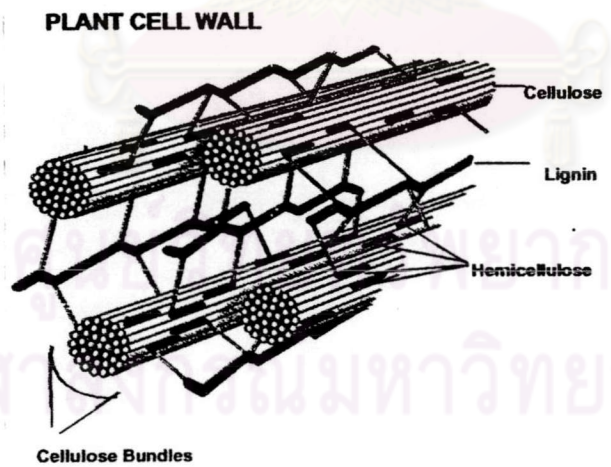
บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

ชีวมวล (biomass) เป็นคำที่มีความหมายกว้าง แต่โดยทั่วไปแล้วจะหมายถึงสารอินทรีย์ที่พืชสร้างขึ้นโดยกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ซึ่งสารอินทรีย์เหล่านี้จะประกอบอยู่ในผนังเซลล์ของส่วนต่างๆ ของพืช โดยทั่วไปชีวมวลมักจะหมายถึงวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส (Blackburn et al. 1999) ซึ่งเป็นแหล่งทรัพยากรประเภทหมุนเวียนกลับมาใช้ใหม่ได้ (renewable resource) ที่มีปริมาณมากที่สุดในโลก ในแต่ละปีทั่วโลกมีผลผลิตชีวมวลประมาณ 1.8×10^{15} กิโลกรัม (Eveleigh, 1987: cited in Philippidis, 1996)

ชีวมวลจะประกอบด้วยสามส่วนหลักคือ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน (ภาพที่ 1) และอาจมีสารประกอบอื่นๆ ที่มีปริมาณแตกต่างกันไปตามชนิดของพืช เช่น สารที่สกัดออกมาได้ (extractives) เช่น เทอร์พีน เรซิน และฟีนอล และสารที่สกัดออกมาไม่ได้ (nonextractives) เช่น ออกซาเลต และผลึกซิลิกา โดยทั่วไปแล้วเซลลูโลสจะมีปริมาณมากที่สุด รองลงมาคือ เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ตามลำดับ (McMillan, 1994)



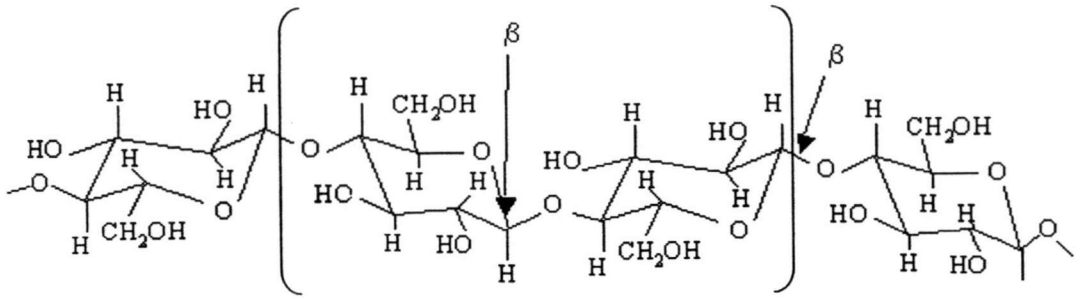
ภาพที่ 1 ผนังเซลล์ของพืชที่ประกอบด้วยเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสที่อยู่ในโครงสร้างคล้ายมัดเส้นใย (bundle-like structure) และมีลิกนินที่ทำหน้าที่คล้ายกับกาวเชื่อมเส้นใยให้อยู่ด้วยกัน (Blackburn et al. 1999)

เซลลูโลส

เซลลูโลสเป็นพอลิเมอร์สายตรงของ β-D-glucopyranose ที่เชื่อมต่อกันที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 1 และ 4 เซลลูโลสเป็นพอลิเมอร์ที่มีรูปแบบง่ายๆ โดยมีพันธะไฮโดรเจนเชื่อมภายในโมเลกุลและระหว่างโมเลกุล สายของกลูแคนจะมีแกนสมมาตรที่เป็นเกลียวพับสองทบ ซึ่งมีความคงตัวและแข็งเพราะพันธะภายในและระหว่างโมเลกุล ดังภาพที่ 2 บริเวณที่มีพันธะไฮโดรเจนหนาแน่นจะเรียกว่า มีรูปแบบที่เป็น crystalline ซึ่งยากต่อการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ส่วนบริเวณที่เป็น amorphus จะมีพันธะไฮโดรเจนหนาแน่นน้อย จึงย่อยสลายได้ง่ายกว่า ขนาดของโมเลกุลเซลลูโลสจะนิยามอยู่ในรูปของ Degree of polymerization (DP) ซึ่งบอกถึงจำนวนของกลูโคสในสายพอลิเมอร์ (Eriksson et al., 1990) โดยทั่วไปสายของเซลลูโลสจะประกอบด้วยกลูโคส 8,000-12,000 หน่วย (Saha and Bothast, 1997) และอาจมากถึง 14,000 หน่วย ในพืชชั้นสูงบางชนิด (Eriksson et al., 1990)

