สถานภาพและแนวโน้มของเทคโนโลยีการผลิตไบโอเอทานอล

จันทรพร ผลากรกุล*

1. บทนำ

ประเทศไทยกำลังเผชิญปัญหาด้านพลังงานขณะที่เศรษฐกิจของประเทศกำลังเติบโตอย่างรวดเร็วความต้องการด้านพลังงานก็เพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วยอัตราการใช้น้ำมันของประเทศอยู่ที่ 785,000 บาร์เรลต่อวันและที่ 821,000 บาร์เรลต่อวัน ในปี พ.ศ. 2544 และปี พ.ศ. 2545 ตามลำดับ [1] ถึงแม้ว่าประเทศไทยจะมีแหล่งทรัพยากรน้ำมันปิโตรเลียม ถ่านหินและก๊าซธรรมชาติเป็นของตนเอง แต่เป็นปริมาณน้อยและไม่เพียงพอต่อความต้องการ และต้องพึ่งพาการนำเข้าพลังงานจากต่างประเทศโดยนำเข้าน้ำมันมากกว่า 80% ของปริมาณที่ต้องการใช้ [2] การใช้พลังงานหมุนเวียนจากชีวมวลเป็นการแก้ปัญหาทางหนึ่งโดยเอทานอลจากชีวมวลหรือไบโอเอทานอล เป็นแหล่งพลังงานหมุนเวียนที่มีศักยภาพแหล่งหนึ่งของไทย ซึ่งไบโอเอทานอลสามารถถูกนำมาใช้ได้ในรูปของผสมระหว่างเบนซิลหรือดีเซลกับเอทานอลที่อัตราส่วน 90:10 (เบนซิลหรือดีเซล: เอทานอล) โดยไม่ต้องปรับปรุงแก้ไขเครื่องยนต์

ในปัจจุบันมีผู้ประกอบการที่ได้รับอนุมัติจากรัฐบาลไทย ให้ตั้งโรงงานผลิตและจำหน่ายเอทานอลจำนวน 8 ราย ดังแสดงในตารางที่ 1 ซึ่งโรงงานดังกล่าวจะเริ่มดำเนินการผลิตน้ำมันแก๊สโซฮอล์ในเชิงพาณิชย์ได้ในไม่ช้า โรงงานทั้งหมดเมื่อทำการก่อสร้างเสร็จเรียบร้อยแล้วจะมีกำลังการผลิตรวมกัน 1,502,000 ลิตร/วัน สถานภาพและแนวโน้มของเทคโนโลยีการผลิตเชื้อเพลิงเอทานอลในระดับสากล จึงเป็นสิ่งที่นักวิชาการไทยควรทราบเพื่อเตรียมรับปัญหาด้านเทคโนโลยีจากภาคอุตสาหกรรมและร่วมพัฒนาวิจัยเทคโนโลยีสำหรับการผลิตไบโอเอทานอลต่อไปให้เหมาะสมกับแหล่งทรัพยากรที่มีในประเทศ

2. กระบวนการและเทคโนโลยีการผลิตไบโอเอทานอลในปัจจุบัน

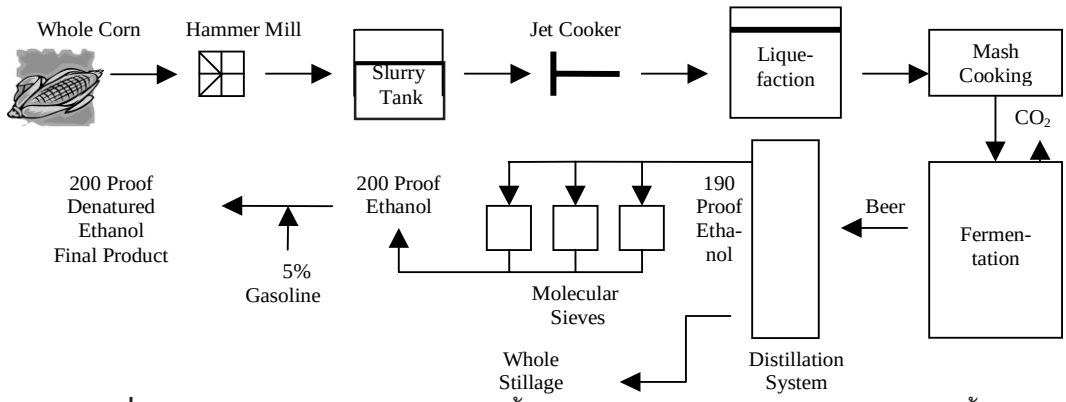
กระบวนการผลิตเอทานอลจากชีวมวลประเภทแป้ง เช่น ข้าวโพดในปัจจุบันมีขั้นตอนตามที่แสดงในรูปที่ 1 ดังนี้

1. การขนส่งวัตถุดิบมายังโรงงานผลิต
2. การล้างทำความสะอาดวัตถุดิบและปอกเปลือก
3. การบดป่นวัตถุดิบให้มีขนาดเล็ก
4. การย่อยครั้งแรก (Liquefaction) ในขั้นตอนนี้แป้งจะถูกตัดสายโมเลกุลให้มีขนาดสั้นลงด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะมิเลส (α-amylase)
5. การย่อยครั้งที่สอง(Saccharification) ในขั้นตอนนี้น้ำตาลที่ได้จากการย่อยครั้งแรกจะถูกเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาล

