนดว่าในวงเล็บของ `sendData` เป็นค่าของข้อมูลที่ต้องการจะส่ง คำสั่ง `float string_temp = value;` สร้างตัวแปร `string_temp` ซึ่งกำหนดเป็นข้อมูลชนิด `float` มาเก็บค่าตัวแปร `value` ซึ่งค่าตัวแปร `value` เป็นค่าของข้อมูลที่ต้องการส่งไปยัง Google Apps Script คำสั่ง `String url = "/macros/s/" + GAS_ID + "/exec?temp=" + string_temp;` มีการส่งข้อมูลซึ่งได้แก่ `GAS_ID` ซึ่ง

เป็น Deployment ID และ string_temp ซึ่งเป็นค่าของข้อมูลที่ต้องการจะส่ง โดยจะส่งในรูปแบบของ String ดังรูปที่ 3.77

```
#include <ESP8266WiFi.h>
#include <WiFiClientSecure.h>

const char* ssid = "BIOREACTOR"; //--> Nama Wifi / SSID.
const char* password = "61910131"; //--> Password wifi
const char* host = "script.google.com";
const int httpsPort = 443;

WiFiClientSecure client;
long now = millis();
long lastMeasure = 0;
String GAS_ID = "AKfycbzwrywCJFj1368a8XNrvt-uFbducFvtrPiw9ZvevRupJadZGqNyJs39L1HjSSf-YgpP";

sendData(DegreeCelsius);

void sendData(float value) {
  if (!client.connect(host, httpsPort)) {
    return;
  }
  float string_temp = value;
  String url = "/macros/s/" + GAS_ID + "/exec?temp=" + string_temp ;
}
```

รูปที่ 3.77 โปรแกรมคำสั่งหลัก ๆ บนบอร์ด ESP8266 ในการส่งค่าข้อมูลไปยัง Google Apps Script

3.2.15 การผลิตบิวทานอลจากเชื้อที่พัฒนาสายพันธุ์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพต้นแบบที่มี

ระบบควบคุมสถานะ

ในการหมักบิวทานอลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพนั้นต้องมีการทำความสะอาดถังปฏิกรณ์ชีวภาพและอุปกรณ์อื่น ๆ เพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้ออื่น โดยใช้สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ความเข้มข้นร้อยละ 3 ในการล้างถังปฏิกรณ์และอุปกรณ์ต่าง ๆ เช่น สายยาง อุปกรณ์วัดบางชนิดที่สามารถทนน้ำได้ ในส่วนของอุปกรณ์เครื่องแก้วต่าง ๆ ที่สามารถนึ่งฆ่าเชื้อได้ รวมถึงอาหารหมัก Phosphate carbonate medium ปริมาตร 9 ลิตร ถูกนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ด้วยหม้อนึ่งแรงดันสูง (Autoclave) และทิ้งไว้ในตู้ปลอดเชื้อให้เย็นก่อน จากนั้นเตรียมเชื้อเริ่มต้นโดยใช้เชื้อกลายพันธุ์รหัส 45-20 เนื่องจากเป็นเชื้อที่มีความสามารถในการผลิตบิวทานอลในขวดทดลองสูงที่สุด โดยใช้เชื้อเริ่มต้นปริมาตร 1 ลิตร ที่ได้จากการเลี้ยงในอาหาร Cocked meat medium ระยะเวลา 9 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีค่า OD. เป็น 0.6001 จากนั้นทำการผสมเชื้อและอาหารหมักลงในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ปิดฝาและทำการกำหนดสภาวะการหมักจากโปรแกรม NETPIE ดังนี้ อุณหภูมิต่ำสุดเท่ากับ 32 องศาเซลเซียส อุณหภูมิสูงสุดเท่ากับ 33 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำสุดเท่ากับ 6.41 สูงสุดเท่ากับ 7.50

จากนั้นก็เริ่มการทำงานและทำการพ่นแก๊สไฮโดรเจนไปยังภายในถังปฏิกรณ์จนค่าปริมาณออกซิเจนภายในถังที่วัดได้จากอุปกรณ์วัด Oxygen sensor มีค่าเท่ากับศูนย์ ระยะเวลาในการหมัก 16 วัน ในระหว่างการหมักมีการเก็บตัวอย่างโดยได้ทำการเก็บปริมาตร 10 มิลลิลิตรต่อครั้ง รวมทั้งหมด 36 ตัวอย่าง ปริมาตร 360 มิลลิลิตร คิดเป็นร้อยละ 3.6 ของปริมาตรทั้งหมด ซึ่งปริมาตรที่หายไปจะส่งผลเล็กน้อยต่อระบบเนื่องจากเป็นอัตราส่วนที่น้อยมากเมื่อเทียบกับปริมาตรทั้งหมด โดยแบ่งเป็นวันแรกซึ่งเก็บตัวอย่างทุก ๆ 3 ชั่วโมง มีจำนวน 9 ตัวอย่าง วันที่ 2 ถึงวันที่ 5 เก็บตัวอย่างทุก ๆ 6 ชั่วโมง มีจำนวน 16 ตัวอย่าง และวันที่ 6 ถึงวันที่ 16 เก็บตัวอย่างวันละ 1 ครั้ง รวมทั้งหมด 11 ตัวอย่าง หลังครบระยะเวลาการหมักแล้วจึงทำการนำน้ำหมักหลังการหมัก อุปกรณ์และเครื่องแก้วทั้งหมดไปทำการฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อระยะเวลา 15 นาที อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ส่วนอุปกรณ์ที่ไม่สามารถนึ่งฆ่าเชื้อได้และถังปฏิกรณ์ชีวภาพทำการล้างด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

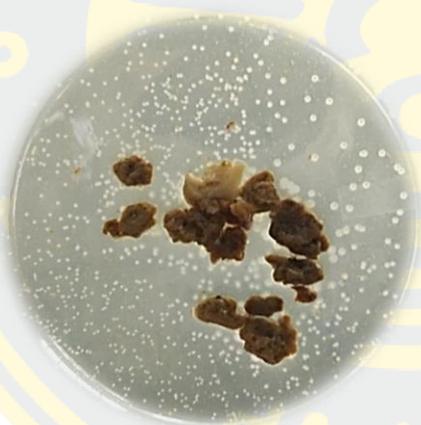
บทที่ 4

ผลการดำเนินงาน

4.1 ผลการพัฒนาเชื้อ *Clostridium cochlearium*

4.1.1 ผลการกล้าเชื้อ *Clostridium cochlearium*

หลังจากทำการเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็ง Cooked meat medium พบว่าเกิดโคโลนีที่มีลักษณะกลมมนูน มีสีขาวขุ่น ไม่วาว ดังรูปที่ 4.1 ก และเมื่อทำการย้อมแกรมจากนั้นส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า เพื่อดูลักษณะทางกายภาพของเซลล์พบว่า เป็นแบคทีเรียแกรมบวก เนื่องจากย้อมติดสีม่วงแกรมน้ำเงินของสี crystal violet และเซลล์มีลักษณะเป็นทรงแท่ง (rod shape) ดังรูปที่ 4.1 ข ซึ่งตรงกับลักษณะทางกายภาพของเชื้อ *clostridium cochlearium* ที่ระบุไว้ในรายงานวิจัยของเอกชัย (2560)



(ก.)



(ข.)

รูปที่ 4.1 ผลการกล้าเชื้อ *Clostridium cochlearium* ก. ลักษณะของโคโลนีบนอาหารแข็ง Cooked meat medium ข. ลักษณะทางกายภาพของเซลล์จากการย้อมแกรมและส่องกล้องจุลทรรศน์

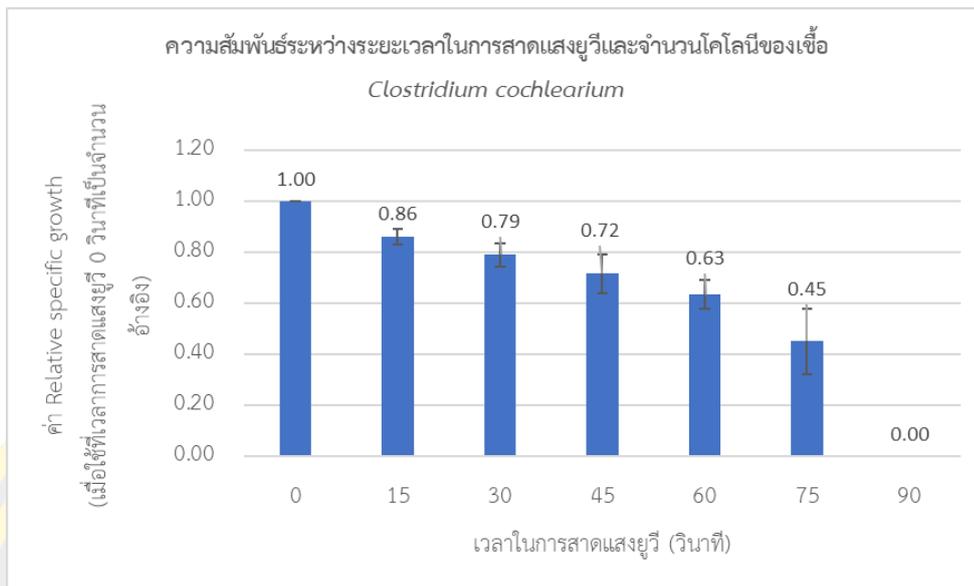
4.1.2 ผลการทำกรกลายพันธุ์ด้วยรังสียูวี

หลังจากการสาดแสงยูวีลงบนโคโลนีของเชื้อ *C. cochlearium* เป็นเวลา 0, 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 วินาที จากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหารแข็ง Cooked meat medium ที่เวลา 0 วินาที (ไม่มีการสาดแสงยูวี) มีจำนวนโคโลนีเฉลี่ยบนจานเพาะเลี้ยงมากที่สุดคือ 246 โคโลนี และที่เวลา 15, 30, 45, 60 และ 75 วินาทีจะมีจำนวนโคโลนีเฉลี่ยบนจานเพาะเลี้ยงน้อยลงตามลำดับ โดยมีจำนวนโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 212, 194, 176, 156 และ 111 โคโลนีตามลำดับ ส่วนที่เวลา 90 วินาทีพบว่าไม่พบโคโลนีที่สามารถอยู่รอดได้ดังข้อมูลที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการสาดแสงยูวีและจำนวนเซลล์ที่อยู่รอด

ระยะเวลาในการสาดแสงยูวี (วินาที)	จำนวนโคโลนีเฉลี่ย	CFU/ml. x 10 ⁵
0	246	2.46
15	212	2.12
30	194	1.94
45	176	1.76
60	156	1.56
75	111	1.11
90	0	0

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าจำนวนเซลล์ที่สามารถอยู่รอดจากการสาดแสงยูวีมีความสัมพันธ์แบบแปรผกผันกับระยะเวลาของการสาดแสงยูวี กล่าวคือระยะเวลาสาดแสงยูวีที่นานขึ้นจะส่งผลให้จำนวนของเซลล์ที่อยู่รอดน้อยลง เมื่อทำการเปรียบเทียบจำนวนเซลล์ของเชื้อที่ผ่านการสาดแสงยูวีที่เวลาต่าง ๆ กับเชื้อที่ไม่ได้ผ่านการสาดแสงยูวี (อ้างอิงที่เวลา 0 วินาที) พบว่าที่เวลาของการสาดแสงยูวี 15, 30, 45, 60 และ 75 วินาที มีจำนวนเซลล์ที่ลดลงจากเวลา 0 วินาที เป็น 0.86, 0.79, 0.72, 0.63, และ 0.45 เท่าตามลำดับ ดังรูปที่ 4.2



รูปที่ 4.2 กราฟแสดงจำนวนโคโลนีที่ระยะเวลาการสาดแสงยูวีต่าง ๆ เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อที่ยังไม่ได้รับการสาดแสงยูวีเป็นจำนวนอ้างอิง

4.1.3 ผลการคัดเลือกเชื้อกลายพันธุ์ด้วยอาหารเพื่อการคัดเลือก

หลังจากทำการกลายพันธุ์ด้วยการสาดแสงยูวีจะได้เชื้อที่เกิดการกลายพันธุ์ที่มีความสามารถในการผลิตสารละลายอินทรีย์แตกต่างกัน ดังนั้นจึงต้องทำการคัดเลือกเพื่อหาเซลล์กลายพันธุ์ที่มีความสามารถในการผลิตสารบิวทานอลได้สูงที่สุดของเชื้อกลายพันธุ์ทั้งหมด โดยในขั้นตอนแรกจะเป็นการทดสอบเชื้อกลายพันธุ์ที่มีความสามารถทนต่อบิวทานอลในความเข้มข้นที่มากกว่าเชื้อดั้งเดิม (screening test) โดยใช้เชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมความเข้มข้น 2.22×10^5 CFU/ml. มาทำการเลี้ยงลงบนอาหารแข็ง Cooked meat ที่ผสมบิวทานอลความเข้มข้นร้อยละ 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0 จากผลการทดลองพบว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมไม่สามารถเจริญได้ในอาหารที่มีความเข้มข้นบิวทานอลร้อยละ 2.5 และ 3.0 เนื่องจากไม่พบโคโลนีของเชื้อ แต่สามารถเจริญได้ในอาหารที่มีความเข้มข้นของบิวทานอลร้อยละ 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 ดังตารางที่ 4.2 ดังนั้นจากการทดลองนี้ที่ความเข้มข้นบิวทานอลร้อยละ 2.0 ในอาหารแข็งจึงเป็นความเข้มข้นมากที่สุดที่เชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมสามารถทนต่อบิวทานอลและสามารถเกิดโคโลนีได้ ดังนั้นอาหารแข็ง Cooked meat ที่ผสมบิวทานอลเข้มข้นร้อยละ 2.0 จึงใช้เป็นอาหารเริ่มต้นเพื่อการคัดเลือกเชื้อกลายพันธุ์ที่สามารถทนต่อบิวทานอลได้ในความเข้มข้นที่เท่ากับเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมสามารถทนได้

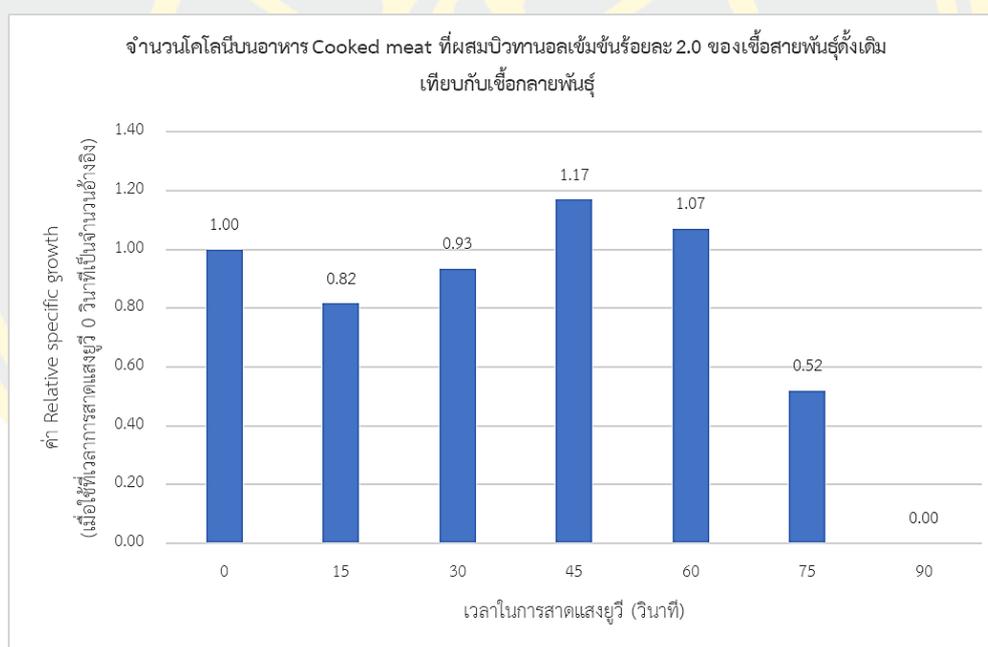
ตารางที่ 4.2 ผลการทดสอบความทนต่อบิวทานอลของเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม

ร้อยละความเข้มข้นของบิวทานอล	จำนวนโคโลนี	CFU/mL. x 10 ⁵
0	222	2.22
0.5	176	1.76
1.0	98	0.98
1.5	21	0.21
2.0	8	0.08
2.5	0	0
3.0	0	0

จากนั้นจึงนำเชื้อกลายพันธุ์แต่ละเวลาของการสาดแสงยูวีได้แก่ที่เวลา 0, 15, 30, 45, 60 และ 75 วินาที มาเลี้ยงบนอาหารแข็ง Cooked meat ที่มีบิวทานอลผสมอยู่ร้อยละ 2.0 โดยมีการควบคุมปริมาณเชื้อเริ่มต้นโดยการเจือจางและเปรียบเทียบค่าการดุดกกลืนแสงให้มีค่าใกล้เคียงกัน โดยค่าการดุดกกลืนแสงจะอ้างอิงจากค่าการดุดกกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ของเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมซึ่งมีค่าอยู่ที่ 0.0028 (เชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม 1 ไมโครลิตรต่อ 1 มิลลิลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว) จากผลการทดลองเมื่อเปรียบเทียบเซลล์ที่สามารถเจริญเติบโตบนอาหารแข็งได้ระหว่างเชื้อกลายพันธุ์กับเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม โดยใช้จำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นของเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมเป็นจำนวนอ้างอิงเทียบ (Relative specific colony forming at 0 sec. UV exposed time as reference) พบว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมสามารถเกิดเป็นโคโลนีได้ 212 โคโลนี และเชื้อกลายพันธุ์ที่เวลาสาดแสงยูวี 45 วินาที มีจำนวนเซลล์ที่สามารถเกิดเป็นโคโลนีได้มากที่สุด 248 โคโลนี ซึ่งมากกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมถึง 1.17 เท่า รองลงมาคือเชื้อกลายพันธุ์ที่เวลาสาดแสงยูวี 60 วินาที มี 227 โคโลนีมากกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม 1.07 เท่า ส่วนเชื้อกลายพันธุ์ที่เวลาสาดแสงยูวี 15, 30 และ 75 วินาที มีจำนวนเซลล์ที่สามารถเกิดเป็นโคโลนีได้น้อยกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมโดยมีจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นคือ 173, 198, 110 โคโลนี ดังแสดงข้อมูลไว้ในตารางที่ 4.3 ซึ่งน้อยกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม 0.82, 0.93 และ 0.52 เท่าตามลำดับ ดังรูปที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 จำนวนโคโลนีที่สามารถอยู่รอดได้บนอาหารแข็ง Cooked meat ที่มีบิวทานอลความเข้มข้นร้อยละ 2.0 ของเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมและเชื้อกลายพันธุ์

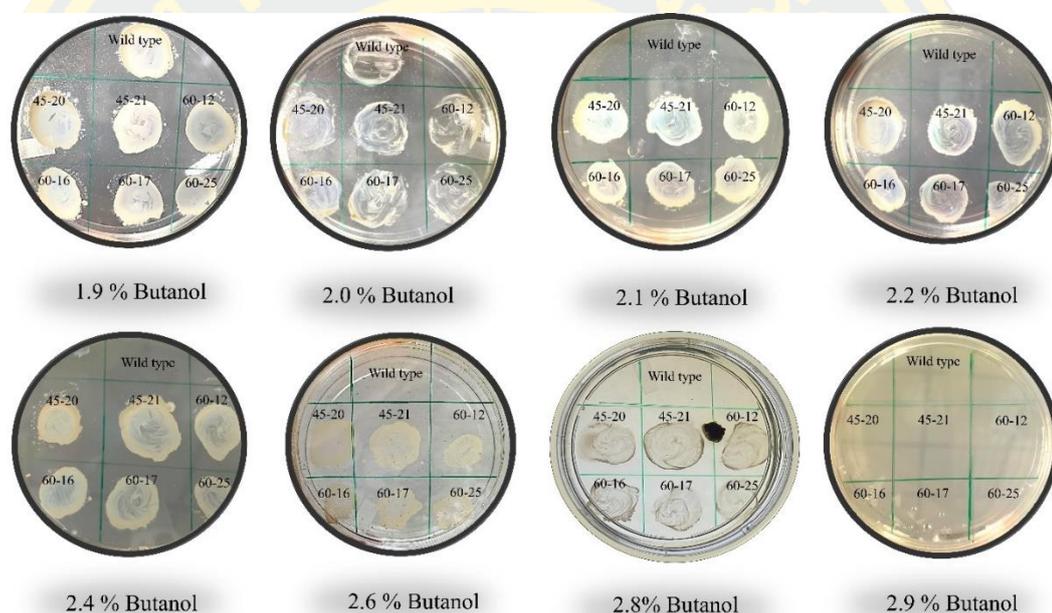
เวลาในการสาธแสงยูวี	จำนวนโคโลนี	CFU/ml x 10 ⁵
0	212	212000
15	173	173000
30	198	198000
45	248	248000
60	227	227000
75	110	110000
90	0	0



รูปที่ 4.3 จำนวนโคโลนีบนอาหาร Cooked meat ที่มีบิวทานอลเข้มข้นร้อยละ 2.0 ของเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมเทียบกับเชื้อกลายพันธุ์

จากผลการทดลองเชื้อกลายพันธุ์ที่เวลาสาธแสงยูวี 60 วินาที และ 45 วินาที มีจำนวนเซลล์ที่สามารถเจริญบนอาหารคัดเลือกที่มีบิวทานอลเข้มข้นร้อยละ 2.0 ได้ดีกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม ดังนั้นจึงนำเชื้อกลายพันธุ์ที่ 2 เวลาดังกล่าวมาทำการสุ่มเลือกโคโลนีมาเวลาละจำนวน 96 โคโลนี โดยแบ่งเลี้ยงบนจานเลี้ยง (Patch) จำนวน 3 จาน จานละ 32 โคโลนี ในอาหารแข็งเพื่อการคัดเลือก

Cooked meat ที่ผสมบิวทานอลที่เข้มข้นน้อยกว่า เท่ากับและมากกว่าร้อยละ 2.0 ได้แก่ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.9, 2.0, 2.1, 2.2, 2.4, 2.6, 2.8 และ 2.9 จากการทดลองพบว่าความเข้มข้นของบิวทานอลในอาหารแข็งที่เชื้อกลายพันธุ์สามารถเจริญได้คือที่ร้อยละ 2.8 อยู่ทั้งหมดจำนวน 6 ไอโซเลท (Isolate) ซึ่งได้แก่ไอโซเลทรหัส 45-20, 45-21, 60-12, 60-16, 60-17 และ 60-25 (ความหมายของรหัสไอโซเลทคือ เลขสองตัวแรกคือเวลาของการสาดแสงยูวีในการทำกลายพันธุ์ของเชื้อกลายพันธุ์ด้วยเครื่องหมายยัติภังค์ ตามด้วยเลขสองตัวหลังคือเลขของไอโซเลทหรือ Isolate number ในการทำการคัดเลือกด้วยอาหารเพื่อการคัดเลือก) ดังรูปที่ 4.4 เพื่อนำไปใช้ในการทดสอบการผลิตบิวทานอลเทียบกับเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม



รูปที่ 4.4 ความทนต่อบิวทานอลของเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมและเชื้อกลายพันธุ์ที่มีความเข้มข้นบิวทานอลร้อยละต่าง ๆ

4.1.4 ปริมาณเชื้อเริ่มต้นก่อนการหมักและการเจริญเติบโตของ *Clostridium cochlearium* ระหว่างการหมักบิวทานอล

ในการหมักบิวทานอลจะมีการควบคุมปริมาณเชื้อให้มีค่าเท่ากันทุก ๆ ขวดหมัก (batch) โดยการควบคุมความเข้มข้นของเชื้อตั้งต้นสำหรับใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นในการหมักด้วยการควบคุมให้เชื้อจากการกล้าเชื้อมีค่าความหนาแน่นของเซลล์ที่ใกล้เคียงกันด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD.) ให้มีค่าที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งเชื้อที่ต้องการนำมาใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นในการหมักจะต้องเป็นเชื้อที่กำลังเจริญหรืออยู่ในช่วง Log phase ซึ่งจะมีค่าการดูดกลืนแสงในช่วงนี้อยู่ที่ประมาณ 0.6 ที่ความ

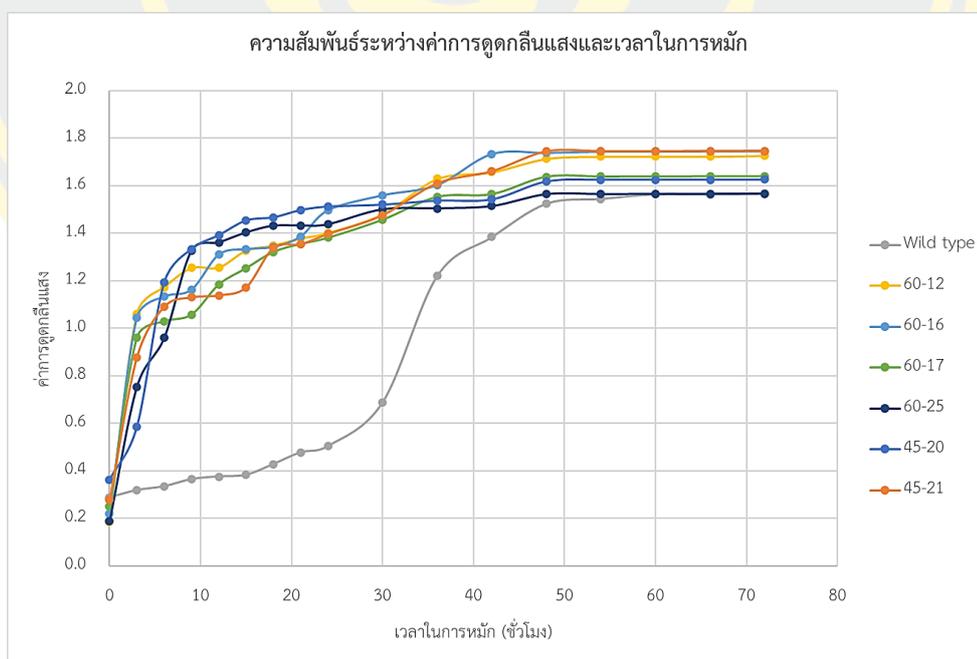
ยาวคลื่น 540 นาโนเมตร โดยในการทดลองนี้ได้ทำการกล้าเชื้อ *C. cochlearium* ในอาหารเหลว Cooked meat เริ่มต้นจากการบ่มเชื้อเป็นเวลา 70 นาที (Curry, 2017) เพื่อให้เชื้อมีจำนวนเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า เนื่องจากเชื้อ *Clostridium spp.* นั้นจะมีค่าในการบ่มที่ทำให้เชื้อเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า (Doubling time) เท่ากับ 70 นาที หลังจากการบ่มเชื้อครบ 70 นาที จะได้ค่าการดูดกลืนแสง ดังตารางที่ 4.4 จึงสามารถประมาณเวลาที่ใช้เพื่อให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงประมาณ 0.6 ได้จากการเทียบบัญชีไตรยางศ์เพื่อให้ทราบเวลาค่าว ๆ ได้เนื่องจากการเจริญเติบโตของเชื้อในช่วง Log phase จะมีการแบ่งตัวของเซลล์ที่เร็วกว่าช่วงอื่น ๆ ทำให้ระยะเวลาที่เชื้อใช้ในการเพิ่มจำนวนนั้นมีความใกล้เคียงกัน (มีช่วงเวลาที่แคบ) ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงของเชื้อที่ 0.6 จะเป็นช่วงเวลาที่เชื้ออยู่ใน Log phase ทำให้ค่าเวลาที่ได้จากการประมาณใกล้เคียงกับค่าเวลาที่ใช้จริง ซึ่งผลจากการประมาณระยะเวลาการบ่มทั้งหมดของเชื้อกลายพันธุ์ต้องบ่มทั้งหมด 9 ชั่วโมง และเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมต้องบ่มทั้งหมด 24 ชั่วโมง เมื่อได้เวลาจากการประมาณแล้วจึงทำการบ่มกล้าเชื้อตามเวลา จากนั้นเก็บตัวอย่างเชื้อจากการกล้าเชื้อไปตรวจวัดให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงใกล้เคียง 0.6 จากผลการกล้าเชื้อตามเวลาพบว่าเชื้อกลายพันธุ์และเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมมีค่าการดูดกลืนแสงใกล้เคียง 0.6

ตารางที่ 4.4 ค่าการดูดกลืนแสงของเชื้อที่ได้จากการกล้าเชื้อต่อเวลาที่ใช้

เชื้อ	OD-Doubling time	OD. ที่ใช้เริ่มต้นการหมัก
เชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม	0.0291	0.6956
45-20	0.0710	0.6155
45-21	0.0735	0.6035
60-12	0.0734	0.5857
60-16	0.0716	0.6565
60-17	0.0723	0.6046
60-25	0.0701	0.5989

จากตารางที่ 4.3 จะเห็นได้ว่าทั้งเชื้อกลายพันธุ์และเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมมีค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้นขณะใส่เชื้อลงไปในการเลี้ยงเชื้อ (เวลาที่ 0 วินาทีของการกล้าเชื้อ) ใกล้เคียงกัน แต่เมื่อพิจารณาเวลาที่ใช่ของเชื้อให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงประมาณ 0.6 พบว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมใช้เวลามากกว่าเชื้อกลายพันธุ์ทุกไอโซเลตถึง 11 ชั่วโมง แสดงว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมมีอัตราการเจริญเติบโต (growth rate) ที่ช้ากว่าเชื้อกลายพันธุ์ทุกไอโซเลต

เมื่อได้เชื้อที่อยู่ในช่วง Log phase (มีค่าการดูดกลืนแสงประมาณ 0.6) แล้วจึงนำไปเป็นเชื้อเริ่มต้นในกระบวนการหมักบิวทานอล จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างระหว่างกระบวนการหมักทุก ๆ 3 ชั่วโมง เป็นเวลาทั้งหมด 72 ชั่วโมง โดยเริ่มต้นวัดที่เวลา 0 นาที เพื่อตรวจวัดค่าการเจริญเติบโตของเชื้อด้วยการวัดค่าความหนาแน่นของเซลล์จากการวัดค่าการดูดกลืนแสง พบว่าเชื้อกลายพันธุ์ 60-12, 60-16 และ 60-17 มีระยะ Log phase ที่ 3 ชั่วโมง เชื้อกลายพันธุ์ 45-21 และ 45-20 มีระยะ Log phase ที่ 6 ชั่วโมง เชื้อกลายพันธุ์ 60-25 มีระยะ Log phase ที่ 9 ชั่วโมง และเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมมีระยะ Log phase ที่ 48 ชั่วโมง เมื่อคำนวณค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะตามสมการที่ 3.1 พบว่า เชื้อกลายพันธุ์ 60-12 มีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะมากที่สุด รองลงมาคือเชื้อกลายพันธุ์ 60-16, 60-17, 45-21, 60-25, 45-20 และเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม โดยมีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.2917, 0.2751, 0.2365, 0.1000, 0.6280, 0.0371 และ 0.0258 ต่อชั่วโมง ตามลำดับ หลังจากนั้นเชื้อจะเข้าสู่ระยะ Stationary phase โดยเชื้อกลายพันธุ์ 60-12, 60-16 และ 60-17 จะเข้าสู่ระยะ Stationary phase หลังจากชั่วโมงที่ 3 เป็นต้นไป เชื้อกลายพันธุ์ 45-21 และ 45-20 จะเข้าสู่ระยะ Stationary phase หลังจากชั่วโมงที่ 6 เป็นต้นไป เชื้อกลายพันธุ์ 60-25 จะเข้าสู่ระยะ Stationary phase หลังจากชั่วโมงที่ 9 ชั่วโมง และเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมจะเข้าสู่ระยะ Stationary phase หลังจากชั่วโมงที่ 48 เป็นต้นไป ดังรูปที่ 4.5



รูปที่ 4.5 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและเวลาที่ใช้ในการหมัก

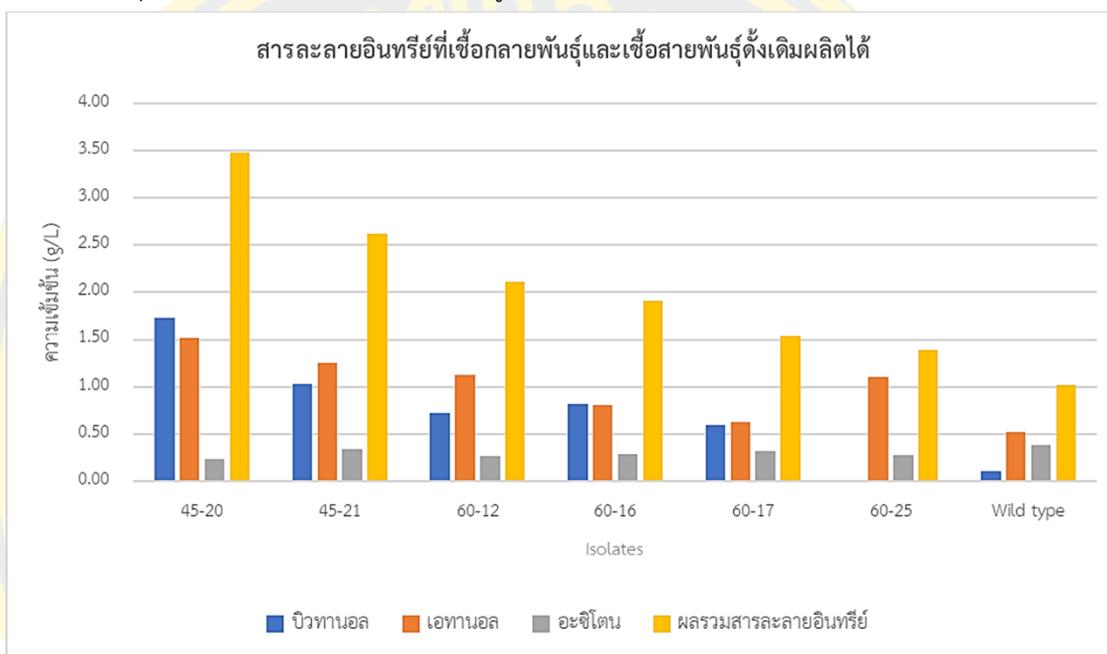
4.1.5 ผลการทดสอบการผลิตบิวทานอลของเชื้อกลายพันธุ์และเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมด้วย กระบวนการหมักแบบ ABE

จากการทดสอบการผลิตบิวทานอลของเชื้อกลายพันธุ์จำนวน 6 ไอโซเลขคือ 45-20, 45-21, 60-12, 60-16, 60-17 และ 60-25 เทียบกับเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม โดยทำการวัดปริมาณ สารละลายอินทรีย์ที่เชื้อสร้างขึ้นได้แก่ บิวทานอล เอทานอลและอะซิโตน โดยทำการเลี้ยงเชื้อที่ สภาวะไร้ออกซิเจน อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นเท่ากับ 6.5 ปริมาตร 300 มิลลิลิตร โดยทำการหมักเป็นระยะเวลา 5 วัน ซึ่งเชื้อที่สามารถผลิตบิวทานอลได้ความเข้มข้น สูงสุดได้แก่เชื้อกลายพันธุ์ 45-20 รองลงมาคือเชื้อกลายพันธุ์ 45-21, 60-16, 60-12, 60-17, เชื้อสาย พันธุ์ดั้งเดิม และ 60-25 ซึ่งสามารถผลิตบิวทานอลได้ความเข้มข้น 1.7302, 1.0263, 0.8116, 0.7233, 0.5986, 0.1085 และ 0.0081 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ คิดเป็นผลได้ร้อยละเท่ากับ 5.799×10^{-2} , 3.471×10^{-2} , 2.801×10^{-2} , 2.534×10^{-2} , 2.132×10^{-2} , 6.165×10^{-3} และ 2.830×10^{-4} กรัมต่อกรัม ตามลำดับ และมีอัตราการผลิตเท่ากับ 1.441×10^{-2} , 8.552×10^{-3} , 6.763×10^{-3} , 6.027×10^{-3} , 4.988×10^{-3} , 9.041×10^{-4} และ 6.750×10^{-5} กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมงตามลำดับ จะเห็นได้ว่า เชื้อกลายพันธุ์ 45-20 สามารถผลิตบิวทานอลได้ความเข้มข้นสูงกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมโดยเพิ่มขึ้น 15.94 เท่า

เชื้อที่สามารถผลิตเอทานอลได้ความเข้มข้นสูงสุดคือเชื้อกลายพันธุ์ 45-20 รองลงมาคือเชื้อ กลายพันธุ์ 45-21, 60-12, 60-25, 60-16, 60-17 และเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม ซึ่งสามารถผลิตเอทานอล ได้ความเข้มข้น 1.5197, 1.2552, 1.1218, 1.0989, 0.8037, 0.6292 และ 0.5195 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ คิดเป็นผลได้ร้อยละเท่ากับ 5.094×10^{-2} , 4.245×10^{-2} , 3.931×10^{-2} , 3.838×10^{-2} , 2.775×10^{-2} , 2.242×10^{-2} และ 2.952×10^{-2} กรัมต่อกรัม ตามลำดับและมีอัตราการผลิต 1.266×10^{-2} , 1.046×10^{-2} , 9.350×10^{-3} , 9.160×10^{-3} , 6.700×10^{-3} , 5.240×10^{-3} และ 4.330×10^{-3} กรัมต่อลิตรต่อ ชั่วโมงตามลำดับ จะเห็นได้ว่าเชื้อกลายพันธุ์ 45-20 สามารถผลิตเอทานอลได้ความเข้มข้นสูงกว่าเชื้อ สายพันธุ์ดั้งเดิม โดยเพิ่มขึ้น 2.92 เท่า

ส่วนเชื้อที่สามารถผลิตอะซิโตนได้ความเข้มข้นสูงสุดคือเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม รองลงมาคือเชื้อ กลายพันธุ์ 45-21, 60-17, 60-16, 60-25, 60-12 และ 45-20 ซึ่งสามารถผลิตอะซิโตนได้ความ เข้มข้น 0.3852, 0.3413, 0.3138, 0.2903, 0.2785, 0.2659 และ 0.2283 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ คิดเป็นผลได้ร้อยละเท่ากับ 2.188×10^{-2} , 1.154×10^{-2} , 1.118×10^{-2} , 1.002×10^{-2} , 9.726×10^{-3} , 9.319×10^{-3} และ 7.653×10^{-3} กรัมต่อกรัม ตามลำดับและมีอัตราการผลิตเท่ากับ 3.210×10^{-3} , 2.840×10^{-3} , 2.620×10^{-3} , 2.420×10^{-3} , 2.320×10^{-3} , 2.220×10^{-3} และ 1.900×10^{-3} กรัมต่อลิตรต่อ ชั่วโมงตามลำดับ จะเห็นได้ว่าเชื้อกลายพันธุ์ทุกไอโซเลขมีความสามารถในการผลิตอะซิโตนได้ความ เข้มข้นที่น้อยกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม

เมื่อเปรียบเทียบผลรวมสารละลายอินทรีย์ (บิวทานอล, เอทานอลและอะซิโตน) ที่เชื้อสามารถผลิตได้ซึ่งเป็นสารสำคัญทางอุตสาหกรรมพบว่าเชื้อกลายพันธุ์ 45-20 รองลงมาคือเชื้อกลายพันธุ์ 45-21, 60-12, 60-16, 60-17, 60-25 และเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมตามลำดับ ซึ่งสามารถผลิตสารละลายอินทรีย์รวมได้ 3.4782, 2.6228, 2.1110, 1.9056, 1.5416, 1.3855 และ 1.0132 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าเชื้อกลายพันธุ์ 45-20 สามารถผลิตสารละลายอินทรีย์รวมได้มากกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมโดยเพิ่มขึ้น 3.43 เท่า ดังรูปที่ 4.6



รูปที่ 4.6 สารละลายอินทรีย์ที่เชื้อกลายพันธุ์และเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมผลิตได้