ภาพที่ 2 โครงข่ายพันธะไฮโดรเจนภายในและระหว่างโมเลกุลของสายกลูแคน (Eriksson et al., 1990)

เซลโลไบโอส คือ กลูโคส 2 โมเลกุล ซึ่งถือว่าคือหน่วยโครงสร้างพื้นฐานของเซลลูโลสมากกว่ากลูโคส เนื่องจากพันธะ β-1,4-glucosidic ที่เชื่อมระหว่างโมเลกุลกลูโคสทำให้สายพอลิเมอร์ของเซลลูโลสเหมือนต่อเชื่อมกันด้วยหน่วยของเซลโลไบโอสที่ซ้ำๆ กัน (Eriksson et al., 1990; Klass, 1998) ดังภาพที่ 3

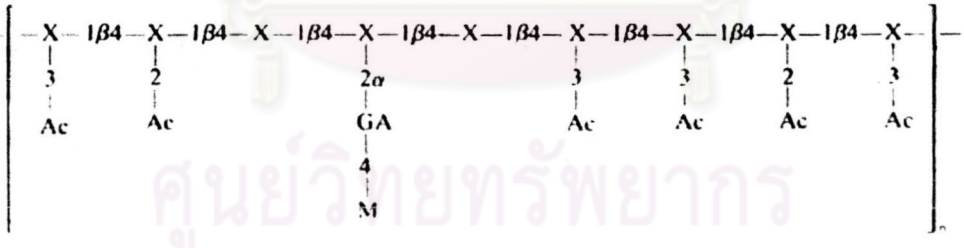


Cellobiose

ภาพที่ 3 เซลโลไบโอสและพันธะ β-1,4-glucosidic ที่เชื่อมระหว่างโมเลกุลกลูโคสในสายเซลลูโลส (http://www.ott.doe.gov/biofuels/advanced_bioethanol.html)

เฮมิเซลลูโลส

เฮมิเซลลูโลสเป็นพอลิเมอร์สายตรงที่มีกิ่งก้านสาขา ซึ่งประกอบขึ้นจากพอลิเมอร์ของน้ำตาลหลายชนิด ส่วนที่เป็นสายตรงของเฮมิเซลลูโลสส่วนใหญ่จะเป็นหน่วยของไซโลสที่เชื่อมต่อกันที่ตำแหน่ง β-1,4 ส่วนกิ่งก้านสาขาจะเป็นหน่วยของ อะราบิโนส แมนโนส กลูโคส กาแลคโตส กรดกลูคูโรนิค และน้ำตาลเพนโตสชนิดอื่น (Bungay, 1981) เฮมิเซลลูโลสส่วนใหญ่จะมีน้ำตาล 2-6 ชนิด เฮมิเซลลูโลสในไม้เนื้อแข็งจะมีค่า DP 150-200 ปริมาณของเฮมิเซลลูโลสในเนื้อไม้แห้งมักจะมีค่าอยู่ระหว่าง 20-30% ในไม้เนื้ออ่อนและไม้เนื้อแข็งจะมีความแตกต่างของลักษณะในองค์ประกอบและโครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส (Eriksson et al., 1990)



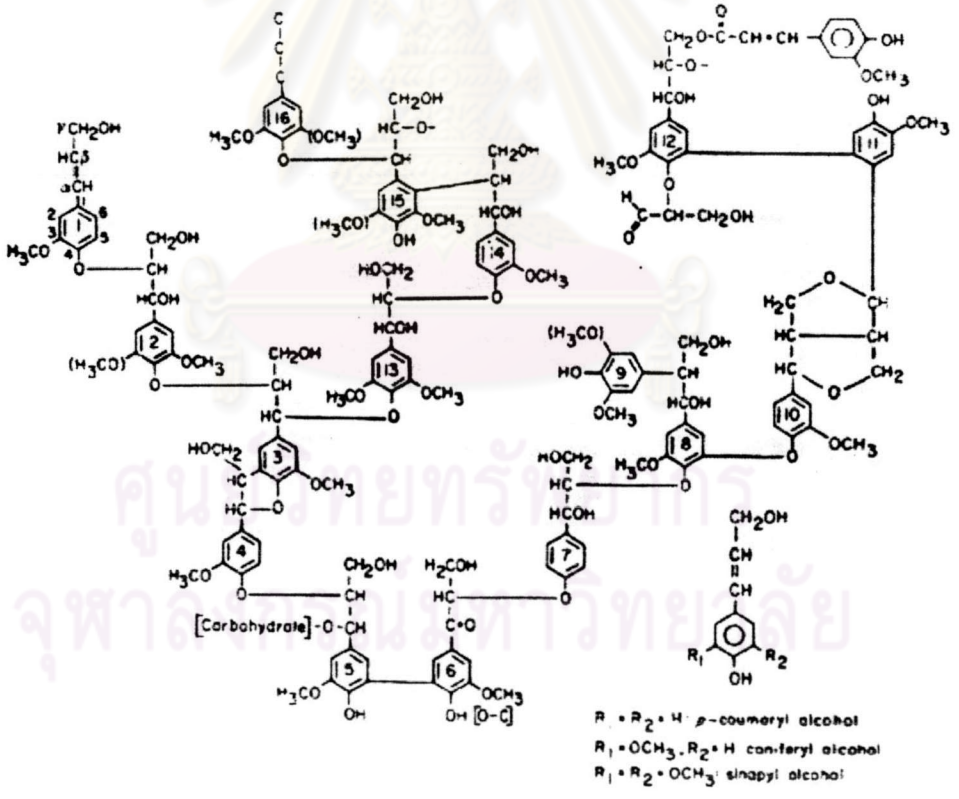
ภาพที่ 4 โครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส (Bungay, 1981)