ตารางที่ 1 โรงงานผลิตและจำหน่ายไบโอเอทานอลที่ได้รับอนุมัติจากรัฐบาลไทย [3]

ชื่อผู้ประกอบการ	สถานที่ตั้ง	กำลังการผลิต (ลิตรต่อวัน)	วัตถุดิบ
บริษัท พรวิไล อินเตอร์เนชั่นแนล กรุ๊ป เทรดดิ้ง จำกัด	อยุธยา	25,000	กากน้ำตาล/มันสำปะหลัง
บริษัท ไทยอะโกร เอนเนอร์ยี จำกัด	นครสวรรค์	150,000	กากน้ำตาล
บริษัท อินเตอร์เนชั่นแนล แก๊สโซฮอล คอร์ปอเรชั่น	ระยอง	500,000	มันสำปะหลัง
บริษัท แสงโสม จำกัด	นครปฐม	100,000	กากน้ำตาล
บริษัท ไทยง้วนเอทานอล จำกัด	ชัยภูมิ	130,000	มันสำปะหลัง
บริษัท น้ำตาลขอนแก่น จำกัด	ขอนแก่น	85,000	กากน้ำตาล/มันสำปะหลัง
บริษัท อัลฟ่า เอเนอร์จี จำกัด	นครสวรรค์	212,000	มันสำปะหลัง
บริษัท ไทยเนชั่นแนล พาวเวอร์ จำกัด	ระยอง	300,000	มันสำปะหลัง

* ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ



รูปที่ 1 แผนภาพแสดงกระบวนการผลิตเชื้อเพลิงเหลวเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทแป้ง [4]

กลูโคสด้วยเอนไซม์กลูโคสอะมิเลส (glucoamylase)

6. การหมัก (Fermentation) กลูโคสจะถูกเปลี่ยนเป็นเอทานอลโดยการทำงานของจุลินทรีย์ ซึ่งอาจจะเป็นยีสต์หรือแบคทีเรีย

7. การกรองน้ำส่าออกจากผลิตภัณฑ์ (Filtration)

8. การทำให้เอทานอลบริสุทธิ์ครั้งแรกด้วยการกลั่น (Distillation) ผลิตภัณฑ์เอทานอลที่ได้จะมีความบริสุทธิ์ 95%

9. การทำให้เอทานอลบริสุทธิ์ครั้งที่สองด้วยเทคนิคการแยกน้ำ (Dehydration) เทคโนโลยีที่นิยมใช้ในปัจจุบันคือ molecular sieves และ membrane dehydration ผลิตภัณฑ์เอทานอลที่ได้จะมีความบริสุทธิ์ 99.5% ซึ่งสามารถนำไปใช้ผสมกับน้ำมันเชื้อเพลิงได้

10. การนำ by-products มาผลิตผลิตภัณฑ์เสริม เช่น อาหารสัตว์ ปุ๋ย หรือ น้ำแข็งแห้ง

3. อุปสรรคด้านเทคนิคของเทคโนโลยีในปัจจุบันและแนวโน้มทิศทางของงานวิจัยที่อยู่ในความสนใจของนักวิจัยทั่วไปในระดับสากล

3.1 ปัญหาด้านราคาของวัตถุดิบและทิศทางของงานวิจัย

วัตถุดิบซึ่งสามารถเปลี่ยนเป็นเอทานอลด้วยกระบวนการผลิตที่แสดงดังในรูปที่ 1 ต้องประกอบด้วยแป้งหรือน้ำตาล วัตถุดิบประเภทนี้มักเป็นพืชเศรษฐกิจ เช่น ข้าวโพดหรืออ้อย ประเทศสหรัฐอเมริกาในปัจจุบันใช้ข้าวโพดเป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตเอทานอล ส่วนประเทศบราซิลในปัจจุบันใช้อ้อยเป็นวัตถุดิบหลัก ในประเทศไทยมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบที่มีความเป็นไปได้มากที่สุด เพราะมีปริมาณแป้งสูงปลูกง่ายและทนต่อความแห้งแล้งและราคาต่ำกว่าพืชเศรษฐกิจอื่นๆ อย่างไรก็ตามราคาของวัตถุดิบเหล่านี้มีราคาสูงกว่า 50% ของราคาต้นทุนการผลิตเอทานอล (คำนวณจากข้อมูลของราคาพืชวัตถุดิบและผลผลิตเอทานอลต่อหน่วยวัตถุดิบ ซึ่งได้จาก http://www.dit.go.th/ [5] และ http://www. ethanol-thailand.com/ [6] ตามลำดับ) อีกทั้งราคาและปริมาณของพืชเศรษฐกิจเหล่านี้มีความผันผวนงานวิจัยที่อยู่ในความสนใจของนักวิจัยทั่วไปในระดับสากล คือ การพัฒนาเทคโนโลยีที่ใช้เปลี่ยนเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวพร้อมสำหรับการหมักเป็นเอทานอล เนื่องจากถ้าเทคโนโลยีนี้ประสบผลสำเร็จ เอทานอลจะสามารถผลิตได้จากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร เช่น ซังข้าวโพด ฟางข้าวแทนพืชเศรษฐกิจ กระทรวงพลังงานและ กระทรวงเกษตรฯ ของประเทศสหรัฐอเมริกาได้สนับสนุนงานวิจัยของทั้งภาครัฐ มหาวิทยาลัย และภาคเอกชน ในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส (cellulase) ที่มีประสิทธิภาพสูงในการย่อยเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาล และในการลดต้นทุนการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสเหล่านี้ลงสิบเท่าภายในระยะเวลา 10 ปี [7]