เมื่อเปรียบเทียบผลการผลิตบิวทานอลของงานวิจัยนี้เทียบกับผลการผลิตบิวทานอลของงานวิจัยของ Eakkachai และคณะ (Eakkachai et al., 2018) ซึ่งเป็นงานวิจัยที่ใช้เชื้อชนิดเดียวกันและมีวิธีการทำการกลายพันธุ์โดยใช้แสงยูวีเหมือนกันและสามารถพัฒนาเชื้อกลายพันธุ์ที่สามารถผลิตบิวทานอลได้สูงสุด 0.0210 กรัมต่อลิตร พบว่าการผลิตบิวทานอลของเชื้อกลายพันธุ์ในงานวิจัยนี้สามารถผลิตบิวทานอลได้ที่ความเข้มข้นสูงสุด 1.7302 กรัมต่อลิตร ซึ่งมากกว่างานวิจัยก่อนหน้า และเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Matthias และคณะ (Gottwald, Hippe, & Gottschalk, 1984) และงานวิจัยของ Eakkachai และคณะ (Eakkachai et al., 2021) ที่ใช้ *C. cochlearium* ในการผลิตบิวทานอลซึ่งเป็นเชื้อที่ไม่ผ่านการพัฒนาสายพันธุ์สามารถผลิตบิวทานอลได้ความเข้มข้น 0.0220 และ 0.0518 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าความเข้มข้นของบิวทานอลที่เชื้อกลายพันธุ์ 45-20 ในงานวิจัยนี้สามารถผลิตได้จะเห็นว่างานวิจัยนี้สามารถพัฒนาสายพันธุ์ *C. cochlearium* ให้สามารถผลิตบิวทานอลได้มากขึ้นจากเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม แต่เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Xiao-Bo Liu

และคณะ (X.-B. Liu, Gu, Yu, & Luo, 2012) ที่พัฒนาเชื้อ *C. acetobutylicum* ด้วย Nitrogen ion beam implantation พบว่าสามารถผลิตบิวทานอลได้ที่มีความเข้มข้นสูงสุด 22.3 กรัมต่อลิตร ซึ่งเชื้อก่อนการทำลายพันธุ์สามารถผลิตบิวทานอลได้ 13 กรัมต่อลิตร แสดงให้เห็นว่า *C. acetobutylicum* สามารถผลิตบิวทานอลได้ความเข้มข้นที่สูงกว่า *C. cochlearium* แม้ไม่ได้ผ่านกระบวนการพัฒนาสายพันธุ์

แต่อย่างไรก็ตาม *C. cochlearium* ที่ถูกพัฒนาขึ้นจากงานวิจัยนี้มีการพัฒนาความสามารถให้ผลิตบิวทานอล เอทานอลและสารละลายอินทรีย์รวมเพิ่มมากขึ้นจากเชื้อก่อนการพัฒนา ถึงแม้ว่าจะมีความสามารถที่ต่ำกว่า เมื่อเปรียบกับ *C. acetobutylicum* ที่เป็นเชื้อที่ใช้เชิงพาณิชย์อุตสาหกรรมอย่างแพร่หลาย แต่ *C. cochlearium* เป็นเชื้อที่พบได้จากภาคตะวันออกของประเทศไทย ซึ่งยังไม่ถูกใช้เชิงพาณิชย์อุตสาหกรรม ดังนั้นเป็นที่น่าสนใจในการพัฒนาต่อเพื่อเป็นแนวทางและทางเลือกที่เหมาะสมต่ออุตสาหกรรมการผลิตสารบิวทานอลหรือสารอินทรีย์ทางชีวภาพของประเทศไทยในอนาคต และวิธีการที่ใช้ในการทำการทำลายพันธุ์ในงานวิจัยนี้พบว่าสามารถทำลายพันธุ์เชื้อให้สามารถผลิตบิวทานอลที่สูงขึ้นได้ ดังนั้นวิธีการทำลายพันธุ์ด้วยแสงยูวีซึ่งเป็นวิธีการที่ง่าย ต้นทุนต่ำ และมีความปลอดภัยสูงกว่าวิธีการทำลายพันธุ์ด้วยวิธีการอื่น ๆ จึงเป็นวิธีที่สามารถนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุกรรมได้ อย่างมีประสิทธิภาพ

เมื่อพิจารณาถึงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์ กับความเข้มข้นบิวทานอลและผลรวมของสารละลายอินทรีย์ที่ผลิตได้ของเชื้อแต่ละไอโซเลทพบว่าอัตราการเจริญเติบโตของทุกไอโซเลทไม่ได้มีค่าที่แตกต่างกันมาก แต่ความเข้มข้นของสารละลายอินทรีย์รวมที่ผลิตได้มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน ดังรูปที่ 4.8 เชื้อกลายพันธุ์ 60-12 เป็นเชื้อที่มีค่าการดูดกลืนแสงมากที่สุด แต่ไม่ได้เป็นเชื้อที่สามารถผลิตสารละลายอินทรีย์รวมในความเข้มข้นที่สูงที่สุดซึ่งเชื้อที่สามารถผลิตสารละลายอินทรีย์รวมมากที่สุดคือเชื้อกลายพันธุ์ 45-20 แต่เชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมซึ่งเป็นเชื้อที่มีอัตราการเจริญเติบโตน้อยที่สุดคือเชื้อที่มีความสามารถในการผลิตสารละลายอินทรีย์รวมในความเข้มข้นที่น้อยที่สุด แต่อย่างไรก็ตามการเปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโต ค่าความเข้มข้นของสารละลายอินทรีย์รวมและค่าความเข้มข้นของบิวทานอล เป็นการเปรียบเทียบค่าในช่วงหลังการหมักซึ่งในช่วงนี้เป็นช่วงที่เชื้อมีการเพิ่มจำนวนน้อยมากจนเกือบคงที่ (จากรูปที่ 4.7) แสดงให้เห็นถึงเชื้อแต่ละไอโซเลทมีการเจริญเติบโตอย่างเต็มที่ (Stationary phase) แล้ว ดังนั้นค่าความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้จึงเป็นค่าในช่วงที่เชื้ออยู่ในระยะคงที่แล้ว ทำให้เห็นว่าที่สภาวะการเจริญเติบโตเต็มที่ของเชื้อทุกไอโซเลทค่าการดูดกลืนแสง ค่าความเข้มข้นของสารละลายอินทรีย์รวม และค่าความเข้มข้นของบิวทานอลไม่ได้มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ กล่าวคือในสภาวะที่เชื้ออยู่ในสภาวะคงตัวแล้วเชื้อที่มีค่าการดูดกลืนแสงที่สูงอาจไม่ใช่เชื้อที่มีความสามารถในการผลิตสาร

ผลิตภัณฑ์ที่มาก และเชื้อที่มีค่าการดูดกลืนแสงต่ำก็อาจไม่ใช่เชื้อที่สามารถผลิตสารผลิตภัณฑ์ได้น้อยเช่นกัน

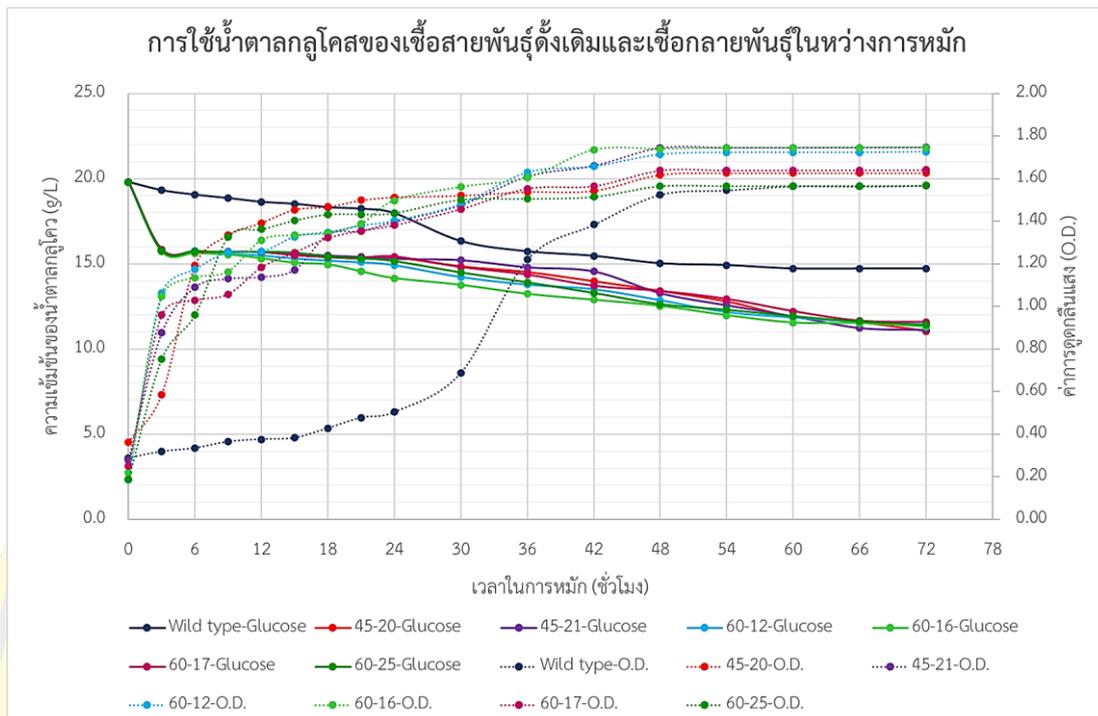
4.1.6 ผลการใช้สารตั้งต้น (substrate) ระหว่างการหมักของ *Clostridium*

cochlearium

ในระหว่างกระบวนการหมัก ABE อาหารที่ใช้ในการหมักคือ Phosphate carbonate medium (Eakkachai et al., 2021) ซึ่งมีน้ำตาลกลูโคสที่ใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับใช้เปลี่ยนไปเป็นสารผลิตภัณฑ์ของเซลล์ความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร ในระหว่างการหมักจะมีการใช้น้ำตาลของเซลล์ เชื้อที่มีการใช้น้ำตาลหรือสารตั้งต้นได้มากจะแสดงถึงการนำสารตั้งต้นไปใช้ในกิจกรรมต่าง ๆ ภายในเซลล์ได้มากทั้งการเจริญเติบโตของเซลล์และการนำไปสร้างเป็นสารผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ของเซลล์ ในทางเดียวกันหากเชื้อไหนมีการใช้น้ำตาลหรือสารตั้งต้นได้น้อยก็จะแสดงให้เห็นว่าเชื่อนั้นมีการนำสารตั้งต้นไปใช้ในการเจริญเติบโตของเซลล์และการสร้างสารผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ของเซลล์ได้น้อยเช่นเดียวกัน (Capilla, San-Valero, Izquierdo, Penya-roja, & Gabaldón, 2021) ซึ่งปริมาณของสารผลิตภัณฑ์ที่เชื้อสามารถผลิตได้นั้นขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย อาทิ ความสามารถในการสร้างสารผลิตภัณฑ์แต่ละสารของเชื้อเอง สภาวะที่เอื้อต่อการสร้างสารของเชื้อและการใช้หรือการนำเข้าสารตั้งต้นเพื่อใช้ในกิจกรรมและการสร้างสารผลิตภัณฑ์ ซึ่งในเชิงสมดุลมวลสาร (mass balance) สารตั้งต้นที่เข้าสู่เซลล์ (ในการทดลองนี้คือ $C_6H_{12}O_6$) จะถูกย่อยสลาย (metabolism) ให้กลายเป็นสารผลิตภัณฑ์ภายในเซลล์ (metabolite) และสาร metabolite เองก็จะถูกใช้เพื่อเป็นสารตั้งต้นสำหรับปฏิกิริยาในการสร้างสารอื่นต่อไป จนได้เป็นสารผลิตภัณฑ์ซึ่งในการทดลองนี้คือ เอทานอล อะซิโตนและบิวทานอล (รูปที่ 2.2) ซึ่งเป็นสารผลิตภัณฑ์ที่ถูกปล่อย (release) ออกไปสู่ภายนอกเซลล์ แม้ว่ากาการใช้สารตั้งต้นของเซลล์จะแสดงถึงกิจกรรมต่าง ๆ ภายในเซลล์และการสร้างสารผลิตภัณฑ์ของเซลล์แต่การจะนำไปสร้างเป็นสารผลิตภัณฑ์แต่ละชนิดนั้นจะมีค่าอัตราการเปลี่ยนของสารตั้งต้นไปเป็นสารผลิตภัณฑ์ (metabolic flux) ที่แตกต่างกันซึ่งเป็นตัวควบคุมของปฏิกิริยาในการเปลี่ยนสารตั้งต้นไปเป็นสารผลิตภัณฑ์ (rate of reaction) ดังนั้นสารที่เข้าสู่เซลล์จะไม่มีสารสูญหาย เพียงแต่จะมีการเปลี่ยนรูปไปเป็นสารอื่น ๆ ซึ่งหากเซลล์มีการนำเข้าสารตั้งต้นได้มากสารผลิตภัณฑ์ที่สร้างจากเซลล์ที่จะมีปริมาณที่มากแต่อยู่ในสัดส่วนที่ไม่เท่ากันขึ้นอยู่กับอัตราการเกิดปฏิกิริยาในการสร้างสารแต่ละชนิดของเซลล์ แต่อย่างไรก็ตามการใช้สารตั้งต้นของเชื้อสามารถแสดงถึงกิจกรรมของเชื้อได้ทั้งการเจริญเติบโตและการสร้างสารผลิตภัณฑ์แต่ไม่สามารถระบุได้ว่าสารตั้งต้นที่เชื้อใช้ไปถูกเปลี่ยนไปเป็นสารผลิตภัณฑ์ใดในอัตราส่วนเท่าไรได้ ซึ่งในการทดลองนี้ได้มีการวัดปริมาณของน้ำตาลกลูโคสซึ่งเป็นสารตั้งต้นที่เชื้อใช้ในการทำกิจกรรมและสร้างสารผลิตภัณฑ์ของเซลล์ทุก ๆ 3

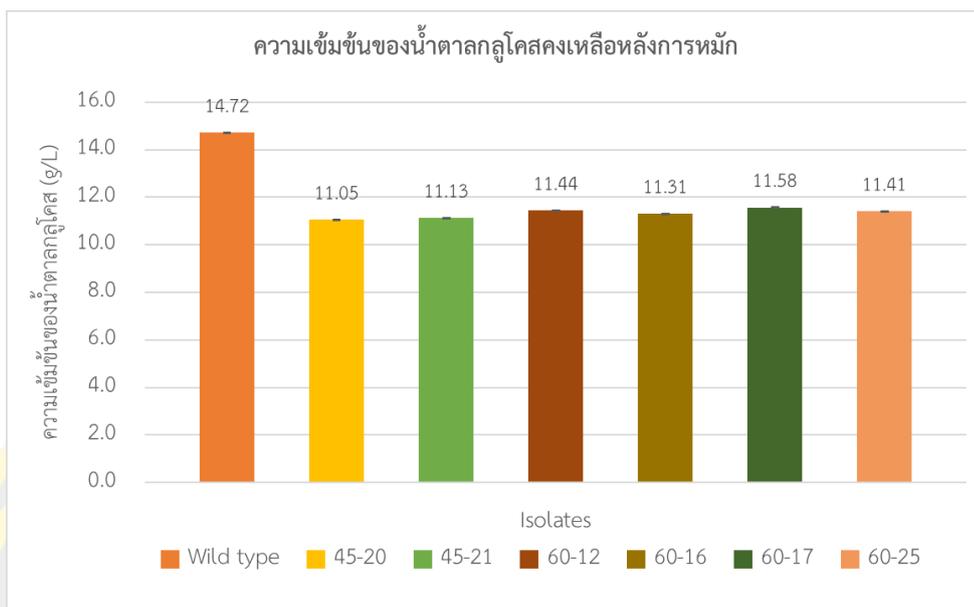
ชั่วโมงตลอดการหมัก (จากชั่วโมงที่ 0 จนถึงชั่วโมงที่ 72) ดังรูปที่ 4.7 จะเห็นได้ว่าเมื่อระยะเวลาของการหมักมากขึ้นทั้งเชื้อกลายพันธุ์และเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมมีกราฟที่มีลักษณะแปรผกผันกันระหว่างความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่เป็นสารตั้งต้นของเซลล์และค่าการเจริญเติบโต กล่าวคือเมื่อเวลาการหมักเพิ่มมากขึ้น ลักษณะกราฟความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสจะมีลักษณะที่ลดลงตามเวลา และค่าการเจริญเติบโตจะมีค่าเพิ่มมากขึ้นตามเวลา การลดลงของความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสแสดงให้เห็นว่าเซลล์มีการใช้น้ำตาลกลูโคสในการทำกิจกรรมของเซลล์ทำให้น้ำตาลกลูโคสมีความเข้มข้นที่ลดลง เมื่อพิจารณาถึงค่าการเจริญเติบโตจะเห็นการเพิ่มขึ้นของความหนาแน่นของเซลล์จากค่าการดูดกลืนแสงที่มากขึ้น

ในช่วงที่มีอัตราการเพิ่มขึ้นของเชื้ออย่างรวดเร็ว (Log phase) จะส่งผลให้อัตราการลดลงของความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสลดลงอย่างรวดเร็วตามไปด้วยเนื่องจากมีการใช้สารตั้งต้นในการใช้เป็นพลังงานในการแบ่งเซลล์ให้มีจำนวนเพิ่มมากขึ้น ในช่วง Log phase ของเชื้อกลายพันธุ์และเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมจะมีการลดลงอย่างรวดเร็วของความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสแต่อยู่ในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน เชื้อที่มีอัตราการใช้น้ำตาลกลูโคสมากที่สุดคือเชื้อกลายพันธุ์ 45-20 รองลงมาคือเชื้อกลายพันธุ์ 45-21, 60-16, 60-25, 60-12, 60-17 และเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม มีค่าอัตราการใช้น้ำตาลกลูโคสเท่ากับ 0.0745, 0.0739, 0.0724, 0.0715, 0.0713, 0.0701 และ 0.0440 กรัมต่อชั่วโมง ตามลำดับ เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการใช้น้ำตาลกลูโคสและอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อพบว่า เชื้อกลายพันธุ์ทุกไอโซเลทมีอัตราการใช้น้ำตาลที่สูงกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมและมีอัตราการเจริญเติบโตมากกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาเชื้อกลายพันธุ์พบว่าเชื้อกลายพันธุ์ที่มีอัตราการใช้น้ำตาลกลูโคสมากที่สุดไม่ใช่เชื้อกลายพันธุ์ที่มีอัตราการเจริญเติบโตมากที่สุดถึงแม้ว่าจะพิจารณาอัตราการใช้น้ำตาลกลูโคสในช่วง Log phase ซึ่งเป็นช่วงที่เชื้อมีอัตราการเจริญเติบโตมากที่สุดพบว่า เชื้อที่มีอัตราการใช้น้ำตาลกลูโคสในช่วง Log phase มากที่สุดคือ เชื้อกลายพันธุ์ 60-16 รองลงมาคือเชื้อกลายพันธุ์ 60-12, 60-17, 45-20, 45-21, 60-25 และ เชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม ซึ่งมีค่าอัตราการใช้น้ำตาลกลูโคสในระยะ Log phase เท่ากับ 0.1368, 0.1346, 0.1321, 0.0683, 0.0682, 0.0457 และ 0.0100 กรัมต่อชั่วโมง ตามลำดับซึ่งเชื้อที่มีอัตราการใช้น้ำตาลกลูโคสในช่วง Log phase มากที่สุดไม่ใช่เชื้อที่มีอัตราการเจริญเติบโตมากที่สุด แต่อย่างไรก็ตามเชื้อกลายพันธุ์ทุกไอโซเลทมีอัตราการใช้น้ำตาลกลูโคสในช่วง Log phase และอัตราการเจริญเติบโตมากกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม ดังนั้นจึงสามารถระบุได้ว่าเชื้อที่มีอัตราการใช้น้ำตาลกลูโคสมากที่สุดอาจไม่ใช่เชื้อที่มีอัตราการเจริญเติบโตมากที่สุด เนื่องจากการใช้น้ำตาลกลูโคสของเชื้อนั้นเกี่ยวเนื่องกับทั้งการเจริญเติบโตและการใช้ในกิจกรรมต่าง ๆ ของเซลล์ แต่เชื้อที่มีอัตราการใช้น้ำตาลกลูโคสที่สูงอาจมีแนวโน้มในการมีอัตราการเจริญเติบโตที่สูงเช่นเชื้อกลายพันธุ์ที่มีอัตราการใช้น้ำตาลกลูโคสสูงกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมและมีอัตราการเจริญเติบโตที่สูงกว่า

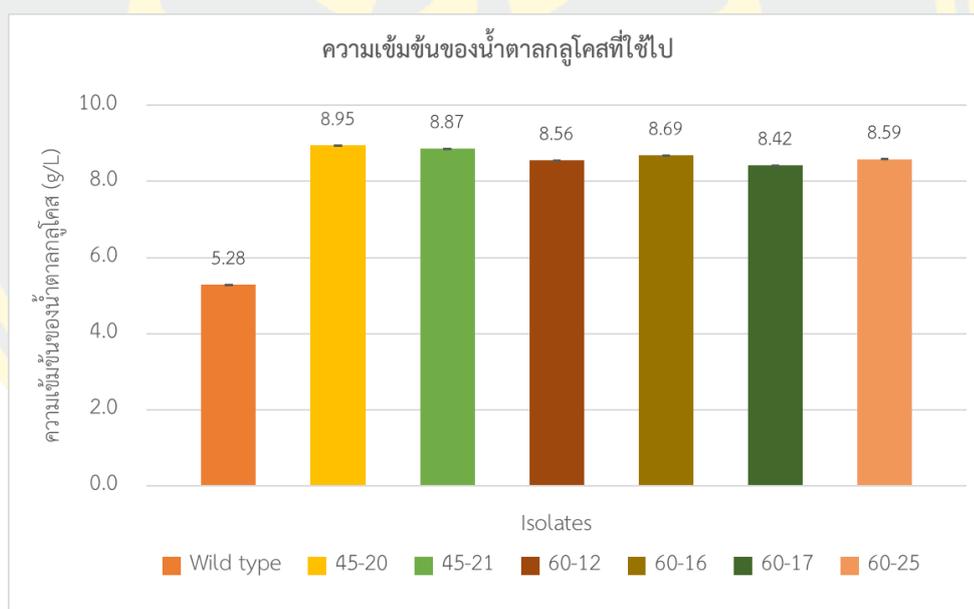


รูปที่ 4.7 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสและค่าการดูดกลืนแสงระหว่างการหมักเปรียบเทียบระหว่างเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมและเชื้อกลายพันธุ์

ณ เวลา 72 ชั่วโมง เมื่อเชื้อแต่ละไอโซเลทมีการเจริญเติบโตคงที่และมีปริมาณน้ำตาลที่คงที่ น้ำตาลกลูโคสคงเหลือในอาหารหมักด้วยเชื้อของแต่ละไอโซเลทพบว่า ความเข้มข้นของกลูโคสคงเหลือนั้นไม่เท่ากัน โดยพบว่าเชื้อที่มีความสามารถในการใช้น้ำตาลกลูโคสมากที่สุด หรือเชื้อที่คงเหลือความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในอาหารหมักหลังการหมักน้อยที่สุดคือเชื้อกลายพันธุ์ 45-20 รองลงมาคือเชื้อกลายพันธุ์ 45-21, 60-16, 60-25, 60-12, 60-17 และเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมตามลำดับ โดยมีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสคงเหลืออยู่ที่ 11.05 ± 0.01 , 11.13 ± 0.01 , 11.31 ± 0.01 , 11.41 ± 0.01 , 11.44 ± 0.01 , 11.58 ± 0.01 และ 14.72 ± 0.01 กรัมต่อลิตร ตามลำดับดังรูปที่ 4.8 (ก.) ซึ่งมีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่ลดลงหรือถูกใช้ไป 8.95 ± 0.01 , 8.87 ± 0.01 , 8.69 ± 0.01 , 8.59 ± 0.01 , 8.56 ± 0.01 , 8.42 ± 0.01 และ 5.28 ± 0.01 กรัมต่อลิตร ตามลำดับดังรูปที่ 4.8 (ข.)



(ก.)

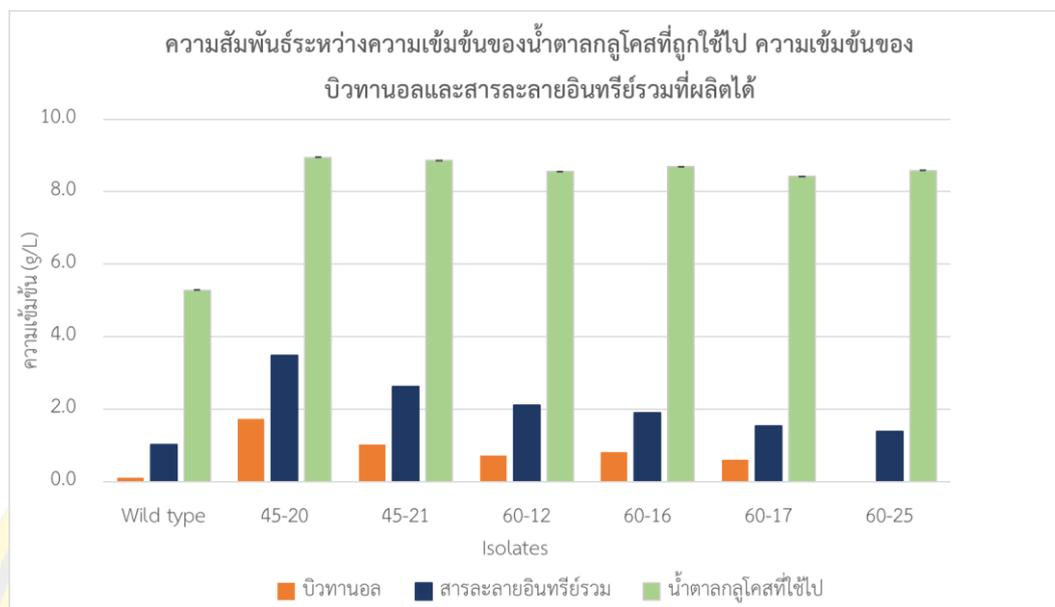


(ข.)

รูปที่ 4.8 ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสหลังการหมัก (ก.) ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสคงเหลือหลังการหมัก (ข.) ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่ลดลง

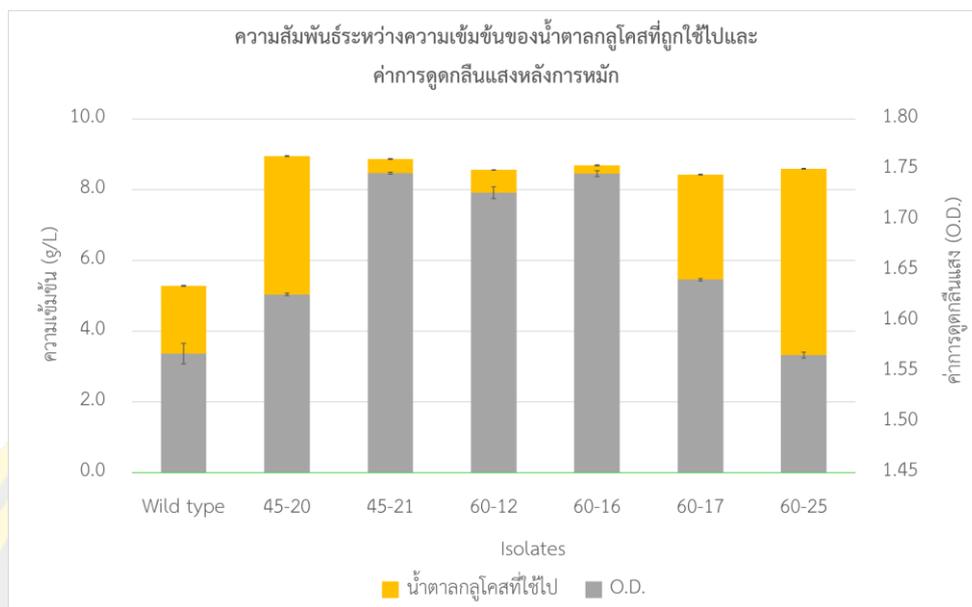
เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของกลูโคสที่ถูกใช้ไป ความเข้มข้นของสารละลายอินทรีย์รวมและความเข้มข้นของบิวทานอลที่ผลิตได้ในการทดลองนี้พบว่าเชื้อที่สามารถใช้น้ำตาลกลูโคสได้มากมีแนวโน้มที่จะสร้างสารละลายอินทรีย์รวมได้มากกว่าเชื้อที่มีความสามารถในการใช้กลูโคสได้น้อยกว่า โดยสังเกตจากเชื้อสายพันธุ์ 45-20 สามารถใช้น้ำตาลกลูโคสได้สูงที่สุดและมีความสามารถในการผลิตสารละลายอินทรีย์รวมได้มากที่สุดรวมถึงสามารถผลิตบิวทานอลได้มากที่สุดเช่นเดียวกัน แต่ไม่ใช่ทุกไอโซเลทที่มีแนวโน้มเดียวกันโดยพบว่าเชื้อสายพันธุ์ไอโซเลทที่มีการใช้น้ำตาลกลูโคสได้มากกว่าไม่ใช่ไอโซเลทที่สามารถผลิตสารละลายอินทรีย์รวมได้มากกว่าอาทิ เชื้อสายพันธุ์ 60-16 ที่ใช้น้ำตาลกลูโคสไป 8.69 กรัมต่อลิตร ซึ่งมากกว่าเชื้อสายพันธุ์ 60-12 ที่ใช้น้ำตาลกลูโคสไป 8.56 กรัมต่อลิตร แต่มีความสามารถในการผลิตสารละลายอินทรีย์รวมได้น้อยกว่าซึ่งสามารถผลิตได้เพียง 1.9056 กรัมต่อลิตร ในขณะที่เชื้อสายพันธุ์ 60-12 สามารถผลิตได้ 2.1110 กรัมต่อลิตร

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของกลูโคสที่ถูกใช้ไปและความเข้มข้นของบิวทานอลพบว่าค่าความเข้มข้นของกลูโคสที่ถูกใช้ไปไม่สัมพันธ์กับค่าความเข้มข้นของบิวทานอลที่เชื้อผลิตขึ้น เนื่องจากเชื้อสายพันธุ์ทุกไอโซเลทมีค่าการใช้น้ำตาลกลูโคสที่มากกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม แต่เชื้อสายพันธุ์ไม่ทุกไอโซเลท (เชื้อสายพันธุ์ 60-25) ที่จะสามารถผลิตบิวทานอลได้ความเข้มข้นที่มากกว่าเชื้อสายพันธุ์เดิมดังรูปที่ 4.9 ดังนั้นจึงไม่สามารถบ่งบอกได้ว่าเชื้อที่มีการใช้น้ำตาลกลูโคสได้มากจะมีการผลิตบิวทานอลได้มากกว่าเชื้อที่มีการใช้น้ำตาลกลูโคสน้อยกว่า เนื่องจากน้ำตาลกลูโคสที่เข้าสู่เซลล์จะถูกใช้เป็นส่วนตั้งต้นในการสังเคราะห์สารอื่น ๆ ต่อไปของปฏิกิริยาในกระบวนการของเซลล์ โดยการที่เซลล์จะผลิตสารใดในปริมาณมากหรือน้อยนั้นขึ้นอยู่กับคำสั่งของยีนที่ควบคุมกระบวนการผลิตของสารนั้น ๆ ดังนั้นน้ำตาลกลูโคสที่เข้าสู่เซลล์จะถูกผลิตเป็นบิวทานอลออกมาสู่นอกเซลล์ในอัตราส่วนที่ถูกกำหนดโดยพันธุกรรมของเซลล์นั้น ๆ (Li et al., 2011)



รูปที่ 4.9 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป ความเข้มข้นของบิวทานอลและสารละลายอินทรีย์รวมที่ผลิตได้

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของกลูโคสที่ถูกใช้ไปกับค่าอัตราการเจริญเติบโตหลังจากเสร็จสิ้นการหมักพบว่าเชื้อสายพันธุ์ทุกไอโซเลทยกเว้นเชื้อสายพันธุ์ 60-25 มีการใช้น้ำตาลกลูโคสและมีการดูดกลืนแสงที่มากกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมดังรูปที่ 4.10 เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักจะพบว่าค่าความเข้มข้นของกลูโคสที่ถูกใช้ไปจะไม่มีความสัมพันธ์อย่างนัยสำคัญกับค่าการดูดกลืนแสง กล่าวคือค่าความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไปจะไม่สามารถแสดงถึงแนวโน้มที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของเชื้อได้ เนื่องจากเชื้อมีการใช้น้ำตาลตลอดการหมักทั้งใช้ในการเจริญเติบโต การแบ่งเซลล์และการสร้างสารต่าง ๆ ของเซลล์ ดังนั้นค่าความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไปจะถูกนำไปใช้ในหลากหลายกิจกรรมของเซลล์ แต่เซลล์ของแต่ละไอโซเลทจะมีการนำน้ำตาลกลูโคสไปใช้ในแต่ละกิจกรรมของเซลล์ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน ดังนั้นค่าความเข้มข้นของกลูโคสคงเหลือหลังการหมักจึงไม่สามารถบ่งชี้ถึงความสัมพันธ์กับค่าการดูดกลืนแสงของเชื้อหลังการหมักได้



รูปที่ 4.10 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไปและค่าการดูดกลืนแสงหลังการหมัก

เมื่อพิจารณาการอัตราการเจริญเติบโต ปริมาณการผลิตสารละลายอินทรีย์ร่วมกับการใช้น้ำตาลกลูโคสในกระบวนการหมักพบว่า ค่าปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ใช้ไปอาจไม่สามารถบ่งบอกได้ว่าเชื้อที่มีการใช้น้ำตาลกลูโคสมากที่สุดจะเป็นเชื้อที่มีอัตราการเจริญเติบโตมากที่สุด แต่อาจแสดงถึงแนวโน้มได้คือเชื้อที่มีค่าการใช้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสมาก อาจมีแนวโน้มที่จะมีอัตราการเจริญเติบโตมาก เช่น เชื้อกลายพันธุ์ไอโซเลทที่มีค่าปริมาณการใช้น้ำตาลกลูโคสมากที่สุด ไม่ใช่เชื้อกลายพันธุ์ไอโซเลทเดียวกันกับที่มีอัตราการเจริญเติบโตมากที่สุด แต่เมื่อเปรียบเทียบกับอัตราการเจริญเติบโตจึงพบว่าเชื้อกลายพันธุ์ทุกไอโซเลทมีอัตราการใช้น้ำตาลกลูโคสมากกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมและมีอัตราการเจริญเติบโตมากกว่าเช่นเดียวกัน และเมื่อเปรียบเทียบการใช้น้ำตาลกลูโคส ปริมาณการผลิตบิวทานอลและสารละลายอินทรีย์พบว่า ปริมาณการใช้น้ำตาลกลูโคสไม่สามารถบ่งบอกได้ถึงอัตราการผลิตบิวทานอลและสารละลายอินทรีย์ได้ เนื่องจากเชื้อที่มีอัตราการใช้น้ำตาลกลูโคสที่มากไม่ใช่เชื้อที่สามารถผลิตบิวทานอลและสารละลายอินทรีย์รวมได้มากที่สุด

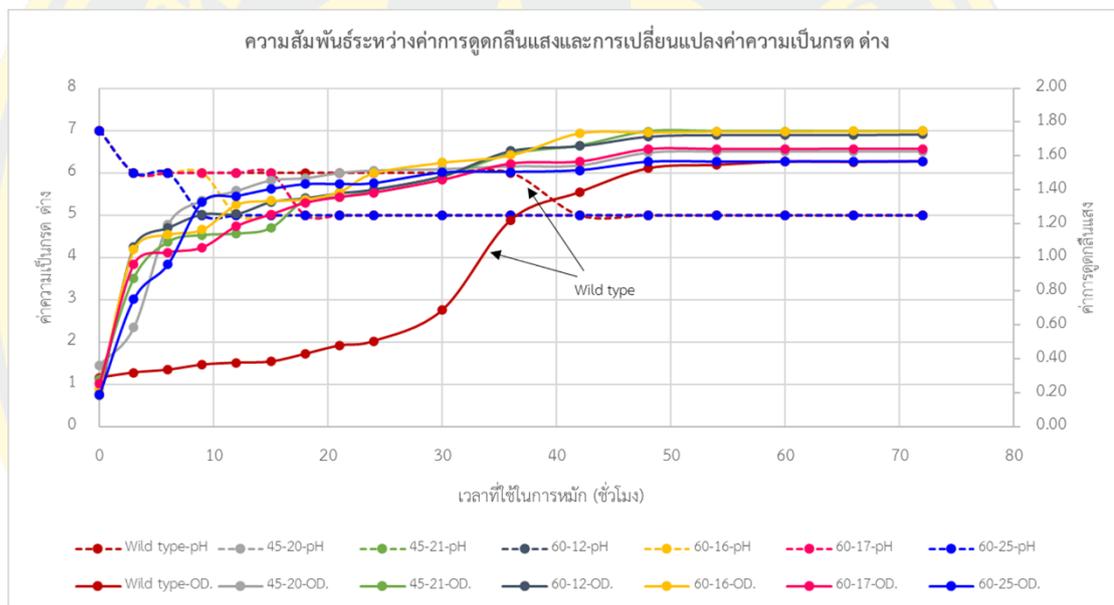
4.1.7 ค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่างการหมักบิวทานอล

ค่าความเป็นกรด-ด่างเป็นตัวแปรที่มีความสำคัญต่อระบบการหมักเนื่องจากจะมีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ การปรับตัวให้เกิดการผลิตสารผลิตภัณฑ์ของเซลล์และส่งผลกระทบต่อการทำงานของเอนไซม์ต่าง ๆ ของเซลล์ (Al-Shorgani, Kalil, Yusoff, & Hamid, 2018) ในขั้นตอนก่อนการหมักบิวทานอลโดยใช้อาหารหมัก Phosphate carbonate medium โดยในขวดหมักที่มีปริมาตรการหมัก (working volume) 300 มิลลิลิตร มีค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นอยู่ที่ 6.5 ในการวัดค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่างการหมักการนำตัวอย่างออกมาวัดค่าต่าง ๆ จำเป็นต้องนำตัวอย่างออกมาในปริมาณที่น้อยที่สุดเพื่อให้ให้ระบบ ซึ่งในการทดลองนี้ได้นำตัวอย่างของน้ำหมักออกมาวัดค่าในเวลาต่าง ๆ โดยปริมาตรที่นำมาวัดค่าความเป็นกรด-ด่างคือ 1 มิลลิลิตร จึงทำการวัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยกระดาษยูนิเวอร์แซลอินดิเคเตอร์ (universal indicator) เพื่อให้ใช้ปริมาณตัวอย่างน้อยที่สุด แต่การใช้การวัดค่าด้วยกระดาษยูนิเวอร์แซลอินดิเคเตอร์จะมีค่าความละเอียดของการวัดเท่ากับ 1 (ข้อมูลแสดงไว้ดังภาคผนวก ค.) ผลของการวัดค่าความเป็นกรด-ด่างพบว่าเชื้อกลายพันธุ์ทุกไอโซเลทมีการเปลี่ยนค่าความเป็นกรด-ด่างที่เร็วกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม โดยเชื้อกลายพันธุ์ทุกไอโซเลทจะมีการเปลี่ยนค่าความเป็นกรด-ด่างจาก 6.5 ไปเป็น 6 ในระยะเวลา 3 ชั่วโมงแรกตั้งแต่เริ่มการหมัก โดยที่เชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมเริ่มเปลี่ยนค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่างชั่วโมงที่ 21 ถึง 24 ซึ่งจะค่อย ๆ ลดลงจนถึง 5 ในทุกตัวอย่าง โดยแนวโน้มการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างนี้เรียงจากการลดลงจากเร็วไปช้าได้ดังนี้ เชื้อกลายพันธุ์ 45-20 เท่ากับ 60-12 รองลงมาคือเชื้อกลายพันธุ์ 60-16, 60-17 เท่ากับ 60-25, 45-21 และเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม ตามลำดับ

หลังจากการหมัก ณ วันที่ 5 มีการวัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) ที่มีช่วงค่าความละเอียดเท่ากับ 0.02 พบว่าเชื้อกลายพันธุ์ทุกไอโซเลทมีค่าความเป็นกรด-ด่างที่ต่ำกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมโดยเชื้อกลายพันธุ์ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำที่สุดได้แก่เชื้อกลายพันธุ์ 45-20, 60-12, 60-17, 60-25, 60-16 และ 45-21 มีค่าความเป็นกรด-ด่าง คือ 4.57, 4.82, 4.90, 4.91, 4.91, 4.98 และ 5.14 ตามลำดับ ส่วนเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมหลังจากการหมักมีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ที่ 5.36 ดังรูป 4.11

เมื่อพิจารณาช่วงของการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างของเชื้อกลายพันธุ์และเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมเปรียบเทียบกับอัตราการเจริญเติบโตจากการดูคลื่นแสงพบว่าช่วงที่เชื้อมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว (Log phase) จะเป็นช่วงที่มีการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างเช่นเดียวกัน ซึ่งในระยณะนี้ของเชื้อจะเรียกว่าเป็นช่วงของการผลิตกรด (Acidogenesis phase) จะทำ