ลิกนิน

ลิกนินเป็นพอลิเมอร์ของสารประกอบอะโรมาติกที่มีโครงสร้างซับซ้อน หน่วยย่อยของโครงสร้างนี้คือ phenyl propane ซึ่งเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ C-O-C หรือ C-C ประสานต่อกันเป็นพอลิเมอร์ขนาดใหญ่ ดังภาพที่ 5

ลิกนินพบได้ในพืชที่มีท่อลำเลียงโดยทำหน้าที่เสริมสร้างความแข็งแรงและเชื่อมจับเส้นใยของผนังเซลล์เข้าไว้ด้วยกัน ลิกนินยังช่วยลดการผ่านเข้าออกของน้ำผ่านผนังเซลล์ของเนื้อเยื่อไซเลม และทำให้เนื้อไม้มีความต้านทานต่อการโจมตีของจุลชีพได้ นอกจากนี้ลิกนินยังเป็นอุปสรรคที่สำคัญในการที่จะใช้ประโยชน์จากเซลลูโลสอย่างมีประสิทธิภาพเพื่อการผลิตเอทานอล และน้ำตาล (Eriksson et al., 1990) เนื่องจากลิกนินจะทำหน้าที่เชื่อมต่อกับเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสด้วยพันธะโควาเลนต์ เกิดเป็นสารประกอบลิกโนเซลลูโลสที่มีกิ่งก้านสาขามากมาย มีโมเลกุลขนาดใหญ่ตั้งแต่ 600,000-1,000,000 ดาลตัน (Kirk and Farrell, 1987)

ในไม้เนื้ออ่อนทั่วไป (พวกจิมโนสเปิร์ม) ลิกนินจะมีองค์ประกอบหลักเป็น coniferyl alcohol และมี p-coumaryl alcohol อยู่บ้าง แต่จะไม่มี sinapyl alcohol ส่วนในไม้เนื้อแข็ง (พวกแองจิโอสเปิร์ม) ลิกนินจะมีองค์ประกอบของ coniferyl alcohol และ sinapyl alcohol ในปริมาณที่เท่ากัน (46%) และจะมี p-coumaryl alcohol อยู่เล็กน้อย (8%) สำหรับลิกนินในพืชจำพวกหญ้าจะประกอบด้วยแอลกอฮอล์ทั้งสามชนิดนี้



ภาพที่ 5 แบบจำลองโครงสร้างของลิกนินในไม้เนื้ออ่อน

(Adler, 1977: cited in Kirk and Farrell, 1987)

การใช้ประโยชน์จากชีวมวลเป็นเชื้อเพลิง

ชีวมวลของพืชเป็นแหล่งพลังงานที่มนุษย์ใช้มาตั้งแต่ในอดีต ปัจจุบันแหล่งของชีวมวลมีอยู่หลายรูปแบบ เช่น พืชที่ปลูกเพื่อใช้เป็นพืชพลังงานโดยเฉพาะ เศษไม้ วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร วัสดุเหลือทิ้งจากฟาร์มปศุสัตว์ และวัสดุเหลือทิ้งจากชุมชนและอุตสาหกรรม ซึ่งชีวมวลเหล่านี้สามารถนำมาใช้ประโยชน์หลักๆ ได้ดังนี้ คือ

- การเผาไหม้โดยตรง (direct combustion) เพื่อให้เกิดความร้อนสำหรับใช้ประกอบอาหาร และให้ความ อบอุ่น
- การเผาไหม้โดยตรงเพื่อให้เกิดความร้อนต้มน้ำให้เดือดเกิดไอน้ำ เพื่อใช้ในการผลิตกระแสไฟฟ้า
- การย่อยสลายทางชีวภาพหรือทางเคมีและผ่านกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพ (bioconversion) เพื่อให้ได้เชื้อเพลิงเหลว เช่น เอทานอล ก๊าซ และ/หรือสารเคมีที่มีราคาแพง

ความหลากหลายของแหล่งชีวมวลที่ใช้เป็นพืชพลังงานนั้นมีมาก ซึ่งยากที่จะบอกจำนวนที่ใช้ทั่วโลกได้ แต่อย่างไรก็ตามสามารถประมาณได้ว่าชีวมวลจากพืชนั้นใช้เป็นพลังงาน**ในทั่วโลก ประมาณ 15 เปอร์เซ็นต์ และคิดเป็น 38 เปอร์เซ็นต์ ของพลังงานที่ใช้ในประเทศกำลังพัฒนา** (Hall et al., 1993)