เทคโนโลยีอื่นๆ ในการเปลี่ยนวัสดุเซลลูโลสหรือเฮมิเซลลูโลสเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่ได้ถูกพัฒนาอย่างต่อเนื่อง มีดังนี้ Dilute acid process [8] และConcentrated acid process [9] กระบวนการ Pretreatment ซึ่งช่วยลดภาระการเปลี่ยนวัสดุเซลลูโลสหรือเฮมิเซลลูโลสเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวได้แก่ Acidified acetone extraction, Ammonia disruption [10], Steam disruption และ Liquid hot water [11] ซึ่งสถานภาพของระดับความก้าวหน้าด้านเทคนิคของเทคโนโลยีเหล่านี้จะกล่าวต่อไป

3.2 ปัญหาด้านสายพันธุ์จุลินทรีย์และทิศทางของงานวิจัย

เทคโนโลยีการหมักในระดับอุตสาหกรรมนิยมใช้ ยีสต์

Saccharomyces cerevisiae ซึ่งสามารถเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสให้เป็นเอทานอลได้สูงถึง 90–95% แต่สายพันธุ์ที่ใช้ในปัจจุบันไม่สามารถทนอุณหภูมิที่สูงและความเข้มข้นของเอทานอลที่สูงในถังหมักได้ อุณหภูมิที่สูงในถังหมักจะช่วยลดปัญหาเรื่องการติดเชื้อ และช่วยเร่งจลนศาสตร์การหมัก และถ้าสายพันธุ์สามารถทนความเข้มข้นของเอทานอลได้สูงจะทำให้สามารถเพิ่มผลผลิตเอทานอลต่อถังหมัก งานวิจัยและพัฒนาได้มุ่งศึกษาการใช้เทคนิคพันธุวิศวกรรม ในการดัดแปลงให้ยีสต์หรือจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ รวมทั้ง *Escherichia coli* และ *Zymomonas* ให้ทนต่อสภาพแวดล้อมในถังหมักที่มีปริมาณเอทานอลสูงได้ดียิ่งขึ้น หรือสภาพแวดล้อมในถังหมักอื่นๆ เช่น อุณหภูมิ ความเป็นกรด ปริมาณของสารเคมีหรือเอนไซม์ต่างๆ และสามารถย่อยสลายน้ำตาลชนิดเพนโทส (pentoses) ได้พร้อมกับน้ำตาลชนิดเฮกโซส (hexoses)

3.3 ปัญหาด้านประสิทธิภาพของกระบวนการและทิศทางของงานวิจัย

กระบวนการผลิตเอทานอล ในระดับการค้าทั่วโลกส่วนใหญ่ยังคงเป็นกระบวนการหมักแบบกะ (Batch fermentation) และแยกขั้นตอน Hydrolysis และ Fermentation ออกจากกัน กระบวนการผลิตแบบนี้มักถูกเรียกว่า “Conventional process” ซึ่งมีหลายๆ จุดที่สามารถถูกพัฒนาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตซึ่งรวมถึงการลดต้นทุนการผลิต ด้านพลังงานและด้านอุปกรณ์ การเพิ่มผลผลิตต่อหน่วยวัตถุดิบ และการเร่งอัตราการผลิต ทิศทางของงานวิจัยที่เกี่ยวข้องคือ

- การพัฒนากระบวนการหมัก ให้เป็นแบบต่อเนื่อง (Continuous fermentation)
- การนำจุลินทรีย์ยีสต์กลับมาใช้ใหม่ (Yeast recycle)
- การพัฒนากระบวนการผลิตแบบ SSF (Simultaneous Saccharification and Fermentation) และ SSCF (Simultaneous Saccharification and Cofermentation) เป็นต้น