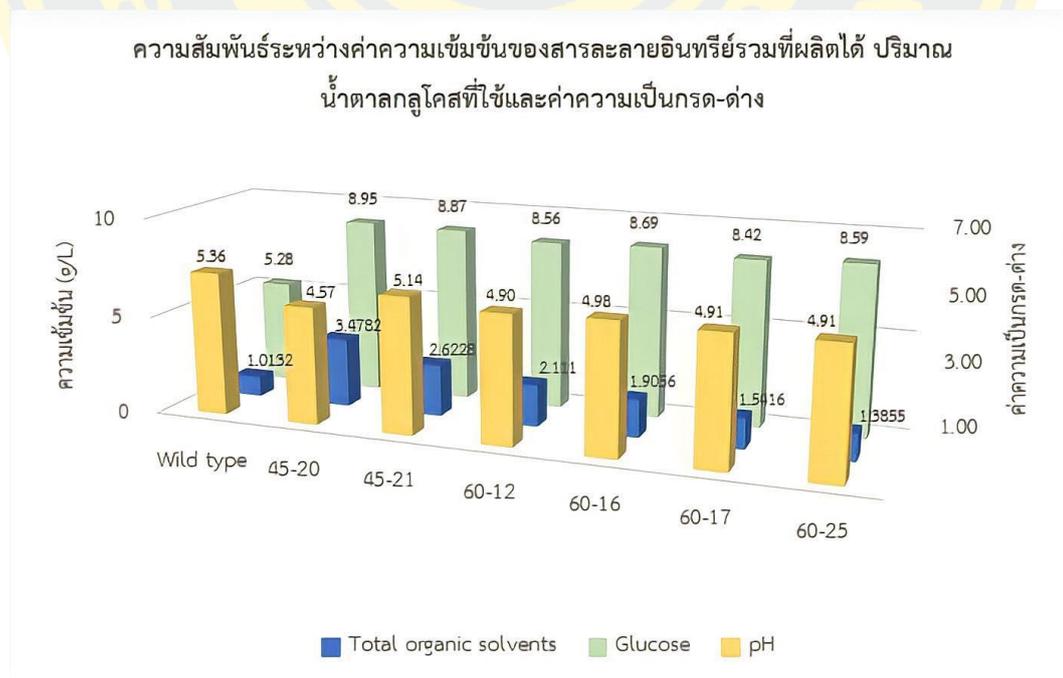
ให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงก่อนเข้าสู่ช่วงของการผลิตสารละลายอินทรีย์ (Solventogenesis phase) และเมื่อพิจารณาค่าความเป็นกรด-ด่างหลังการหมักเปรียบเทียบกับอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อในหลังการหมัก พบว่าเชื้อกลายพันธุ์ทุกไอโซเลท (ยกเว้นเชื้อกลายพันธุ์ 60-25) มีค่าการดูดกลืนแสงที่ต่ำกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมและมีความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมจึงกล่าวได้ว่า เมื่อเชื้อมีการเจริญเติบโตจะมีการผลิตกรดหรือสารอินทรีย์ที่มีฤทธิ์เป็นกรดออกมาทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง แต่อย่างไรก็ตามเชื้อกลายพันธุ์ 60-25 ถึงแม้จะมีค่าการดูดกลืนแสงที่ต่ำกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม แต่ก็มีค่าความเป็นกรด-ด่างหลังการหมักที่ต่ำกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม ดังนั้นสามารถระบุไว้ว่าการเจริญเติบโตของเชื้อมีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง



รูปที่ 4.11 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง

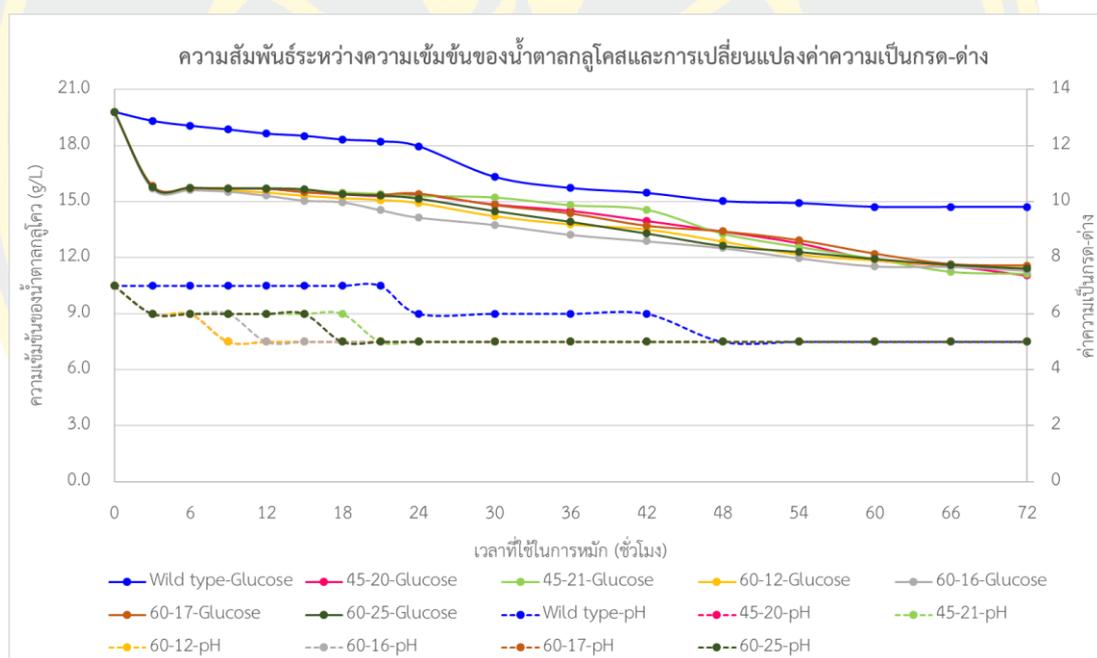
เมื่อพิจารณาค่าความเป็นกรด-ด่างเปรียบเทียบกับค่าความเข้มข้นของสารละลายอินทรีย์รวมที่เชื้อสามารถผลิตได้พบว่าเชื้อกลายพันธุ์ทุกไอโซเลทมีค่าความเข้มข้นของสารละลายอินทรีย์รวมมากกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม และความเร็วของการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่างการหมักลดลงเร็วกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม ดังรูปที่ 4.12 กล่าวได้ว่าเชื้อกลายพันธุ์เข้าสู่ระยะเวลาของการสร้างกรดที่เร็วกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมหลังจากนั้นค่าความเป็นกรด-ด่างของการหมักจะมีความเร็วในการเปลี่ยนแปลงที่ลดลง (อยู่ในช่วงที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5) แสดงถึงการสร้างสารละลายที่เป็นกรดลดลง จึงเป็นช่วงหลังการผลิตกรดหรือเป็นช่วงการผลิตสารละลายอินทรีย์ ซึ่งการที่เชื้อกลายพันธุ์เข้าสู่ช่วงการผลิตเร็วและมีค่าความเป็นกรด-ด่างที่เปลี่ยนแปลงช้าลงเร็วกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม

นั้นบ่งบอกว่าเชื้อกลายพันธุ์มีการเข้าสู่ช่วงระยะเวลาการสร้างสารละลายอินทรีย์ที่เร็วกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม ทำให้เชื้อกลายพันธุ์มีระยะเวลาของช่วงการสร้างสารละลายอินทรีย์ที่มากกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมในระยะเวลาของการหมักที่เท่ากันคือ 5 วัน ซึ่งระยะเวลาของการสร้างสารละลายอินทรีย์นี้จะมีผลต่อปริมาณสารละลายอินทรีย์ที่เซลล์ผลิตได้ โดยสารละลายอินทรีย์ที่เซลล์ผลิตออกมาที่สามารถเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างได้คือสารจำพวกกรดอะซิติก acetate, butyrate, propionic และ furic (S. Liu et al., 2013) จะส่งผลให้ค่าความเป็นกรดเพิ่มขึ้น ส่วนสารผลิตภัณฑ์อะซิโตน เอทานอลและบิวทานอลมีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ที่ 7.0 (LabChem, 2012), 7.33 (JJS, 2022) และ 7.0 (Merck, 2021) ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าความเป็นกรด-ด่างที่เป็นกลางจึงไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง แต่อย่างไรก็ตามปริมาณของสารละลายอินทรีย์ที่เซลล์ผลิตได้นี้จะเกี่ยวข้องกับปัจจัยหลายปัจจัย อาทิ ลักษณะทางพันธุกรรม สภาพที่เอื้อต่อเชื้อที่มีลักษณะทางพันธุกรรมที่เปลี่ยนแปลงไปจากการกลายพันธุ์เป็นลักษณะเฉพาะจึงต้องอาศัยสภาพที่เอื้อต่อการผลิตสารละลายอินทรีย์ของเชื้อกลายพันธุ์นั้น ๆ แต่อย่างไรก็ตามระยะเวลาของช่วงการผลิตสารละลายอินทรีย์ที่มากกว่าส่งผลต่อปริมาณสารละลายอินทรีย์ที่ผลิตได้แต่อาจไม่สัมพันธ์กับปริมาณของบิวทานอลที่ผลิตได้ อาทิเชื้อกลายพันธุ์ 60-25 ที่มีระยะเวลาของช่วงการสร้างสารละลายอินทรีย์ที่มากกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมแต่มีการผลิตสารบิวทานอลในความเข้มข้นที่ต่ำกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม



รูปที่ 4.12 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของสารละลายอินทรีย์รวมที่ผลิตได้ ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ใช้ไป และค่าความเป็นกรด-ด่างหลังการหมัก

เมื่อเปรียบเทียบค่าความเป็นกรด-ด่างหลังการหมักกับค่าความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสคงเหลือหลังการหมักพบว่าเชื้อกลายพันธุ์ทุกไอโซเลทมีค่าความเป็นกรด-ด่างหลังการหมักต่ำกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม และมีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสคงเหลือหลังการหมักต่ำกว่า (มีการใช้น้ำตาลกลูโคสมากกว่า) เชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมดังรูปที่ 4.13 เนื่องจากน้ำตาลกลูโคสที่เป็นแหล่งคาร์บอนของเซลล์ถูกใช้ไปในทุกกิจกรรมของเซลล์อาทิ เป็นแหล่งพลังงานในการเจริญเติบโต นำไปใช้ในการผลิตสารละลายที่เป็นกรดในระยะการผลิตกรด นำไปใช้ผลิตสารละลายอินทรีย์ของเซลล์ซึ่งปริมาณสารอินทรีย์นี้ก็มีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่างเช่นกันดังอธิบายไว้ก่อนหน้านี้ เมื่อพิจารณาจนถึงช่วงระยะเวลาการเจริญเติบโตด้วยนั้นจะเห็นได้ว่าช่วงที่มีการลดลงอย่างรวดเร็วของค่าความเป็นกรด-ด่างเป็นช่วงที่มีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วของเซลล์หรือที่เรียกว่าระยะ Log phase จึงมีการใช้น้ำตาลกลูโคสในอัตราที่สูงเร็วกว่า ในทางตรงข้ามค่าการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างที่น้อยกว่าแสดงให้เห็นถึงใช้น้ำตาลกลูโคสในอัตราที่ต่ำกว่าจึงการสร้างสารละลายที่เป็นกรดน้อยกว่า



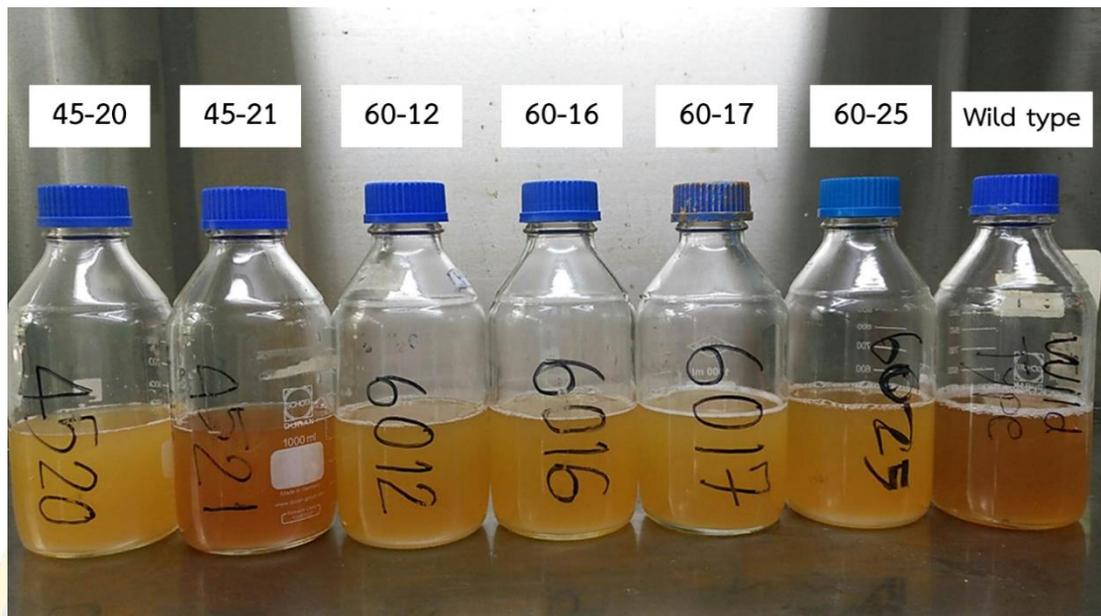
รูปที่ 4.13 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสและการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง

4.1.8 ลักษณะทางกายภาพของน้ำหมักหลังการหมักบิวทานอล

ในการหมักบิวทานอลนั้นจะใช้อาหารเพื่อการหมัก Phosphate carbonate medium ในช่วงเริ่มต้นของการหมักอาหารหมักจะมีลักษณะกายภาพเป็นของเหลวสีน้ำตาลส้ม (Burnt orange) ซึ่งสีน้ำตาลส้มดังกล่าวเป็นสีที่มาจากสีชมพูของ Resazurin ผสมกับสีเหลืองของ Yeast extract, Trypticase peptone เมื่อมีการเติมหัวเชื้อลงไปก่อนการหมักจะทำให้เกิดความขุ่น ดังรูปที่ 4.14 (ก.) หลังจากการหมักด้วยเชื้อ *C. cochlearium* ทั้งเชื้ออกลายพันธุ์และเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมครบ 5 วันพบว่าลักษณะสีของอาหารหมักเกิดการเปลี่ยนสีที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน โดยน้ำหมักจากเชื้ออกลายพันธุ์ 45-21 และเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมจะมีลักษณะสีเหลืองส้ม ส่วนน้ำหมักจากเชื้ออกลายพันธุ์อื่น (45-20, 60-12, 60-16, 60-17 และ 60-25) จะมีลักษณะเป็นสีเหลืองดังรูปที่ 4.14 (ข.) เมื่อพิจารณาถึงความแตกต่างของสีเทียบกับค่าความเป็นกรด-ด่างแล้วพบว่ามีความสอดคล้องกัน โดยเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมและเชื้ออกลายพันธุ์ 45-21 เป็นเชื้อที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมักหลังการหมักที่ใกล้เคียงกัน คือ 5.36 และ 5.14 ตามลำดับ ส่วนค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมักหลังการหมักด้วยเชื้ออกลายพันธุ์อื่น ๆ มีช่วงค่าอยู่ที่ประมาณ 4 ซึ่งจะเห็นได้ว่าสีของน้ำหมักที่ค่าความเป็นกรด-ด่างประมาณ 4 และ 5 มีความแตกต่างกัน เนื่องจากเมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงจาก 5 เป็น 4 จะทำให้สาร Resazurin เกิดการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบเป็น Dihydroresorufin ซึ่งมีสีเหลืองใส ทำให้สีโดยรวมของสารละลายที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4 มีสีเหลือง (Srivastava & Pande, 2017)



(ก.)



(ข.)

รูปที่ 4.14 ลักษณะของอาหารหมัก Phosphate carbonate medium (ก.) ก่อนการหมัก (ข.) หลังการหมัก

4.2 การสร้างถังปฏิกรณ์ชีวภาพต้นแบบขนาด 10 ลิตร และการหมักบิวทานอล

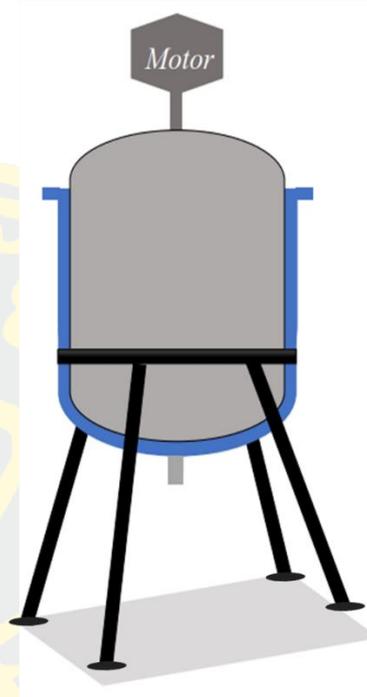
4.2.1 คุณลักษณะของถังปฏิกรณ์ชีวภาพ

ในการออกแบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพ มีการคำนวณทางทฤษฎีเพื่อให้ทราบถึงปริมาตรขนาดและสัดส่วนขององค์ประกอบถังปฏิกรณ์ รวมถึงการกำหนดช่องสำหรับเป็นทางเข้า-ออกของสารที่ใช้ในกระบวนการหมักและการกำหนดช่องสำหรับติดตั้งอุปกรณ์ต่าง ๆ ไว้อย่างเหมาะสม แต่อย่างไรก็ตามการสร้างถังปฏิกรณ์สำหรับงานวิจัยนี้จะใช้วัสดุที่มีจำหน่ายในท้องตลาดเพื่อง่ายต่อการสร้างและประหยัดต้นทุน โดยมีลักษณะโดยรวมของถังปฏิกรณ์ที่สร้างขึ้นจริง ซึ่งมีลักษณะใกล้เคียงกับถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่ได้ทำการออกแบบไว้ดังรูปที่ 4.15

ถังปฏิกรณ์ชีวภาพจากการสร้างจริง



ถังปฏิกรณ์ชีวภาพจากการออกแบบ



รูปที่ 4.15 ลักษณะโดยรวมของถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่สร้างขึ้นจริงเทียบกับถังปฏิกรณ์ชีวภาพจากการออกแบบ

โดยถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่สร้างขึ้นจริงมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

- 1) ตัวถังหลักชั้นด้านในใช้ท่อสแตนเลสเกรด 316 ความยาว 370 มิลลิเมตร ความกว้าง 215 มิลลิเมตร ดังรูปที่ 4.16 (ก.) และ (ข.) และความหนา 4 มิลลิเมตร เทียบกับจากการคำนวณคือ มีความยาว 345 มิลลิเมตร ความกว้าง 230 มิลลิเมตร และความหนา 4 มิลลิเมตร
- 2) ตัวถังหลักชั้นด้านนอก ใช้ท่อสแตนเลสเกรด 316 มีความยาว 330 มิลลิเมตร ความกว้าง 235.1 มิลลิเมตร ดังรูปที่ 4.16 (ก.) และ (ข.) และหนา 4 มิลลิเมตร เทียบกับจากการคำนวณคือมีความยาว 345 มิลลิเมตร ความกว้าง 230 มิลลิเมตร และความหนา 4 มิลลิเมตร
- 3) ชั้นแจ็คเก็ตมีความหนา 20.1 มิลลิเมตร เทียบกับจากการคำนวณคือมีความหนา 23 มิลลิเมตร
- 4) ส่วนของหัวและก้นถังมีลักษณะโค้งมน มีความกว้างเท่ากับความกว้างของถังหลักชั้นนอก มีความสูง 100 มิลลิเมตร ดังรูปที่ 4.16 (ก.) เทียบกับจากการคำนวณคือมีความกว้าง 230 มิลลิเมตรและความสูง 57.5 มิลลิเมตร

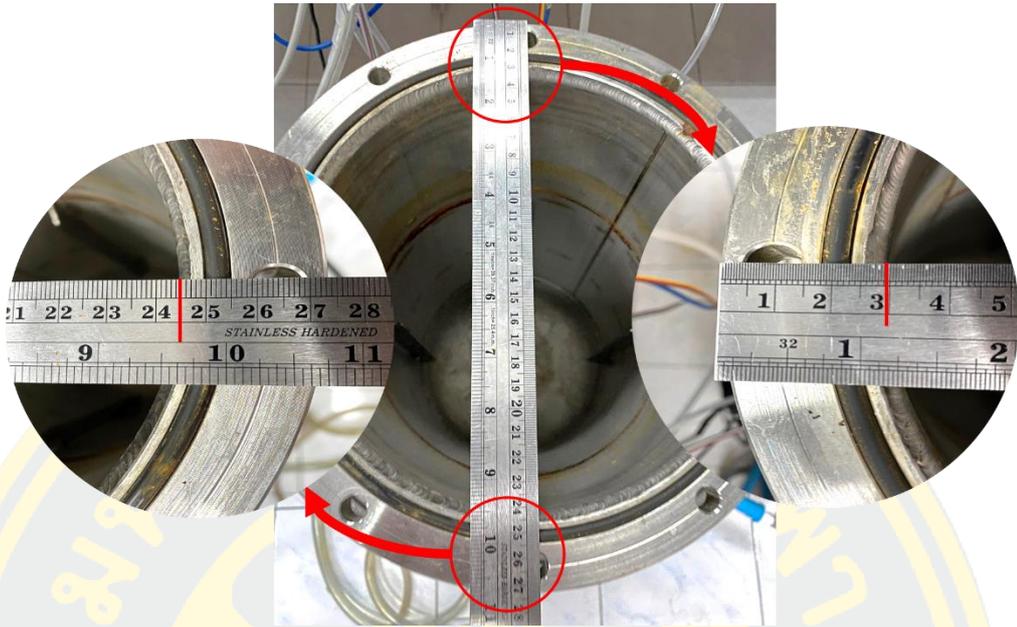
5) ส่วนของขาตั้งมีความยาว 570 มิลลิเมตร สูง 220 มิลลิเมตร เทียบกับจากการคำนวณคือมีความสูง 500 มิลลิเมตร ดังรูปที่ 4.16 (ค.)

6) ถังปฏิกรณ์สูงรวมทั้งหมด 1,275 มิลลิเมตร (รวมความสูงของมอเตอร์ที่ติดตั้งด้านบนของถังปฏิกรณ์) ดังรูปที่ 4.16 (ค.)

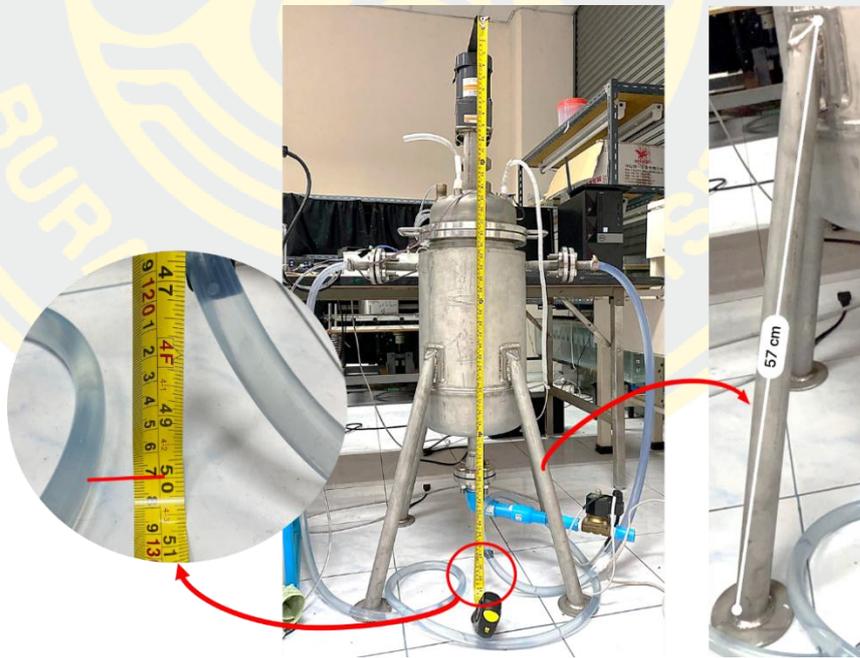
7) ส่วนของใบกวนเป็นแบบ Pitch Blade Impeller จำนวน 4 ใบ ความกว้าง 18 มิลลิเมตร ความยาว 78 มิลลิเมตร และส่วนของแผ่นกั้นการกวนมีความกว้าง 21 มิลลิเมตร ความยาว 245 มิลลิเมตร ดังรูปที่ 4.16 (ง.) เมื่อเปรียบเทียบจากการคำนวณคือใบกวนมีความกว้าง 15.32 มิลลิเมตร ความยาว 76.6 มิลลิเมตร และส่วนของแผ่นกั้นการกวนมีความกว้าง 19.2 มิลลิเมตร ความยาว 237.6 มิลลิเมตร



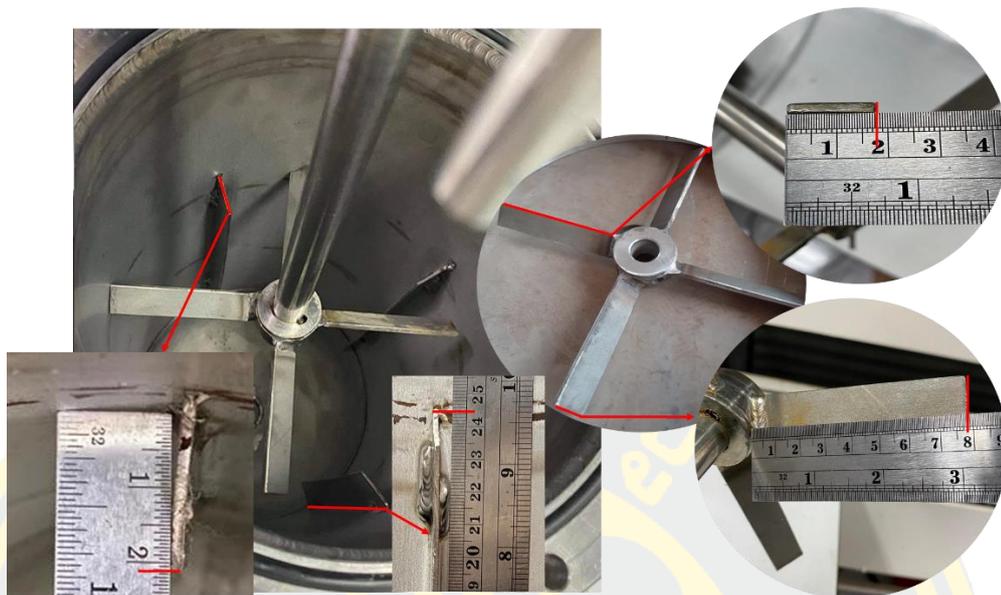
(ก.)



(ข.)



(ค.)



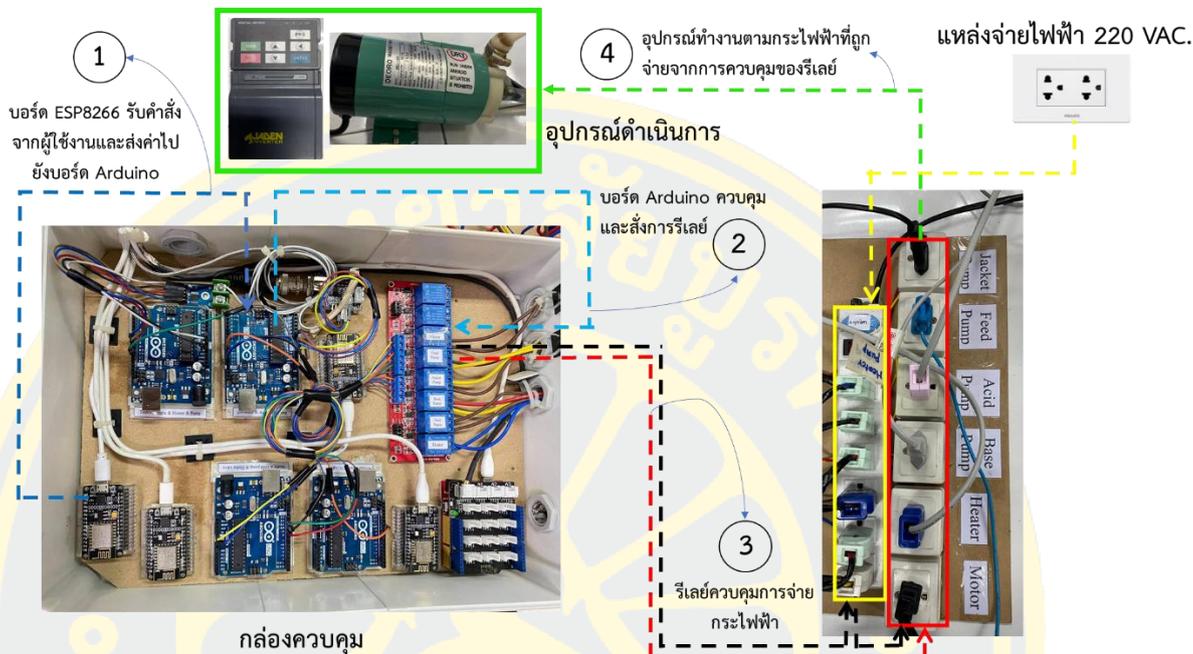
(จ.)

รูปที่ 4.16 สัดส่วนของถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่ได้จากการวัดจริง (ก.) ความสูงของตัวถัง ความยาวของส่วนโค้งบริเวณก้นถังและความหนาของชั้นแจ๊คเก็ต (ข.) ความกว้างของตัวถัง (ค.) ความสูงโดยรวมของถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (รวมมอเตอร์) และความยาวของขาตั้ง (ง.) ขนาดใบกวนและแผ่นกั้นการกวน

4.2.2 ผลการติดตั้งอุปกรณ์ควบคุมและวัดค่า

การวางอุปกรณ์ควบคุมจะแบ่งเป็น 2 ส่วนคือ ส่วนแรกเป็นอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์สำหรับใช้ควบคุมอุปกรณ์ไฟฟ้าอื่นเช่น ปั้มน้ำ วาล์วอิเล็กทรอนิกส์ (solenoid valve) มอเตอร์ และฮีตเตอร์ หรือเรียกว่าเป็นอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์สั่งการ (controller) อุปกรณ์ในส่วนนี้ ได้แก่ บอร์ด ESP8266 ทำหน้าที่ในการรับคำสั่งจากผู้ใช้งานแล้วส่งไปยังบอร์ด Arduino UNO R3 (หมายเลข 1) ที่ทำหน้าที่ในการรับค่า ประมวลผลและสั่งการในรูปแบบของสัญญาณไฟฟ้ากระแสตรงแรงดัน 5 โวลต์ (5 VDC) ไปสั่งการผ่านรีเลย์ (Relay) (หมายเลข 2) ในการเปิดหรือปิดวงจรไฟฟ้า เมื่อวงจรไฟฟ้าเปิดจะทำให้วงจรขาดส่งผลให้เป็นการตัดกระแสไฟฟ้าและเมื่อวงจรปิดทำให้วงจรไฟฟ้าถูกต่อครบวงจรส่งผลให้เป็นการจ่ายกระแสไฟฟ้า (หมายเลข 3) โดยรีเลย์ที่นำมาใช้ต่อใช้แบบ normally close หรือปกติปิด เป็นการจ่ายกระแสไฟฟ้าเข้าไปเพื่อให้รีเลย์ปิดวงจรหรือทำให้กระแสไฟฟ้าถูกจ่าย โดยรับสัญญาณจากบอร์ด Arduino เป็นไฟฟ้าขนาด 5 VDC ควบคุมวงจรไฟฟ้าขนาด 220 VAC อีกแบบ คืออุปกรณ์ไฟฟ้าควบคุมสถานะที่ถูกควบคุมโดยอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์อีกที หรือเรียกว่าอุปกรณ์ดำเนินการ (final control element) อุปกรณ์เหล่านี้จะถูกควบคุมการปิด-เปิด

จากการจ่ายกระแสไฟฟ้าจากรีเลย์ (หมายเลข 4) โดยลักษณะการทำงานระหว่างอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์สั่งการและอุปกรณ์ดำเนินการจะทำงานสัมพันธ์กันดังรูปที่ 4.17



รูปที่ 4.17 การทำงานระหว่างอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์สั่งการและอุปกรณ์ดำเนินการ

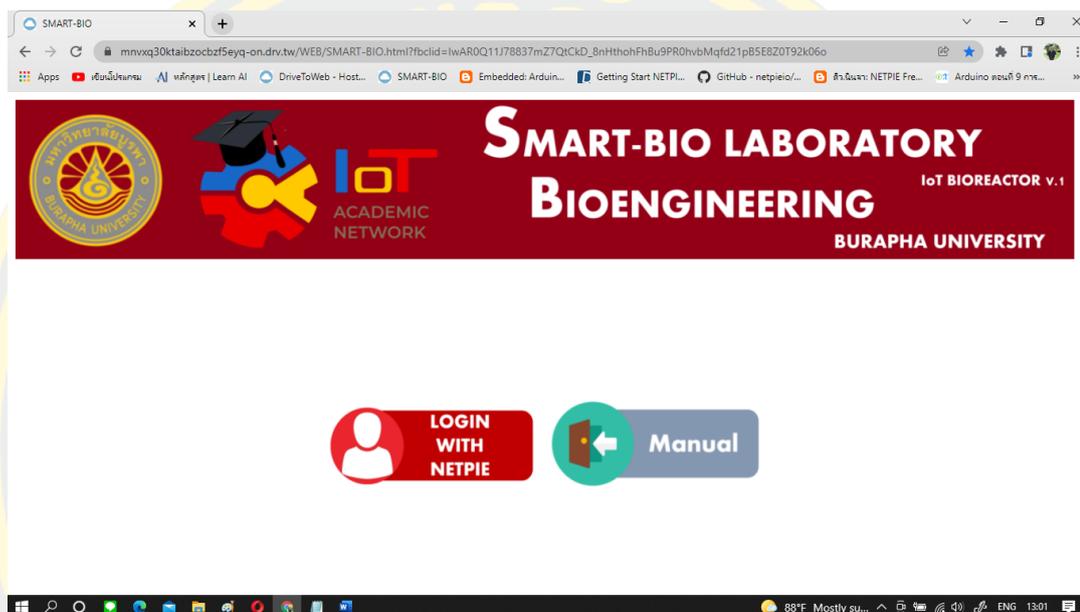
อุปกรณ์สำหรับการวัดค่า (sensor) ใช้ในการวัดค่าสถานะในระบบได้แก่ค่าอุณหภูมิในถังปฏิกรณ์และถังต้มน้ำร้อนจะทำการวัดค่าโดยใช้ Thermocouple ค่าความเป็นกรด-ด่างจะถูกวัดโดยใช้ pH meter และค่าแก๊สออกซิเจนจะถูกวัดโดย Oxygen sensor ซึ่งอุปกรณ์วัดค่าเหล่านี้จะทำการวัดค่าสถานะและส่งข้อมูลเป็นกระแสไฟฟ้าไปยังบอร์ดควบคุม Arduino เพื่อให้บอร์ดทำการแปลผลตามโปรแกรมสั่งการที่ถูกเขียนไว้ในบอร์ด และค่าสถานะเหล่านี้จะถูกนำไปใช้คำนวณเพื่อควบคุมการปิด เปิดอุปกรณ์ดำเนินการในการควบคุมสถานะ นอกจากนั้นยังถูกส่งไปยังบอร์ด ESP8266 เพื่อให้บอร์ดส่งขึ้นระบบ cloud บันทึกข้อมูลเพื่อนำข้อมูลไปใช้วิเคราะห์ต่อไป ซึ่งข้อมูลสถานะที่ถูกจัดเก็บไว้บน cloud นั้นได้แก่ ค่าอุณหภูมิภายในถังปฏิกรณ์ ค่าอุณหภูมิในถังต้มน้ำร้อน ค่าความเป็นกรด-ด่าง และค่าความเข้มข้นของแก๊สออกซิเจน ซึ่งจะจัดเก็บไว้รูปแบบไฟล์ Excel ของ Google sheet การต่ออุปกรณ์วัดเข้ากับบอร์ดควบคุม Arduino และบอร์ดส่งค่า ESP8266 จะมีลักษณะดังรูปที่ 4.18

4.2.3.1 การควบคุมอุปกรณ์และแสดงผลข้อมูลสถานะบน NETPIE

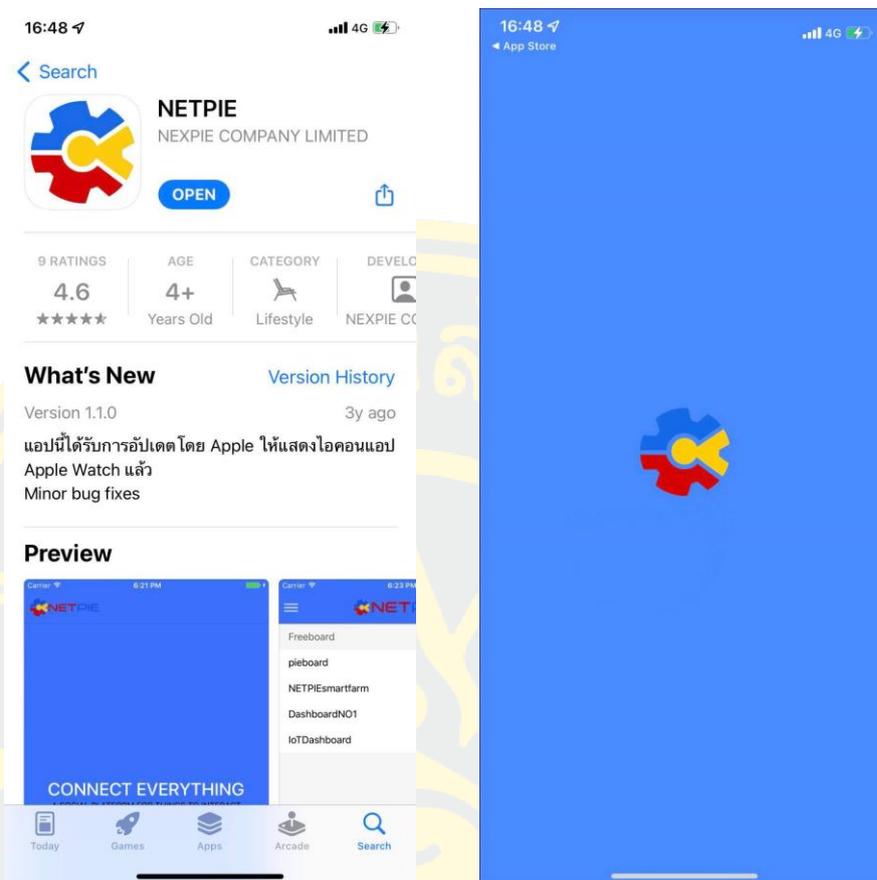
การใช้ NETPIE ในการเชื่อมต่อและควบคุมอุปกรณ์ผ่านระบบอินเทอร์เน็ต นั้น สามารถทำให้สั่งการควบคุมโดยการปิดหรือเปิดอุปกรณ์ผ่านทางเว็บแอปพลิเคชันของ NETPIE ได้ ซึ่งอุปกรณ์ในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่ใช้ในการผลิตบิวทานอลได้แก่ ป้อนำสารเข้าสู่ถังปฏิกรณ์ วาล์วควบคุมสารออกจากถังปฏิกรณ์ มอเตอร์ ป้อนำสารภายในถังปฏิกรณ์ อุปกรณ์ดังกล่าวมาข้างต้นสามารถสั่งการปิด-เปิดผ่านทางอินเทอร์เน็ตได้ โดยเป็นการรับคำสั่งจากผู้ใช้งานผ่านทางเว็บแอปพลิเคชันของ NETPIE ถูกส่งคำสั่งผ่านทางอินเทอร์เน็ตไปยังบอร์ด ESP8266 จากนั้นบอร์ด ESP8266 จะส่งคำสั่งไปยังบอร์ด Arduino เพื่อประมวลผลคำสั่งในการปิดหรือเปิดรีเลย์ซึ่งเป็นอุปกรณ์ควบคุมกระแสไฟฟ้าของอุปกรณ์ต่าง ๆ เมื่อรีเลย์สั่งการให้เปิดคือวงจรภายในรีเลย์จะปิดทำให้กระแสไฟฟ้าเดินครบวงจรเป็นการจ่ายกระแสไฟฟ้าให้กับอุปกรณ์ เมื่ออุปกรณ์มีกระแสไฟฟ้าก็จะสามารถทำงานได้ถือว่าเป็นการสั่งเปิดอุปกรณ์นั้น ๆ ในทางตรงกันข้ามหากบอร์ด Arduino รับคำสั่งและประมวลผลสั่งการให้รีเลย์ทำการเปิดวงจรทำให้วงจรไฟฟ้าภายในรีเลย์ไม่ครบวงจรส่งผลให้เกิดการหยุดจ่ายกระแสไฟฟ้าให้กับอุปกรณ์ซึ่งเป็นการสั่งการปิดอุปกรณ์ การใช้บอร์ด Arduino ในการควบคุมอุปกรณ์รีเลย์แทนการใช้บอร์ด ESP8266 ที่รับคำสั่งจากผู้ใช้ผ่านอินเทอร์เน็ตโดยตรงเนื่องจากการทดลองสร้างระบบควบคุมอุปกรณ์นี้มีการควบคุมอุปกรณ์จำนวนมาก จึงต้องใช้รีเลย์หลายช่องในการทดลองนี้รีเลย์ 8 ช่อง (Chanel) ซึ่งการจ่ายไฟเลี้ยงอุปกรณ์รีเลย์ขนาด 8 ช่องนี้เป็นการจ่ายไฟเลี้ยงที่ขนาด 5 โวลต์ โดยไฟขาออกที่บอร์ด ESP8266 สามารถจ่ายออกให้อุปกรณ์อื่น ๆ เป็นไฟขนาด 3.3 โวลต์ ซึ่งเป็นขนาดไฟที่ไม่แนะนำสำหรับการควบคุมรีเลย์ขนาด 8 ช่อง ซึ่งหากมีการจ่ายไฟให้รีเลย์ในขนาดที่ต่ำอาจจะก่อให้เกิดการทำงานที่ผิดพลาดของรีเลย์ได้ ซึ่งผู้ทดลองได้ทำการทดลองใช้ไฟเลี้ยงรีเลย์ขนาด 3.3 โวลต์แล้วพบว่ารีเลย์เกิดข้อผิดพลาดคือเกิดการปิด เปิดหน้าตัดรีเลย์อย่างรวดเร็วซ้ำ ๆ ในบางครั้ง ดังนั้นผู้ทำการทดลองจึงทดลองใช้รีเลย์กับบอร์ด Arduino และใช้ไฟขนาด 5 โวลต์จ่ายให้กับรีเลย์พบว่ารีเลย์สามารถทำงานตามคำสั่งได้อย่างปกติ และไม่เกิดปัญหาการเปิด-ปิดหน้าตัดรีเลย์อย่างรวดเร็วอีก ดังนั้นผู้ทดลองจึงวิเคราะห์ว่าการใช้บอร์ด ESP8266 ที่สามารถจ่ายไฟให้กับรีเลย์ขนาด 3.3 โวลต์นั้นอาจทำให้รีเลย์ขนาด 8 ช่องทำงานได้ไม่เต็มประสิทธิภาพ และการใช้รีเลย์ร่วมกับบอร์ด Arduino ที่สามารถจ่ายไฟขนาด 5 โวลต์ ซึ่งเป็นขนาดไฟตามคำแนะนำในคู่มือการใช้งาน (8 Channels Relay Module Quick Start Guide, Thai Electric) จะทำให้รีเลย์สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพและลดการเกิดข้อผิดพลาดในการทำงานได้ การทำงานควบคุมอุปกรณ์โดยสั่งการผ่านเว็บแอปพลิเคชันไปยังบอร์ด ESP8266 และส่งต่อไปยังบอร์ด Arduino นั้น การส่งผ่านข้อมูลคำสั่งระหว่างบอร์ดเป็นการส่งข้อมูลแบบ Software serial โดยมีการเชื่อมระหว่างบอร์ดด้วยสายจัมป์ 2 สาย เข้าช่องรับสัญญาณ (Rx) และช่องส่งสัญญาณ (Tx) ทั้งบอร์ด ESP8266 และบอร์ด Arduino การต่อสายรับสัญญาณและสายส่งสัญญาณทั้งสองบอร์ดเนื่องจากทั้งสองบอร์ด