มีพืชมากมายหลายชนิดที่เหมาะสมต่อการปลูกเพื่อใช้เป็นพืชพลังงาน ได้แก่

- **ไม้เนื้อแข็ง** (hardwood) **โตเร็ว เช่น** willow poplar **และยูคาลิปตัส จะปลูกในลักษณะที่เป็นการเก็บเกี่ยวรอบสั้นๆ คือ เก็บเกี่ยวทุก 2 ถึง 6 ปี (แล้วแต่ชนิดของพืช)**
- **ไม้ล้มลุก** (herbaceous) **โตเร็ว เช่น อัลฟาฟา**
- **หญ้าอายุสั้นปีเดียว** (annual grass) **หญ้าอายุหลายปี** (perennial grass) **เช่น ข้าวฟ่าง** (sorghum) switchgrass Miscanthus cynara **และปอชวา** (kenaf) **เป็นต้น** หญ้าอายุสั้นปีเดียวจะต้องปลูกใหม่ทุกปี แต่หญ้าอายุหลายปีสามารถเก็บเกี่ยวได้ทุกปีเป็นเวลาหลายปีจึงจะปลูกใหม่

การใช้วัชพืชจำพวกหญ้าเป็นพืชพลังงาน

ชีวมวลที่ได้จากพืชจำพวกหญ้าเป็นแหล่งพลังงานที่น่าสนใจ เนื่องจากมีราคาถูก และมีเป็นจำนวนมาก อีกทั้งหญ้ายังเป็นวัชพืช ดังนั้นการใช้ชีวมวลจากหญ้าเป็นแหล่งพลังงานจึงเป็นการใช้ทรัพยากรให้เกิดประโยชน์สูงสุด

การศึกษาถึงการนำชีวมวลจากวัชพืชจำพวกหญ้ามาใช้เป็นพืชพลังงาน (energy crop) มีมากในทวีปอเมริกาและยุโรป เนื่องจากเริ่มมีการตระหนักถึงความต้องการที่จะหาพลังงานทดแทนเชื้อเพลิงฟอสซิล เช่น น้ำมัน และถ่านหิน ซึ่งกำลังจะหมดไปในอนาคต ประกอบกับผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมเมื่อใช้น้ำมันและถ่านหินเป็นเชื้อเพลิง พืชในตระกูลหญ้าหลายชนิดที่ได้มีการศึกษาถึงการนำมาใช้เป็นพืชพลังงาน เช่น switchgrass miscanthus reed canary grass giant reed เป็นต้น

switchgrass (*Panicum vergatum* L.) เป็นพืชในวงศ์ Poaceae เป็นหญ้าอายุหลายปี เจริญเติบโตในเขตอบอุ่น ในปี 1985 U.S. Department of Energy (US-DOE) เริ่มโครงการที่จะพัฒนาและเลือกหาพืชล้มลุกที่มีราคาถูก มีศักยภาพในการผลิตชีวมวลให้ได้ผลผลิตที่สูงและมีต้นทุนต่ำ ซึ่งเป้าหมายของ DOE Herbaceous Energy Crop Program คือ เพื่อผลิตเชื้อเพลิงเหลวจากชีวมวลเพื่อแข่งขันทางราคากับโดยเน้นการใช้ประโยชน์บนพื้นที่ที่อยู่ริมขอบ ซึ่งจำกัดชนิดของพืชที่ปลูก เพราะมีการพังทลายของดินหรือปัจจัยอื่นๆ เกี่ยวกับดิน (Samson, 1991)

ในปี 1991 US-DOE ได้เลือก switchgrass เป็นต้นแบบของพืชพลังงานที่เป็นพืชล้มลุกในการพัฒนาเทคโนโลยีที่จะผลิตพืชพลังงาน ซึ่งเป็นทรัพยากรประเภทหมุนเวียนกลับมาใช้ใหม่ได้เพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิงในการขนส่ง หรือพลังงานจากชีวมวลที่ใช้ในการผลิตกระแสไฟฟ้า (Lynd et al., 1991) เนื่องจาก switchgrass ให้ผลผลิตที่สูงในช่วงของภูมิศาสตร์ที่กว้าง และเหมาะที่จะปลูกในพื้นที่ที่อยู่ริมขอบ ต้องการน้ำและสารอาหารต่ำ และได้ประโยชน์ต่อสิ่งแวดล้อม คือ ป้องกันการพังทลายของดิน เพิ่มการสะสมของสารอินทรีย์ในดิน และเป็นพื้นที่ที่นกใช้ในการผสมพันธุ์ (Tolbert and Wright, 1998)

switchgrass เป็นพืชพลังงานที่สำคัญของสหรัฐอเมริกาและแคนาดา มีงานวิจัยหลายงานของสหรัฐอเมริกาที่รายงานถึงค่าใช้จ่ายในการผลิต switchgrass ว่าน้อยกว่า 30 ดอลลาร์ต่อตัน โดยใช้สายพันธุ์ที่พัฒนาขึ้นในปี 1950 ทั้งนี้มีจุดประสงค์ในการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้ผลผลิตชีวมวลสูงสุดมากกว่าคำนึงถึงคุณภาพของใบ และมีต้นทุนการผลิตต่ำ (Samson, 1991)