4. สถานภาพของระดับความก้าวหน้าด้านเทคนิคของเทคโนโลยีในปัจจุบัน

4.1 เทคโนโลยีด้านเอนไซม์และกระบวนการย่อยสลายเซลลูโลส/เฮมิเซลลูโลส

การศึกษาด้านเอนไซม์มีมานานกว่า 40 ปี และมีความก้าวหน้าอย่างมาก เอนไซม์หรือตัวเร่งปฏิกิริยาทางชีวภาพที่มีประสิทธิภาพด้านการทำงาน และด้านต้นทุนคือหัวใจสำคัญสำหรับการเปลี่ยนชีวมวลให้เป็นเอทานอลที่ให้ผลผลิตต่อหน่วยสูง นักวิทยาศาสตร์ที่ศูนย์วิจัยพลังงานทดแทนแห่งประเทศสหรัฐอเมริกา (The National Renewable Energy Laboratory; NREL) ได้ทำความร่วมมือกับนักวิจัยทั้งภาครัฐและเอกชนในการพัฒนาระบบเอนไซม์เซลลูเลส ซึ่งสามารถย่อยสลาย (หรือ hydrolyze) โครงสร้างผลึกของชีวมวลประเภทเซลลูโลส/เฮมิเซลลูโลส ระบบเอนไซม์เซลลูเลสต้องมีความเฉพาะเจาะจงในการย่อยสลายพันธะของเซลลูโลสสามารถทำการย่อยสลายได้อย่างสมบูรณ์ ทำงานได้ในสภาวะที่ค่า pH เป็นกรดอ่อน ทนต่อความเค้นจากสภาวะในถังปฏิกรณ์ และสุดท้ายคือ ราคาต้องไม่สูงเกินไป ความสามารถในการสร้างระบบเอนไซม์เซลลูเลสที่มีลักษณะพึงประสงค์นี้เป็นสิ่งสำคัญ ในการผลิตเอทานอลจากชีวมวลประเภทเซลลูโลสระดับการค้า ในปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์อยู่ในระหว่างการพัฒนาระบบเอนไซม์นี้ ตารางที่ 2 แสดงชนิดของจุลินทรีย์ที่นักวิทยาศาสตร์ค้นพบว่า สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ [12] ส่วนรายละเอียดของสถานภาพงานวิจัยของระบบเอนไซม์เซลลูเลสด้านประสิทธิภาพการทำงานและต้นทุนยังไม่มีรายงานออกมาชัดเจนเพราะงานวิจัยส่วนใหญ่ต้องปิดเป็นความลับ จนกว่าจะมีการจดสิทธิบัตร เอนไซม์เซลลูเลสที่มีจำหน่ายในปัจจุบัน (เช่น Cellubrix® ของบริษัท Novozymes ประเทศเดนมาร์ก) ยังมีประสิทธิภาพในการทำงานไม่ดีมากนัก จึงต้องใช้ปริมาณเอนไซม์จำนวนมาก ซึ่งทำให้ต้นทุนในการผลิตสูง ราคาต้นทุนของเอนไซม์เซลลูเลสปัจจุบันอยู่ที่ 0.45 ดอลล่าร์สหรัฐต่อแกลลอนของเอทานอล [13]

กระบวนการผลิตเอทานอล ที่ใช้เอนไซม์เซลลูเลสเป็นตัวย่อยสลายโครงสร้างหลักของเซลลูโลสจะมีข้อได้เปรียบกว่าเทคโนโลยีอื่นๆ เช่น Concentrated acid hydrolysis และ dilute acid hydrolysis ตรงที่สภาวะในการทำงานของเอนไซม์จะรุนแรงน้อยกว่ามาก ซึ่งเป็นผลให้เกิด by-products ออกมาน้อยกว่า และผลิตภัณฑ์หลักที่ได้คือ น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวซึ่งพร้อมสำหรับการหมัก รูปที่ 2 แสดงโฟลว์ชาร์จของการผลิตเอทานอลจากชีวมวลประเภทเซลลูโลสด้วย 1. Concentrated acid process 2. Dilute acid process และ 3. Enzymatic process บริษัท BC International ซึ่งตั้งอยู่ในมลรัฐ Massachusetts ของประเทศสหรัฐอเมริกาได้ครอบครองสิทธิบัตรในการผลิตเอทานอลจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร และได้ใช้วิธีการ Dilute acid hydrolysis ในโรงงานต้นแบบที่มี

ตารางที่ 2 ชนิดของจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเซลลูเลสได้ในปัจจุบัน [12]