จำเป็นต้องมีการส่งค่าซึ่งกันและกัน โดยบอร์ด ESP8266 เป็นบอร์ดที่ใช้ส่งค่าคำสั่งจากผู้ใช้งานจากอินเตอร์เน็ตไปยังบอร์ดควบคุม Arduino และบอร์ด Arduino จะประมวลผลส่งการรีเลย์ให้ทำตามสั่งพร้อมกับส่งค่าสถานะการทำงานของอุปกรณ์ว่าเปิด หรือปิดอยู่ไปยังบอร์ด ESP8266 ให้ส่งข้อมูลไปแสดงยังเว็บแอปพลิเคชัน การให้บอร์ดควบคุม Arduino รับคำสั่งจากบอร์ด ESP8266 แล้วประมวลผลแล้วค่อยส่งคำสั่งแสดงสถานะเพื่อเป็นการยืนยันว่าอุปกรณ์และบอร์ด Arduino ได้รับคำสั่งแล้วประมวลผลส่งการแล้ว ในการสั่งการและการส่งค่าแสดงสถานะการทำงานนั้นมีความเร็วในการตอบสนองอยู่ที่ประมาณ 1 ถึง 2 วินาที กล่าวคือเมื่อผู้ใช้งานทำการกดเปิดหรือปิดอุปกรณ์บนเว็บแอปพลิเคชันแล้วจะใช้เวลาดำเนินการปิดหรือเปิดอุปกรณ์ตามคำสั่งและส่งค่าสถานะการทำงานอุปกรณ์มาแสดงบนเว็บแอปพลิเคชันอยู่ที่ประมาณ 1 ถึง 2 วินาที ในการเข้าใช้งานเว็บแอปพลิเคชัน NETPIE เพื่อความสะดวกผู้วิจัยได้ทำการสร้างหน้าเว็บไซต์เพื่อใช้เข้าสู่หน้าเว็บ NETPIE นอกจากนั้นยังมีคู่มือสำหรับแนะนำการใช้งานระบบอยู่บนหน้าเว็บไซต์ที่สร้างขึ้นด้วยดังรูปที่ 4.19 ซึ่งผู้ใช้งานสามารถดาวน์โหลดคู่มือในรูปแบบไฟล์มาอ่านได้ หรือการเข้าใช้งานผ่านแอปพลิเคชันของ NETPIE บนโทรศัพท์มือถือได้ ซึ่งสามารถติดตั้งได้ทั้งระบบ ios และ Android ดังรูปที่ 4.20 ซึ่งเป็นการนำไฟล์เว็บไซต์ที่สร้างขึ้นด้วยภาษา HTML ไปอัปโหลดไว้ใน Google Drive แล้วทำให้ Google Drive ให้สามารถเป็น Server ได้โดยสร้างลิงก์ผ่านผ่านเว็บ DriveToWeb (ที่อยู่เว็บไซต์ <https://www.driv.tw/>) และสามารถเข้าใช้งานหน้าเว็บไซต์ที่สร้างขึ้นได้ผ่านลิงก์ https://mnvxq30ktaibzocbfz5eyq-on.driv.tw/WEB/SMART-BIO.html?f_bclid=lwAR0Q11J78837mZ7QtCkD_8nHthohFhBu9PR0hvbMqfd21pB5E8Z0T92k06o ซึ่งสภาวะที่แสดงบนเว็บแอปพลิเคชัน NETPIE ได้แก่ ค่าอุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าร้อยละของออกซิเจนภายในถังปฏิกรณ์ และการควบคุมช่วงค่าของค่าสภาวะให้อยู่ในช่วงค่าที่ต้องการบนเว็บได้แก่ ค่าค่าอุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าร้อยละของออกซิเจนภายในถังปฏิกรณ์ซึ่งนอกจากนั้นยังสามารถกรอกค่าคงที่สำหรับปรับจูนค่าการวัดให้กับเซนเซอร์ได้ และอีกส่วนหนึ่งจะเป็นส่วนของการแสดงสถานะการทำงานของอุปกรณ์และการควบคุมการปิด เปิดอุปกรณ์ได้แก่ มอเตอร์ ป้อนน้ำสารเข้าสู่ถังปฏิกรณ์ และวาล์วนำสารออกจากถังปฏิกรณ์ ซึ่งส่วนของอุปกรณ์ดังกล่าวจะสามารถส่งการควบคุมการปิด-เปิดได้ดังรูปที่ 4.21 (ก.) ส่วนอุปกรณ์ได้แก่ ฮีตเตอร์ ป้อนน้ำร้อน ป้อนสารละลายกรด ป้อนสารละลายต่างและวาล์วปล่อยแก๊สไนโตรเจน จะเป็นส่วนที่ไม่สามารถส่งการควบคุมการเปิด-ปิดได้ดังรูปที่ 4.21 (ข.) เนื่องจากผลการทำงานของอุปกรณ์เหล่านี้มาจากการคำนวณและประมวลผลร่วมกับค่าสภาวะต่าง ๆ จากการวัดของเซนเซอร์ ดังนั้นในส่วนของอุปกรณ์เหล่านี้บนเว็บแอปพลิเคชันจะเป็นเพียงการแสดงสถานะการทำงานเท่านั้น การทำงานทั้งส่วนของการควบคุมอุปกรณ์ การหนดค่าของสภาวะ การกำหนดค่าคงที่ของเซนเซอร์ดังรูปที่ 4.21 (ค.) และการแสดงผลทั้งแบบ Real-time ในรูปแบบของ Gauge ดังรูปที่ 4.22 ในค่าของตัวแปรปริมาณของแก๊สออกซิเจน

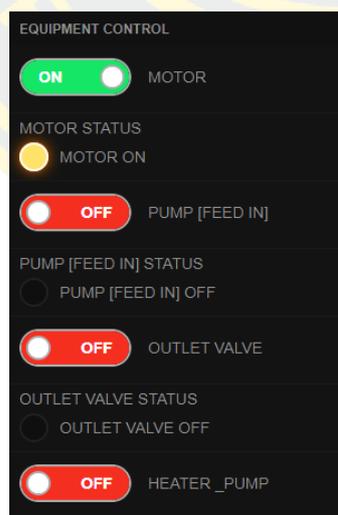
ภายในถังปฏิกรณ์ (ก.) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (ข.) และค่าอุณหภูมิภายในถังปฏิกรณ์ (ค.) นอกจากนี้ยังมีการแสดงค่าแบบกราฟแสดงค่าในเวลาต่าง ๆ ดังรูปที่ 4.23 ซึ่งค่าที่แสดงได้แก่ อุณหภูมิภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (ก.) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (ข.) ปริมาณแก๊สออกซิเจนภายในถังปฏิกรณ์ (ค.) และกราฟแสดงรวม (ง.)



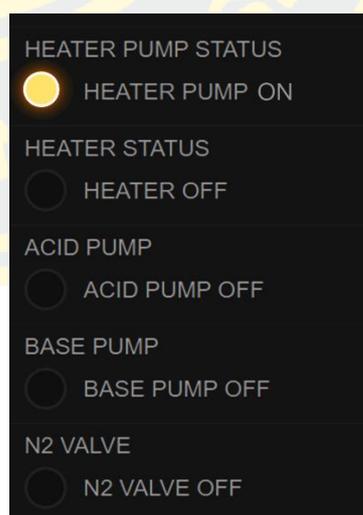
รูปที่ 4.19 หน้าเว็บไซต์สำหรับเข้าใช้งานระบบบนเว็บแอปพลิเคชัน NETPIE



รูปที่ 4.20 แอปพลิเคชันของ NETPIE บนโทรศัพท์มือถือ



(ก.)



(ข.)

CONTROL SETTING		
Minimum Temperature setting done!!! Degree Celsius	Minimum % of Oxygen setting done!!! %	Minimum pH setting done!!!
Maximum Temperature setting done!!! Degree Celsius	Maximum % of Oxygen setting done!!! %	Maximum pH setting done!!!
Thermocouple Factor Calibration	Oxygen sensor factor calibration	pH sensor factor calibration
Please!! setting Temperature in degree C unit.	Please!! setting O2 value in range 0 - 100%.	Please!! setting pH value in range 0 - 14 only.
Min. Temp. : <input type="text"/> C	Min. Oxygen : <input type="text"/>	Min. pH : <input type="text"/>
Max. Temp. : <input type="text"/> C	Max. Oxygen : <input type="text"/>	Max. pH : <input type="text"/>
Thermocouple calibration factor setting (default value is 1).	Oxygen sensor calibration factor setting (default value is 11).	pH sensor calibration factor setting (default value is 27.81).
SET	SET	SET

(ค.)

รูปที่ 4.21 การควบคุมและสถานะการทำงานของอุปกรณ์บนเว็บแอปพลิเคชัน NETPIE (ก.) ส่วนของอุปกรณ์ที่สามารถสั่งการเปิด-ปิดได้ (ข.) ส่วนของอุปกรณ์ที่แสดงเพียงสถานะการทำงาน (ค.) ส่วนของการกำหนดค่าคงที่ของเซนเซอร์และช่วงค่าสภาวะ

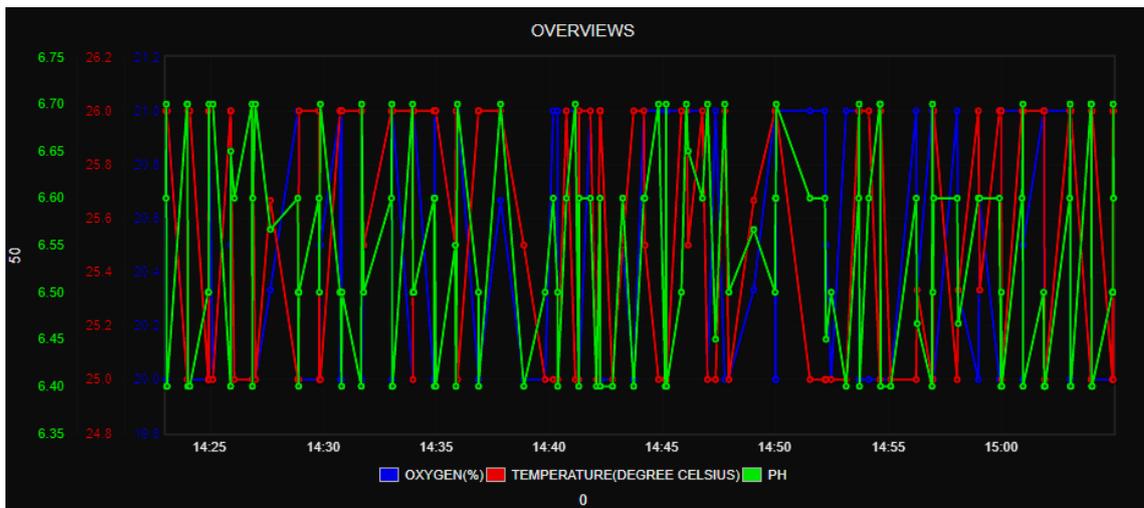


(ก.)

(ข.)

(ค.)

รูปที่ 4.22 การแสดงผลค่าสภาวะแบบ Real-time ในรูปแบบ Gauge บนเว็บแอปพลิเคชัน NETPIE (ก.) ปริมาณของแก๊สออกซิเจนภายในถังปฏิกรณ์ (ข.) ค่าความเป็นกรด-ด่างและ (ค.) ค่าอุณหภูมิภายในถังปฏิกรณ์



(ง.)

รูปที่ 4.23 การแสดงผลค่าสถานะในรูปแบบกราฟบนเว็บแอปพลิเคชัน NETPIE (ก.) อุณหภูมิภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (ข.) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (ค.) ปริมาณแก๊สออกซิเจนภายในถังปฏิกรณ์และ (ง.) กราฟแสดงรวม (overview)

แต่อย่างไรก็ตามการใช้ระบบแสดงผลบนเว็บแอปพลิเคชัน NETPIE บอร์ดควบคุมจำเป็นต้องทำการส่งค่าไปแสดงบนเว็บอย่างต่อเนื่องซึ่งเป็นเพียงการแสดงผลเท่านั้น ไม่สามารถจัดเก็บข้อมูลได้ โดยการทดลองผลิตบิวทานอลในงานวิจัยนี้ผู้ทดลองมีความจำเป็นต้องมีการเก็บข้อมูลค่าสถานะเพื่อนำไปวิเคราะห์ประสิทธิภาพการผลิตบิวทานอลของเชื้อกลายพันธุ์ ดังนั้นผู้ทดลองจึงจำเป็นต้องมีการใช้ระบบจัดเก็บข้อมูลระบบอื่นโดยการนำค่าจากการวัดของเซนเซอร์และใช้บอร์ดควบคุมในการส่งค่าให้ระบบจัดเก็บข้อมูลแทนการส่งค่าไปแสดงยังเว็บแอปพลิเคชัน NETPIE เนื่องจากผู้ทดลองยังไม่สามารถทำให้ค่าจากบอร์ดถูกส่งไปยังทั้ง 2 ระบบได้เพราะแต่ละระบบมีไค์การทำงานแบบวนลูปส่งค่าอย่างต่อเนื่องและบอร์ดส่งค่าสามารถประมวลผลทำงานได้เพียงครั้งละ 1 ลูปเท่านั้น ดังนั้นผู้ทดลองจึงส่งค่าไปจัดเก็บยังระบบจัดเก็บแทนการนำไปแสดงผลบน NETPIE แต่อย่างไรก็ตามระบบควบคุมอื่น ๆ บนเว็บแอปพลิเคชัน NETPIE ยังคงสามารถทำงานได้อย่างปกติเนื่องจากการส่งค่าอื่น ๆ ตามเงื่อนไขที่ไม่ใช่ค่าที่ต้องการจัดเก็บ แต่หากไม่ต้องการจัดเก็บข้อมูลแล้วจะสามารถนำค่าขึ้นไปแสดงยังบนเว็บแอปพลิเคชัน NETPIE ได้ดังเดิม

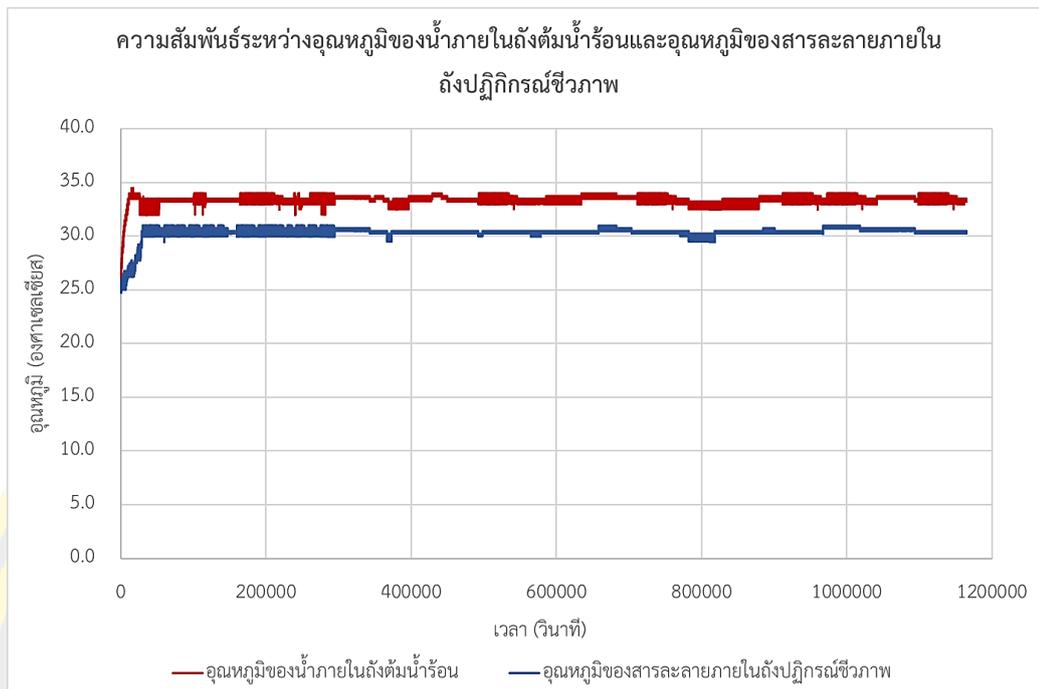
4.2.3.2 การเก็บค่าตัวแปรบน Google Sheet

การผลิตบิวทานอลทางชีวภาพในการทดลองครั้งนี้ผู้ทดลองจำเป็นต้องมีการจัดเก็บข้อมูลสถานะเพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์ผลจากการทำงานของเซลล์ *C. cochlearium* การควบคุมสถานะที่ใช้ในการผลิตบิวทานอลและเพื่อใช้เป็นข้อมูลในการพัฒนาระบบในอนาคต โดยระบบจัดเก็บข้อมูลของผู้ทดลองใช้ในการจัดเก็บข้อมูลสถานะซึ่งได้แก่ ค่าอุณหภูมิภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (Reactor Temperature หรือ Tr) ค่าอุณหภูมิภายในถังต้มน้ำร้อนที่ใช้สำหรับไหลวนในแจ็กเก็ต (Jacket Temperature หรือ Tj) ค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายน้ำหมัก (pH) ค่าร้อยละของออกซิเจนภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (O_2) และค่าที่มีการวัดเพิ่มเติมเพื่อทดสอบการผลิตแก๊สไฮโดรเจน (H_2) ของเชื้อ *C. cochlearium* ซึ่งค่าทั้งหมดนี้จะถูกจัดเก็บไว้ใน Google sheet โดยใช้บอร์ด ESP8266 ในการรับค่าจากบอร์ด Arduino ที่ประมวลผลค่าสถานะจากการวัดจากเซนเซอร์ ซึ่งการทำงานในการจัดเก็บข้อมูลสถานะนี้แบ่งการทำงานได้เป็น 2 ส่วนได้แก่ 1. ส่วนที่ใช้ในการส่งค่าขึ้นระบบ Cloud ได้แก่บอร์ด ESP8266 ซึ่งจะถูกเขียนโปรแกรมไว้ให้ส่งค่าสถานะไปยังระบบ Cloud ตามรหัส (ID) ของ Google AppScript ที่กำหนดไว้ ส่วนที่ 2 คือส่วนที่ทำงานบน Cloud คือส่วนของ Google AppScript ที่ถูกเขียนโปรแกรมคำสั่งไว้ทำหน้าที่ในการรับค่าที่บอร์ด ESP8266 ส่งมา และทำการจัดการกรอกลงบน Google Sheet พร้อมทั้งระยะเวลาของข้อมูลที่ถูกกรอก ซึ่งความถี่ของการจัดเก็บข้อมูลของผู้ทดลองได้ทำการกำหนดไว้คือทุก ๆ 10 วินาทีต่อการส่งค่าข้อมูล 1 ค่า ในการกำหนดความถี่ในการส่งข้อมูลจะถูกตั้งค่าในส่วนของโค้ดคำสั่งในบอร์ดส่งค่า ESP8266 ระยะเวลาทั้งหมดที่ใช้ในการเก็บข้อมูลสถานะการทดลองครั้งนี้อยู่ที่ 16 วัน หรือ 384 ชั่วโมง โดยตามความถี่ของการส่งข้อมูลแล้วในระยะเวลาทั้งหมดของการหมักจะต้องมีจำนวนของข้อมูลอยู่ที่ 138,240 ข้อมูล ซึ่งในการทดลองพบว่าเมื่อสิ้นสุดการหมักมีจำนวนของข้อมูลที่ถูกส่งมาจัดเก็บในระบบจำนวน 116,479 ข้อมูล โดยที่ไม่มีการขาดข้อใด ๆ ในระหว่างการส่งข้อมูล จากเวลาที่ระบุพร้อมค่าของข้อมูลใน Google sheet พบว่า ช่วงระยะเวลาที่ใช้ในการส่งข้อมูลนั้นมากกว่า 10 วินาทีเพียงเล็กน้อย โดยเฉลี่ยแล้วระยะเวลาจริงที่ใช้ในการส่งข้อมูลอยู่ที่ 10.0000859 วินาทีต่อจำนวนข้อมูล 1 ข้อมูล โดยคำนวณจากผลต่างของจำนวนข้อมูลจริงและจำนวนข้อมูลที่ต้องได้ตามทฤษฎีหากระยะเวลาในการส่งข้อมูลอยู่ที่ 10 วินาทีต่อจำนวนข้อมูล 1 ข้อมูล ซึ่งพบว่ามีผลต่างของจำนวนข้อมูลจริงและจำนวนข้อมูลเชิงทฤษฎีจากการคำนวณอยู่ที่ 21,761 ข้อมูล สาเหตุที่ระยะเวลาของการส่งข้อมูลที่นานกว่าที่ถูกเขียนโปรแกรมไว้ในบอร์ดอาจเป็นผลมาจากหลายปัจจัยร่วมกันเช่น ความเร็วของอินเทอร์เน็ตที่อาจส่งผลต่อความเร็วในการส่งข้อมูล ความคลาดเคลื่อนของการทำงานบนบอร์ดส่งรวมไปถึงระยะเวลาในการประมวลผลและดำเนินการของ Google AppScript ที่ทำงานร่วมกับ Google Sheet จึงอาจทำให้ระยะเวลาที่ใช้ในการบันทึกข้อมูลมากกว่า 10 วินาทีต่อการบันทึกข้อมูลจำนวน 1 ข้อมูล

4.2.4 ผลของระบบควบคุมต่อการหมักบิวทานอล

4.2.4.1 ผลของการควบคุมอุณหภูมิ

การควบคุมควบคุมอุณหภูมิของระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพจะเป็นการให้ความร้อนแก่ถังปฏิกรณ์เนื่องจากในการหมักบิวทานอล อุณหภูมิที่ใช้ในการหมักจะสูงกว่าอุณหภูมิน้ำ ณ อุณหภูมิห้องปรับอากาศ 25 องศาเซลเซียส ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการเพิ่มอุณหภูมิเพื่อให้กระบวนการหมักมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตบิวทานอลทางชีวภาพ โดยในการทดลองนี้จะรักษาอุณหภูมิของสารละลายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพไว้เท่ากับ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เชื้อ *C. cochlearium* สามารถผลิตบิวทานอลได้ในความเข้มข้นที่สูงสุดดังถูกรายงานไว้ในงานวิจัยของพลอยไพลินและสุจารวี (2559) ในการเพิ่มอุณหภูมิให้แก่สารละลายภายในถังปฏิกรณ์นี้จะใช้ระบบน้ำร้อนไหลวนรอบถังปฏิกรณ์ (Hot water circulation jacket) โดยน้ำร้อนที่ใช้ในการไหลวนรอบแจ็กเก็ตจะถูกส่งมายังถังต้มน้ำร้อนที่ถูกให้ความร้อนด้วยฮีตเตอร์ การควบคุมอุณหภูมิจะเป็นการควบคุมฮีตเตอร์ให้ต้มน้ำในอุณหภูมิของถังต้มน้ำร้อนที่จะทำให้อุณหภูมิของสารละลายภายในถังปฏิกรณ์ได้ตามที่ต้องการ (set point) ในการทดลองครั้งนี้อุณหภูมิเป้าหมายของสารละลายภายในถังปฏิกรณ์เท่า 30 องศาเซลเซียส จากการทดลองเมื่อให้ความร้อนโดยการไหลวนน้ำร้อนรอบถังปฏิกรณ์ผ่านแจ็กเก็ตที่ครอบอยู่พบว่าอุณหภูมิของสารละลายภายในถังปฏิกรณ์จะมีอุณหภูมิที่ต่ำกว่าอุณหภูมิภายในถังต้มน้ำร้อนประมาณ 3 องศาเซลเซียส ดังนั้นจึงจำเป็นต้องควบคุมอุณหภูมิของถังต้มน้ำร้อนไว้ที่ 33 องศาเซลเซียส เพื่อให้อุณหภูมิของสารละลายภายในถังปฏิกรณ์ได้อุณหภูมิตามเป้าหมายดังกล่าวจากผลการทดลองการควบคุมอุณหภูมิพบว่าระบบมีการควบคุมอุณหภูมิของถังต้มน้ำร้อนให้ใกล้เคียงค่าที่กำหนดได้คือ 33 องศาเซลเซียส ซึ่งส่งผลให้อุณหภูมิภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพมีค่าที่ใกล้เคียงกับค่าที่ต้องการคือ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งความสัมพันธ์ของอุณหภูมิของถังต้มน้ำร้อนและอุณหภูมิภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพจะแสดงไว้ดังรูปที่ 4.24 ทั้งนี้การที่ถังต้มน้ำร้อนมีอุณหภูมิที่สูงกว่าอุณหภูมิภายในถังปฏิกรณ์เนื่องจากเกิดอัตราการสูญเสียความร้อน (Heat loss) จากการนำส่งน้ำผ่านปั๊มและสายยาง ความร้อนของน้ำภายในจะสูงกว่าความร้อนของอากาศ ณ อุณหภูมิห้องทำให้เกิดการถ่ายโอนความร้อนแบบพา (Convection) สู่อากาศ จึงทำให้อุณหภูมิของน้ำร้อนที่เหลือไหลวนรอบถังปฏิกรณ์ต่ำกว่าอุณหภูมิของน้ำร้อนภายในถังต้มน้ำร้อน ซึ่งระบบสามารถรักษาอุณหภูมิของสารละลายภายในถังปฏิกรณ์ให้อยู่ในช่วงอุณหภูมิเป้าหมายได้ โดยมีค่าความคลาดเคลื่อนของอุณหภูมิเพิ่มขึ้นและลดลงไม่เกิน 2 องศาเซลเซียส หรือ ± 2 องศาเซลเซียส

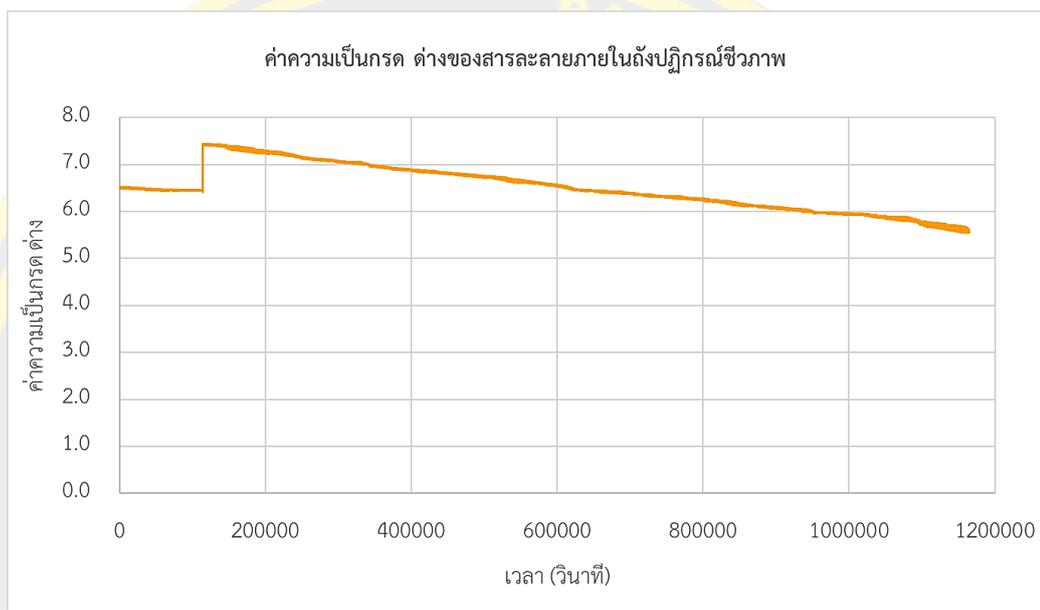


รูปที่ 4.24 ความสัมพันธ์ของอุณหภูมิของถังต้มน้ำร้อนและอุณหภูมิภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ

4.2.4.2 ผลของการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง

การควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ เป็นการเติมสารละลายต่างซึ่งเป็นสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.5 M เมื่อต้องการปรับค่าความเป็นด่างขึ้น (ค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้น) และการเติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 0.5 M เมื่อต้องการปรับค่าความเป็นกรดขึ้น (ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง) (Al-Shorgani et al., 2018) ซึ่งในการทดลองครั้งนี้มีค่าความเป็นกรด-ด่างเป้าหมาย (set point) อยู่ในช่วงที่เป็นกลางคือช่วง 6.45 ถึง 7.50 เนื่องจากเชื้อ *C. cochlearium* จะสามารถผลิตบิวทานอลได้มากที่สุดที่ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เป็นกลางตามรายงานของ Eakkachai และคณะ (Eakkachai et al., 2021) ดังนั้นจึงมีการตั้งค่าโปรแกรมควบคุมให้ค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วงที่เป็นกลาง โดยค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของสารละลายน้ำหมักในระบบอยู่ที่ 6.5 จากการทดลองพบว่าเมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างมีค่าลดลงจนต่ำกว่า 6.4 ในช่วงชั่วโมงที่ 18 ทำให้ระบบมีการเติมสารละลายต่างเพียง 1 ครั้งจนสิ้นสุดการทดลอง ซึ่งในช่วงเริ่มต้นการทดลองมีละลายต่างที่บรรจุอยู่ในขวดรูปชมพู่อยู่ปริมาตร 1 ลิตร หลังจากการทดลองพบว่าเหลือเพียง 997 มิลลิลิตร ดังนั้นจึงแสดงให้เห็นว่าระบบมีการใช้สารละลายต่างในการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างไป 23 มิลลิลิตร ในการปรับค่าสารละลายภายในถังปฏิกรณ์จาก 6.43 ไปเป็น 7.44 ซึ่งอยู่ในช่วงค่าความเป็นกรด-ด่างที่กำหนด แต่การควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างพบว่าการปั๊มสารละลายต่าง (NaOH) เพื่อเพิ่มค่าความเป็น

กรด-ต่าง ให้อยู่ในช่วงที่กำหนดได้แต่หลังจากประมาณชั่วโมงที่ 171 (วินาทีที่ 615670) พบว่าระบบไม่สามารถควบคุมค่าความเป็นกรด-ต่างได้เนื่องจากความผิดพลาดในขั้นตอนการทำงานของโปรแกรมดังรูปที่ 4.25 ในการแก้ไขปัญหาควรมีการตัดส่วนการวนลูป While ของการส่งค่าความเป็นกรด-ต่างในเงื่อนไข if ของโปรแกรมเพื่อให้โปรแกรมสามารถรับค่าความเป็นกรด-ต่างให้เข้าสู่การตรวจสอบเงื่อนไข if อีกรอบได้

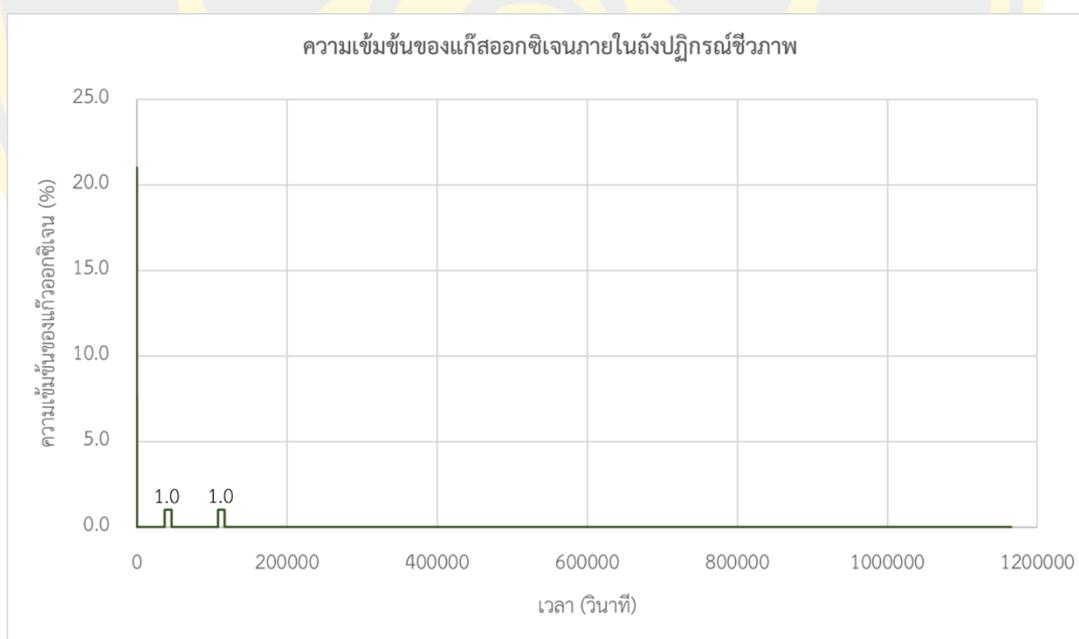


รูปที่ 4.25 ผลของการควบคุมค่าความเป็นกรด-ต่างของสารละลายภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ

4.2.4.2 ผลของการควบคุมสถานะไร้ออกซิเจน

การควบคุมสถานะไร้ออกซิเจนของระบบเป็นการใช้แก๊สไนโตรเจนในการพ่นเข้าไปภายในถังปฏิกรณ์เพื่อแทนที่แก๊สออกซิเจน ซึ่งถังปฏิกรณ์จะมีช่องสำหรับทางเข้าของแก๊สไนโตรเจนและทางออกของแก๊สที่ถูกไล่ออกจากถังปฏิกรณ์ โดยทางออกของแก๊สจะเป็นสายยางที่ปลายสายจุ่มอยู่ในน้ำเพื่อป้องกันอากาศเข้าสู่ถังปฏิกรณ์ ซึ่งในการทดลองครั้งนี้ระบบไม่สามารถควบคุมการพ่นแก๊สไนโตรเจนแบบอัตโนมัติเมื่อมีการตรวจจับได้ว่ามีแก๊สออกซิเจนเข้าสู่ภายในถังปฏิกรณ์ได้เนื่องจากวาล์วควบคุม (Control valve) ไม่สามารถรับแรงดันของแก๊สภายในถังแก๊สได้ ทำให้แก๊สเกิดการรั่วแม้จะมีการสั่งการปิดวาล์วแล้วจึงเป็นส่วนที่ต้องปรับปรุงต่อไปในอนาคต ดังนั้นผู้ทดลองจึงได้ทำการพ่นไล่แก๊สด้วยตนเอง (Manual control) โดยจะมีการพ่นแก๊สไนโตรเจนเป็นจำนวน 2 ครั้งต่อวัน พ่นครั้งละ 5 นาที (ช่วง 08.00 น. และ 16.00 น.) โดยสังเกตจากการที่ไม่มีแก๊สออกซิเจนเหลือในระบบ (จากเซนเซอร์วัดออกซิเจน) แต่อย่างไรก็ตามในช่วงเวลาประมาณ 05.00 น. ของทุกวันระบบจะมีการตรวจจับได้ว่ามีแก๊สออกซิเจนเข้าสู่ระบบแต่ไม่เกินร้อยละ 1 ดังรูปที่ 4.26

เนื่องจากอาจเป็นการรบกวนมาจากรอยต่อของอุปกรณ์ต่าง ๆ และฝาดังทำให้แก๊สออกซิเจนสามารถเข้าสู่ถึงปฏิกรณ์ได้แต่เข้าได้ในปริมาณที่น้อยมาก ทำให้ต้องใช้ระยะเวลาที่ค่อนข้างนานจนระบบสามารถวัดได้ว่ามีแก๊สออกซิเจนเข้าสู่ถึงปฏิกรณ์ ดังนั้นจึงคาดการณ์ได้ว่าภายในถึงปฏิกรณ์เวลาส่วนมากของการหมักจะยังคงเป็นระบบไร้ออกซิเจนอยู่ เมื่อผู้ทดลองเห็นว่าระบบมีการรื้อเข้าของออกซิเจนได้แต่ใช้ระยะเวลาที่ค่อนข้างนาน ผู้ทดลองจึงได้ทดลองเปลี่ยนระยะเวลาในการพ่นแก๊สไนโตรเจนเป็นเวลา 08.00 น. และ 18.30 น. พบว่าระบบไม่มีการตรวจพบการรื้อเข้าของแก๊สออกซิเจนเนื่องจากการรื้อเข้าของแก๊สออกซิเจนเข้าสู่ถึงปฏิกรณ์นั้นเป็นอัตราการรื้อเข้าที่น้อยมาก ซึ่งต้องใช้เวลามากถึง 13 ชั่วโมงต่อการตรวจพบการรื้อเข้าร้อยละ 1 ดังนั้นการเปลี่ยนช่วงเวลาการพ่นแก๊สไนโตรเจนให้น้อยกว่า 13 ชั่วโมงจะช่วยทำให้ระบบมีการรื้อเข้าของแก๊สออกซิเจนต่ำกว่าร้อยละ 1 ได้ แต่การปรับเปลี่ยนช่วงเวลาในการพ่นแก๊สไนโตรเจนในการทดลองครั้งนี้ผู้ทดลองได้ทำการปรับในวันที่ 3 ของการหมัก เนื่องจากมีการนำผลปริมาณการรื้อเข้าของแก๊สออกซิเจนเข้าสู่ถึงปฏิกรณ์และเวลาที่ตรวจพบว่ามี การรื้อเข้าของแก๊สออกซิเจนร้อยละ 1 มาพิจารณาปรับช่วงเวลาทำให้ระบบมีการตรวจพบแก๊สออกซิเจนได้ในช่วงเวลาประมาณ 05.00 น. ในวันที่ 1 และ 2 ของการหมักร้อยละ 1 และหลังจากวันที่ 3 ของการหมักตลอดจนสิ้นสุดการหมักไม่มีการตรวจพบการรื้อเข้าของแก๊สออกซิเจนเข้าสู่ถึงปฏิกรณ์