Samson และคณะ (2000a) และ Samson และคณะ (2000b) ได้รายงานถึงการใช้ switchgrass เป็นพืชพลังงานที่ใช้เผาไหม้โดยตรง โดยมีการปรับปรุงประสิทธิภาพการเผาไหม้ด้วยการทำ switchgrass ให้อยู่ในรูปเม็ด ซึ่งสะดวกในการใช้และการควบคุมการเผาไหม้ได้

switchgrass ที่อยู่ในรูปเม็ดสามารถให้พลังงานความร้อนที่มีประสิทธิภาพ 82-84 เปอร์เซ็นต์ (ใกล้เคียงกับประสิทธิภาพของ pellet ที่ได้จากเนื้อไม้ (wood) คือ 84-86 เปอร์เซ็นต์) โดยเผาในเตาเผาแบบ close coupled gasifier pellet stove ของศูนย์วิจัยพลังงานชีวภาพ

Dell-Point ประเทศแคนาดา ที่ออกแบบเพื่อใช้กับเชื้อเพลิงที่มีปริมาณเถ้าสูงปานกลาง switchgrass pellet มีคุณภาพที่จะใช้เป็นเชื้อเพลิงเผาไหม้โดยตรง เพราะมีปริมาณคลอรีน โปแตสเซียม และซิลิกาต่ำ เนื่องจากถ้ามีปริมาณคลอรีน และโปแตสเซียมสูง เมื่อเผาไหม้แล้ว เถ้าที่เกิดขึ้นจะหลอมละลายที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส (1250 องศาฟาเรนไฮต์) และหลอมรวมกับซิลิกา เตาเผาชนิดพิเศษนี้สามารถช่วยลดการเกิดเม็ดก้อนที่หลอมละลายได้ (clinker) การดูแลในการปลูกก็สามารถลดแร่ธาตุเหล่านี้ได้ Sander (1997) แนะนำว่า ปริมาณของโปแตสเซียมและคลอรีนในชีวมวลไม่ควรเกิน 0.2 เปอร์เซ็นต์ และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ กลยุทธ์ที่ใช้คือ การหลีกเลี่ยงที่จะใช้ปุ๋ยที่มีคลอรีน การรดน้ำ เพราะจะทำให้ซิลิกาเคลื่อนย้ายเข้าไปพืชมากโดยเปลี่ยนเป็น silicic acid ในน้ำ และการปลูกในดินทรายซึ่งมีปริมาณของ silicic acid ต่ำ (Samson and Mehdi, 1998; Sander, 1997)

ค่าพลังงาน (energy content) ที่ได้จาก switchgrass pellet มีค่า 19.4 GJ/t (MJ/kg) ช่วงการเก็บเกี่ยว switchgrass ในฤดูต่างกันก็ให้ค่าพลังงานที่ได้ต่างกัน กล่าวคือ switchgrass ที่เก็บเกี่ยวในฤดูใบไม้ผลิ มีค่าพลังงานเฉลี่ย 19.2 GJ/t ซึ่งน้อยกว่าค่าพลังงานที่ได้จากเนื้อไม้ที่อยู่ในรูปเม็ดเพียง 3% ส่วน switchgrass ที่เก็บเกี่ยวในฤดูใบไม้ร่วง มีค่าพลังงานประมาณ 18.5 GJ/t ซึ่งน้อยกว่าค่าพลังงานที่ได้จาก wood pellet 6.6% ดังนั้น switchgrass ที่เก็บเกี่ยวในฤดูใบไม้ผลิ จะมีค่าพลังงานที่สูงกว่า switchgrass ที่เก็บเกี่ยวในฤดูใบไม้ร่วง เนื่องจากมีปริมาณเถ้าต่ำกว่า (Samson et al., 2000a)

ในทวีปยุโรปก็มีการศึกษาถึงการนำวัชพืชจำพวกหญ้ามาใช้เป็นพืชพลังงานเช่นกัน หญ้าที่น่าสนใจนั้นมีทั้งที่เป็นพืช C_4 เช่น miscanthus และพืช C_3 เช่น reed cananry grass และ giant reed

miscanthus (*Miscanthus* spp.) หรือ elephant grass มีหลายสปีชีส์ เช่น *Miscanthus sinensis* *Miscanthus sacchariflorus* เป็นต้น *M. x giganteus* หรือ *M. sinensis* "Giganteus" เป็นสายพันธุ์ลูกผสมที่เป็นหมัน (triploid, n = 57) ที่มีขนาดลำต้นสูงใหญ่ สามารถทนต่อสภาพอากาศที่หนาวเย็นได้ดี และเป็นพืชที่มีคุณสมบัติด้านการเป็นพืชพลังงานที่ดี จึงมีการศึกษาเพื่อนำหญ้าชนิดนี้มาใช้ในยุโรปต่อไป