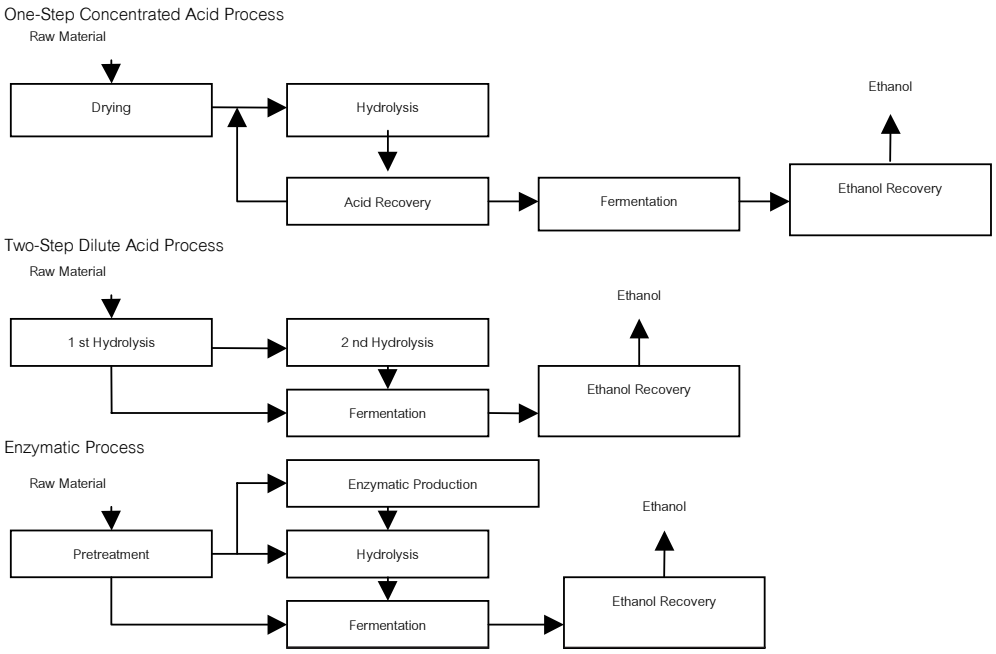
Oxygen relationship	Genus (Bacteria)	Representative species	Growth temperature	Features of cellulase system
Aerobic	*Acidothermus*	*A. cellulolyticus*	Thermo	Noncomplexed, cell free
	Bacillus	*B. pumilis*	Meso	Noncomplexed, cell free
	Caldibacillus	*C. cellovorans*	Thermo	Noncomplexed, cell free
	Cellulomonas	*C. flavigena, C. uda*	Thermo	Noncomplexed, cell free
	Cellvibrio	*C. fulvus, C. gilvus*	Meso	Noncomplexed, cell free
	Cytophaga	*C. hutchinsonii*	Meso	Noncomplexed, cell free
	Erwinia	*C. carotovora*	Meso	Noncomplexed, cell free
	Micromonospora	*M. chalcae*	Meso	Noncomplexed, cell free
	Pseudomonas	*P. fluorescens* var. *cellulosa*	Meso	Noncomplexed, cell free
		S. myxococcoides		
	Sporocytophaga	*R. marinus*	Meso	Noncomplexed, cell free
	Rhodothermus	*S. reticuli*	Thermo	-
	Strerptomyces	*T. fusca*	Meso	Noncomplexed, cell free
	Thermobifida		Thermo	Noncomplexed, cell free
Anaerobic	*Acetivibrio*	*D. cellulolyticus*	Meso	Complexed
	Anaerocellum	*D. thermophilum*	Thermo	Noncomplexed, cell free
	Butyrivibrio	*B. fibrisolvens*	Meso	Noncomplexed
	Caldicellulosiruptor	*C. saccharolyticum*	Thermo	Noncomplexed, cell free
	Clostridium	*C. thermocellum*	Thermo	Complexed, mostly cell bound
		C. cellulolyticum	Meso	-
	Eubacterium	*E. cellulosolvens*	Meso	-
	Fervidobacterium	*F. islandicum*	Thermo	-
	Fibrobacter	*F. succinogenes*	Meso	Complexed, cell bound
	Halocella	*H. cellulolytica*	Meso	Noncomplexed, cell free
	Ruminococcus	*R. albus,*	Meso	Complexed, cell bound
		R. flavefaciens	Meso	Noncomplexed, cell free
	Spirochaeta	*S. thermophila*	Thermo	-
	Thermotoga	*T. neapolitana*	Thermo	

กำลังการผลิตเอทานอล 4 ตัน/วัน [14] ในขณะที่บริษัทยักษ์ใหญ่อีกบริษัทหนึ่งคือ บริษัท Arkenol ซึ่งตั้งอยู่ในมลรัฐ Nevada ของประเทศสหรัฐอเมริกา ได้ใช้วิธีการ Concentrated acid hydrolysis ในการผลิตเอทานอลจากฟางข้าว [9] มีความเป็นไปได้สูงที่ทั้งสองบริษัทนี้จะเริ่มการผลิตเอทานอล จากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรในระดับใหญ่เพื่อจำหน่ายในระยะเวลาอันใกล้

ขั้นตอน pretreatment ก็มีส่วนสำคัญในการผลิตเอทานอลจากชีวมวล เนื่องจากสามารถช่วยลดปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสที่ต้องใช้ วิธีหนึ่งที่ได้รับการศึกษาอย่างมากคือ Steam pretreatment สำหรับกระบวนการย่อยสลายวัสดุประเภทเฮมิเซลลูโลส ด้วยวิธีการนี้ เฮมิเซลลูโลสจะถูกย่อยออก เป็นผลให้เซลลูโลสสามารถถูกเอนไซม์เข้าจู่โจมได้มากขึ้น วิธีการ Steam pretreatment นี้มักต้องใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา SO_2 ร่วมด้วย [15] ยังมีวิธีการ pre-treatment อื่นๆ ที่ได้รับการศึกษาอีกเช่น Acidified acetone hydrolysis และ Ammonia hydrolysis [10] เป็นต้น แต่ยังไม่ได้ถูกนำไปใช้อย่างแพร่หลาย

4.2 เทคโนโลยีด้านการปรับปรุงสายพันธุ์จุลินทรีย์ในขั้นตอนการหมัก

งานวิจัยด้านการปรับปรุงสายพันธุ์ ด้วยเทคโนโลยี



รูปที่ 2 แผนภาพแสดงการผลิตเอทานอลจากชีวมวลประเภทเซลลูโลสด้วย 1. One-step concentrated acid process 2. Two-step dilute acid process และ 3. Enzymatic process [15]

ชีวภาพได้มีมานานกว่า 15-20 ปี ลักษณะที่พึงประสงค์ของจุลินทรีย์สำหรับการผลิตเอทานอล รวบรวมโดย Sthiannopkao [16] และ Zaldivar et al. [17] มีดังนี้