รูปที่ 4.26 ผลการควบคุมปริมาณแก๊สออกซิเจนภายในถึงปฏิกรณ์ชีวภาพ

4.2.4.4 ผลของการควบคุมระบบการกวน

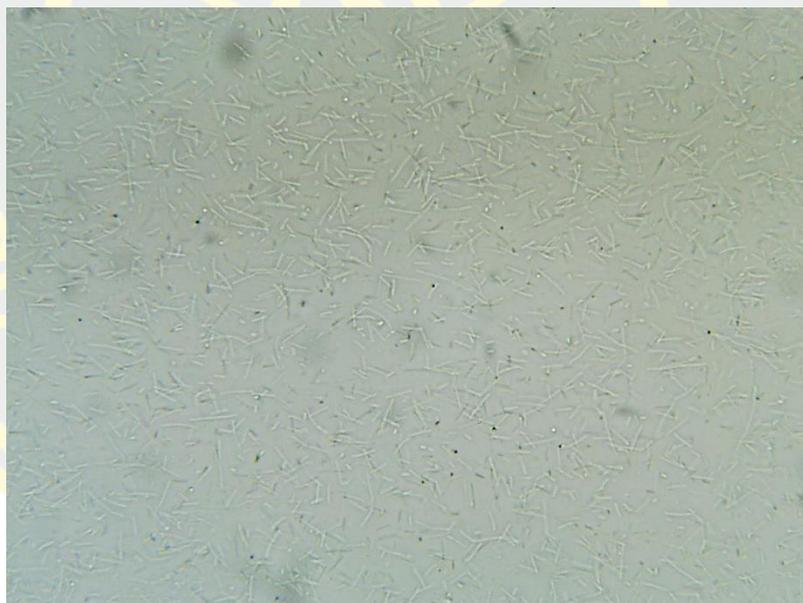
ในกระบวนการหมักเพื่อให้เชื้อไม่เกิดการตกตะกอนและมีการใช้สารตั้งต้นในระบบได้อย่างทั่วถึงจึงจำเป็นต้องมีการกวน การกวนในระบบจะเป็นการกวนแบบต่อเนื่องตลอดเวลาจนสิ้นสุดกระบวนการหมัก ในการออกแบบถังปฏิกรณ์มีการออกแบบให้มีมอเตอร์ที่เชื่อมต่อกับใบกวนใช้สำหรับกวนสารในระบบ แต่อย่างไรก็ตามการใช้มอเตอร์ในการกวนนั้นพบว่าการทำงานของมอเตอร์มีการรบกวนสัญญาณของเซนเซอร์ตรวจวัดสถานะที่ติดตั้งอยู่บริเวณฝาถัง ดังนั้นผู้ทดลองจึงได้ทำการใช้ปั้มน้ำติดตั้งลงไปในถังเพื่อใช้สำหรับกวนสารละลายในถังปฏิกรณ์ไม่ให้เกิดตะกอนอยู่ตลอดเวลา ซึ่งระบบการกวนนี้จะถูกเขียนโปรแกรมไว้ให้มีการทำงานตลอดเวลาและสามารถสั่งปิดและเปิดผ่านระบบออนไลน์ได้ โดยผลของการกวนพบว่าการใช้ปั้มน้ำในการกวนไม่มีการส่งผลกระทบต่อการทำงานของเซนเซอร์และหลังสิ้นสุดการหมักพบว่าสารละลายในระบบไม่เกิดการตกตะกอน มีเพียงการเกาะติดของตะกอนบริเวณขอบด้านข้างและก้นถังเป็นชั้นบาง ๆ เท่านั้น แสดงให้เห็นว่าการใช้ปั้มน้ำในการกวนสามารถทำให้สารละลายในระบบไม่เกิดการตกตะกอนได้สังเกตได้จากในขั้นตอนของการนำน้ำหมักออกจากถังปฏิกรณ์พบว่าทุกส่วนของน้ำหมักมีตะกอนที่สม่ำเสมอ ไม่มีส่วนที่มีตะกอนชั้นหรือส่วนที่มีตะกอนน้อยไปกว่ากัน ดังนั้นจึงสามารถระบุได้ว่าระบบมีการกวนให้น้ำหมักให้ผสมกันอย่างสม่ำเสมอไม่เกิดการนอนของตะกอน

4.2.4.5 ผลของการควบคุมนำสารเข้า-ออก

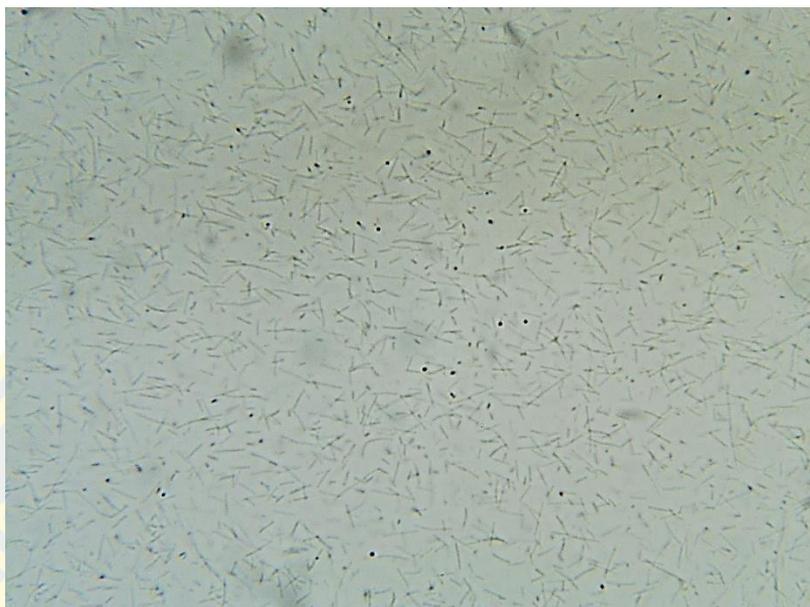
การนำสารเข้าสู่ถังปฏิกรณ์นั้นจะเป็นการใช้ปั้มน้ำในการดูดส่งสารละลาย (อาหารหมักที่ถูกผสมรวมกับเชื้อที่ได้จากการกล้าเชื้อ) ที่บรรจุไว้ในถังสารตั้งต้นเข้าสู่ถังปฏิกรณ์ และการนำสารออกจากระบบถังปฏิกรณ์จะเป็นการใช้วาล์วอิเล็กทรอนิกส์ (Solenoid valve) ในการควบคุมการไหลออกของสารบริเวณท่อทางออกของปฏิกรณ์ โดนการควบคุมการเข้า-ออก ของสารทั้งปั้มน้ำนำส่งสารเข้าสู่ถังปฏิกรณ์และวาล์วอิเล็กทรอนิกส์ควบคุมการไหลออกของสารจากปฏิกรณ์ถูกควบคุมจากผู้ทำการทดลอง (manual control) ผ่านระบบออนไลน์ ผลพบว่าโปรแกรมสามารถสั่งการให้อุปกรณ์ทำงานผ่านระบบออนไลน์ได้ตามคำสั่งของผู้ทำการทดลอง คืออยู่ที่อัตราการป้อนเข้าเป็น 11 ลิตรต่อนาที

4.2.5 ผลการป้องกันการปนเปื้อนในการหมักโดยใช้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพ

การป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์อื่นที่ไม่ใช่ *C. cochlearium* ของการทดลองการหมักบิวทานอลทางชีวภาพโดยใช้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพนั้นใช้สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ความเข้มข้นร้อยละ 3 ในการล้างถังปฏิกรณ์และอุปกรณ์ต่าง ๆ เช่น สายยาง อุปกรณ์วัดบางชนิดที่สามารถทนน้ำได้ ในส่วนของอุปกรณ์เครื่องแก้วต่าง ๆ ที่สามารถนิ่งฆ่าเชื้อได้ รวมถึงอาหารหมักถูกนำไปนิ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ด้วยหม้อนึ่งแรงดันสูง (Autoclave) หลังจากการหมักมีการนำสารละลายน้ำหมักไปทำการส่องดูการปนเปื้อนของเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่า ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้ออื่น พบเพียงเชื้อที่มีลักษณะเป็นรูปทรงแท่ง ดังรูปที่ 4.27 (ก.) ซึ่งเป็นลักษณะเหมือนเชื้อ *C. cochlearium* จากเชื้อตั้งต้น (stock) เพียงชนิดเดียว ดังรูปที่ 4.27 (ข.) ดังนั้นจึงสามารถระบุได้ว่าเชื้อลักษณะเดียวที่พบจากการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์นั้นคือเชื้อ *C. cochlearium* เพียงชนิดเดียว



(ก.)



(ข.)

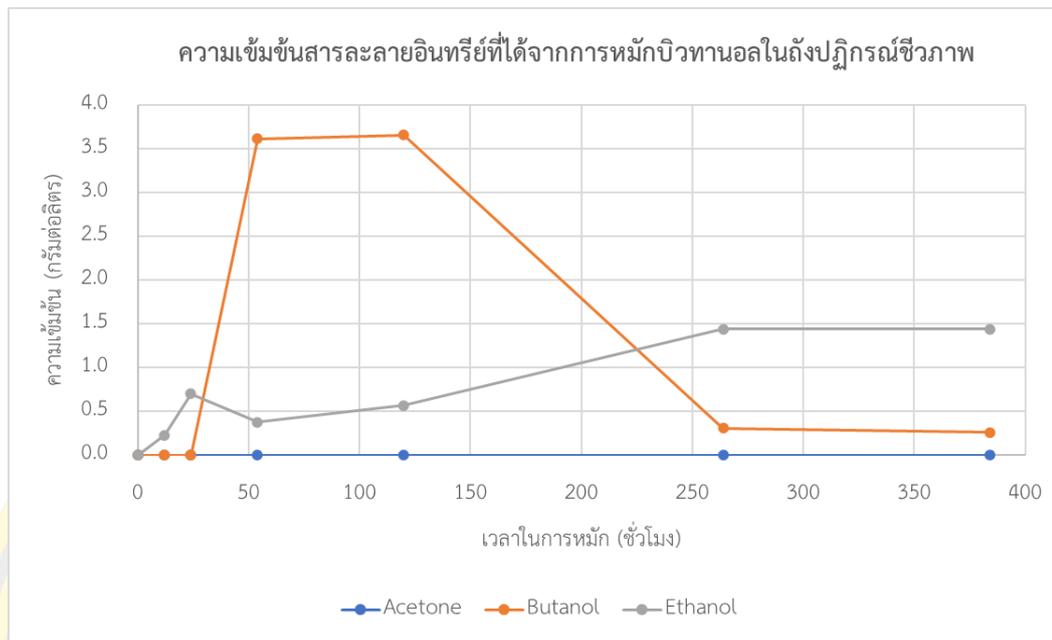
รูปที่ 4.27 เชื้อ *Clostridium cochlearium* (ก.) จากน้ำหมักหลังการหมัก (ข.) จากเชื้อตั้งต้น

4.2.6 ผลการหมักบิวทานอลโดยใช้ถึงปฏิกรณ์ชีวภาพต้นแบบ

ในการหมักบิวทานอลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพใช้เชื้อกลายพันธุ์รหัส 45-20 เป็นเชื้อสำหรับการหมัก เนื่องจากผลการหมักในขวดทดลองเชื้อรหัสดังกล่าวเป็นเชื้อกลายพันธุ์ที่สามารถผลิตบิวทานอลได้ในความเข้มข้นที่สูงกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมและเชื้อกลายพันธุ์รหัสอื่น ๆ ที่นำมาทดสอบการหมักภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเป็นการหมักที่ปริมาตร 10 ลิตร โดยใช้อาหารหมัก Phosphate carbonate medium เหมือนกับการหมักในขวดทดลอง แต่แตกต่างกับการหมักในขวดทดลองในส่วนของการควบคุมสภาวะการหมัก การหมักในถังปฏิกรณ์ชีวภาพนั้นใช้ระบบควบคุมสภาวะที่สร้างขึ้นจากการทดลองในงานวิจัยนี้ แต่อย่างไรก็ตามสภาวะเป้าหมายที่ใช้ในการควบคุมคือสภาวะเดียวกันกับสภาวะที่ใช้ในการหมักในขวดทดลอง ยกเว้นการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง การควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างในถังปฏิกรณ์ชีวภาพจะมีระบบที่คอยปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ให้คงที่ตลอดการหมักแต่การหมักในขวดทดลองนั้นไม่มีการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง อีกส่วนที่แตกต่างกันระหว่างการหมักในถังปฏิกรณ์ชีวภาพและการหมักในขวดทดลองคือระยะเวลาในการหมัก การหมักในถังปฏิกรณ์ชีวภาพใช้เวลาในการหมักทั้งหมด 16 วัน หรือ 384 ชั่วโมง ในระหว่างการหมักมีการเก็บตัวอย่างในการใช้ตรวจวิเคราะห์หาค่าการดูดกลืนแสงเพื่อตรวจสอบการเจริญเติบโตของเชื้อ ค่าการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลซึ่งเป็นสารตั้งต้นที่เชื้อใช้ในการเจริญเติบโตและผลิตสาร

ผลิตภัณฑ์และค่าปริมาณสารละลายอินทรีย์ (บิวทานอล อะซีโตนและเอทานอล) ที่เชื้อสามารถผลิตได้ ซึ่งในการเก็บตัวอย่างนั้นได้ทำการเก็บปริมาตร 10 มิลลิลิตรต่อครั้ง รวมทั้งหมด 36 ตัวอย่าง ปริมาตร 360 มิลลิลิตร คิดเป็นร้อยละ 3.6 ของปริมาตรทั้งหมด ซึ่งปริมาตรที่หายไปนี้จะส่งผลเล็กน้อยต่อระบบเนื่องจากเป็นอัตราส่วนที่น้อยมากเมื่อเทียบกับปริมาตรทั้งหมด โดยแบ่งเป็นวันแรก ซึ่งเก็บตัวอย่างทุก ๆ 3 ชั่วโมง มีจำนวน 9 ตัวอย่าง วันที่ 2 ถึงวันที่ 5 เก็บตัวอย่างทุก ๆ 6 ชั่วโมง มีจำนวน 16 ตัวอย่าง และวันที่ 6 ถึงวันที่ 16 เก็บตัวอย่างวันละ 1 ครั้ง มีตัวอย่างทั้งสิ้น 11 ตัวอย่าง เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักทำการตรวจสอบปริมาณสารผลิตภัณฑ์บิวทานอล อะซีโตนและเอทานอล โดยการส่งวิเคราะห์ปริมาณสารด้วยเครื่อง Gas Chromatography ณ สำนักเครื่องมือวิทยาศาสตร์ และการทดสอบ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบได้แก่ตัวอย่างที่เก็บในช่วงชั่วโมงที่ 12, 24, 54, 120, 264 และ 384 (เรียกเป็น CC-12, CC-24, CC-54, CC-120, CC-264 และ CC-384) รวมทั้งหมด 6 ตัวอย่าง ซึ่งระบุไว้ในภาคผนวก ข. การทดสอบใช้เทคนิคการทดสอบแบบ Headspace-Gas Chromatography / Flame Ionization Detection (HS-GC/FID) เครื่องมือที่ใช้ทดสอบคือเครื่อง Gas Chromatography ของ Hewlett Packard รุ่น 6850 จาก USA ปริมาตรในการทดสอบ 1 ไมโครลิตร ขีดต่ำสุดของการวัด (LOD) ในครั้งนี้คืออะซีโตน เท่ากับ 0.0003 ร้อยละโดยปริมาตร ขีดจำกัดการตรวจวัดวิธีเชิงปริมาณของวิธี (LOQ) ของอะซีโตนเท่ากับ 0.001 ร้อยละโดยปริมาตร และบิวทานอลเท่ากับ 0.001 ร้อยละโดยปริมาตร ในการเตรียมตัวอย่างที่ CC-54 และ CC-120 มีการเจือจางตัวอย่าง 2 เท่า เนื่องจากสารทดสอบในตัวอย่างไม่มีความเข้มข้นที่สูงเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างอื่น ๆ ผลการทดสอบพบว่า สารผลิตภัณฑ์อะซีโตนมีความเข้มข้นที่ต่ำมาก โดยในช่วงชั่วโมงที่ 12, 54 และ 120 ไม่พบสารละลายอะซีโตน ส่วนชั่วโมงที่ 24, 264 และ 384 มีความเข้มข้นของอะซีโตนน้อยกว่า 0.001 ร้อยละโดยปริมาตร สารผลิตภัณฑ์เอทานอลที่ตรวจพบสูงที่สุด ณ ชั่วโมงที่ 384 และ 264 รองลงมาคือชั่วโมงที่ 24, 120, 54 และ 12 โดยสามารถผลิตเอทานอลได้ในความเข้มข้น 1.44, 1.44, 0.70, 0.57, 0.38 และ 0.23 ร้อยละโดยปริมาตรตามลำดับ หรือ 11.664, 11.664, 5.670, 4.617, 3.078 และ 1.863 กรัมต่อลิตรตามลำดับ และสารผลิตภัณฑ์บิวทานอลชั่วโมงที่ตรวจพบสารบิวทานอลมากที่สุดคือ 120, 54, 264 และ 384 โดยสามารถผลิตเอทานอลได้ในความเข้มข้น 3.66, 3.62, 0.31 และ 0.26 ร้อยละโดยปริมาตร หรือ 28.877, 28.561, 2.446 และ 2.051 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ส่วนชั่วโมงที่ 12 และ 24 พบว่ามีความเข้มข้นของบิวทานอลน้อยกว่า 0.001 ร้อยละโดยปริมาตร หรือน้อยกว่า 0.008 กรัมต่อลิตร ดังรูปที่ 4.34 (ก.) จากผลการทดสอบปริมาณสารผลิตภัณฑ์ดังกล่าวพบว่าสารละลายอะซีโตนเกิดขึ้นน้อยมากหรือไม่พบเลย ส่วนสารละลายเอทานอลจะพบมากที่สุดในช่วงเวลาของการหมักชั่วโมงที่ 264 และ 384 แต่ในช่วงชั่วโมงที่ 24 กลับตรวจพบปริมาณของเอทานอลที่สูงกว่าชั่วโมงที่ 54 และชั่วโมงที่ 120 ดังนั้นปริมาณของเอทานอลที่เกิดขึ้นจึงไม่ได้มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาที่ใช้หมักที่นานขึ้น เช่นเดียวกันกับ

สารละลายบิวทานอลที่ชั่วโมงการหมักที่ 120 มีปริมาณบิวทานอลที่สูงกว่าชั่วโมงที่ 264 และชั่วโมงที่ 384 โดยการเพิ่มขึ้นและมีการลดลงของสารบิวทานอลและเอทานอลนี้อาจเป็นผลมาจากระยะเวลาในการหมักที่นานขึ้นจะทำให้สารละลายเอทานอลและบิวทานอลลดลงได้ซึ่งตรงกับผลงานวิจัยของ Charilaos และคณะ (Xiros et al., 2017) และอาจเกิดจากปฏิกิริยาในการเปลี่ยนแปลงสารของ เซลล์ที่เกิดจากการผลิตสาร Furfural และ 5-hydroxymethyl furfural (HMF) (Y. Zhang, Han, & Ezeji, 2012) และเนื่องจากบิวทานอลและเอทานอลเป็นสารแอลกอฮอล์ที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ ดังนั้นเซลล์จะมีการสร้างสารกลุ่ม Alcoholysis ในการสลายสารกลุ่มแอลกอฮอล์เช่น การสลาย บิวทานอล (Butanolysis) โดยการใช้สารเมตาบอไลต์ของเซลล์ (Microbial metabolites) เป็นต้น (Arias-Roblero, Mora-Villalobos, & Velazquez-Carrillo, 2021) จึงส่งผลให้ความเข้มข้นของ สารกลุ่มแอลกอฮอล์ลดลงได้ (Patinios et al., 2020) ซึ่งอาจเป็นเหตุทำให้ความเข้มข้นของ บิวทานอลและเอทานอลในบางช่วงของการหมักลดลงได้ ดังนั้นการหมักควรมีระยะเวลาที่ เหมาะสมต่อการผลิตสารผลิตภัณฑ์ซึ่งในการทดลองนี้ควรมีระยะเวลาในการหมักอยู่ที่ 120 ชั่วโมง เนื่องมีการผลิตบิวทานอลได้ในความเข้มข้นสูงสุดในสภาวะที่มีการควบคุมอุณหภูมิ สภาวะ ไร้ออกซิเจนและค่าความเป็นกรด-ด่างตลอดทั้งการหมัก ในส่วนเหตุที่เกิดจากการปนเปื้อนจุลินทรีย์ ชนิดอื่น ๆ ในการหมักนั้นหลังจากการหมักสิ้นสุดมีการตรวจสอบน้ำหมักหลังการหมักด้วยการส่อง ด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่า ไม่ปรากฏจุลินทรีย์ที่มีลักษณะผิดแปลกไปจากเดิม คือจุลินทรีย์ในน้ำหมัก ยังคงเป็นจุลินทรีย์ที่มีลักษณะเป็นทรงแท่ง (rod shape) ดังรูปที่ 4.28 เหมือนเดิมจึงสามารถระบุได้ ว่าไม่เกิดการปนเปื้อนที่มาจากจุลินทรีย์ชนิดอื่น และเมื่อเปรียบเทียบผลการหมักในขวดทดลอง ตารางที่ 4.5 และในถังปฏิกรณ์ชีวภาพพบว่าการผลิตสารบิวทานอล อะซิโตนและเอทานอลของเชื้อมีความแตกต่างกันนั้นอาจเป็นผลมาจากการควบคุมสภาวะกรด-ด่างที่มีความแตกต่างกันโดยการหมัก ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพมีการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่างการทดลองถึงแม้ว่าจะเป็นการปรับเพียง ครั้งเดียวแต่ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบมีการเปลี่ยนแปลงไป ส่วนการหมักในขวดทดลอง ไม่ได้มีการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างเลย และอาจเป็นผลมาจากวิธีการเก็บตัวอย่างซึ่งการเก็บ ตัวอย่างจากการหมักในถังปฏิกรณ์ชีวภาพนั้นจะมีช่องทางออกของสารสำหรับการเก็บตัวอย่างจึงไม่ ส่งผลรบกวนต่อส่วนอื่นในภายในถังปฏิกรณ์ได้



รูปที่ 4.28 ผลการหมักบิวทานอลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ณ เวลาต่าง ๆ

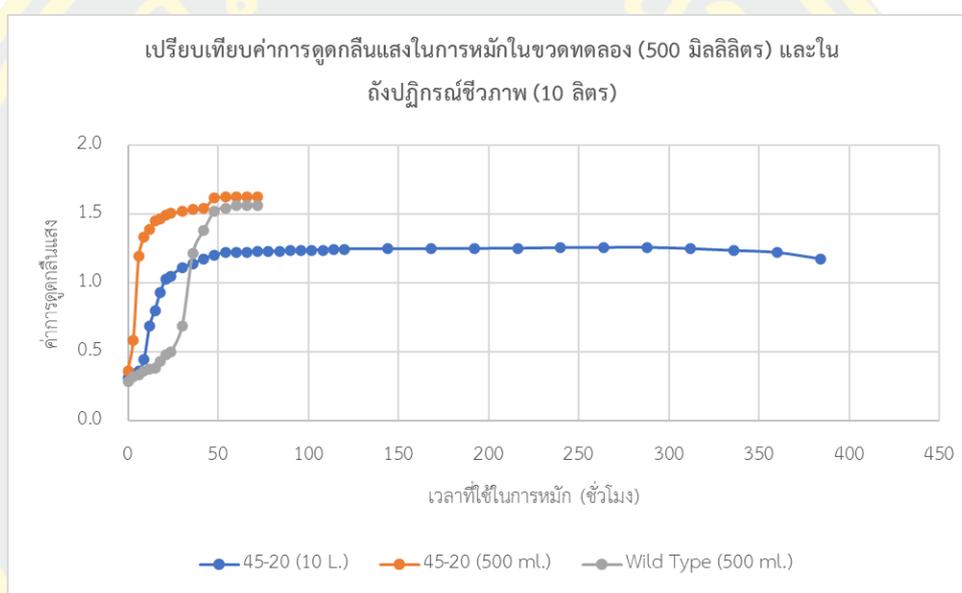
ตารางที่ 4.5 ความเข้มข้นของสารละลายอินทรีย์ที่ได้จากการหมักบิวทานอลในขวดทดลอง

ไอโซเลท	บิวทานอล (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	อะซีโตน (กรัมต่อลิตร)	สารละลายอินทรีย์รวม (กรัมต่อลิตร)
Wild type	0.0134	0.0658	0.0491	0.1283
45-20	0.2136	0.1925	0.0291	0.4352
45-21	0.1267	0.1590	0.0435	0.3292
60-12	0.0893	0.1421	0.0339	0.2653
60-16	0.1002	0.1018	0.0370	0.2390
60-17	0.0739	0.0797	0.0400	0.1936
60-25	0.0010	0.1392	0.0355	0.1757

4.2.7 การเจริญเติบโตของ *Clostridium cochlearium* ระหว่างการหมักในถังปฏิกรณ์ชีวภาพต้นแบบ

การเจริญเติบโตของเชื้อระหว่างการผลิตหมักในถังปฏิกรณ์ชีวภาพนั้นสามารถตรวจสอบได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงของน้ำหมักในแต่ละช่วงเวลาของการหมัก จากผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของน้ำหมักที่ได้จากการหมักในถังปฏิกรณ์ชีวภาพพบว่าเชื้อมีการเจริญเติบโตอยู่ในช่วง Lag phase ในช่วง 0 ถึงชั่วโมงที่ 6 หลังจากชั่วโมงที่ 6 เชื้อจะเข้าสู่การเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วหรือ Log phase จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 54 เชื้อจะเริ่มเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตที่คงที่หรือเป็นช่วง Stationary phase และเริ่มมีการเจริญเติบโตที่ลดลงหรือระยะ Death phase ในชั่วโมงที่ 288 เป็นต้นไป เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อจากการหมักในถังปฏิกรณ์ชีวภาพและการหมักในขวดทดลองพบว่าเชื้อกลายพันธุ์ 45-20 มีการเจริญเติบโตที่แตกต่างในส่วนของคุณสมบัติการเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตต่าง ๆ การเจริญเติบโตของเชื้อที่หมักในขวดทดลองจะเข้าสู่ระยะที่มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในช่วง 6 ชั่วโมงแรก ซึ่งเชื้อที่เจริญเติบโตจากการหมักในถังปฏิกรณ์ชีวภาพจะเข้าสู่ระยะที่มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในช่วงหลังจากชั่วโมงที่ 6 เป็นต้นไปจนถึงชั่วโมงที่ 54 ถึงเข้าสู่ระยะคงที่ ส่วนการเข้าสู่ระยะคงที่ของเชื้อที่เจริญเติบโตจากการหมักในขวดทดลองจะเข้าสู่ระยะคงที่ในช่วงชั่วโมงที่ 48 เป็นต้นไป แสดงให้เห็นว่าเชื้อในการหมักในขวดทดลองจะมีการเจริญเติบโตที่เร็วกว่าเชื้อในการหมักในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมที่ทำการทดลองหมักในขวดทดลองพบว่าเชื้อกลายพันธุ์ในการหมักในถังปฏิกรณ์ชีวภาพยังคงมีการเจริญเติบโตที่เร็วกว่า โดยเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมจะเข้ามีระยะเจริญเติบโตแบบช้า ๆ หรือ Lag phase อยู่ที่ชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 24 ส่วนเชื้อกลายพันธุ์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพจะอยู่ในชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 6 และในระยะถัดไปคือระยะการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วเชื้อกลายพันธุ์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพจะเข้าสู่ระยะนี้ในช่วงชั่วโมงที่ 6 จนถึงชั่วโมงที่ 54 ส่วนเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมในขวดทดลองจะเข้าสู่ระยะนี้ในช่วงชั่วโมงที่ 24 จนถึงชั่วโมงที่ 36 และระยะคงที่ของเชื้อกลายพันธุ์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพจะเริ่มตั้งแต่ชั่วโมงที่ 54 เป็นต้นไป ส่วนเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมในขวดทดลองจะเริ่มตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 เป็นต้นไป จะเห็นได้ว่าเชื้อกลายพันธุ์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพมีการเจริญเติบโตที่เร็วกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมในขวดทดลองแต่เชื้อกลายพันธุ์ทั้งสองเหมือนกันในการหมักในขวดทดลองเช่นเดียวกัน เมื่อพิจารณาใน ๕ เวลาเดียวกันคือวันที่ 5 ของการหมักหรือชั่วโมงที่ 120 ซึ่งเป็นวันเสร็จสิ้นการหมักในขวดทดลองจะพบว่าที่เวลาเดียวกันค่าการดูดกลืนแสงของเชื้อกลายพันธุ์ในขวดทดลองนั้นมีค่าสูงที่สุด รองลงมาคือเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมในขวดทดลองและเชื้อกลายพันธุ์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ดังรูปที่ 4.29 แสดงให้เห็นว่าหากใช้เวลาในการหมักเดียวกันคือ 5 วัน เชื้อในถังปฏิกรณ์ชีวภาพจะมีความหนาแน่นของเชื้อที่น้อยกว่าเชื้อกลายพันธุ์และเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมในขวดทดลอง อาจเป็นผลมาจากการหมักในถังปฏิกรณ์ชีวภาพมี

การควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างให้อยู่ในช่วงที่กำหนดได้นานถึง 171 ชั่วโมง และมีการเก็บตัวอย่างในช่องทางออกของสารจึงไม่ส่งผลกระทบต่อระบบ ในขณะที่การหมักในขวดทดลองไม่มีการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่างการหมักมีเพียงการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างตอนเริ่มต้นการหมักเท่านั้น อีกทั้งการเก็บตัวอย่างยังมีการเอาออกมาดำเนินการยังตู้ปลอดเชื้อซึ่งส่งผลให้อุณหภูมิเกิดการเปลี่ยนแปลงไป และมีออกซิเจนเข้าสู่ระบบก่อนที่จะมีการไล่ออกซิเจนและนำไปปมไว้ดังเช่นเดิม ซึ่งเหตุดังที่กล่าวมาอาจจะส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อที่แตกต่างกัน



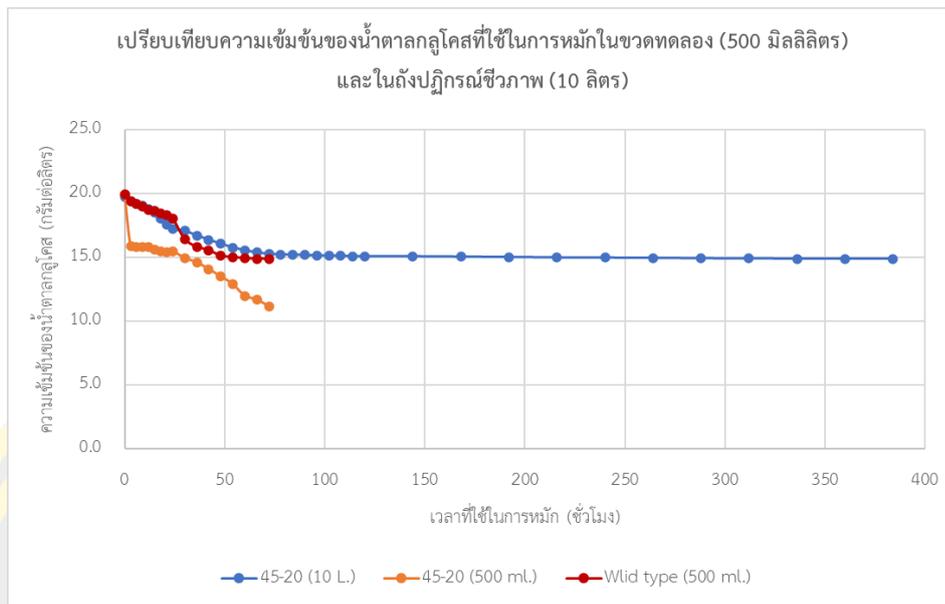
รูปที่ 4.29 เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงในการหมักในขวดทดลอง (500 มิลลิลิตร) และในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (10 ลิตร)

4.2.8 การใช้สารตั้งต้นระหว่างการหมักของ *Clostridium cochlearium* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพต้นแบบ

สารตั้งต้นหรือ substrate ของเชื้อที่ใช้ในการหมักทั้งการหมักในขวดทดลองและการหมักในถังปฏิกรณ์ชีวภาพคือน้ำตาลกลูโคสที่อยู่ในอาหารหมัก Phosphate carbonate medium ซึ่งมีความเข้มข้นเริ่มต้นอยู่ที่ 20 กรัมต่อลิตร เมื่อระยะเวลาของการหมักผ่านไปน้ำตาลกลูโคสจะถูกเชื้อใช้ในการเจริญเติบโตของเชื้อเองและถูกนำไปใช้ในการสร้างสารผลิตภัณฑ์ของการหมักในถังปฏิกรณ์ชีวภาพการใช้น้ำตาลกลูโคสจะมากในช่วง 72 ชั่วโมงแรกจะเห็นได้ว่าน้ำตาลกลูโคสมีการลดลงและคงที่อย่างรวดเร็วตั้งแต่เริ่มต้นจนถึงชั่วโมงที่ 72 จากนั้นความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสจะลดลงอย่างช้า ๆ และคงที่จนถึงสิ้นสุดการหมัก แต่อย่างไรก็ตามเริ่มต้นจากการวัด

จริงความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นในการหมักในถังปฏิกรณ์ชีวภาพอยู่ที่ 19.74 กรัมต่อลิตร เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักคือในชั่วโมงที่ 384 พบว่าเหลือน้ำตาลกลูโคสอยู่ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 14.88 กรัมต่อลิตร ซึ่งน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไปในการหมักเท่ากับ 4.86 กรัมต่อลิตร

เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบการใช้น้ำตาลกลูโคสของเชื้อในการหมักในขวดทดลองและเชื้อในการหมักในถังปฏิกรณ์ชีวภาพในเวลาของการหมักเดียวกันคือวันที่ 5 หรือชั่วโมงที่ 120 ซึ่งเป็นเวลาเสร็จสิ้นกระบวนการหมักในขวดทดลอง ผลการใช้น้ำตาลกลูโคส ณ เวลาดังกล่าวพบว่าเชื้อกลายพันธุ์ในขวดทดลองมีน้ำตาลกลูโคสคงเหลือน้อยที่สุดคือ 11.16 กรัมต่อลิตร ในขณะที่เชื้อกลายพันธุ์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพมีน้ำตาลกลูโคสคงเหลือ 15.27 กรัมต่อลิตร เมื่อพิจารณาน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไปพบว่าเชื้อกลายพันธุ์ในขวดทดลองใช้น้ำตาลกลูโคสไปทั้งหมด 8.74 กรัมต่อลิตร ในขณะที่เชื้อกลายพันธุ์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพใช้น้ำตาลกลูโคสไปทั้งหมด 4.86 กรัมต่อลิตร ซึ่งเชื้อกลายพันธุ์ในขวดทดลองนั้นมีการใช้น้ำตาลกลูโคสไปมากกว่าเชื้อกลายพันธุ์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ 1.8 เท่า เมื่อพิจารณาเทียบกับเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมที่ทำการหมักในขวดทดลองพบว่าเชื้อกลายพันธุ์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพมีน้ำตาลคงเหลือในชั่วโมงที่ 120 ใกล้เคียงกันโดยเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมที่ใช้น้ำตาลกลูโคสไป 5.28 กรัมต่อลิตร ซึ่งใกล้เคียงกับเชื้อกลายพันธุ์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ แต่เชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมยังคงมีน้ำตาลกลูโคสคงเหลือมากกว่าเชื้อกลายพันธุ์ในขวดทดลองเช่นเดียวกัน ดังรูปที่ 4.30 ความแตกต่างที่เกิดขึ้นในการใช้น้ำตาลกลูโคสอาจเนื่องมาจากในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพมีการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างในระหว่างการหมัก ซึ่งเป็นค่าที่เหมาะสมกับการผลิตบิวทานอลของ *C.cochlearium* แต่อาจไม่ได้ส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อ ซึ่งอาจทำให้เชื้อในการหมักในถังปฏิกรณ์ชีวภาพมีอัตราการเจริญเติบโตที่ของเชื้อต่ำกว่าเชื้อที่หมักในขวดทดลองซึ่งไม่มีการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างซึ่งเป็นการเจริญเติบโตตามสภาวะค่าความเป็นกรด-ด่างตามธรรมชาติของเชื้อในแต่ละระยะที่อาจจะทำให้เชื้อมีอัตราการเจริญเติบโตที่สูงกว่า แต่ไม่ได้ส่งเสริมให้เชื้อเกิดการผลิตสารละลายบิวทานอลที่สูง (Al-Shorgani et al., 2018)



รูปที่ 4.30 การเปรียบเทียบความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่ใช้ในการหมักในขวดทดลอง (500 มิลลิลิตร) และในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (10 ลิตร)

4.3 การประเมินความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ (Economic Assessments)

4.3.1 ต้นทุนในการผลิตบิวทานอลทางชีวภาพ (Costs)

การประเมินต้นทุนการผลิตบิวทานอลทางชีวภาพจะต้องมีการประเมินตั้งแต่ต้นทุนในขั้นของการสร้างสารบิวทานอล (Upstream) ตลอดจนถึงต้นทุนหลังการผลิตซึ่งจะเป็นการทำบริสุทธิ์สาร (Downstream) จนได้สารบิวทานอลที่บริสุทธิ์พร้อมต่อการใช้งานในด้านต่าง ๆ โดยในส่วนของต้นทุนในการผลิตของการทดลองนี้จะเป็นการประเมินต้นทุนของการผลิตเฉพาะต้นทุนของอาหารที่ใช้ในกระบวนการหมักภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพปริมาตร 10 ลิตร โดยแบ่งเป็นอาหาร Cooked meat medium ที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อเริ่มต้นปริมาตร 1 ลิตร และอาหารที่ใช้ในการหมัก Phosphate carbonate medium ปริมาตร 9 ลิตร ซึ่งมีรายละเอียดของราคาต้นทุนดังแสดงไว้ในตารางที่ 4.6 แต่อย่างไรก็ตามในการผลิตบิวทานอลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพยังคงมีต้นทุนในส่วนของการใช้พลังงานในการควบคุมสภาวะของถังปฏิกรณ์ชีวภาพทั้งอุปกรณ์ภายในกล่องควบคุม (Controller) และอุปกรณ์ควบคุมสภาวะ (Final control elements) อาทิ ฮีตเตอร์ ปัม และวาล์ว ซึ่งรายละเอียดต้นทุนในส่วนนี้ไม่ได้ถูกแสดงไว้ในรายงานวิจัยฉบับนี้เนื่องจากการวัดการใช้พลังงานของอุปกรณ์จะต้องมีการจัดเก็บข้อมูลตลอดทั้งการหมักทั้งปริมาณไฟฟ้าที่ใช้และระยะเวลาในการทำงานของอุปกรณ์ซึ่งเป็นส่วนที่ไม่ได้มีการจัดเก็บและวัดค่าในการทดลองนี้ และในส่วนของต้นทุนหลังการผลิตจะเป็นส่วนของการแยกประเภทสารเพื่อบริสุทธิ์ (Purification) หลังจากการหมัก โดยในการทำ

บริษัทสารบิวทานอลจะมีการทำบริษัทที่ร้อยละความเข้มข้นต่าง ๆ ตามการนำไปใช้หรือความต้องการของตลาด การประเมินต้นทุนในส่วนนี้จะไม่ถูกรายงานไว้ในรายงานนี้เนื่องจากงานวิจัยนี้มีการดำเนินการทดลองที่มุ่งเน้นการพัฒนากระบวนการในส่วนของ Upstream process ดังนั้นจึงไม่ได้มีการทดลองในส่วนของ Downstream process จึงไม่มีการคำนวณต้นทุนในส่วนนี้ในการทดลองนี้ ดังนั้นการประเมินต้นทุนการผลิตบิวทานอลทางชีวภาพในรายงานวิจัยนี้จึงเป็นการคำนวณต้นทุนเฉพาะส่วนของอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มต้นและอาหารที่ใช้ในการหมักบิวทานอล

ตารางที่ 4.6 ต้นทุนของอาหารเลี้ยงเชื้อและอาหารหมัก

อาหารที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อเริ่มต้น Cooked meat medium					
สารองค์ประกอบ	น้ำหนัก (กรัม)	ราคา (บาท)	น้ำหนักที่ ใช้ (กรัม)	คิดเป็น ราคา (บาท)	แหล่งอ้างอิง
Cooked meat medium	500	3,850	125	962.50	www.labvalley.com
อาหารหมัก Phosphate carbonate medium					
สารองค์ประกอบ	น้ำหนัก (กรัม)	ราคา (บาท)	น้ำหนักที่ ใช้ (กรัม)	คิดเป็น ราคา (บาท)	แหล่งอ้างอิง
Glucose	500	550	200	220	www.labvalley.com
Trypticase peptone	500	1,250	200	500	www.labvalley.com
Yeast extract	500	1,200	60	144	www.labvalley.com
Sodium hydrogen carbonate	1,000	400	40	16	www.labvalley.com
Potassium dihydrogen phosphate	500	450	33.8	30.42	www.labvalley.com
Magnesium sulfate heptahydrate	500	330	24.6	16.24	www.labvalley.com
Sodium thioglycolate	100	2,100	5	105	www.labvalley.com