miscanthus เป็นพืชพลังงานที่มีศักยภาพเทียบเท่ากับ switchgrass ซึ่งเป็นพืชพลังงานในสหรัฐอเมริกา เนื่องจาก miscanthus มีคุณสมบัติของการเป็นพืชพลังงานที่ดี คือ มีผลผลิตชีวมวลสูง มีค่าพลังงานความร้อนสูง มีเปอร์เซ็นต์ความชื้นต่ำ มีปริมาณโฮโลเซลลูโลสสูง ความหนาแน่นในการอัดตัวเป็นฟ่อนสูง มีปริมาณเถ้าต่ำ และมีปริมาณซัลเฟอร์ต่ำ ดังตารางที่ 1 (Scurlock, 1998; Lewandowski et al., 2003)

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบคุณสมบัติในการเป็นพืชพลังงานของ miscanthus กับ switchgrass (Scurlock, 1998; Lewandowski et al., 2003)

Fuel property	Miscanthus (*Miscanthus* spp.)	Switchgrass (*Panicum virgatum*)
Heating value (dry; GJ/t or MJ/kg)	17.1-19.2	17.0
Moisture content at harvest (%)	15	15
Chopped density at harvest (kg/m^3)	70-100	108
Baled density [compacted bales] (kg/m^3)	130-150	105-133
Holocellulose (cellulose + hemicellulose) (%)	64-71	54-67
Ash content (%)	1.6-4.0	4.5-10.5
Ash fusion (melting) temperature (C) [temperature at which some sintering observed]	1020	1016
N (% of DM)	0.19-0.67	0.71-1.37
S (% of DM)	0.1	0.12

การที่ชีวมวลมีปริมาณธาตุอาหารต่ำนั้นเป็นสิ่งที่ดี ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่สำคัญของพืชพลังงาน เนื่องจากในการเผาไหม้ชีวมวลซึ่งมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบหนึ่งจะทำให้มีไนโตรเจนออกไซด์เกิดขึ้น ซึ่งจะทำให้เกิดฝนกรดได้ (Beale and Long, 1997) นอกจากนี้การเผาไหม้ชีวมวลจะมีการปลดปล่อยก๊าซที่เป็นมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อมน้อยมาก ซึ่งพบว่าแม้จะเกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากการเผาไหม้ชีวมวล แต่ปริมาณที่เกิดขึ้นก็ยังต่ำกว่าก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดจากการเผาไหม้เชื้อเพลิงฟอสซิล (Lewandowski, Kicherer, and Vonier, 1995)

Lewandowski และคณะ (1995) ได้เปรียบเทียบการเกิดก๊าซที่เป็นมลภาวะจากการเผาไหม้ของ *M. x giganteus* กับถ่านหิน พบว่าเกิดก๊าซไนโตรเจนออกไซด์ และก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ต่ำกว่า เนื่องจากชีวมวลมีปริมาณของไนโตรเจนและซัลเฟอร์ที่ต่ำ และปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นก็ต่ำกว่า พลังงานที่ได้จากการเผาไหม้ *M. x giganteus* 20 ตัน จะเท่ากับพลังงานที่ได้จากการเผาไหม้ถ่านหิน 12 ตัน และพบว่าถ้าได้ผลผลิต 20 ตัน (น้ำหนักแห้ง) ต่อเฮกแตร์ ในแต่ละเฮกแตร์ของผลผลิตจะลดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้น 31 ตันต่อปีเมื่อเทียบกับถ่านหิน หรือลดลง 90 เปอร์เซ็นต์

พืช C_3 เช่น reed cananry grass (*Phalaris arundinacea* L.) และ giant reed (*Arundo donax* L.) เป็นหญ้าที่มีการศึกษาเพื่อนำมาใช้เป็นพืชพลังงานในยุโรปและประเทศแถบเมดิเตอร์เรเนียน แม้ว่าจะมีผลผลิตต่ำกว่าเมื่อเทียบกับหญ้าที่เป็นพืช C_4 แต่ในภูมิประเทศที่เป็นเขตหนาวเย็นมาก เช่น ในประเทศสวีเดน และฟินแลนด์ อุณหภูมิจะเป็นสิ่งจำกัดความสามารถในการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช C_4 แต่พืช C_3 จะมีความได้เปรียบกว่า

reed cananry grass มีข้อดีในการเป็นพืชพลังงานคือ เป็นหญ้าท้องถิ่นของยุโรป จึงสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพอากาศที่หนาวได้ สามารถปลูกได้ด้วยเมล็ดและมีระยะเวลาการเก็บเกี่ยวที่สั้น มีคุณสมบัติในการเผาไหม้ที่ดีเมื่อเปรียบเทียบกับไม้เนื้อแข็ง และมีฐานพันธุกรรมที่กว้างและหลากหลาย ซึ่งดีต่อการปรับปรุงพันธุ์ (Lewandowski, 2003)

reed cananry grass เป็นพืชพลังงานที่สำคัญในประเทศสวีเดน (Johansson and Lundqvist, 1999) Paulrud และ Nilsson (2001) รายงานถึงการใช้ reed cananry grass ในรูปเม็ดสำหรับเผาไหม้ จากการทดลองพบว่า ในการเผาไหม้ตัวอย่างที่มีค่าความชื้นอยู่ในช่วงระหว่าง 7.2-8.6% จะมีค่า heating value อยู่ระหว่าง 16.2-16.3 MJ/kg และมีปริมาณเถ้าอยู่ระหว่าง 5.2-5.4% ซึ่งมีอุณหภูมิหลอมของเถ้าประมาณ 1100-1650 องศาเซลเซียส