1. มีความสามารถในการใช้น้ำตาลหลายชนิด ทั้งน้ำตาลชนิดเฮกโซสและเพนโทส

2. สามารถผลิตเอทานอล โดยมีค่าผลผลิตต่อหน่วยวัตถุดิบและอัตราการผลิตที่สูง

3. ผลิต by-products อื่นๆ เช่น กลีซีรอล (glycerol) ซัคซิเนท (succinate) น้อยมาก

4. มีความทนทานต่อความเข้มข้นของเอทานอลที่สูงในถังหมักได้

5. มีความทนทานต่อสารยับยั้งอื่นๆ ที่อาจเกิดขึ้นระหว่างกระบวนการผลิต

6. มีความทนทานต่อสภาวะที่ผันแปรในถังหมัก เช่น ค่า pH และความเข้มข้นของเกลือ

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบลักษณะของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักปัจจุบัน และตารางที่ 4 แสดงลักษณะที่พึงประสงค์ของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมัก Sthiannopkao [16] ได้รวบรวมผลงานวิจัยด้านการปรับปรุงสายพันธุ์ ดังนี้ นักวิทยาศาสตร์ของ NREL ได้พัฒนาสายพันธุ์ของ *Z. mobilis* ที่สามารถผลิตเอทานอลจากน้ำตาล xylose ได้ที่อุณหภูมิสูง [18] จุลินทรีย์สายพันธุ์อื่นๆ ที่ถูกพัฒนาด้วยเทคนิคทางพันธุวิศวกรรมสามารถผลิตเอทานอลได้จากน้ำตาลเพนโทสทุกชนิด Ingram [19] แห่ง University of Florida ได้พัฒนาสองสายพันธุ์ที่พึงประสงค์ K011 และ P2 โดย K011 เป็นสายพันธุ์ของ *E.coli* ที่ได้รับยีนจาก *Z. mobilis* ทำให้มีความสามารถในการใช้น้ำตาลทั้งแบบเฮกโซสและเพนโทสสายพันธุ์ P2 ถูกพัฒนาจากแบคทีเรีย *Klebsiella oxytoca* ซึ่งได้รับการใส่ PET operon เช่นเดียวกับสายพันธุ์ K011 สายพันธุ์ *E.coli* K011 ได้ถูกนำมาใช้ในการผลิตเอทานอล ในระดับอุตสาหกรรม โดยบริษัท BC International [20] *K. oxytoca* มีความสามารถในการใช้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวหลายหลากชนิด และยังสามารถใช้น้ำตาล cellobiose และ cellotriose อีกด้วย Cellobiose และ cellotriose เป็น intermediates ที่เกิดจากการย่อยเซลลูโลส P2 จึงช่วยลดความต้องการในการใช้เอนไซม์เซลลูเลสลงได้ ยังมีผลงานการวิจัยด้านพันธุวิศวกรรมของจุลินทรีย์ สำหรับการผลิตเอทานอลอยู่อีกมาก แต่ไม่สามารถนำมาอภิปรายได้หมดในที่นี้ผู้ที่ต้องการข้อมูลเพิ่มเติมอาจหาข้อมูลได้จากบทความวิจัยของ Aristidou and Penttila [21] นอกจากศาสตร์ทางด้านพันธุวิศวกรรม (Genetic Engineering) แล้ว นักวิจัยยังนำศาสตร์ทางด้าน Metabolic Engineering และ Protein Engineering มาประยุกต์ใช้เพื่อพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตเอทานอลอย่าง

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบลักษณะของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักปัจจุบัน [22-24]

ลักษณะที่เปรียบเทียบ	ชนิดจุลินทรีย์และลักษณะของสายพันธุ์ที่ผ่านการปรับปรุงสายพันธุ์มาแล้ว		
	Saccharomyces cerevisiae [22]	*Escherichia coli* [23]	*Zymomonas mobilis* [24]
Growth rate	0.5-0.6 per hour, 30°C	0.8-1.4 per hour, 37°C	Fast growing
Health & Safety	GRAS (generally regarded as safe)	Non GRAS	Non GRAS
Genome sequence	Completely known	Completely known	Not complete
Ethanol tolerance	10-15% at 32°C 18-20% at 30°C	7-8% at 30°C, not grow above this temperature and this ethanol concentration	11% at 32°C 12-15% at 38°C
pH	3.5-4.5	6-7	3.6-3.8 (for some strains)
Processing requirement	Non-aseptic or sterilization	Aseptic condition needed	Not known
Recyclibility	Easy	Difficult	Relatively difficult
Pentose fermentation	Enable (recombinant)	Enable	Enable
Genetic stability	High (recombinant)	Medium	Medium
Substrate specificity	Relatively specific	Broadly specific	Specific

ตารางที่ 4 ลักษณะที่พึงประสงค์ของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมัก [25]