สารองค์ประกอบ	น้ำหนัก (กรัม)	ราคา (บาท)	น้ำหนักที่ ใช้ (กรัม)	คิดเป็น ราคา (บาท)	แหล่งอ้างอิง
Cobalt (II) chloride hexahydrate	100	1,050	0.119	1.25	www.labvalley.com
Resazurin	5	4,102	0.010	8.20	www.sigmaaldrich.com
รวมราคาต้นทุนอาหารทั้งหมด				2,003.61 บาท	

4.3.2 การสำรวจราคาขายของบิวทานอล (Price survey)

ในส่วนของราคาขายของบิวทานอล ผู้วิจัยได้ทำการสำรวจตามเว็บไซต์ของบริษัทที่จัดจำหน่ายในประเทศไทย โดยเป็นข้อมูลที่มีการสำรวจเมื่อวันที่ 15 เมษายน 2565 ซึ่งมีการรวบรวมข้อมูลทั้งราคาขายต่อปริมาตรที่จำหน่ายและบริษัทที่จัดจำหน่ายดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 ราคาขายบิวทานอลในประเทศไทย

ลำดับ	ราคา (บาท)	ปริมาตร (ลิตร)	ร้อยละความ เข้มข้น	บริษัทที่จัดจำหน่าย	แหล่งอ้างอิง
1.	1,750	2.5	99.5	แล็บ วัลเลย์	www.labvalley.com
2.	1,724	2.5	99.5	เอ็มแอนด์พี อิมแพ็กซ์	www.mpimpex.co.th
3.	1,400	2.5	99.5	วิโรฒวิทยากันท์	www.vittayapun.com
4.	1,750	2.5	99.5	เอ็นพี เคมีคอล ซัพพลาย	www.npchem.co.th
5.	2,000	2.5	99.5	ไซ เทรดเดอร์	www.scitrader.co.th
ราคาเฉลี่ย 1,724.8 บาท					

4.3.3 การประเมินความคุ้มค่าของการผลิตบิวทานอลทางชีวภาพ (Cost-Benefit

Analysis)

การประเมินความคุ้มค่าของการผลิตบิวทานอลทางชีวภาพในรายงานนี้จะประเมินในส่วนของต้นทุนของอาหารที่ใช้ในการผลิตบิวทานอลเปรียบเทียบกับราคาขายของบิวทานอล โดยจากการทดลองการผลิตบิวทานอลภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพในงานวิจัยนี้พบว่าการผลิตบิวทานอลได้สูงสุดที่ความเข้มข้น 29.65 กรัมต่อลิตร คิดเป็น 0.37 ลิตร จากปริมาตร 10 ลิตร ใช้ต้นทุนอาหารไป

ทั้งหมด 2,003.61 บาท คิดเป็น 5,415.16 บาทต่อลิตร ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับราคาขายบิวทานอลเฉลี่ยเท่ากับ 1,724.8 บาท ต่อ 2.5 ลิตร หรือคิดเป็น 689.92 บาทต่อลิตร พบว่ายังมีส่วนต่างของต้นทุนที่สูงกว่า 4,725.24 บาท ซึ่งไม่มีความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ แต่อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้เป็นการมุ่งเน้นในการพัฒนาสายพันธุ์ของเชื้อเพื่อให้มีประสิทธิภาพในการผลิตบิวทานอลที่สูงขึ้น และอาหารที่ใช้ในการหมักเป็นอาหารสังเคราะห์ (synthetic medium) ซึ่งมีต้นทุนที่สูง เพื่อส่งเสริมการผลิตบิวทานอลของเชื้อ ในอนาคตหากมีการพัฒนาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่มาจากของเสียทางการเกษตรซึ่งมีราคาถูกและสามารถย่อยสลายแล้วได้น้ำตาลกลูโคสที่เป็นแหล่งคาร์บอนของเซลล์ ทำให้ต้นทุนของอาหารหมักลดลงได้ และนอกจากนั้นในกระบวนการหมักยังมีสารผลิตภัณฑ์อื่น ๆ ที่มีมูลค่า อาทิ อะซิโตนและเอทานอล ซึ่งหากมีการทำบริสุทธิ์สารเหล่านี้ด้วยจะทำให้ได้สารผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าเพิ่มขึ้นโดยที่ต้นทุนการหมักยังคงเท่าเดิม แต่อย่างไรก็ตามจะต้องมีการคำนึงถึงความคุ้มค่าต่อการทำบริสุทธิ์สารเพิ่มเติมเหล่านี้ด้วย

บทที่ 5

สรุปผลการดำเนินงาน

จากการทดลองการพัฒนาเชื้อ *Clostridium cochlearium* โดยใช้วิธีการฉายพันธุ์ด้วยแสงยูวี และการออกแบบเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพชีวภาพสำหรับการผลิตบิวทานอลทางชีวภาพ พบว่าเมื่อสาดแสงยูวีไปยังเชื้อที่อยู่บนอาหารแข็งเป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 วินาที ตามลำดับ เชื้อที่เวลาสาดแสงยูวี 90 วินาที ไม่สามารถอยู่รอดได้ โดยที่เวลาของการสาดแสงยูวี 15, 30, 45, 60 และ 75 วินาที มีจำนวนเซลล์ที่ลดลงจากเวลา 0 วินาที เป็น 0.86, 0.79, 0.72, 0.63, และ 0.45 เท่า ตามลำดับ เมื่อทำการคัดเลือกเชื้อกลายพันธุ์ด้วยอาหารเพื่อการคัดเลือก (selective medium) ที่มีการเติมบิวทานอลลงไปร้อยละ 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0 ตามลำดับ จากผลการทดลอง พบว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมสามารถทนต่อบิวทานอลได้สูงสุดที่ร้อยละ 2.0 โดยเชื้อกลายพันธุ์ที่เวลาสาดแสงยูวีที่ 15, 30 และ 75 วินาทีที่มีจำนวนโคโลนีที่อยู่รอดบนอาหารเพื่อการคัดเลือกที่ผสมบิวทานอล ร้อยละ 2.0 น้อยกว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมเท่ากับ 0.82, 0.93 และ 0.52 เท่าเมื่อเทียบกับเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมเป็นจำนวนอ้างอิงเทียบ (Relative specific colony forming at 0 sec. UV exposed time as reference) ส่วนเชื้อกลายพันธุ์ที่เวลาสาดแสงยูวีที่ 45 และ 60 วินาที มีจำนวนโคโลนีที่อยู่รอดมากกว่าเชื้อสายพันธุ์ 1.17 และ 1.07 เท่าตามลำดับ ดังนั้นจึงนำเชื้อกลายพันธุ์ที่เวลาสาดแสงยูวี 45 และ 60 วินาที มาทำการสุ่มเลือกโคโลนีมาตัวอย่างละจำนวน 96 โคโลนี มาทดสอบบนอาหารแข็งที่มีบิวทานอลความเข้มข้นร้อยละ 1.9, 2.0, 2.1, 2.2, 2.4, 2.6, 2.8 และ 2.9 จากการทดลอง พบว่าความเข้มข้นของบิวทานอลในอาหารแข็งที่เชื้อกลายพันธุ์สามารถเจริญได้คือที่ร้อยละ 2.8 จึงได้ทำการคัดเลือกเชื้อกลายพันธุ์มาจำนวน 6 ไอโซเลท ซึ่งได้แก่ ไอโซเลทรหัส 45-20, 45-21, 60-12, 60-16, 60-17 และ 60-25 จากนั้นจึงนำเชื้อกลายพันธุ์ทั้ง 6 ไอโซเลทไปทำการทดสอบการผลิตบิวทานอลในขวดทดลองเทียบกับเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม จากผลการทดลองพบว่า เชื้อที่สามารถผลิตบิวทานอลได้ความเข้มข้นสูงสุดได้แก่เชื้อกลายพันธุ์ 45-20 รองลงมาคือเชื้อกลายพันธุ์ 45-21, 60-16, 60-12, 60-17, เชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม และ 60-25 ตามลำดับ ซึ่งสามารถผลิตบิวทานอลได้ที่ความเข้มข้น 1.7302, 1.0263, 0.8116, 0.7233, 0.5986, 0.1085 และ 0.0081 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ คิดเป็นผลได้ร้อยละเท่ากับ 5.799×10^{-2} , 3.471×10^{-2} , 2.801×10^{-2} , 2.534×10^{-2} , 2.132×10^{-2} , 6.165×10^{-3} และ 2.830×10^{-4} กรัมต่อกรัม ตามลำดับ และมีอัตราการผลิตเท่ากับ 1.441×10^{-2} , 8.552×10^{-3} , 6.763×10^{-3} , 6.027×10^{-3} , 4.988×10^{-3} , 9.041×10^{-4} และ 6.750×10^{-5} กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ เชื้อที่สามารถผลิตเอทานอลได้ความเข้มข้นสูงสุดคือเชื้อสายพันธุ์ 45-20 รองลงมาคือเชื้อสายพันธุ์ 45-21, 60-12, 60-25, 60-16, 60-17 และเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม

ตามลำดับซึ่งสามารถผลิตเอทานอลได้ที่ความเข้มข้น 1.5197, 1.2552, 1.1218, 1.0989, 0.8037, 0.6292 และ 0.5195 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ คิดเป็นผลได้ร้อยละเท่ากับ 5.094×10^{-2} , 4.245×10^{-2} , 3.931×10^{-2} , 3.838×10^{-2} , 2.775×10^{-2} , 2.242×10^{-2} และ 2.952×10^{-2} กรัมต่อกรัม ตามลำดับ และมีอัตราการผลิต 1.266×10^{-2} , 1.046×10^{-2} , 9.350×10^{-3} , 9.160×10^{-3} , 6.700×10^{-3} , 5.240×10^{-3} และ 4.330×10^{-3} กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ส่วนเชื้อที่สามารถผลิตอะซิโตนได้ความเข้มข้นสูงสุดคือ เชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม รองลงมาคือเชื้อกลายพันธุ์ 45-21, 60-17, 60-16, 60-25, 60-12 และ 45-20 ตามลำดับ ซึ่งสามารถผลิตอะซิโตนได้ความเข้มข้น 0.3852, 0.3413, 0.3138, 0.2903, 0.2785, 0.2659 และ 0.2283 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ คิดเป็นผลได้ร้อยละเท่ากับ 2.188×10^{-2} , 1.154×10^{-2} , 1.118×10^{-2} , 1.002×10^{-2} , 9.726×10^{-3} , 9.319×10^{-3} และ 7.653×10^{-3} กรัมต่อกรัม ตามลำดับและมีอัตราการผลิตเท่ากับ 3.210×10^{-3} , 2.840×10^{-3} , 2.620×10^{-3} , 2.420×10^{-3} , 2.320×10^{-3} , 2.220×10^{-3} และ 1.900×10^{-3} กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ จากผลการทดลองเชื้อกลายพันธุ์ 45-20 มีผลการผลิตบิวทานอลในขวดทดลองในความเข้มข้นสูงสุด ดังนั้นจึงนำเชื้อกลายพันธุ์ 45-20 ไปทำการทดสอบการผลิตบิวทานอลในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพที่ได้ทำการออกแบบและสร้างขึ้นพร้อมระบบควบคุมสถานะได้แก่ อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-ด่างและสถานะไร้ออกซิเจน

ผลการทดลองพบว่าเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพและระบบควบคุมมีการควบคุมอุณหภูมิภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพให้อยู่ในค่าเป้าหมายได้คือประมาณ 30 องศาเซลเซียส แต่การควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างพบว่าการบ่มสารละลายต่าง (NaOH) เพื่อเพิ่มค่าความเป็นกรด-ด่างให้อยู่ในช่วงที่กำหนดได้คือในช่วงค่า 6.41 ถึง 7.50 แต่หลังจากนั้นระบบไม่สามารถควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างได้เนื่องจากความผิดพลาดในขั้นตอนการทำงานของโปรแกรม ส่วนการควบคุมสถานะไร้ออกซิเจนในการทดลองครั้งนี้ใช้การปิด-เปิดแก๊สไนโตรเจนด้วยตัวผู้ทดลองเอง (Manual) แต่อย่างไรก็ตามผลการควบคุมสถานะไร้ออกซิเจนพบว่าการรั่วเข้าของแก๊สออกซิเจนเข้าสู่ถังปฏิกรณ์ชีวภาพร้อยละ 1 ในวันที่ 1 และ 2 ของการหมักเท่านั้น หลังจากนั้นผู้ทดลองได้ทำการปรับเปลี่ยนเวลาในการพ่นแก๊สไนโตรเจนทำให้ไม่มีการรั่วของแก๊สออกซิเจนเข้าสู่ถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ในส่วนของผลการหมักบิวทานอลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพชีวภาพโดยมีการนำตัวอย่างที่เวลาการหมักชั่วโมงที่ 12, 24, 54, 120, 264 และ 384 ไปทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารบิวทานอล อะซิโตนและเอทานอลพบว่าไม่พบการสร้างสารอะซิโตน และมีการผลิตเอทานอลและบิวทานอลเท่ากับ 1.81, 5.50, 2.98, 4.47, 11.30 และ 11.30 กรัมต่อลิตร และ 0.00, 0.00, 29.32, 29.65, 2.51 และ 2.11 กรัมต่อลิตร ในการหมักชั่วโมงที่ 12, 24, 54, 120, 264 และ 384 ตามลำดับ

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก. อักษรย่อ (Abbreviations)

อักษรย่อ	ความหมาย	หน่วย
O.D.	Optical Density	
μ	Specific growth rate	hr ⁻¹
t	Time	hr.
VDC	Voltage Direct Current	V.
VAC	Voltage, Alternating Current	V.
Tx	Transmit data	
Rx	Receive data	
GND.	Signal ground	
VCC.	Common Collector Voltage	
SIG.	Signal	
V	Reactor volume	m ³
D _T	Reactor diameter	mm.
L _T	Reactor high	mm.
H _D	Reactor head diameter	mm.
t _{tank}	Reactor thickness	mm.
CR	Crown radius of reactor	degree
KR	Knuckle radius of reactor	degree
D _{impeller}	Impeller diameter	mm.

อักษรย่อ	ความหมาย	หน่วย
r_{impeller}	Impeller radius	mm.
W_{impeller}	Impeller wide	mm.
H_{impeller}	High of impeller position from bottom of reactor	mm.
ω	Angular velocity	rad/s
V	Velocity	m/s
C_D	Drag coefficient	-
F_D	Drag force	N.
T_{YS}	Tension yield stress	MPa.
S_{YS}	Shear yield stress	MPa.
T_r	Torsional stress	Nm.
J	Circular fraction	-
τ	Torque	Pa
D_{shaft}	Shaft diameter	mm.
W_B	Baffle wide	mm.
h_B	High of baffle position from bottom of reactor	mm.
L_B	Baffle length	mm.
P	Power of motor	hp.
L_{jacket}	Jacket wide	mm.
H_{jacket}	Jacket high	mm.
D_j	Jacket diameter	m.
h_{liquid}	Level of liquid	mm.
A_{HTA}	Heat transfer area	m^2

อักษรย่อ	ความหมาย	หน่วย
A_{cylinder}	Area of cylinder shape of reactor	m.
$A_{\text{Ellipsoidal}}$	Area of bottom reactor	m.
A_{jacket}	Jacket heat transfer area	m^2 .
N_{pr}	Prandtl's number	-
U	Overall heat transfer	Kcal/hr.m^2
Q	Flow rate	m^3/hr .
ρ	Density	Kg/m^3
K	Thermal conductivity	Kcal/hr, m^2
C_p	Specific heat capacity	$\text{Kcal/Kg, } ^\circ\text{C}$
h	Heat transfer Coefficient	$\text{Kcal/hr. m}^2, ^\circ\text{C}$
F_v	Fouling factor in reactor	$\text{hr, m}^2, ^\circ\text{C/Kcal}$
F_j	Fouling factor in jacket	$\text{hr, m}^2, ^\circ\text{C/Kcal}$
m	Mass of water	Kg
$T_{j,\text{in}}$	Temperature of water inlet to jacket	$^\circ\text{C}$
$T_{r,\text{in}}$	Temperature of solvent inlet to reactor	$^\circ\text{C}$
$T_{r,\text{f}}$	Solvent temperature setpoint in reactor	$^\circ\text{C}$

ภาคผนวก ข. วิธีทำกราฟมาตรฐานความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส ด้วยวิธี DNS

1. การเตรียมสารละลาย DNS reagent

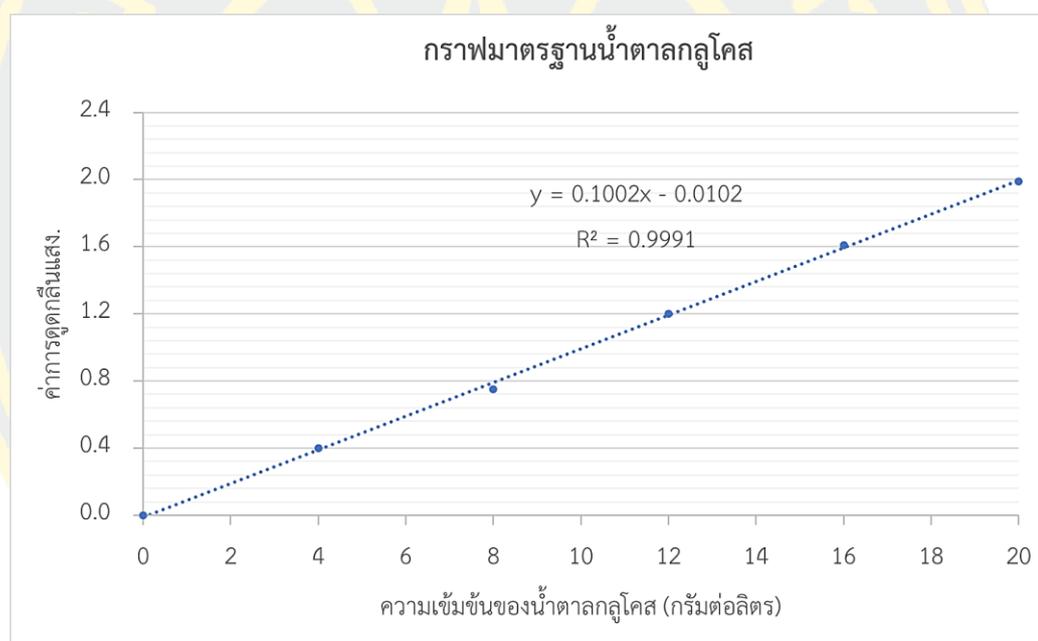
ชั่งสาร 3,5-Dinitrosalicylic acid หรือ DNS ปริมาณ 5 กรัม และ Sodium potassium tartrate ปริมาณ 150 กรัม มาละลายในสารละลาย Sodium hydroxide เข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 400 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปแช่ในน้ำร้อน คนให้เข้ากัน และปรับปริมาตรน้ำให้ครบ 500 มิลลิลิตร ในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้อง

2. การเตรียมกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสด้วยวิธี DNS

1. เตรียมสารละลาย DNS
2. เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Phosphate-carbonate medium
3. เตรียมสารละลายกลูโคสที่ความเข้มข้น 8, 16, 24, 32 และ 40 มิลลิลิตร เพื่อให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 4, 8, 12, 16 และ 20 มิลลิลิตร ตามลำดับ
4. ปิเปตสารละลายตัวอย่างปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง
5. เติมสารละลาย DNS ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง
6. นำไปแช่ในน้ำร้อนเป็นเวลา 5 นาที
7. นำไปแช่ในน้ำเย็นจนอุณหภูมิลดลงถึงอุณหภูมิห้อง
8. นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร
9. โดยใช้อาหารหมักและสารละลาย DNS เป็นสารละลายแบลนด์
10. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสต่าง ๆ (ตารางที่ ภาคผนวก ข.-1) ไปทำการสร้างกราฟมาตรฐานดังรูปที่ ภาคผนวก ข.-1

ตารางที่ ภาคผนวก ข.-1 ค่าการดูดกลืนแสงของน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

Glucose	OD.
0	0.0000
4	0.4001
8	0.7492
12	1.2018
16	1.6102
20	1.9885



รูปที่ ภาคผนวก ข.-1 กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส

ภาคผนวก ง. การเปลี่ยนแปลงน้ำตาลกลูโคสระหว่างการหมักบิวทานอลในขวด
ทดลอง

ตารางที่ ภาคผนวก ง.-3 การเปลี่ยนแปลงน้ำตาลกลูโคสระหว่างการหมักบิวทานอลในขวดทดลอง

ระยะเวลาหมัก (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในอาหารหมัก (กรัมต่อลิตร) ของแต่ละไอโซเลข						
	Wild type	45-20	45-21	60-12	60-16	60-17	60-25
0	19.80	19.80	19.80	19.80	19.80	19.80	19.80
3	19.32	15.78	15.79	15.77	15.71	15.85	15.78
6	19.06	15.71	15.72	15.75	15.62	15.72	15.74
9	18.86	15.70	15.71	15.60	15.54	15.70	15.70
12	18.64	15.70	15.69	15.48	15.32	15.68	15.71
15	18.52	15.51	15.61	15.31	15.06	15.51	15.66
18	18.32	15.39	15.49	15.17	14.97	15.39	15.42
21	18.23	15.30	15.41	15.09	14.55	15.35	15.32
24	17.96	15.38	15.29	14.92	14.15	15.43	15.16
30	16.33	14.85	15.22	14.22	13.76	14.81	14.50
36	15.73	14.51	14.80	13.77	13.23	14.36	13.92
42	15.46	13.97	14.56	13.51	12.89	13.70	13.30
48	15.02	13.41	13.28	12.86	12.52	13.40	12.63
54	14.92	12.79	12.57	12.16	11.98	12.93	12.31
60	14.72	11.58	11.24	11.60	11.52	11.65	11.62
66	14.71	11.58	11.24	11.60	11.52	11.65	11.62
72	14.71	11.05	11.13	11.44	11.31	11.58	11.41

**ภาคผนวก จ. การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงระหว่างการหมักบิวทานอลในขวด
ทดลอง**

**ตารางที่ ภาคผนวก จ.-4 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงระหว่างการหมักบิวทานอลในขวด
ทดลอง**

ไอโซเลท	ระยะเวลาหมัก (ชั่วโมง)/ค่าการดูดกลืนแสง								
	0	3	6	9	12	15	18	21	24
Wild type	0.2979	0.3188	0.3367	0.3549	0.3886	0.3987	0.4314	0.4803	0.5127
	0.2869	0.3210	0.3344	0.3720	0.3745	0.3773	0.4301	0.4780	0.5061
	0.2797	0.3160	0.3336	0.3677	0.3654	0.3732	0.4243	0.4763	0.4942
45-20	0.3628	0.6482	1.2053	1.3337	1.3945	1.4549	1.4662	1.4986	1.5137
	0.3649	0.5845	1.1942	1.3346	1.3929	1.4545	1.4680	1.4980	1.5129
	0.3616	0.5249	1.1832	1.3351	1.3908	1.4546	1.4690	1.4980	1.5120
45-21	0.2778	0.9057	1.1009	1.1244	1.1275	1.1736	1.3377	1.3567	1.3949
	0.2794	0.8583	1.0902	1.1290	1.1388	1.1731	1.3390	1.3475	1.3966
	0.2778	0.8690	1.0809	1.1378	1.1495	1.1704	1.3386	1.3577	1.3988
60-12	0.1871	1.0551	1.1763	1.2919	1.2557	1.3224	1.3482	1.3795	1.4013
	0.1862	1.0859	1.1731	1.2369	1.2573	1.3290	1.3496	1.3847	1.4021
	0.1862	1.0442	1.1707	1.2339	1.2569	1.3315	1.3499	1.3736	1.4030
60-16	0.2168	1.0411	1.1412	1.1635	1.3117	1.3311	1.3375	1.3888	1.4984
	0.2210	1.0471	1.1178	1.1630	1.3108	1.3350	1.3463	1.3872	1.4975
	0.2231	1.0490	1.1414	1.1632	1.3109	1.3359	1.3465	1.3861	1.4968
60-17	0.2522	0.9602	1.0217	1.0568	1.1786	1.2529	1.3104	1.3564	1.3821
	0.2504	0.9601	1.0274	1.0592	1.1832	1.2531	1.3213	1.3551	1.3816
	0.2504	0.9613	1.0366	1.0573	1.1917	1.2533	1.3331	1.3546	1.3810
60-25	0.1851	0.7456	0.9553	1.3379	1.3611	1.3988	1.4314	1.4858	1.4388
	0.1888	0.7503	0.9604	1.3269	1.3619	1.4055	1.4319	1.3485	1.4385
	0.1911	0.7652	0.9644	1.3179	1.3626	1.4075	1.4333	1.4645	1.4376

ไอโซเลข	ระยะเวลาหมัก (ชั่วโมง)/ค่าการดูดกลืนแสง							
	30	36	42	48	54	60	66	72
Wild type	0.6915	1.2194	1.3827	1.5243	1.5364	1.5633	1.5634	1.5666
	0.6873	1.2214	1.3856	1.5251	1.5367	1.5637	1.5644	1.5689
	0.6861	1.2218	1.3850	1.5263	1.5633	1.5673	1.5634	1.5678
45-20	1.5208	1.5380	1.5447	1.6181	1.6261	1.6262	1.6261	1.6262
	1.5209	1.5379	1.5431	1.6187	1.6260	1.6263	1.6261	1.6266
	1.5213	1.5384	1.5420	1.6198	1.6261	1.6260	1.6264	1.6262
45-21	1.4753	1.6102	1.6618	1.7450	1.7450	1.7452	1.7453	1.7466
	1.4756	1.6105	1.6603	1.7442	1.7451	1.7453	1.7456	1.7463
	1.4766	1.6105	1.6598	1.7440	1.7450	1.7454	1.7456	1.7465
60-12	1.4811	1.6304	1.6573	1.7131	1.7233	1.7234	1.7233	1.7234
	1.4807	1.6293	1.6571	1.7140	1.7235	1.7232	1.7233	1.7236
	1.4806	1.6284	1.6580	1.7150	1.7231	1.7233	1.7236	1.7339
60-16	1.5595	1.6034	1.7348	1.7394	1.7444	1.7443	1.7456	1.7459
	1.5607	1.6039	1.7344	1.7390	1.7440	1.7443	1.7458	1.7458
	1.5615	1.6042	1.7341	1.7390	1.7441	1.7445	1.7456	1.7457
60-17	1.4584	1.5535	1.5658	1.6380	1.6388	1.6397	1.6401	1.6408
	1.4572	1.5536	1.5647	1.6385	1.6394	1.6395	1.6398	1.6408
	1.4570	1.5538	1.5647	1.6391	1.6395	1.6398	1.6410	1.6410
60-25	1.5021	1.5064	1.5143	1.5648	1.5651	1.5656	1.5663	1.5660
	1.5007	1.5047	1.5146	1.5647	1.5650	1.5658	1.5660	1.5664
	1.5003	1.5042	1.5151	1.5642	1.5649	1.5659	1.5661	1.5665

ภาคผนวก ฉ. การเปลี่ยนแปลงน้ำตาลกลูโคสระหว่างการหมักบิวทานอลในถังปฏิกรณ์
ชีวภาพต้นแบบ

ตารางที่ ภาคผนวก ฉ.-5 การเปลี่ยนแปลงน้ำตาลกลูโคสระหว่างการหมักบิวทานอลในถังปฏิกรณ์
ชีวภาพต้นแบบ

ระยะเวลาหมัก (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสง	ระยะเวลาหมัก (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสง
0	19.74	84	15.21
3	19.41	90	15.18
6	19.16	96	15.15
9	19.05	102	15.13
12	18.77	108	15.11
15	18.53	114	15.09
18	18.05	120	15.08
21	17.60	144	15.07
24	17.21	168	15.05
30	17.07	192	15.02
36	16.71	216	14.98
42	16.39	240	14.97
48	16.06	264	14.95
54	15.77	288	14.92
60	15.57	312	14.91
66	15.38	336	14.90
72	15.27	360	14.89
78	15.22	384	14.88

ภาคผนวก ข. การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงระหว่างการหมักบิวทานอลในถัง
ปฏิกรณ์ชีวภาพต้นแบบ

ตารางที่ ภาคผนวก ข.-6 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงระหว่างการหมักบิวทานอลในถัง
ปฏิกรณ์ชีวภาพต้นแบบ

ระยะเวลาหมัก (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสง		
0	0.3126	0.3165	0.3125
3	0.3402	0.3402	0.3401
6	0.3611	0.3610	0.3610
9	0.4468	0.4468	0.4468
12	0.6856	0.6856	0.6855
15	0.8027	0.8026	0.8025
18	0.9333	0.9330	0.9330
21	1.0294	1.0294	1.0294
24	1.0537	1.0537	1.0537
30	1.1137	1.1136	1.1137
36	1.1376	1.1377	1.1377
42	1.1785	1.1785	1.1785
48	1.2031	1.2031	1.2033
54	1.2234	1.2236	1.2234
60	1.2245	1.2245	1.2245
66	1.2267	1.2266	1.2267
72	1.2298	1.2295	1.2298
78	1.2301	1.2301	1.2301
84	1.2311	1.2311	1.2311
90	1.2356	1.2356	1.2356

ระยะเวลาหมัก (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสง		
96	1.2369	1.2369	1.2369
102	1.2389	1.2389	1.2389
108	1.2410	1.2410	1.2410
114	1.2477	1.2477	1.2476
120	1.2483	1.2483	1.2483
144	1.2496	1.2496	1.2496
168	1.2503	1.2503	1.2503
192	1.2514	1.2514	1.2514
216	1.2528	1.2528	1.2528
240	1.2577	1.2577	1.2577
264	1.2586	1.2584	1.2586
288	1.2591	1.2591	1.2591
312	1.2476	1.2502	1.2530
336	1.2360	1.2363	1.2362
360	1.2220	1.2221	1.2221
384	1.1759	1.1754	1.1757

ภาคผนวก ข. ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารละลายอินทรีย์

1. ผลการวิเคราะห์ปริมาณอะซิโตน เอทานอลและบิวทานอลของการหมักในขวดทดลอง โดยทำการวิเคราะห์ ณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีดังแสดงในรูปแบบที่ ภาคผนวก ง-1



ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
111 ถนนมหาวิทยาลัย ตำบลสุรนารี อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา 30000 โทรศัพท์ (044) 223263-4 โทรสาร (044) 223260

ข้อมูลผลการทดสอบเพื่อออกรายงานผล การทดสอบ การสอบเทียบ
งาน.....วิเคราะห์ทางเคมีและชีวเคมี.....

ชื่อห้องปฏิบัติการที่ทดสอบ.....ห้องปฏิบัติการ GC..... รายงานผลการทดสอบลำดับที่Rep#วคN640180.....
หมายเลขใบขอรับบริการ.....#วคN0180/64... วันเดือนปีที่ทำการทดสอบ/สอบเทียบ ...1 ธ.ค. - 14 ธ.ค. 2563...
วันเดือนปีที่รับตัวอย่าง
เครื่องมือที่ใช้ในการทดสอบGas Chromatography (GC-Varian CP3800)....
วิเคราะห์หาปริมาณ Acetone , Ethanol และ Butanol
(ชนิดตัวอย่าง ของเหลว)

ชื่อตัวอย่าง	Acetone (%)	Ethanol (%)	Butanol (%)
1. ชื่อตัวอย่าง W หมายเลขตัวอย่าง #วคNS0642/64	0.0649	0.0469	0.0026
2. ชื่อตัวอย่าง W 60 หมายเลขตัวอย่าง #วคNS0643/64	0.0624	0.0326	0.0032
3. ชื่อตัวอย่าง 1-16 หมายเลขตัวอย่าง #วคNS0644/64	0.0507	0.0045	0.0011
4. ชื่อตัวอย่าง 2-1 หมายเลขตัวอย่าง #วคNS0645/64	0.0506	0.0441	0.0039
5. ชื่อตัวอย่าง 2-20 หมายเลขตัวอย่าง #วคNS0646/64	0.0499	0.0210	0.0016
6. ชื่อตัวอย่าง 3-31 หมายเลขตัวอย่าง #วคNS0647/64	0.0523	0.0373	0.0027
7. ชื่อตัวอย่าง 3-24 หมายเลขตัวอย่าง #วคNS0648/64	0.0488	0.0096	0.0001
8. ชื่อตัวอย่าง wild type หมายเลขตัวอย่าง #วคNS0649/64	0.0491	0.0658	0.0134
9. ชื่อตัวอย่าง 4520 หมายเลขตัวอย่าง #วคNS0650/64	0.0291	0.1925	0.2136
10.ชื่อตัวอย่าง 4521 หมายเลขตัวอย่าง #วคNS0651/64	0.0435	0.1590	0.1267
11.ชื่อตัวอย่าง 6012 หมายเลขตัวอย่าง #วคNS0652/64	0.0339	0.1421	0.0893
12.ชื่อตัวอย่าง 6016 หมายเลขตัวอย่าง #วคNS0653/64	0.0370	0.1018	0.1002
13.ชื่อตัวอย่าง 6017 หมายเลขตัวอย่าง #วคNS0654/64	0.0400	0.0797	0.0739
14.ชื่อตัวอย่าง 6025 หมายเลขตัวอย่าง #วคNS0655/64	0.0355	0.1392	0.0010

ผู้ให้ข้อมูล
(นางสาวนิศาชล สิริมงคลกาล)
นักวิทยาศาสตร์
.....14 ธ.ค. 2563.....

รูปที่ ภาคผนวก ข.-2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารละลายอินทรีย์ของการหมักในขวดทดลอง

2. ผลการวิเคราะห์ปริมาณอะซีโตน เอทานอลและบิวทานอลของการหมักในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ โดยทำการวิเคราะห์ ณ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ดังแสดงในรูปที่ ภาคผนวก ง-2



สำนักเครื่องมือวิทยาศาสตร์และการทดสอบ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Office of Scientific Instrument and Testing (OSIT)

ชั้น 1 อาคารบริหารวิชาการ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90110
Academic and administrative buildings, Hat Yai, Songkhla, 90110 Thailand
Tel: +668 4407 1732, +668 9734 2482 E-mail: osit@group.psu.ac.th Website: https://osit.psu.ac.th

F-RES-T-033 ฉบับที่ 1 บังคับใช้ 01/07/64

เลขที่รายงาน: R0855/65

หน้า: 2/2

ผลการทดสอบ:

ลำดับที่	ชื่อตัวอย่าง	หน่วย	สารประกอบอินทรีย์ ± SD		
			Acetone	Ethanol	Butanol
1.	CC-12	% v/v	ไม่พบ	0.23 ± 0.01	< 0.001
2.	CC-24	% v/v	< 0.001	0.70 ± 0.00	< 0.001
3.	CC-54	% v/v	ไม่พบ	0.38 ± 0.02	3.62 ± 0.15
4.	CC-120	% v/v	ไม่พบ	0.57 ± 0.01	3.66 ± 0.04
5.	CC-264	% v/v	< 0.001	1.44 ± 0.02	0.31 ± 0.00
6.	CC- 408 (384)	% v/v	< 0.001	1.44 ± 0.03	0.26 ± 0.01

หมายเหตุ: 1. ที่ผู้ส่งข้อมูลดิบ: Sever2\rawdata\GC\GC6850\Back up-2565\118_65

2. เทคนิคการทดสอบ: Headspace-Gas Chromatography/Flame Ionization Detection (HS-GC/FID)

3. เครื่องมือการทดสอบ: Gas Chromatograph, 6850, Hewlett Packard, USA

4. ขีดจำกัดของการวัด (LOD): Acetone = 0.0003 %v/v

5. ขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณของวิธี (LOQ): Acetone = 0.001 %v/v, Butanol = 0.001 %v/v

6. การเตรียมตัวอย่าง: CC-54 และ CC-120 เจือจางตัวอย่าง 2 เท่า

7. SD = Standard Deviation

.....สิ้นสุดรายงานผลการทดสอบ.....

หมายเหตุ: รายงานผลการทดสอบนี้มีผลเฉพาะกับตัวอย่างที่นำมาทดสอบเท่านั้น และรายงานผลการทดสอบนี้ต้องไม่ถูกทำซ้ำมาเพียงบางส่วน ยกเว้นค่าเงินฉบับ โดยไม่ได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษร จากสำนักเครื่องมือวิทยาศาสตร์และการทดสอบ
Reporting the result refers to submitted sample (s) only. This report shall not be reproduced except in full, without written approval of the OSIT.