สำหรับ giant reed ซึ่งเป็นพืชพลังงานในประเทศแถบเมดิเตอร์เรเนียน มีข้อดีในการเป็นพืชพลังงานคือ เป็นหญ้าท้องถิ่น มีผลผลิตชีวมวลสูง ต้องการน้ำและไนโตรเจนต่ำ ทนต่อสภาพแล้งได้ดี และมีฐานพันธุกรรมที่กว้างและหลากหลาย จากรายงานของ Lewandowski และคณะ (2003) พบว่า ในการเผาไหม้ giant reed จะมีค่า heating value อยู่ระหว่าง 14.8-18.8 MJ/kg และมีปริมาณเถ้าอยู่ระหว่าง 4.8-7.8%

การผลิตเอทานอลจากชีวมวลพืช

เอทานอล หรือ เอทิลแอลกอฮอล์ (CH_3CH_2OH) สามารถผลิตได้จากการสังเคราะห์ทางเคมีและการหมักด้วยวิธีทางชีวภาพ ดังนี้

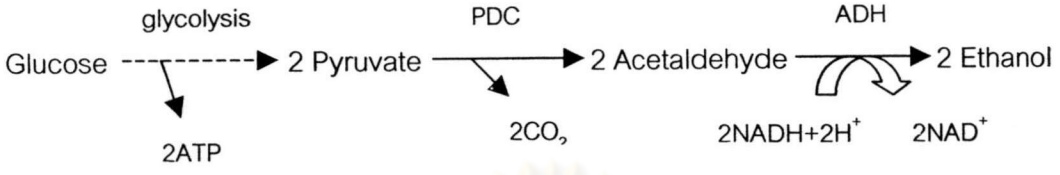
1. <u>การสังเคราะห์ทางเคมี</u> ทำได้โดยการนำเอทีลีน (ethylene) มาทำปฏิกิริยากับน้ำที่อุณหภูมิสูง ความดันสูง และใช้ทังสเตนออกไซด์ (P_2O_5) เป็น catalyst ดังสมการ (Wade, 1995)

$$H_2C{=}CH_2 + H_2O \xrightarrow[\text{catalyst}]{\text{100-300 atm, 300 }^{\circ}\text{C}} CH_3\text{-}CH_2\text{-}OH$$

2. <u>การหมักด้วยวิธีทางชีวภาพ</u> ทำได้โดยการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสให้กลายเป็น

เอทานอลด้วยการหมักที่ใช้ยีสต์ แบคทีเรีย หรือเชื้อราและแบคทีเรียบางชนิดที่สามารถย่อยสลายและหมักเอทานอลได้โดยตรง (Philippidis, 1996)

วิถีโดยย่อของการเปลี่ยนกลูโคสไปเป็นเอทานอลด้วยยีสต์ (Walker, 1998)



PDC = pyruvate decarboxylase ADH = alcohol dehydrogenase

วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเอทานอลนอกจากน้ำตาลและแป้ง ยังสามารถใช้ลิกโนเซลลูโลสหรือชีวมวลพืชเป็นวัตถุดิบได้ เนื่องจากเซลลูโลสในชีวมวลสามารถถูกย่อยสลายด้วยกรดหรือเอนไซม์ทำให้ได้กลูโคส ซึ่งนำไปใช้เป็นสับสเตรทในการหมักต่อไปได้ นอกจากนี้เฮมิเซลลูโลสก็สามารถถูกย่อยสลายให้ได้น้ำตาลไซโลส และกลูโคสบางส่วน ซึ่งใช้เป็นสับสเตรทในการหมักได้เช่นเดียวกัน

ในการผลิตเอทานอลจากเซลลูโลสในชีวมวลพืชจะประกอบด้วยขั้นตอนที่สำคัญ 3 ขั้นตอน คือ การปรับสภาพพืช การย่อยสลายเซลลูโลสเพื่อให้ได้กลูโคส และการหมัก

1. การปรับสภาพพืช

จุดประสงค์ของการปรับสภาพพืชก็คือ เพื่อที่จะแยกคาร์โบไฮเดรตออกจากการยึดจับของลิกนิน และขณะเดียวกันจะต้องมีการทำลายโครงสร้างทางเคมีของน้ำตาลให้น้อยที่สุดด้วย (Mielenz, 2001) นอกจากนี้การปรับสภาพพืชจะต้องเพิ่มความสามารถในการเข้าย่อยสลายด้วยเอนไซม์ เช่น เพิ่มพื้นที่ผิวและรูพรุนของสับสเตรท ลดความเป็น crystalline ของเซลลูโลสลง เป็นต้น