Temperature	ปัจจุบันการหมักทำกันที่ 30-38 °C สำหรับยีสต์ (*S. cerevisiae*) แต่การหมักที่อุณหภูมิที่สูง 55-70 °C สำหรับบางสายพันธุ์จะช่วยลดปัญหาเรื่อง contamination และ alcohol recovery
pH	แบคทีเรียส่วนมากเจริญที่ pH 6.5-7.5 ส่วนยีสต์และเชื้อราสามารถเจริญที่ pH 3.5-5 การหมักที่ pH ต่ำจะสามารถลดปัญหาเรื่อง contamination แต่ปัจจุบันยังมีปัญหาเรื่องการ denature ของโปรตีนที่ pH ต่ำ
Ethanol tolerance	โดยปกติจุลินทรีย์ สามารถเจริญได้ที่ความเข้มข้นของเอทานอลประมาณ 10-15% ที่ความเข้มข้นของเอทานอลสูงกว่านี้จะทำให้เกิดการ denature ของโปรตีน ที่อุณหภูมิมากกว่า 35°C และที่ความเข้มข้นของเอทานอล 10% จุลินทรีย์อาจหยุดการทำงาน หรือตายได้
Productivity	อย่างน้อย 95% ของผลที่ควรได้ตามทฤษฎี
Osmotic pressure	จุลินทรีย์ที่ต้องการ ควรทำงานได้ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลที่สูง
Genetic stability	ไม่มีการกลายพันธุ์หลังจากการใช้หลายๆครั้ง
Cell mass recycle	สามารถนำเซลล์กลับมาใช้ได้อีกหลังการหมักสิ้นสุด หรือกำจัดเซลล์ที่ไม่ต้องการได้ง่าย
Health & safety	จัดเป็น GRAS ซึ่งปลอดภัยและไม่ก่อโรค เช่น *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus lichenformis, Bacillus subtilis, Aspergillus niger, Aspergillus oryzae*

ต่อเนื่อง Aristidou and Penttila [21] และ Zaldivar et al. [17] ได้รวบรวมและอภิปรายงานวิจัยด้านนี้ไว้

4.3 เทคโนโลยีด้านกระบวนการ

SSF ได้ถูกศึกษามานานกว่า 20 ปี และช่วยลดต้นทุนการผลิตเอทานอลได้อย่างมาก เนื่องจากการทำงานของเซลลูเลสเกิดขึ้นระหว่างการหมัก [26-27] SSF เป็นกระบวนการที่รวมเอาขั้นตอนของการเปลี่ยนวัสดุประเภทเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลกลูโคสและการหมักน้ำตาลกลูโคสให้เป็นเอทานอลมาไว้ในขั้นตอนเดียวกัน เทคโนโลยีอีกแบบหนึ่งเรียกว่า SSCF เป็นการรวมขั้นตอนของการเปลี่ยนวัสดุประเภทเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลเฮกโซสและเพนโทสตามลำดับและการหมักน้ำตาลเฮกโซสและเพนโทสให้เป็นเอทานอลเข้าด้วยกัน เป็นขั้นตอนเดียว SSF และ SSCF ยังช่วยแก้ปัญหากลไกการยับยั้งแบบ negative feedback mechanism ซึ่งคือการยับยั้งการเปลี่ยนเซลลูโลสให้เป็นกลูโคส เมื่อความเข้มข้นของกลูโคสสูงขึ้น [19] ข้อดีอีกประการหนึ่งคือ SSF และ SSCF ช่วยลดต้นทุนด้านอุปกรณ์ เนื่องจากขั้นตอน Saccharification และ Fermentation เกิดขึ้นในถังปฏิกรณ์เดียวกัน การพัฒนากระบวนการอื่นๆ รวมถึงการพัฒนากระบวนการผลิตเอทานอลแบบต่อเนื่อง (Continuous process) การนำเซลล์ยีสต์กลับมาใช้ใหม่ (Yeast recycle) แต่ยังไม่มีการศึกษา

ตารางที่ 5 สรุปแนวทางการพัฒนาปรับปรุงการใช้เทคโนโลยีชีวภาพสำหรับผลิตเอทานอล [10, 12, 28]

Technology	Level of difficulty	Status in Thailand	Status abroad
Enzyme Technology			
Strain selection	Medium	R&D, pilot scale	Commercialized
Genetic engineering			
- Synergism	Medium	R&D	R&D
- Decrystalization	High	R&D	R&D
- Specific activity	Medium	R&D	R&D
- Thermal tolerance	Low	R&D	R&D
Protein engineering (non specific binding)	High	R&D	R&D, pilot scale
Fermentation Technology			
Strain selection	Medium	R&D, pilot	Commercialized
Yeast genetic engineering			
- ethanol tolerance	Medium	R&D	R&D, pilot scale
- temp. tolerance	High	R&D	R&D, pilot scale
- hydrolyzate tolerance	Medium-high	R&D	R&D, pilot scale
- broader substrate range	Medium-high	R&D	R&D, pilot scale
- other microorganisms	Medium	R&D	R&D, pilot scale
- pentose fermentation	Medium-high	R&D	R&D, pilot scale
Process Development (SSF, SSCF and application)	Medium	R&D	Semi-and fully- commercialized (California, Hawaii)

ต่อเนื่องอย่างกว้างขวางมากนักจึงไมขอนำมาอภิปรายในที่นี้ แต่ทั้งสองเทคนิคจะมีความสำคัญต่อไปในอนาคต

5. ความเป็นไปได้ในการนำเทคโนโลยีมาใช้ในการผลิตระดับการค้า

งานวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีสำหรับการผลิตเอทานอลแบ่งออก เป็น 3 ด้าน คือ