รูปที่ ภาคผนวก ซ-3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารละลายอินทรีย์ของการหมักในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ

ภาคผนวก ฅ. Source code ของอุปกรณ์วัด

1. Thermocouple มี Source code ดังนี้

```
#include "max6675.h"

int CS0 = 11; // CS pin of MAX6675
int SO = 12; // SO pin of MAX6675
int SCK = 13; // SCK pin of MAX6675
int units = 0; // Units to readout temp
float error = 0.0; // Temperature compensation error
float temp_out = 0.0; // Temperature output variable
MAX6675 temp0(CS0,S0,SCK,units,error);

void setup() {
  Serial.begin(9600);
}

void loop() {
  temp_out = temp0.read_temp(5); // Read the temp 5 times and return the average
  value to the var

  Serial.println( temp_out ); // Print the temperature to Serial

  delay(1000); // Wait one second
}
```

2. pH meter มี Source code ดังนี้

```
const int analogPhPin = A0; //PH module pin P0 connected to analog pin A0

long phTot, temTot;

float phAvg, temAvg;

int x;

float C = 25.85; //Constant of straight line (Y = mx + C)
float m = -6.80; // Slope of straight line (Y = mx + C)

void setup() {
  // sensors.begin(); //Start the DS18B20 Library
  Serial.begin(9600);
}

void loop() {
  phTot = 0;
  temTot = 0;
  phAvg = 0;
  temAvg = 0;

  //taking 10 sample and adding with 10 milli second delay
  for(x=0; x<10 ; x++)
  {
    phTot += analogRead(A0);
    temTot += analogRead(A1);
    delay(10);
  }
}
```

```
}  
  
float temAvg = temTot/10;  
  
float phAvg = temTot/10;  
  
// float temVoltage = temAvg * (5000.0 / 1023.0); //convert sensor reading into  
milli volt  
  
float phVoltage = phAvg * (5.0 / 1023.0); //convert sensor reading into milli volt  
  
// float Etemp = temVoltage*0.1; //convert milli volt to temperature degree Celsius  
  
float pHValue = phVoltage*m+C;  
Serial.print("phVoltage = ");  
Serial.print(phVoltage);  
Serial.print(" ");  
Serial.print("pH=");  
Serial.println(pHValue);  
delay(1000);  
}
```

3. Oxygen grove gas sensor มี Source code ดังนี้

```
const float VRefer = 3.3;    // voltage of adc reference

const int pinAdc  = A0;

void setup()
{
    // put your setup code here, to run once:
    Serial.begin(115200);
    Serial.println("Grove - Gas Sensor Test Code...");
}

void loop()
{
    // put your main code here, to run repeatedly:
    float Vout = 0;
    Serial.print("Vout =");
    Vout = readO2Vout();
    Serial.print(Vout);
    Serial.print(" V, Concentration of O2 is ");
    Serial.println(readConcentration() + 11);
    delay(1000);
}

float readO2Vout()
{
    long sum = 0;
```

```
for (int i = 0; i < 32; i++)  
  
{  
  
    sum += analogRead(pinAdc);  
  
}  
  
sum >>= 5;  
  
float MeasuredVout = sum * (VRefer / 1023.0);  
return MeasuredVout;  
}  
  
float readConcentration()  
{  
  
    // Vout samples are with reference to 3.3V  
  
    float MeasuredVout = readO2Vout();  
  
    //float Concentration = FmultiMap(MeasuredVout, VoutArray,O2ConArray, 6);  
  
    //when its output voltage is 2.0V,  
  
    float Concentration = MeasuredVout * 0.21 / 2.0;  
  
    float Concentration_Percentage = Concentration * 100;  
  
    return Concentration_Percentage;  
  
}
```

ภาคผนวก ญ. Source code สั่งการอุปกรณ์ควบคุมสถานะ

1. การสั่งงานรีเลย์ ซึ่งเป็นเป็น Source code ที่ใช้สำหรับสั่งการปิด-เปิดอุปกรณ์ โดยมี Source code ดังนี้

```
int relay1 = 13 ; //Relay conneted to pin 13
```

```
void setup() {
```

```
  Serial.begin(115200);
```

```
  Serial.println("Value ");
```

```
  pinMode(relay1, OUTPUT); }
```

```
void loop() {
```

```
  String ValueText = Serial.readString();
```

```
  (ValueText.toInt());
```

```
  int Value = ValueText.toInt();
```

```
  delay(3000);
```

```
  if (Value > 29) {
```

```
    digitalWrite(relay1, HIGH); //สั่งเปิด
```

```
    Serial.println("RelayOn ");
```

```
  }
```

```
  else {
```

```
    digitalWrite(relay1, LOW); //สั่งปิด
```

```
    Serial.println("Relayoff ");
```

```
  }
```

```
}
```

2. การส่งค่าจากบอร์ด Arduino ไปยังบอร์ด ESP8266 มี Source code ดังนี้

```
#include <SoftwareSerial.h>

SoftwareSerial ArduinoSerial(3,2); //Rx Tx

void setup(){

  Serial.begin(115200);

  ArduinoSerial.begin(4800);

}

void loop(){

  while (ArduinoSerial.available()>0){

    float val = ArduinoSerial.parseFloat();

    if (ArduinoSerial.read()=='\n'){

      if (val==0xA0){

        int A0 = analogRead(A0);

        ArduinoSerial.print(A0);

        ArduinoSerial.print("\n");

      }

    }

  }

}
```

3. การรับค่าของบอร์ด Arduino ที่มาจากบอร์ด ESP8266 มี Source code ดังนี้

```
#include <SoftwareSerial.h>

SoftwareSerial ArduinoSerial(2,3); //Rx Tx

void setup(){

  pinMode (2, INPUT);

  pinMode (3, OUTPUT);

  Serial.begin(115200);

  ArduinoSerial.begin(4800);

}

void loop(){

  ArduinoSerial.available();

  float val = ArduinoSerial.parseFloat();

  ArduinoSerial.read()=='\n';

  Serial.println(val);

  delay(1000);

}
```

4. การส่งค่าจากบอร์ด ESP8266 ไปยังบอร์ด Arduino มี Source code ดังนี้

```
#include <ESP8266WiFi.h>

#include <SoftwareSerial.h>

SoftwareSerial NodeSerial(D2,D3); //Rx Tx

void setup(){

  pinMode (D2, INPUT);

  pinMode (D3, OUTPUT);

  Serial.begin(115200);

  NodeSerial.begin(4800);

}

void loop(){

  NodeSerial.print(10);

  NodeSerial.print("\n");

  delay(1000);

}
```

5. การรับค่าของบอร์ด ESP8266 ที่มาจากบอร์ด Arduino มี Source code ดังนี้

```
#include <ESP8266WiFi.h>

#include <SoftwareSerial.h>

SoftwareSerial NodeSerial(D2,D3); //Rx Tx

void setup(){

  pinMode (D2, INPUT);

  pinMode (D3, OUTPUT);

  Serial.begin(115200);

  NodeSerial.begin(4800);

}

void loop(){

  NodeSerial.available();

  float val = NodeSerial.parseFloat();

  NodeSerial.read()=='\n';

  Serial.println(val);

  delay(1000);

}
```

6. การควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง มี Source code ดังนี้

```

#include <SoftwareSerial.h>

const int analogPhPin = A0; //PH module pin P0 connected to analog pin A0

float phAvg, phTot;

int x;

float C = 27.81; //Constant of straight line (Y = mx + C)
float m = -6.80; // Slope of straight line (Y = mx + C)

#define relayAcidpump 11
#define relayBasepump 12

#include <SoftwareSerial.h>

SoftwareSerial ArduinoSerial(2, 3); //Rx Tx

void setup() {
  pinMode (2, INPUT);
  pinMode (3, OUTPUT);
  pinMode(relayAcidpump, OUTPUT);
  pinMode(relayBasepump, OUTPUT);

  Serial.begin(115200);

  ArduinoSerial.begin(4800);
}

float MinpHIn = 0, MaxpHIn = 0;

void loop() {
  ArduinoSerial.available();

```

```
float val = ArduinoSerial.parseFloat();

ArduinoSerial.read() == '\n';

Serial.println(val);

delay(1000);

if (val > 0 ) {

    C = val ;

    MinpHIn = ArduinoSerial.parseFloat();

    MaxpHIn = ArduinoSerial.parseFloat();

    Serial.print("MinpHIn = ");

    Serial.println(MinpHIn);

    Serial.print("MaxpHIn = ");

    Serial.println(MaxpHIn);

    Serial.print("C = ");

    Serial.println(C);

}

pHTot = 0;

phAvg = 0;

for (x = 0; x < 10 ; x++)

{

    pHTot += analogRead(A0);

    delay(10);

}
```

```

float pHVoltage = pHAvg * (5.0 / 1023.0);

float pHValue = pHVoltage * m + C;

Serial.print("pHVoltage = ");

Serial.print(pHVoltage);

Serial.print(" ");

Serial.print("pH=");

Serial.println(pHValue);

ArduinoSerial.print(pHValue); //ส่งค่าในนามตัวแปรpHValueไปยังNodeMCU

ArduinoSerial.print("\n");

delay(500);

//=====ส่วนการควบคุม Acid pump=====

float pHmaximum = MaxpHIn + 0.5;

Serial.println();

Serial.print("pHmaximum : ");

Serial.print(pHmaximum);

if (pHValue > pHmaximum) {

    digitalWrite(relayAcidpump, HIGH);

    Serial.println("ON Acidpump");

    delay (5000);

    digitalWrite(relayAcidpump, LOW);

    Serial.println("OFF Acidpump");

```

```
delay (10000);

while (pHValue > 0) {

    ArduinoSerial.print(pHValue);

}

}

if (pHValue <= pHmaximum) {
digitalWrite(relayAcidpump, LOW);
Serial.println("OFF Acidpump");
while (pHValue > 0) {

    ArduinoSerial.print(pHValue);

}

}

//=====ส่วนการควบคุม Base pump=====

float pHminimum = MinpHIn - 0.5;

Serial.println();

Serial.print("pHminimum : ");

Serial.print(pHminimum);

if (pHValue < pHminimum) {

    digitalWrite(relayBasepump, HIGH);

    Serial.println("ON Basepump");

    delay (5000);

    digitalWrite(relayBasepump, LOW);
```

```
Serial.println("OFF Basepump");  
  
delay (10000);  
  
while (pHValue > 0) {  
    ArduinoSerial.print(pHValue);  
}  
}  
  
if (pHValue >= pHminimum) {  
    digitalWrite(relayBasepump, LOW);  
    Serial.println("OFF Basepump");  
    while (pHValue > 0) {  
        ArduinoSerial.print(pHValue);  
    }  
}  
}
```



7. การควบคุมอุณหภูมิ มี Source code ดังนี้

```

#include <SoftwareSerial.h>
#include <Thermocouple.h>
#include <MAX6675_Thermocouple.h>
#define SCK_PIN 10
#define CS_PIN 9
#define SO_PIN 8
#define relay 12 //Heater
Thermocouple* thermocouple;
//-----
SoftwareSerial ArduinoSerial(2, 3); //Rx Tx
void setup() {
  pinMode (2, INPUT);
  pinMode (3, OUTPUT);
  pinMode(relay, OUTPUT);
  Serial.begin(115200);
  ArduinoSerial.begin(4800);

  thermocouple = new MAX6675_Thermocouple(SCK_PIN, CS_PIN, SO_PIN);
}
//-----
float MinTempIn = 0, MaxTempIn = 0, FactorTempIn = 170;

void loop() {
  ArduinoSerial.available();
  float val = ArduinoSerial.parseFloat();
  ArduinoSerial.read() == '\n';
  Serial.println(val);
  if (val > 0 ) {
    MinTempIn = val ;
  }
}

```

```

MaxTempIn = ArduinoSerial.parseFloat();
FactorTempIn = ArduinoSerial.parseFloat();
Serial.print("MinTempIn = ");
Serial.println(MinTempIn);
Serial.print("MaxTempIn = ");
Serial.println(MaxTempIn);
Serial.print("FactorTempIn = ");
Serial.println(FactorTempIn);
}
//-----
const double celsius = thermocouple->readCelsius();
float Voltage = celsius * (5.0 / 1023.0);
Serial.print("Voltage (mV) : ");
Serial.print(Voltage);
float DegreeCelsius = celsius - FactorTempIn;
Serial.print("    Temperature is : ");
Serial.println(DegreeCelsius);
ArduinoSerial.print(DegreeCelsius); //ส่งค่าในนามตัวแปรDegreeCelsiusไปยังNodeMCU
ArduinoSerial.print("\n");
delay(1000);
//=====ส่วนการดำเนินการกับ temp
setpoint=====
float Tempminimum = MinTempIn - 2; //factor overshoot
float Tempmaximum = ((MaxTempIn - MinTempIn) / 2) + MinTempIn;
Serial.println();
Serial.print("Tempminimum : ");
Serial.print(Tempminimum);
Serial.println();
Serial.print("Tempmaximum : ");
Serial.print(Tempmaximum);
if (Tempminimum > DegreeCelsius) {

```

```

    digitalWrite(relay, HIGH);
    Serial.println("ON Heater");
}
if (Tempmaximum <= DegreeCelsius) {
    digitalWrite(relay, LOW);
    Serial.println("OFF Heater");
}
}

```

8. การควบคุมการปริมาณแก๊สออกซิเจน มี Source code ดังนี้

```

#include <SoftwareSerial.h>
#include "Oxygen.h"
#define relayNitrogenValve 12
SoftwareSerial ArduinoSerial(3, 2);
void setup() {
    Serial.begin(115200);
    ArduinoSerial.begin(4800);
    pinMode(relayNitrogenValve, OUTPUT);
    Serial.println("Calibration sensor...This needs one minute");
    O2_value();
    Serial.println("Finish Calibration");
    //-----
}
float MinO2 = 0, MaxO2 = 0, FactorO2 = 0, O2 = 0;
void loop() {
    O2 = O2_value();
    ArduinoSerial.available();
    float val = ArduinoSerial.parseFloat();
    ArduinoSerial.read() == '\n';
    Serial.println(val);
}

```

```
if (val > 0 ) {
  MinO2 = val ;
  FactorO2 = ArduinoSerial.parseFloat();
  MaxO2 = ArduinoSerial.parseFloat();
  Serial.print("MinO2In = ");
  Serial.println(MinO2);
  Serial.print("MaxO2In = ");
  Serial.println(MaxO2);
  Serial.print("FactorO2In = ");
  Serial.println(FactorO2);
}
//=====ส่งไปยังNodeMCU=====
float OxygenValue = O2_value() + FactorO2;
ArduinoSerial.print(OxygenValue);
ArduinoSerial.print("\n");
if (OxygenValue > MaxO2) {
  digitalWrite(relayNitrogenValve, HIGH);
  Serial.println("ON Nitrogen Valve");
}
if (OxygenValue <= MinO2) {
  digitalWrite(relayNitrogenValve, LOW);
  Serial.println("OFF Nitrogen Valve");
}
delay(500);
}
```

ภาคผนวก ก. Source code การเชื่อมต่อ NETPIE

Source code บนบอร์ด ESP8266 มี Source code ดังนี้

```
// NETPIE ESP8266 basic sample

/* More information visit : https://netpie.io

#include <ESP8266WiFi.h>

#include <MicroGear.h>

const char* ssid    = "B.";

const char* password = "57050605";

#define APPID    "BIOREACTOR"

#define KEY      "iG0VODKvk0I99ed"

#define SECRET   "CmnWLBnw7Z26arP8LCtEcQ5B0"

#define ALIAS    "Temperature"

WiFiClient client;

int timer = 0;

MicroGear microgear(client);

/* If a new message arrives, do this */

void onMsgHandler(char *topic, uint8_t* msg, unsigned int msglen) {

    Serial.print("Incoming message --> ");

    msg[msglen] = '\0';

    Serial.println((char *)msg);

}

void onFoundgear(char *attribute, uint8_t* msg, unsigned int msglen) {
```

```
Serial.print("Found new member --> ");

for (int i = 0; i < msglen; i++)

    Serial.print((char)msg[i]);

Serial.println();
}

void onLostgear(char *attribute, uint8_t* msg, unsigned int msglen) {

    Serial.print("Lost member --> ");

    for (int i = 0; i < msglen; i++)

        Serial.print((char)msg[i]);

    Serial.println();
}

/* When a microgear is connected, do this */

void onConnected(char *attribute, uint8_t* msg, unsigned int msglen) {

    Serial.println("Connected to NETPIE...");

    /* Set the alias of this microgear ALIAS */

    microgear.setAlias(ALIAS);
}

void setup() {

    /* Add Event listeners */

    /* Call onMsgHandler() when new message arrives */

    microgear.on(MESSAGE, onMsgHandler);

    /* Call onFoundgear() when new gear appear */
```

```
microgear.on(PRESENT, onFoundgear);

/* Call onLostgear() when some gear goes offline */

microgear.on(ABSENT, onLostgear);

/* Call onConnected() when NETPIE connection is established */

microgear.on(CONNECTED, onConnected);

Serial.begin(115200);

Serial.println("Starting...");

/* Initial WIFI, this is just a basic method to configure WIFI on ESP8266.
/* You may want to use other method that is more complicated, but provide better
user experience */

if (WiFi.begin(ssid, password)) {

  while (WiFi.status() != WL_CONNECTED) {

    delay(500);

    Serial.print(".");

  }

}

Serial.println("WiFi connected");

Serial.println("IP address: ");

Serial.println(WiFi.localIP());

/* Initial with KEY, SECRET and also set the ALIAS here */

microgear.init(KEY, SECRET, ALIAS);

/* connect to NETPIE to a specific APPID */

microgear.connect(APPID);
```

```
}  
  
void loop() {  
  
  /* To check if the microgear is still connected */  
  
  if (microgear.connected()) {  
  
    Serial.println("connected");  
  
    /* Call this method regularly otherwise the connection may be lost */  
    microgear.loop();  
  
    if (timer >= 1000) {  
  
      Serial.println("Publish...");  
  
      /* Chat with the microgear named ALIAS which is myself */  
      microgear.chat(ALIAS, "Hello");  
  
      timer = 0;  
    }  
  
    else timer += 100;  
  
  }  
  
  else {  
  
    Serial.println("connection lost, reconnect...");  
  
    if (timer >= 5000) {  
  
      microgear.connect(APPID);  
  
      timer = 0;  
    }  
  
  }  
  
}
```

```
else timer += 100;  
}  
delay(100);  
}
```



ภาคผนวก ก. Source code การสร้างหน้าเว็บไซต์เชื่อมต่อ NETPIE

Source code การสร้างหน้าเว็บไซต์เชื่อมต่อ NETPIE มีดังนี้

```

<!doctype html>

<html>

<head>

<meta charset="utf-8">

<title>SMART-BIO</title>

</head>

<body>

<table align="center" width="1334" height="1077" border="0" cellpadding="1"
cellspacing="1">

<tbody>

<tr>

<td width="8666" height="203"></td>

</tr>

<tr>

<td height="818"><table align="center" width="567" border="0" cellspacing="1"
cellpadding="1">

<tbody>

<tr>

```

```
<td width="277" height="166"><p><a href="https://2015.netpie.io/login#gsc.tab=0"></a></p></td>
```

```
<td width="300"><p><a href="Manual.docx"></a></p></td>
```

```
</tr>
```

```
</tbody>
```

```
</table></td>
```

```
</tr>
```

```
<tr>
```

```
<td height="52"></td>
```

```
</tr>
```

```
</tbody>
```

```
</table>
```

```
</body>
```

```
</html>
```

ภาคผนวก ร. คู่มือการใช้งาน NETPIE

1. ทำการเข้าสู่ระบบที่เว็บไซต์ <https://2015.netpie.io/login#gsc.tab=0>
2. เมื่อทำการ Login แล้วให้เข้าไปยัง Freeboard ที่ได้ทำการสร้างไว้ โดยคลิกที่ Resource และไปที่ Freeboard
3. จากนั้นจะเห็นชื่อ Freeboard ที่ได้ทำการสร้างไว้ ในการทดลองนี้ชื่อ BioReactor ให้คลิกเข้าไปยังชื่อ Freeboard
4. เมื่อคลิกเข้าไปแล้วจะพบหน้า Freeboard ที่ประกอบด้วย 4 ส่วนด้วยกันคือ
 - 4.1 ส่วนของการแสดงผลสถานะแบบ Gauge
 - 4.2 ส่วนของการควบคุมการปิด-เปิดอุปกรณ์ต่าง ๆ แบบ Toggle และส่วนแสดงไฟสถานะการทำงานอุปกรณ์แบบ Indicator Light
 - 4.3 ส่วนของการป้อนค่าการปรับจูนอุปกรณ์วัดและการป้อนค่าช่วงสถานะที่ต้องการ
 - 4.4 ส่วนของการแสดงผลสถานะในรูปแบบกราฟหรือ NETPIE Feed
5. เมื่อใช้งานเสร็จให้ Logout ออกจากระบบ

ภาคผนวก ๗. Source code การเชื่อมต่อ Google sheet

1. Source code บนบอร์ด ESP8266 มีดังนี้

```
#include <ESP8266WiFi.h>

#include <WiFiClientSecure.h>

const char* ssid = "BIOREACTOR"; //--> Name Wifi / SSID.

const char* password = "61910131"; //--> Password wifi .

const char* host = "script.google.com";

const int httpsPort = 443;

WiFiClientSecure client;

long now = millis();

long lastMeasure = 0;

String GAS_ID = "AKfycbzwryCJFj1368a8XNrvt-
uFbducFvtrPiw9ZvevRupJadZGqNyJs39L1HjSSf-YgpP"; //--> spreadsheet script ID

void setup() {

  Serial.begin(115200);

  WiFi.begin(ssid, password);

  while (WiFi.status() != WL_CONNECTED) {

  }

  client.setInsecure();

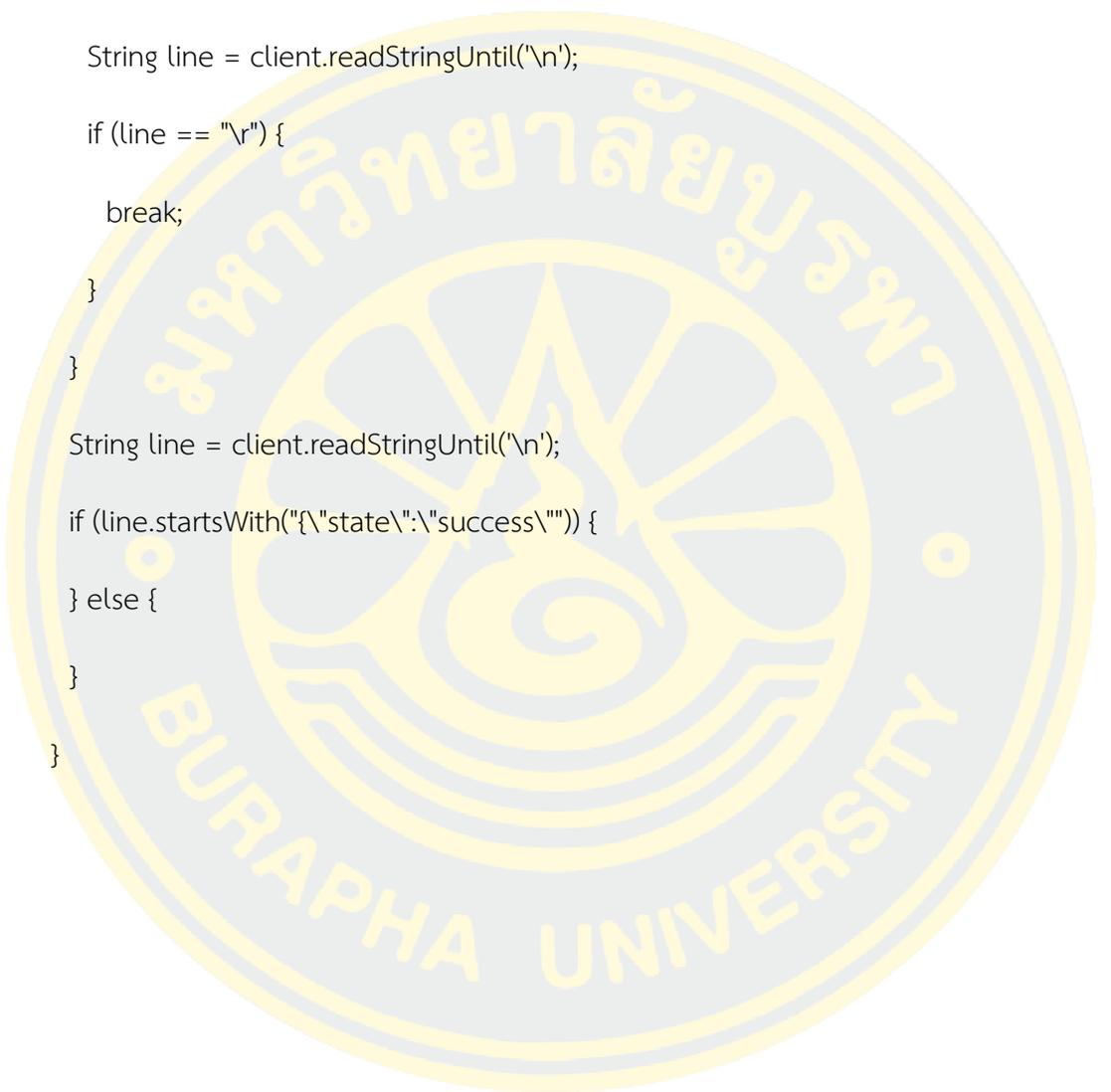
}

void loop() {

  now = millis();
```

```
if (now - lastMeasure > 10000) {  
  
    lastMeasure = now;  
  
    NodeSerial.available();  
  
    float DegreeCelsius = NodeSerial.parseFloat();  
  
    NodeSerial.read() == '\n';  
  
    Serial.print("Temp ; ");  
  
    Serial.println(DegreeCelsius);  
  
    if (isnan(DegreeCelsius)) {  
  
        return;  
  
    }  
  
    sendData(DegreeCelsius);  
  
}  
}  
  
void sendData(float value) {  
  
    if (!client.connect(host, httpsPort)) {  
  
        return;  
  
    }  
  
    float string_temp = value;  
  
    String url = "/macros/s/" + GAS_ID + "/exec?temp=" + string_temp ; // 2 variables  
  
    client.print(String("GET ") + url + " HTTP/1.1\r\n" +  
  
        "Host: " + host + "\r\n" +
```

```
"User-Agent: BuildFailureDetectorESP8266\r\n" +  
"Connection: close\r\n\r\n");  
  
while (client.connected()) {  
    String line = client.readStringUntil('\n');  
    if (line == "\r") {  
        break;  
    }  
    String line = client.readStringUntil('\n');  
    if (line.startsWith("{\"state\":\"success\"}") {  
    } else {  
    }  
}
```

A large, semi-transparent watermark of the Burapha University logo is centered on the page. The logo is circular and features a central emblem with a flame-like shape above a wheel-like structure. The text "มหาวิทยาลัยบูรพา" is written in Thai script along the top inner edge, and "BURAPHA UNIVERSITY" is written in English along the bottom inner edge.

2. Source code บน Google Apps Script มีดังนี้

```
function doGet(e) {

  Logger.log( JSON.stringify(e) );

  var result = 'Ok';

  if (e.parameter == 'undefined') {

    result = 'No Parameters';

  }

  else {

    var sheet_id = '1_Q3GZQzXyRVkitDuJz4D7rByWJ58kNtDsYQDVicJ1n8'; //
    Spreadsheet ID

    var sheet = SpreadsheetApp.openById(sheet_id).getActiveSheet();

    var newRow = sheet.getLastRow() + 1;

    var rowData = [];

    var Curr_Date = new Date();

    rowData[0] = Curr_Date; // Date in column A

    var Curr_Time = Utilities.formatDate(Curr_Date, "Asia/Bangkok", 'HH:mm:ss');

    rowData[1] = Curr_Time; // Time in column B

    for (var param in e.parameter) {

      Logger.log('In for loop, param=' + param);

      var value = stripQuotes(e.parameter[param]);

      Logger.log(param + ':' + e.parameter[param]);

      switch (param) {

        case 'temp Tr':
```

```
        rowData[2] = value; // Temperature in column C

        result = 'temp Written on column C';

        break;

    case 'temp Tj':

        rowData[3] = value; // Temperature in column D
        result = 'temp Tj Written on column D';
        break;
    }
}

Logger.log(JSON.stringify(rowData));

var newRange = sheet.getRange(newRow, 1, 1, rowData.length);
newRange.setValues([rowData]);
}

return ContentService.createTextOutput(result);
}

function stripQuotes( value ) {

    return value.replace(/^["]|["]$/g, "");

}
```

ภาคผนวก ฅ. Data sheet อุปกรณ์วัด

1. Thermocouple

EVALUATION KIT AVAILABLE

MAX6675

Cold-Junction-Compensated K-Thermocouple-to-Digital Converter (0°C to +1024°C)

General Description

The MAX6675 performs cold-junction compensation and digitizes the signal from a type-K thermocouple. The data is output in a 12-bit resolution, SPI™-compatible, read-only format.

This converter resolves temperatures to 0.25°C, allows readings as high as +1024°C, and exhibits thermocouple accuracy of 8LSBs for temperatures ranging from 0°C to +700°C.

The MAX6675 is available in a small, 8-pin SO package.

Applications

- Industrial
- Appliances
- HVAC

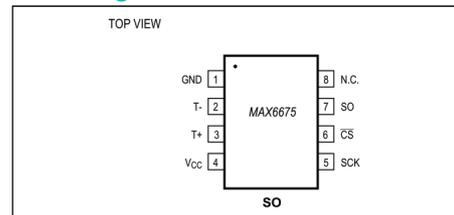
Features

- Direct Digital Conversion of Type -K Thermocouple Output
- Cold-Junction Compensation
- Simple SPI-Compatible Serial Interface
- 12-Bit, 0.25°C Resolution
- Open Thermocouple Detection

Ordering Information

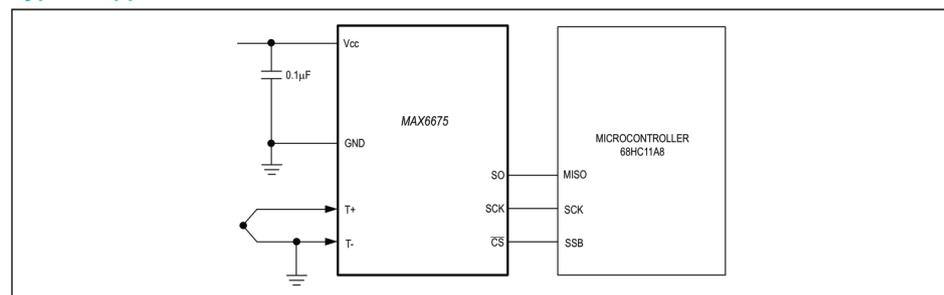
PART	TEMP RANGE	PIN-PACKAGE
MAX6675ISA	-20°C to +85°C	8 SO

Pin Configuration



SPI is a trademark of Motorola, Inc.

Typical Application Circuit



MAX6675

Cold-Junction-Compensated K-Thermocouple-to-Digital Converter (0°C to +1024°C)

Absolute Maximum Ratings

Supply Voltage (V_{CC} to GND) -0.3V to +6V
 SO, SCK, \overline{CS} , T-, T+ to GND -0.3V to $V_{CC} + 0.3V$
 SO Current 50mA
 ESD Protection (Human Body Model) $\pm 2000V$
 Continuous Power Dissipation ($T_A = +70^\circ C$)
 8-Pin SO (derate 5.88mW/ $^\circ C$ above +70°C) 471mW
 Operating Temperature Range -20°C to +85°C

Storage Temperature Range -65°C to +150°C
 Junction Temperature +150°C
 SO Package
 Vapor Phase (60s) +215°C
 Infrared (15s) +220°C
 Lead Temperature (soldering, 10s) +300°C

Stresses beyond those listed under "Absolute Maximum Ratings" may cause permanent damage to the device. These are stress ratings only, and functional operation of the device at these or any other conditions beyond those indicated in the operational sections of the specifications is not implied. Exposure to absolute maximum rating conditions for extended periods may affect device reliability.

Electrical Characteristics

($V_{CC} = +3.0V$ to +5.5V, $T_A = -20^\circ C$ to +85°C, unless otherwise noted. Typical values specified at +25°C.) (Note 1)

PARAMETER	SYMBOL	CONDITIONS	MIN	TYP	MAX	UNITS	
Temperature Error		$T_{THERMOCOUPLE} = +700^\circ C$, $T_A = +25^\circ C$ (Note 2)	$V_{CC} = +3.3V$	-5		+5	LSB
			$V_{CC} = +5V$	-6		+6	
		$T_{THERMOCOUPLE} = 0^\circ C$ to $+700^\circ C$, $T_A = +25^\circ C$ (Note 2)	$V_{CC} = +3.3V$	-8		+8	
			$V_{CC} = +5V$	-9		+9	
Thermocouple Conversion Constant		$T_{THERMOCOUPLE} = +700^\circ C$ to +1000°C, $T_A = +25^\circ C$ (Note 2)	$V_{CC} = +3.3V$	-17		+17	$\mu V/LSB$
			$V_{CC} = +5V$	-19		+19	
Thermocouple Input Impedance				10.25		$\mu V/LSB$	
Cold-Junction Compensation Error		$T_A = -20^\circ C$ to $+85^\circ C$ (Note 2)	$V_{CC} = +3.3V$	-3.0		+3.0	$^\circ C$
			$V_{CC} = +5V$	-3.0		+3.0	
Resolution				0.25		$^\circ C$	
Thermocouple Input Impedance				60		k Ω	
Supply Voltage	V_{CC}		3.0		5.5	V	
Supply Current	I_{CC}			0.7	1.5	mA	
Power-On Reset Threshold		V_{CC} rising	1	2	2.5	V	
Power-On Reset Hysteresis				50		mV	
Conversion Time		(Note 2)		0.17	0.22	s	
SERIAL INTERFACE							
Input Low Voltage	V_{IL}				$0.3 \times V_{CC}$	V	
Input High Voltage	V_{IH}			$0.7 \times V_{CC}$		V	
Input Leakage Current	I_{LEAK}	$V_{IN} = GND$ or V_{CC}			± 5	μA	
Input Capacitance	C_{IN}			5		pF	

MAX6675

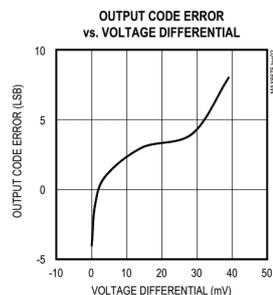
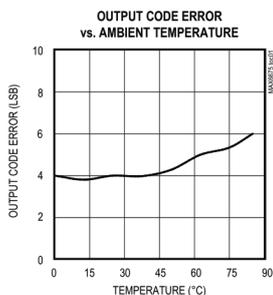
Cold-Junction-Compensated K-Thermocouple-to-Digital Converter (0°C to +1024°C)

Electrical Characteristics (continued)(V_{CC} = +3.0V to +5.5V, T_A = -20°C to +85°C, unless otherwise noted. Typical values specified at +25°C.) (Note 1)

PARAMETER	SYMBOL	CONDITIONS	MIN	TYP	MAX	UNITS
Output High Voltage	V _{OH}	I _{SOURCE} = 1.6mA	V _{CC} - 0.4			V
Output Low Voltage	V _{OL}	I _{SINK} = 1.6mA			0.4	V
TIMING						
Serial Clock Frequency	f _{SCL}				4.3	MHz
SCK Pulse High Width	t _{CH}		100			ns
SCK Pulse Low Width	t _{CL}		100			ns
CSB Fall to SCK Rise	t _{CSS}	C _L = 10pF	100			ns
CSB Fall to Output Enable	t _{DV}	C _L = 10pF			100	ns
CSB Rise to Output Disable	t _{TR}	C _L = 10pF			100	ns
SCK Fall to Output Data Valid	t _{DO}	C _L = 10pF			100	ns

Note 1: All specifications are 100% tested at T_A = +25°C. Specification limits over temperature (T_A = T_{MIN} to T_{MAX}) are guaranteed by design and characterization, not production tested.

Note 2: Guaranteed by design. Not production tested.

Typical Operating Characteristics(V_{CC} = +3.3V, T_A = +25°C, unless otherwise noted.)

MAX6675

Cold-Junction-Compensated K-Thermocouple-to-Digital Converter (0°C to +1024°C)

Pin Description

PIN	NAME	FUNCTION
1	GND	Ground
2	T-	Alumel Lead of Type-K Thermocouple. Should be connected to ground externally.
3	T+	Chromel Lead of Type-K Thermocouple
4	V _{CC}	Positive Supply. Bypass with a 0.1µF capacitor to GND.
5	SCK	Serial Clock Input
6	$\overline{\text{CS}}$	Chip Select. Set $\overline{\text{CS}}$ low to enable the serial interface.
7	SO	Serial Data Output
8	N.C.	No Connection

Detailed Description

The MAX6675 is a sophisticated thermocouple-to-digital converter with a built-in 12-bit analog-to-digital converter (ADC). The MAX6675 also contains cold-junction compensation sensing and correction, a digital controller, an SPI-compatible interface, and associated control logic.

The MAX6675 is designed to work in conjunction with an external microcontroller (µC) or other intelligence in thermostatic, process-control, or monitoring applications.

Temperature Conversion

The MAX6675 includes signal-conditioning hardware to convert the thermocouple's signal into a voltage compatible with the input channels of the ADC. The T+ and T- inputs connect to internal circuitry that reduces the introduction of noise errors from the thermocouple wires.

Before converting the thermoelectric voltages into equivalent temperature values, it is necessary to compensate for the difference between the thermocouple cold-junction side (MAX6675 ambient temperature) and a 0°C virtual reference. For a type-K thermocouple, the voltage changes by 41µV/°C, which approximates the thermocouple characteristic with the following linear equation:

$$V_{\text{OUT}} = (41\mu\text{V} / ^\circ\text{C}) 5 (T_{\text{R}} - T_{\text{AMB}})$$

Where:

V_{OUT} is the thermocouple output voltage (µV).

T_{R} is the temperature of the remote thermocouple junction (°C).

T_{AMB} is the ambient temperature (°C).

Cold-Junction Compensation

The function of the thermocouple is to sense a difference in temperature between two ends of the thermocouple wires. The thermocouple's hot junction can be read from 0°C to +1023.75°C. The cold end (ambient temperature of the board on which the MAX6675 is mounted) can only range from -20°C to +85°C. While the temperature at the cold end fluctuates, the MAX6675 continues to accurately sense the temperature difference at the opposite end.

The MAX6675 senses and corrects for the changes in the ambient temperature with cold-junction compensation. The device converts the ambient temperature reading into a voltage using a temperature-sensing diode. To make the actual thermocouple temperature measurement, the MAX6675 measures the voltage from the thermocouple's output and from the sensing diode. The device's internal circuitry passes the diode's voltage (sensing ambient temperature) and thermocouple voltage (sensing remote temperature minus ambient temperature) to the conversion function stored in the ADC to calculate the thermocouple's hot-junction temperature.

Optimal performance from the MAX6675 is achieved when the thermocouple cold junction and the MAX6675 are at the same temperature. Avoid placing heat-generating devices or components near the MAX6675 because this may produce cold-junction-related errors.

Digitization

The ADC adds the cold-junction diode measurement with the amplified thermocouple voltage and reads out the 12-bit result onto the SO pin. A sequence of all zeros means the thermocouple reading is 0°C. A sequence of all ones means the thermocouple reading is +1023.75°C.

MAX6675

Cold-Junction-Compensated K-Thermocouple-to-Digital Converter (0°C to +1024°C)

Applications Information

Serial Interface

The *Typical Application Circuit* shows the MAX6675 interfaced with a microcontroller. In this example, the MAX6675 processes the reading from the thermocouple and transmits the data through a serial interface. Force \overline{CS} low and apply a clock signal at SCK to read the results at SO. Forcing \overline{CS} low immediately stops any conversion process. Initiate a new conversion process by forcing \overline{CS} high.

Force \overline{CS} low to output the first bit on the SO pin. A complete serial interface read requires 16 clock cycles. Read the 16 output bits on the falling edge of the clock. The first bit, D15, is a dummy sign bit and is always zero. Bits D14–D3 contain the converted temperature in the order of MSB to LSB. Bit D2 is normally low and goes high when the thermocouple input is open. D1 is low to provide a device ID for the MAX6675 and bit D0 is three-state.

Figure 1a is the serial interface protocol and Figure 1b shows the serial interface timing. Figure 2 is the SO output.

Open Thermocouple

Bit D2 is normally low and goes high if the thermocouple input is open. In order to allow the operation of the open thermocouple detector, T- must be grounded. Make the ground connection as close to the GND pin as possible.

Noise Considerations

The accuracy of the MAX6675 is susceptible to power-supply coupled noise. The effects of power-supply noise can be minimized by placing a 0.1 μ F ceramic bypass capacitor close to the supply pin of the device.

Thermal Considerations

Self-heating degrades the temperature measurement accuracy of the MAX6675 in some applications. The magnitude of the temperature errors depends on the thermal conductivity of the MAX6675 package, the

mounting technique, and the effects of airflow. Use a large ground plane to improve the temperature measurement accuracy of the MAX6675.

The accuracy of a thermocouple system can also be improved by following these precautions:

- Use the largest wire possible that does not shunt heat away from the measurement area.
- If small wire is required, use it only in the region of the measurement and use extension wire for the region with no temperature gradient.
- Avoid mechanical stress and vibration, which could strain the wires.
- When using long thermocouple wires, use a twisted-pair extension wire.
- Avoid steep temperature gradients.
- Try to use the thermocouple wire well within its temperature rating.
- Use the proper sheathing material in hostile environments to protect the thermocouple wire.
- Use extension wire only at low temperatures and only in regions of small gradients.
- Keep an event log and a continuous record of thermocouple resistance.

Reducing Effects of Pick-Up Noise

The input amplifier (A1) is a low-noise amplifier designed to enable high-precision input sensing. Keep the thermocouple and connecting wires away from electrical noise sources.

Chip Information

TRANSISTOR COUNT: 6720
PROCESS: BiCMOS

MAX6675

Cold-Junction-Compensated K-Thermocouple-to-Digital Converter (0°C to +1024°C)

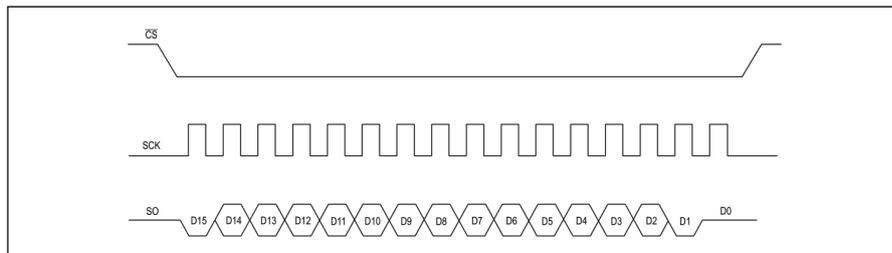


Figure 1a. Serial Interface Protocol

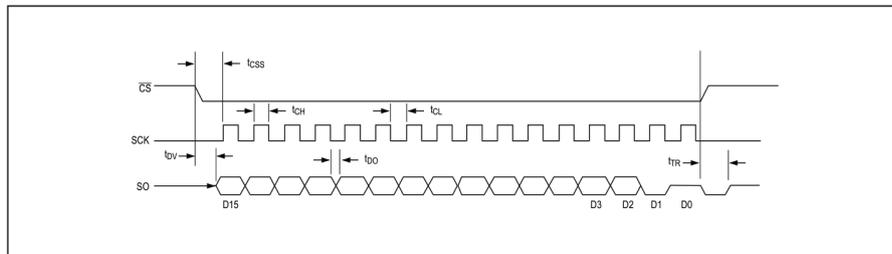


Figure 1b. Serial Interface Timing

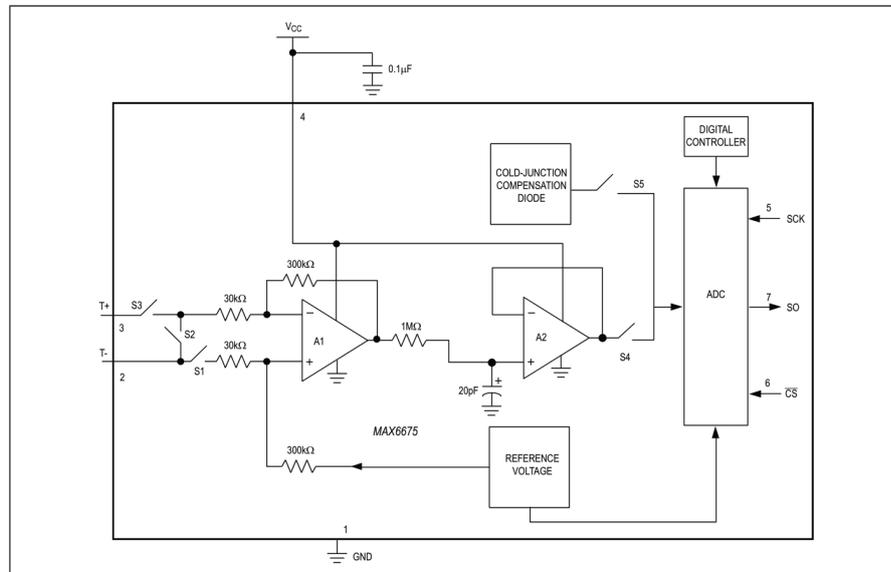
BIT	DUMMY SIGN BIT	12-BIT TEMPERATURE READING											THERMOCOUPLE INPUT	DEVICE ID	STATE	
Bit	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
	0	MSB											LSB		0	Three-state

Figure 2. SO Output

MAX6675

Cold-Junction-Compensated K-Thermocouple-to-Digital Converter (0°C to +1024°C)

Block Diagram



Package Information

For the latest package outline information and land patterns (footprints), go to www.maximintegrated.com/packages. Note that a "+", "#", or "-" in the package code indicates RoHS status only. Package drawings may show a different suffix character, but the drawing pertains to the package regardless of RoHS status.

PACKAGE TYPE	PACKAGE CODE	OUTLINE NO.	LAND PATTERN NO.
8 SO	S8+2	21-0041	90-0096

MAX6675

Cold-Junction-Compensated K-Thermocouple-
to-Digital Converter (0°C to +1024°C)**Revision History**

REVISION NUMBER	REVISION DATE	DESCRIPTION	PAGES CHANGED
2	4/14	Removed automotive reference	1

For pricing, delivery, and ordering information, please contact Maxim Direct at 1-888-629-4642, or visit Maxim Integrated's website at www.maximintegrated.com.

Maxim Integrated cannot assume responsibility for use of any circuitry other than circuitry entirely embodied in a Maxim Integrated product. No circuit patent licenses are implied. Maxim Integrated reserves the right to change the circuitry and specifications without notice at any time. The parametric values (min and max limits) shown in the Electrical Characteristics table are guaranteed. Other parametric values quoted in this data sheet are provided for guidance.

Maxim Integrated and the Maxim Integrated logo are trademarks of Maxim Integrated Products, Inc. © 2014 Maxim Integrated Products, Inc. | 8

2. pH meter

PH Sensor E-201-C

Technical Manual Rev 1r0



The pH sensor Module consist of PH sensor also called as PH probe and a Signal Conditioning Board which gives an output which is proportional to the PH Value and can be interfaced directly to any Micro-controller.

The pH sensor components are usually combined into one device called a combination pH electrode. The measuring electrode is usually glass and quite fragile. Recent developments have replaced the glass with more durable solid-state sensors. The preamplifier is a signal-conditioning device. It takes the high-impedance pH electrode signal and changes it into a low impedance signal which the analyzer or transmitter can accept. The preamplifier also strengthens and stabilizes the signal, making it less susceptible to electrical noise.

pH and ORP probes are both used for measuring the acidic intensity of liquid solutions. A pH probe measures acidity on a scale from 0 to 14, with 0 being the most acidic and 14 being the most basic. Similarly, an Oxidation-Reduction Potential (ORP) probe returns a voltage proportional to the tendency of the solution to gain or lose electrons from other substances (which is linked directly to the pH a substance).

Applications:

- Can be used as different tester, pH meter or controller
- Suitable for most aquariums, hydroponics, laboratory etc

General Specifications:

Input supply voltage: 5V

Working current: 5 – 10mA

Detection concentration range: PH 0 – 14

Detection range of temperature: 0 – 80 degC

Response Time:: ≤ 5S

Stability Time: ≤ 60S

Output: Analog

Power Consumption: ≤ 0.5W

Working Temperature: -10 to +50 deg C

Working Humidity: 95%RH (nominal humidity 65%RH)

Weight: 25g

PCB Dimension: 42mm x 32mm x 20mm

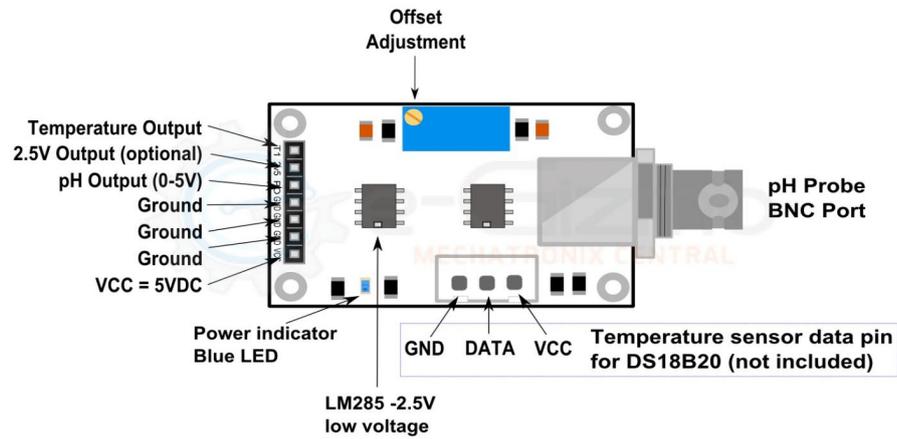


Figure 1: pH Sensor module kit v2 pinouts



Figure 2: pH Substance (solutions for testing reference)

IMPORTANT TIPS:**On How to Clean pH Electrodes:**

1. Do not "wipe" or rub the electrode.
2. Swirl the electrode gently in the cleaning solution.
3. Gently rinse with deionized or distilled water.
4. Store in a storage solution.
5. When possible, use a specialized electrode.

Which Cleaning Solution to use?

The cleaning solution you use will depend upon your particular process and the residues you are trying to remove. There is a wide range of pre-mixed cleaning solutions available online or you can make your own. Make sure you take care when handling any cleaning solution – some can be hazardous so make sure you follow all safety instructions and wear appropriate protection equipment!

(For more information - Please go to reference link)

Reference:

<https://www.southforkinst.com/ph-electrodes-clean-repair/>

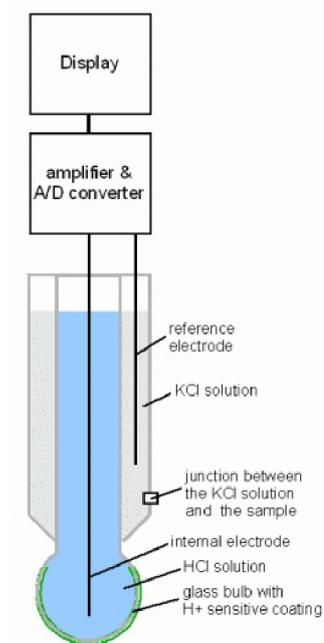


Figure 3: pH Electrode parts

Figure 1: Reference pH Value and Output voltage.

pH Value	Output
4	3.071
7	2.535
10	2.066

Table 2. pH Value of the known substances.

0	5% Sulphuric acid, H ₂ SO ₄ , battery acid.
1	0.1 N HCl, hydrochloric acid (1.1)
2	Lemon juice. Vinegar (2.4-3.4)
3	wine (3.5-3.7)
4	Orange juice. Apple juice (3.8). Beer. Tomatoes.
5	Cottage cheese. Black coffee. Rain water 5.6.
6	Milk. Fish (6.7-7). chicken (6.4-6.6).
7	Neutral: equal numbers of hydrogen and hydroxyl ions. Blood (7.3-7.4). Distilled water without CO ₂ , after boiling.
8	Sea water (8.1). Egg white.
9	Borax. baking soda.
10	Milk of magnesia, Magnesium hydroxide Mg (OH) ₂ .
11	Household ammonia
12	Photographic developer, household bleach
13	Oven cleaner
14	Sodium lye NaOH, 1 mol/litre.

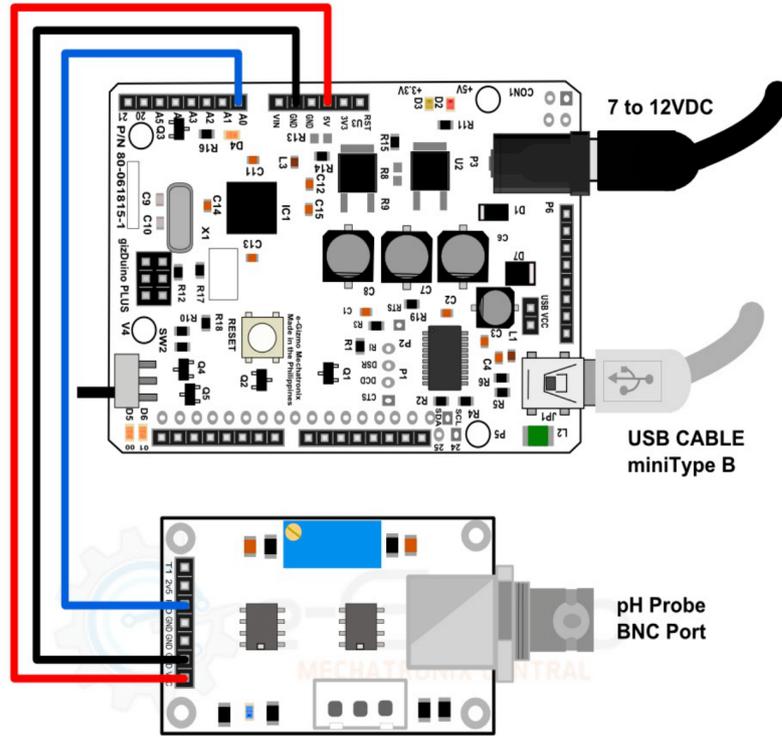


Figure 4: Sample connections.

Sample codes

```

/*
  e-Gizmo pH Sensor kit module v2.0

  This sample sketch is for pH sensor module
  an easy output voltage to compare it to pH value.
  See the table below:
  pH Value | Output (V)
  =====
  4         3.071
  7         2.535
  10        2.066

  For pH scale table for reference of the known substance.
  Here's the link: http://www.seafriends.org.nz/dda/ph.htm
  (See the pH scale)

  Modified by e-Gizmo Mechatronics Central
  http://www.e-gizmo.com
  July 18,2017

  */
#define SENSOR A0 //pH meter Analog output to Arduino Analog Input 0
#define OFFSET 0.00 //deviation compensate
#define LED 13
#define SAMPLING_INTERVAL 20
#define PRINT_INTERVAL 800
#define ARRAY_LENGTH 40 //times of collection
int PH_ARRAY[ARRAY_LENGTH]; //Store the average value of the sensor feedback
int PH_ARRAY_INDEX=0;
void setup(void)
{
  pinMode(LED,OUTPUT);
  Serial.begin(9600);
  Serial.println("PH SENSOR KIT VOLTAGE TEST!"); //Test the serial monitor
}
void loop(void)
{
  static unsigned long SAMPLING_TIME = millis();
  static unsigned long PRINT_TIME = millis();
  static float VOLTAGE;
  if(millis()-SAMPLING_TIME > SAMPLING_INTERVAL)
  {
    PH_ARRAY[PH_ARRAY_INDEX++]=analogRead(SENSOR);
    if(PH_ARRAY_INDEX==ARRAY_LENGTH)PH_ARRAY_INDEX=0;
    VOLTAGE = AVERAGE_ARRAY(PH_ARRAY, ARRAY_LENGTH)*5.0/1024;
    SAMPLING_TIME=millis();
  }
  if(millis() - PRINT_TIME > PRINT_INTERVAL) //Every 800 milliseconds, print a numerical, convert
  the state of the LED indicator
  {
    Serial.print("VOLATGE OUTPUT: ");
  }
}

```

Sample codes

```

        Serial.println(VOLTAGE,2);
        digitalWrite(LED,digitalRead(LED)^1);
        PRINT_TIME=millis();
    }
}
double AVERAGE_ARRAY(int* ARR, int NUMBER){
    int i;
    int max,min;
    double AVG;
    long AMOUNT=0;
    if(NUMBER<=0){
        Serial.println("ERROR!/n");
        return 0;
    }
    if(NUMBER<5){ //less than 5, calculated directly statistics
        for(i=0;i<NUMBER;i++){
            AMOUNT+=ARR[i];
        }
        AVG = AMOUNT/NUMBER;
        return AVG;
    }else{
        if(ARR[0]<ARR[1]){
            min = ARR[0];max=ARR[1];
        }
        else{
            min=ARR[1];max=ARR[0];
        }
        for(i=2;i<NUMBER;i++){
            if(ARR[i]<min){
                AMOUNT+=min; //arr<min
                min=ARR[i];
            }else {
                if(ARR[i]>max){
                    AMOUNT+=max; //arr>max
                    max= AMOUNT+=ARR[i];
                }else{
                    AMOUNT+=ARR[i]; //min<=arr<=max
                }
            }
        }
        return AVG;
    }
}

```

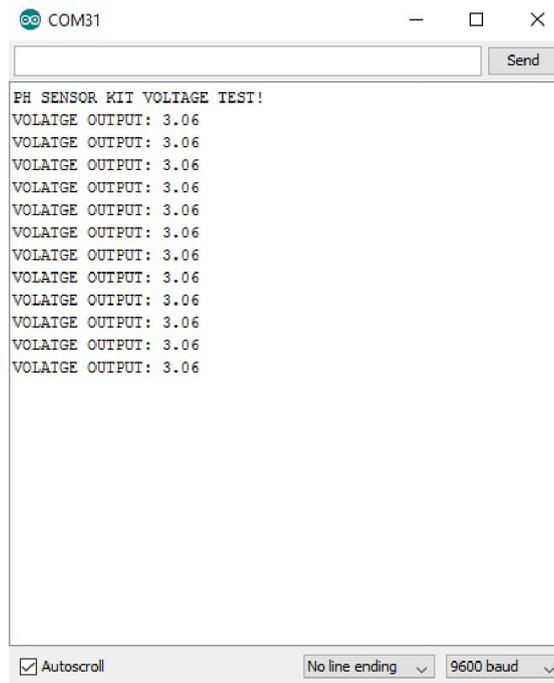


Figure 5: Serial print output from pH sensor.

3. Oxygen sensor

Winsen
炜盛科技 Zhengzhou Winsen Electronics Technology Co., Ltd

www.winsen-sensor.com

Winsen
炜盛科技

ME2-O2-Φ20
Electrochemical
Oxygen Sensor

Manual
(Model: ME2-O2-Φ20)

Zhengzhou Winsen Electronics Technology Co., Ltd

Tel: 86-371-67169097 Fax: 86-371-60932988

Email: sales@winsensor.com

Leading gas sensing solutions supplier in China

ME2-O₂-Φ20 Oxygen Sensor

ME2-O₂-Φ20 electrochemical sensor detect gas concentration by measuring current based on the electrochemical principle, which utilizes the electrochemical oxidation process of target gas on the working electrode inside the electrolytic cell, the current produced in electrochemical reaction of the target gas are in direct proportion with its concentration while following Faraday law, then concentration of the gas could be get by measuring value of current.

1. Features

- * Low consumption
- * High precision
- * High sensitivity
- * Wide linear range
- * Good anti-interference ability
- * Excellent repeatability and stability



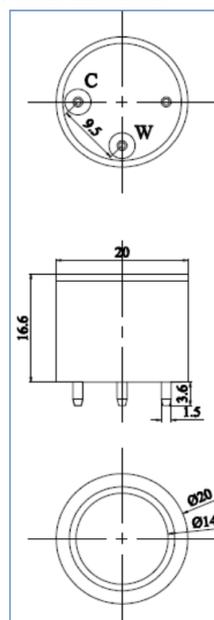
2. Application

Detecting O₂ in mine, industry and environmental protection field.

3. Technical Parameter

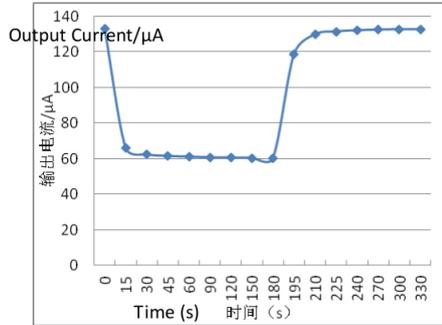
Item	Parameter
Detection gas	O ₂
Measurement Range	0~25%Vol
Max detecting concentration	30%Vol
Sensitivity	(0.1~0.3) mA (In air)
Response time (T ₉₀)	≤15S
Load resistance (recommended)	10kΩ
Repeatability	<2% output value
Stability (/ month)	<2%
Zero drift (-20℃~40℃)	≤0.1%vol
Storage temperature	-20℃~50℃
Storage Humidity	0%~99% RH
Pressure range	normal atmosphere ±10%
Anticipated using life	2 years

4. External dimension

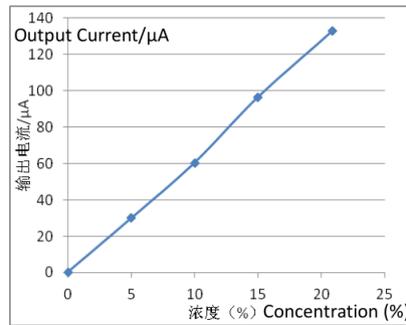


5.Characterization

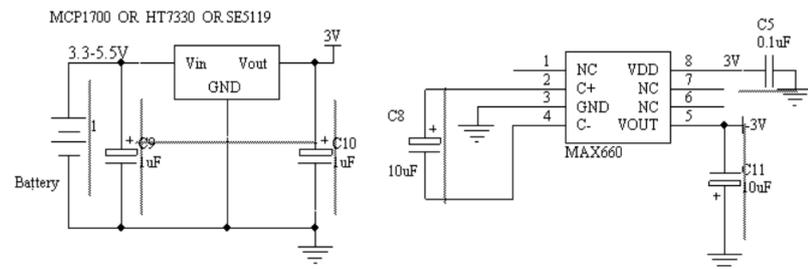
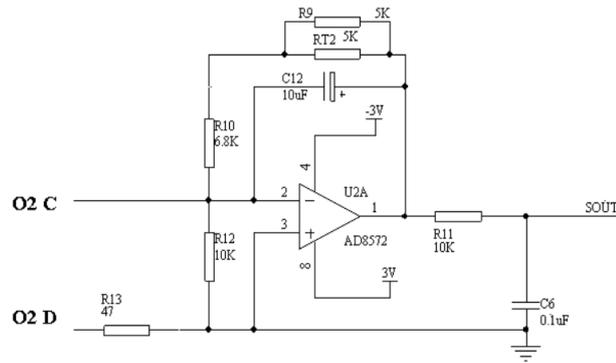
Features of Sensitivity, response and output signal



Data graph of concentration linearity features



6.Basic circuit



7. Application Notes:

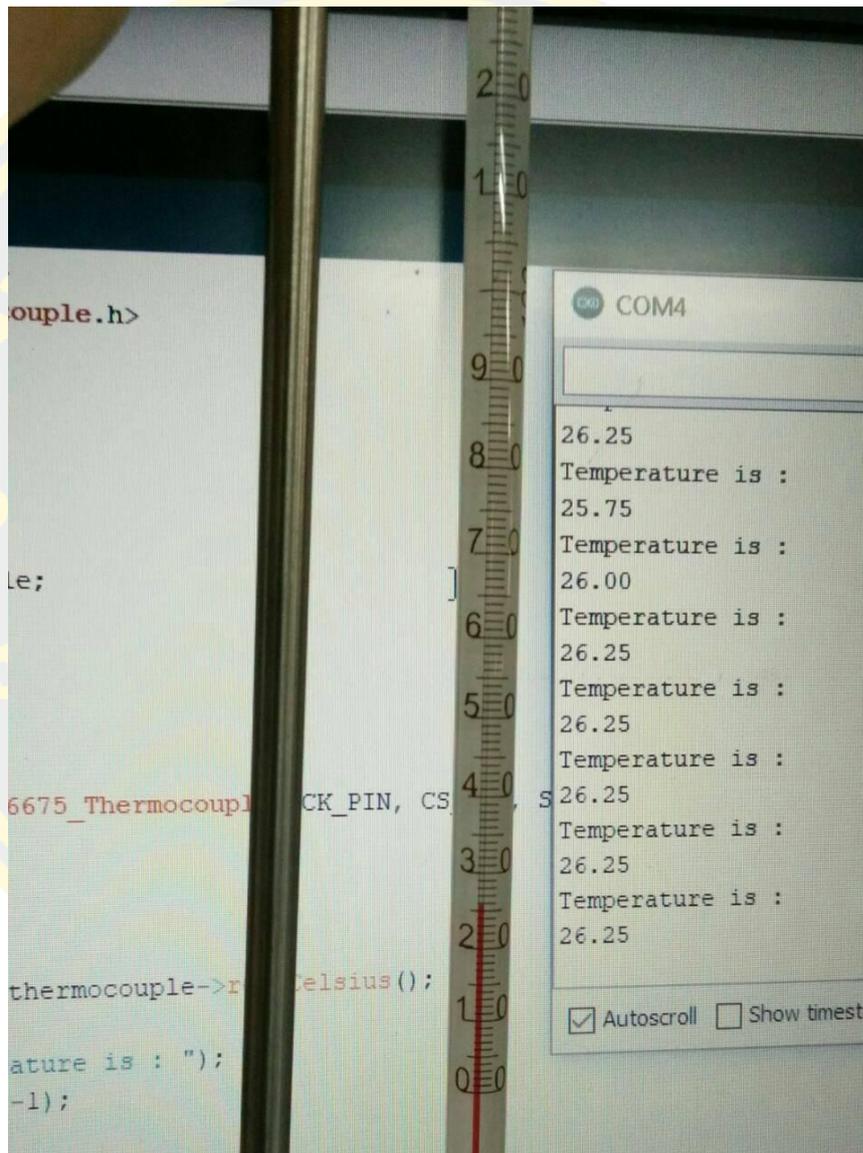
- Sensor shall Avoid organic solvent, coatings, medicine, oil and high concentration gases;
- All ME Sensors shall not be encapsulated completely by resin materials, and shall not immerse in pure oxygen environment, otherwise, it will damage the function of sensor;
- All ME sensors shall not be applied in corrosive gas environment, or the sensor will be damaged;
- Please test the sensitivity of gas sensors in clean atmosphere;
- Sensors Shall be avoided to face the gas, which flow directly from front side;
- To avoid to bend and break of pins;
- Blowhole of the sensor should not be blocked and polluted, which will cause the sensitivity decrease;
- Excessive impact or vibration should be avoided;
- Do not use the sensor when the shell is damaged;
- It takes some time for the sensor to return to normal state After applied in high concentration gas;
- Do not take apart the sensor, otherwise electrolyte leakage can cause sensor damage;
- Working electrode and reference electrode of the sensor shall be in short circuit when stored.;
- To preheat over 48hs before using and soldering forbidden;

Note: To keep continual product development, we reserve right to change design features without prior notice !

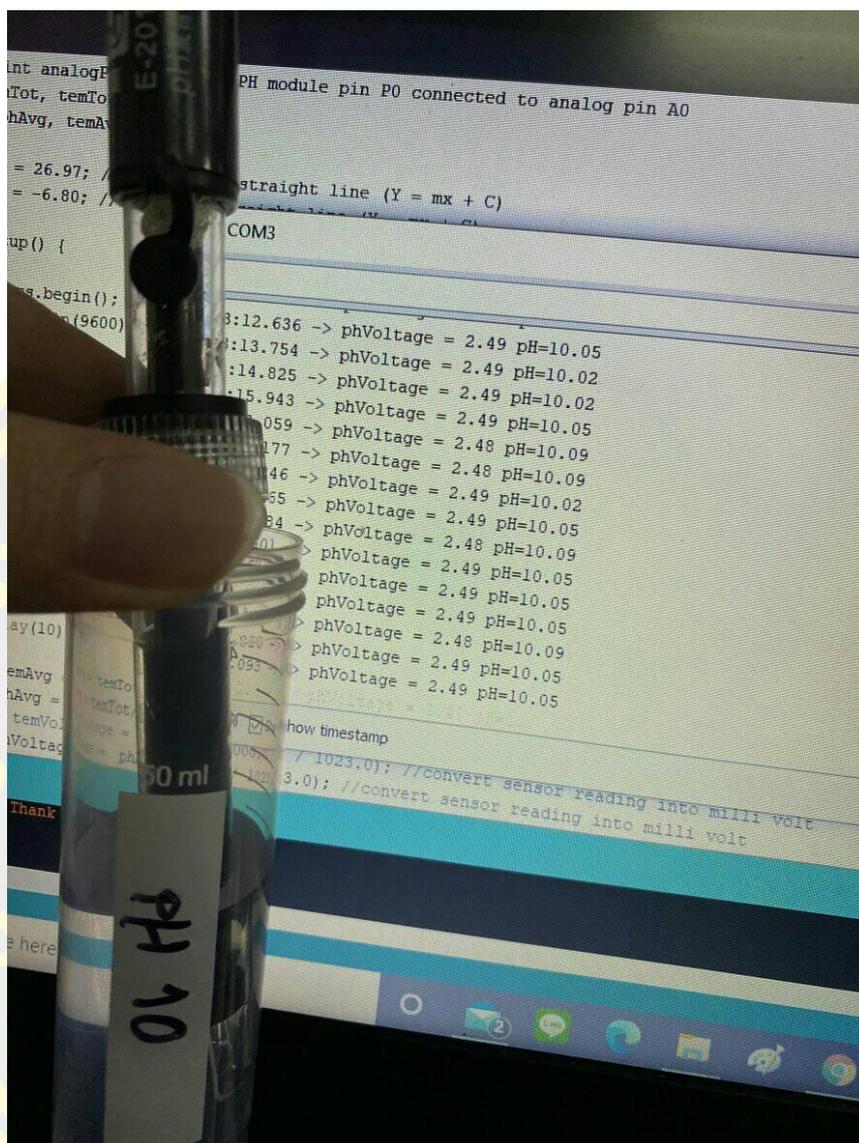
Zhengzhou Winsen Electronics Technology Co., Ltd
Add.: NO.299 Jin Suo Road, National Hi-Tech Zone,
Zhengzhou, 450001 China
Tel.: 0086-371-67169097 / 67169670
Fax:0371-60932988
E-mail:sales@winsensor.com
Website: www.winsen-sensor.com

ภาคผนวก ณ. การปรับเทียบ (Calibration) อุปกรณ์วัด

1. การปรับเทียบ Thermocouple เป็นการปรับเทียบค่าของอุปกรณ์วัดในโปรแกรมให้มีค่าอุณหภูมิเท่ากับที่วัดได้จาก Thermometer ดังรูปที่ ภาคผนวกที่ ณ.-4



รูปที่ ภาคผนวกที่ ณ.-4 การปรับเทียบ Thermocouple



(ค.)

รูปที่ ภาคผนวก ณ-5 การปรับเทียบ pH meter ด้วยสารละลายมาตรฐาน (ก.) pH 4 (ข.) pH 7 และ (ค.) pH 10

3. การเปรียบเทียบ Oxygen sensor จะเป็นการเปรียบเทียบค่าของอุปกรณ์วัดความเข้มข้นของแก๊สออกซิเจน โดยเทียบกับปริมาณออกซิเจนในอากาศซึ่งจะมีค่าอยู่ที่ประมาณร้อยละ 20-21 ดังรูปภาคผนวก ฎ-2

The screenshot shows the serial monitor window of an Arduino IDE. The window title is 'COM3'. The output text is as follows:

```

03:10:39.213 -> Oxygen concentration = 20.50%
03:10:39.726 -> Oxygen concentration = 20.50%
03:10:40.240 -> Oxygen concentration = 20.50%
03:10:40.753 -> Oxygen concentration = 20.50%
03:10:41.217 -> Oxygen concentration = 20.50%
03:10:41.728 -> Oxygen concentration = 20.50%
03:10:42.244 -> Oxygen concentration = 20.50%
03:10:42.756 -> Oxygen concentration = 20.50%
03:10:43.222 -> Oxygen concentration = 20.50%
03:10:43.787 -> Oxygen concentration = 20.50%
03:10:44.244 -> Oxygen concentration = 20.50%
03:10:44.759 -> Oxygen concentration = 20.50%
03:10:45.227 -> Oxygen concentration = 20.50%
03:10:45.737 -> Oxygen concentration = 20.50%
03:10:46.250 -> Oxygen concentration = 20.50%
03:10:46.762 -> Oxygen concentration = 20.50%
03:10:47.228 -> Oxygen concentration = 20.50%
03:10:47.739 -> Oxygen concentration = 20.50%

```

At the bottom of the window, there are checkboxes for 'Autoscroll' and 'Show timestamp', both of which are checked. The baud rate is set to '9600 baud'. The system tray at the bottom shows the date and time as '29°C แจงไม่สตาม...' and 'ENG 3:10'.

รูปที่ ภาคผนวก ฎ.-6 การเปรียบเทียบ Oxygen sensor

ภาคผนวกที่ ด. สภาวะระหว่างการหมักบิวทานอลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพต้นแบบ

ผลการวัดสภาวะการทดลองการหมักบิวทานอลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพต้นแบบที่ผ่านการควบคุมโดยระบบควบคุมสภาวะที่สร้างขึ้น โดยสภาวะที่มีการวัดและเก็บค่าของข้อมูลไว้ในระบบ Google sheet ได้แก่ ค่าอุณหภูมิของน้ำภายในถังต้มน้ำร้อน ค่าอุณหภูมิของสารละลายน้ำหมักภายในถังปฏิกรณ์ ค่าปริมาณแก๊สออกซิเจนภายในถังปฏิกรณ์และค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายน้ำหมัก โดยผู้ทดลองได้ทำการรวบรวมข้อมูลเก็บไว้ในรูปแบบไฟล์ .XLSX โดยสามารถเข้าถึงข้อมูลได้โดยผ่านลิงก์ https://docs.google.com/spreadsheets/d/1nUSlxg3zu4nuCzLE_rlsIPm118VdCtYc/edit#gid=171270248



บรรณานุกรม

- Al-Shorgani, N. K. N., Kalil, M. S., Yusoff, W. M. W., & Hamid, A. A. (2018). Impact of pH and butyric acid on butanol production during batch fermentation using a new local isolate of *Clostridium acetobutylicum* YM1. *Saudi journal of biological sciences*, 25(2), 339-348.
- American College of Cardiology. (2013). n-Butanol *Journal of the American College of Cardiology (JACC)*.
- Arias-Roblero, M., Mora-Villalobos, V., & Velazquez-Carrillo, C. (2021). Evaluation of Fed-Batch Fermentation for Production of Polyhydroxybutyrate With a Banana Pulp Juice Substrate From an Agro Industrial By-Product. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5.
- Asghar, M. H., Negi, A., & Mohammadzadeh, N. (2015). *Principle application and vision in Internet of Things (IoT)*. Paper presented at the International Conference on Computing, Communication & Automation.
- Bergman, T. L., Incropera, F. P., DeWitt, D. P., & Lavine, A. S. (2011). *Fundamentals of heat and mass transfer*: John Wiley & Sons.
- Capilla, M., San-Valero, P., Izquierdo, M., Penya-roja, J., & Gabaldón, C. (2021). The combined effect on initial glucose concentration and pH control strategies for acetone-butanol-ethanol (ABE) fermentation by *Clostridium acetobutylicum* DSM 792. *Biochemical Engineering Journal*, 167, 107910.
- Curry, S. R. (2017). *Clostridium difficile*. *Clinics in laboratory medicine*, 37(2), 341-369.
- D. T. Jones. (2008). BIOBUTANOL. *Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS)*, 5.
- Doran, P. M. (1995). *Bioprocess engineering principles*: Elsevier.
- Eakkachai, K., Kompon, G., & Yanisa, L.-u.-t. (2018). Development of *Clostridium cochlearium* by UV- mutation for bio-butanol production. *The 8th International TIChE Conference (ITICHe 2018), I-BIC-O-200-03*.
- Eakkachai, K., Preeyakorn, S., Wichayaphon, M., Ploypailin, S., Sujarawee, H., & Yanisa, L.-u.-t. (2021). Optimization of temperature and media of *Clostridium cochlearium* and its UV-Mutation for improving biobutanol production. *The 30th TIChE*

Conference (TICHE2021).

Google, Support. (2022). Google Sheets.

https://support.google.com/docs/topic/9054603?hl=en&ref_topic=1382883

Google Developers. (2022). Google Apps Script. <https://developers.google.com/apps-script>

Goswami, D. Y., & Kreith, F. (2007). *Handbook of energy efficiency and renewable energy*: Crc Press.

Gottwald, M., Hippe, H., & Gottschalk, G. (1984). Formation of n-butanol from D-glucose by strains of the "Clostridium tetanomorphum" group. *Applied and environmental microbiology*, 48(3), 573-576.

Inui, M., Suda, M., Kimura, S., Yasuda, K., Suzuki, H., Toda, H., . . . Yukawa, H. (2008). Expression of Clostridium acetobutylicum butanol synthetic genes in Escherichia coli. *Applied microbiology and biotechnology*, 77(6), 1305-1316.

JJS. (2022). Ethanol (C₂H₅OH). Retrieved 01-03-22
<https://www.jjstech.com/ethanolc2h5oh.html>

John J, M. J. (1992). Encyclopedia of Chemical Processing and Design Pressure-Relieving Devices: Rupture Disks: Selection of to Process Control and Dynamics: Savings from Upgrading. 42.

Kamonwan et al. (2021). Microbial diversity of marine shrimp pond sediment and its variability due to the effect of immobilized media in biohydrogen and biohythane production. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(5), 106166.

LabChem. (2012). Acetone Safety Data Sheet. Retrieved 01-03-22
<https://www.labchem.com/tools/msds/msds/LC10420.pdf>

Lee, S. Y., Park, J. H., Jang, S. H., Nielsen, L. K., Kim, J., & Jung, K. S. (2008). Fermentative butanol production by Clostridia. *Biotechnology and bioengineering*, 101(2), 209-228.

Li, R.-D., Li, Y.-Y., Lu, L.-Y., Ren, C., Li, Y.-X., & Liu, L. (2011). An improved kinetic model for the acetone-butanol-ethanol pathway of Clostridium acetobutylicum and model-based perturbation analysis. *BMC systems biology*, 5(1), 1-11.

Liu, S., Bischoff, K. M., Leathers, T. D., Qureshi, N., Rich, J. O., & Hughes, S. R. (2013).

- Butyric acid from anaerobic fermentation of lignocellulosic biomass hydrolysates by *Clostridium tyrobutyricum* strain RPT-4213. *Bioresource technology*, 143, 322-329.
- Liu, X.-B., Gu, Q.-Y., Yu, X.-B., & Luo, W. (2012). Enhancement of butanol tolerance and butanol yield in *Clostridium acetobutylicum* mutant NT642 obtained by nitrogen ion beam implantation. *Journal of microbiology*, 50(6), 1024-1028.
- Merck. (2021). 1-Butanol. Retrieved from https://www.merckmillipore.com/TH/en/product/1-Butanol.MDA_CHEM-101988?ReferrerURL=https%3A%2F%2Fwww.google.com%2F
- Millat, T., & Winzer, K. (2017). Mathematical modelling of clostridial acetone-butanol-ethanol fermentation. *Applied microbiology and biotechnology*, 101(6), 2251-2271.
- Najafi, M. B. H., & Pezeshki, P. (2013). Bacterial mutation; types, mechanisms and mutant detection methods: a review. *European Scientific Journal*.
- Ndaba, B., Chiyanzu, I., & Marx, S. (2015). n-Butanol derived from biochemical and chemical routes: A review. *Biotechnology Reports*, 8, 1-9.
- NECTEC. (2017). An Official Guide to NETPIE. *Thailand's National Electronics and Computer Technology Center*, 1-140.
- Patinios, C., Lanza, L., Corino, I., Franssen, M. C., Van der Oost, J., Weusthuis, R. A., & Kengen, S. W. (2020). Eat1-like alcohol acyl transferases from yeasts have high alcoholysis and thiolysis activity. *Frontiers in microbiology*, 2737.
- Pepper, I. L., Gerba, C. P., Gentry, T. J., & Maier, R. M. (2011). *Environmental microbiology*: Academic press.
- Pope, L., & Rode, L. (1969). Spore fine structure in *Clostridium cochlearium*. *Journal of bacteriology*, 100(2), 994-1001.
- Schmidt, L. D. (1998). *The engineering of chemical reactions*: Oxford University Press, USA.
- Spectrumchemical. (2020). Overhead Stirrer. Retrieved ค้นเมื่อ 1 กรกฎาคม 2563
- Srivastava, N., & Pande, M. (2017). Estimating Metabolic Activity of Spermatozoa. In *Protocols in Semen Biology (Comparing Assays)* (pp. 123-144): Springer.
- The Dow Chemical Company Product Safety Assessment. (2013). *n-Butanol*. Retrieved

from

Xiros, C., Janssen, M., Byström, R., Børresen, B. T., Cannella, D., Jørgensen, H., . . .

Tillman, A. M. (2017). Toward a sustainable biorefinery using high-gravity technology. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 11(1), 15-27.

Zhang, W., Ma, F., Ren, M., & Yang, F. (2021). Application with Internet of things technology in the municipal industrial wastewater treatment based on membrane bioreactor process. *Applied Water Science*, 11(3), 1-12.

Zhang, Y., Han, B., & Ezeji, T. C. (2012). Biotransformation of furfural and 5-hydroxymethyl furfural (HMF) by *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824 during butanol fermentation. *New biotechnology*, 29(3), 345-351.

จีราจุธ วารินทร์. (2564). *Arduino Uno + ตัวอย่างงาน IoT*.

ณัฐพงศ์ ไชยสิทธิ์. (2560). Vessel Head.

ธีรโชติ บุญคุ้ม, ภูมินทร์ โตศิริวัฒนานนท์ ภิรมวัจน์ ตั้งจิตต์วรการ. (2561). ถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบไร้ออกซิเจนเพื่อผลิตบิวทานอลทางชีวภาพโดยควบคุมผ่านระบบอินเทอร์เน็ตของสรรพสิ่ง (IoT). (วิทยาศาสตร์บัณฑิต), มหาวิทยาลัยบูรพา,

ประกาศ สุวรรณเพชร. (2564). เรียนรู้และลองเล่น Arduino เบื้องต้น.

<https://gla.reru.ac.th/documents/KruPraphasArduinoBook.pdf>

พลอยไพลิน สิมมา และ สุจารวี ทริสมบัติ. (2559). การผลิตบิวทานอลด้วยกระบวนการ *ABE fermentation* โดยเชื้อ *Clostridium Sp.* (วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต), มหาวิทยาลัยบูรพา,

ฤชากร จีรกาลวสาน. (2550). *Motor load and efficiency*. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย,

สามารถ มูลอามาตย์. (2541). ถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบกวน. *วิศวกรรมสาร มข.*, 1, 47-57.

สุวิทย์ กิระวิทยา. (2562). *Microcontroller and Sensors for Innovative Applications*.

สุไฮลา สาและ. (2559). การผลิตไบโอบิวทานอลจากสาหร่าย *Rhizoclonium sp.* ด้วยเชื้อ

Clostridium beijerinckii TISTR 1461 ในกระบวนการหมักแบบแบทช์. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์,

เอกชัย ไกลถิ่น. (2560). การพัฒนาเชื้อแบคทีเรีย *Clostridium cochlearium* ด้วยกระบวนการ *UV-Mutation* เพื่อการผลิตบิวทานอลทางชีวภาพ. (วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต), มหาวิทยาลัยบูรพา,

ประวัติย่อของผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	เอกชัย ไกลถิ่น
วัน เดือน ปี เกิด	29 ตุลาคม 2538
สถานที่เกิด	พะเยา, ประเทศไทย
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	153 หมู่ 9 ต.ฝายกวาง อ.เชียงคำ จ.พะเยา 56110
ประวัติการศึกษา	(2557-2561) วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขา วิศวกรรมเคมี, มหาวิทยาลัยบูรพา (2561-2565) วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขา วิศวกรรมชีวภาพ, มหาวิทยาลัยบูรพา
รางวัลหรือทุนการศึกษา	(2021) K. Eakkachai, S. Preeyakorn, M. Wichayaphon, S. Ploypailin, H. Sujarawee, L. Yanisa, Optimization of temperature and fermentation medium of Clostridium cochlearium and its UV-mutation for improving biobutanol production, The 30th TIChE Conference, Nakhon Ratchasima, Thailand. (2021) Best oral presentation award entitled Optimization of temperature and fermentation medium of Clostridium cochlearium and its UV-Mutation for improving biobutanol production, 30th TIChE International Conference, Nakhon Ratchasima, Thailand. (2019) The 3rd runner-up Award entitled Anaerobic bioreactor for butanol production controlling by IoT system, The 21st National Software Contest, Bangkok, Thailand. (2018) K. Eakkachai, G. Kompon, L. Yanisa, (2018), Development of Clostridium cochlearium by UV mutation for bio-butanol production, The 8th International TIChE Conference, Pattaya, Chonburi, Thailand.

(2017) Best poster award entitled Development of *Clostridium cochlearium* by UV -mutation for bio-butanol production, Engineering Project Day, Faculty of Engineering, Burapha University, Thailand.