1. ด้านการพัฒนาเอนไซม์
2. ด้านการพัฒนาเทคโนโลยีการหมัก
3. ด้านการพัฒนากระบวนการ

ตารางที่ 5 แสดงสถานภาพของเทคโนโลยีต่างๆ ที่เกี่ยวข้องเทคโนโลยีต่างมีความยากง่ายต่างกัน เทคโนโลยีบางประเภท เช่น การคัดเลือกสายพันธุ์ (Strain selection) มีระดับความยากง่ายปานกลางและได้ถูกนำมาใช้ในระดับการค้าแล้วในขณะที่เทคโนโลยีบางประเภท เช่น พันธุวิศวกรรมของยีสต์มีระดับความยากมาก และยังอยู่ในการวิจัยและพัฒนาในระดับห้องปฏิบัติการ หรือโรงงานต้นแบบ ซึ่งอาจต้องใช้เวลานานอีกหลายปีก่อนที่จะนำมาใช้ในการผลิตระดับการค้า

หมายเหตุ

บทความนี้ไม่ได้อภิปรายเกี่ยวกับเทคโนโลยี Biomass Gasification and Fermentation ซึ่งเป็นเทคโนโลยีการผลิตไบโอเอทานอลเช่นกัน มีหลักการด้านเทคนิคคือ ขั้นตอนแรกเป็นการเปลี่ยนชีวมวล เป็นก๊าซสังเคราะห์ หลักๆ คือ CO, CO_2 และ H_2 โดยกระบวนการ gasification ที่อุณหภูมิสูง ซึ่งจุลินทรีย์ไม่ใช้อากาศบางชนิด เช่น *Clostridium ljungdahlii* สามารถเปลี่ยนก๊าซสังเคราะห์เหล่านี้เป็นเอทานอล [29]

เอกสารอ้างอิง

1. http://www.eia.doe.gov/emeu/ cabs/thailand.html
2. http://www.findarticles.com/cf_ dls/m3159/ 4_221/61893068/p1/article.jhtml
3. คณะกรรมาธิการพลังงาน สภาผู้แทนราษฎร. *พลังงานทดแทน เอทานอลและไบโอดีเซล.* 2545.
4. http://www.tallcornethanol.com/process.html
5. http://www.dit.go.th/
6. http://www.ethanol-thailand.com/

7. http://www.ott.doe.gov/biofuels/research_partnerships.html
8. Gatto,S. "Ethanol from biomass-the next generation." Workshop on biomass derived ethanol as automotive fuels in Thailand, Bangkok, Thailand. 2000.
9. http://www.arkenol.com
10. Shleser, R. "Ethanol production in Hawaii : Processes, feedstocks, and current economic feasibility of fuel grade ethanol production in Hawaii, prepared for State of Hawaii, Department of Business, Economic Development and Tourism." Honolulu: Energy Division, Dept. of Business, Economic Development and Tourism. HD9502.5. B54.S4. 1994.
11. Laser, M., et al. "A comparison of liquid hot water and steam pretreatments of sugar cane bagasse for bioconversion to ethanol." *Bioresource Technology.* 81, 1 (2002) : 33-44.
12. Lynd, L.R., et al. "Microbial cellulose utilization: Fundamentals and Biotechnology." *Microbiology and Molecular Biotechnology Reviews.* 66 (2002) : 506-577.
13. http://www.eia.doe.gov/oiaf/analysispaper/biomass.html
14. http://www.bcintcorp.com
15. http://www.nonfood.bme.hu/research01.html
16. Sthiannopkao,S. "Ethanol production technology in Thailand." *Asian Journal of Energy & Environment.* 3,1-2 (2002) : 27-51.
17. Zaldivar,J., Nielsen,J. and Olsson,L. "Fuel ethanol ethanol production from lignocellulose: a challenge for metabolic engineering and process integration." *Applied Microbiology and Biotechnology.* 56 (2001) : 17-34.
18. http://www.nrel.gov/technologytransfer/licenselist_new.html#biotech
19. Ingram, L.O. "Enteric bacterial catalysts for fuel ethanol production." *Biotechnology Progress.* 15 (1999) : 855-866.
20. http://www.otl.ufl.edu/otl/success_s1.html
21. Aristidou, A. and Penttila,M. "Metabolic engineering applications to renewable resource utilization." *Current Opinion in Biotechnology.* 11 (2000) : 187-198.
22. Golias, H., et al. "Evaluation of a recombinant *Klebsiella oxytoca* strain for ethanol production from cellulose by simultaneous saccharification and fermentation." *Journal of Biotechnology*. 96 (2002) : 155-168.
23. Ingram, L.O., et al. "Metabolic engineering of bacteria for ethanol production." *Biotechnology and Bioengineering.* 58 (1997) : 204-214.
24. Ostergaard,S., Olsson,L. and Nielsen,J. "Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae*." *Microbiology and Molecular Biology Reviews.* 64 (2002) : 34-50.
25. Hettenhaus, J. R. "Ethanol fermentation strains, present and future requirement for biomass to ethanol commercialization." US DOE Office of Energy Efficiency and Renewable Energy, 1998.
26. Mielenz, J. "Ethanol production from biomass: technology and commercialization status." *Current opinion in microbiology.* 4, (2001) : 324-329.
27. Wyman, C. "Biomass ethanol: technical progress, opportunities, and commercial challenges." *Annual Review of Energy and the Environment.* 24 (1999) : 189-226.
28. Sheehan, J.and Himmel, M. "Enzymes, Energy and the Environment: A strategic perspective on the U.S. Department of Energy's research and development activities for bioethanol." *Biotechnology Progress.* 15 (1999) : 817-827.
29. http://www.ott.doe.gov/biofuels/gasification.html