การปรับสภาพพืชมี 2 วิธีหลัก คือ ทางกายภาพ และทางเคมี

1.1 ทางกายภาพ ได้แก่ การตัด การบด การใช้รังสี การใช้ไอน้ำ (Steaming/steam explosion) และการใช้น้ำร้อน (Hydrothermolysis)

1.2 ทางเคมี ได้แก่ การใช้สารละลายกรดเจือจาง สารละลายด่างเจือจาง การใช้ตัวทำละลาย เช่น เมทานอล เอทานอล หรืออะซีโตน การใช้แอมโมเนีย ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ คาร์บอนไดออกไซด์ และสารเคมีอื่นๆ เช่น EDTA ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โปแตสเซียมเปอร์แมงกาเนต โอโซน และยูเรีย เป็นต้น

การปรับสภาพพืชเริ่มต้นในปี 1919 เมื่อ Beckmann ได้จดสิทธิบัตรการปรับสภาพพืชโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เพื่อปรับปรุงการย่อยฟางข้าวในระดับ in vitro เพื่อนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง จากนั้นมาวิธีปรับสภาพมากมายก็ได้มีการพัฒนาขึ้น (McMillan, 1994)

Koegel, Sreenath และ Straub (1997) ศึกษาถึงการใช้ liquid hot water (LHW) หรือที่เรียกว่าวิธี Hydrothermolysis ในการปรับสภาพ อัลฟาฟาเพื่อนำไปใช้ในการผลิตเอทานอล อัลฟาฟา 30 กรัม จะถูกปรับสภาพใน chamber ที่อุณหภูมิ 220 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที และมีการเพิ่มความดันเพื่อให้น้ำคงสภาพเป็นของเหลว ที่อุณหภูมิสูงเท่านี้สามารถไฮโดรไลซีสเฮมิเซลลูโลสได้เกือบทั้งหมด และไฮโดรไลซีสลิกนินได้บางส่วน ทำให้ของเหลวที่ได้จากการปรับสภาพมีน้ำตาลไซโลสอยู่มาก และมีกลูโคสรองลงมา ส่วนเส้นใยที่ผ่านการปรับสภาพแล้วจะมีปริมาณเซลลูโลสสูงขึ้น จากการทดลองพบว่าวิธีปรับสภาพนี้สามารถไฮโดรไลซีสเฮมิเซลลูโลสได้ถึง 87% ไฮโดรไลซีสลิกนินได้ 6% และมีเซลลูโลสบางส่วนที่ถูกไฮโดรไลซีส (24%) แต่เซลลูโลสยังคงมีอยู่ในเส้นใยหลังปรับสภาพ 61.4%

Sreenath และคณะ (1999) ศึกษาถึงการย่อยสลายด้วยเอนไซม์โดยใช้อัลฟาฟาที่ผ่านการปรับสภาพด้วย liquid hot water เป็นสับสเตรท ในการปรับสภาพจะได้ส่วนที่เป็นของเหลวซึ่งมีน้ำตาลไซโลส ซูโครส กลูโคส อะราบิโนส และมีกรดยูโรนิคปริมาณต่ำ ส่วนที่เป็นเส้นใยมีเซลลูโลสสูงและพบว่าได้ผลผลิตของส่วนที่เป็นเส้นใย 41% การย่อยสลายด้วยเอนไซม์เซลลูเลสมีการเปรียบเทียบระหว่างการย่อยอัลฟาฟาที่ไม่ได้ปรับสภาพ เทียบกับอัลฟาฟาที่ผ่านการปรับสภาพ พบว่า เมื่อใช้เซลลูเลส 2% และ 4% (w/v) และใช้สับสเตรท 100 กรัมต่อลิตร จะได้น้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด 51 กรัมต่อลิตร สำหรับอัลฟาฟาที่ไม่ได้ปรับสภาพ ส่วนอัลฟาฟาที่ผ่านการปรับสภาพจะได้น้ำตาลรีดิวซ์ 59-65 กรัมต่อลิตร

Sasaki, Adschiri และ Arai (2003) ศึกษาถึงการใช้ liquid hot water ในการปรับสภาพชานอ้อย จากการทดลองพบว่า 60% ของชานอ้อยเริ่มต้น จะถูกสกัดออกมาที่อุณหภูมิ 200-230 องศาเซลเซียส และอีก 30% จะถูกสกัดออกมาที่อุณหภูมิ 230-280 องศาเซลเซียส โดยที่น้ำตาลซึ่งเป็นองค์ประกอบของเฮมิเซลลูโลส ได้แก่ กาแลคโตส อะราบิโนส และไซโลส รวมถึงสารประกอบอะโรมาติกจะอยู่ในของเหลวที่สกัดได้ที่อุณหภูมิ 200-230 องศาเซลเซียส ซึ่งที่อุณหภูมินี้แทบจะไม่พบกลูโคสและเซลโลไบโอสซึ่งได้จากเซลลูโลส ในขณะที่อุณหภูมิ 230-280องศาเซลเซียส จะพบกลูโคสและเซลโลไบโอสเป็นส่วนใหญ่และพบสารประกอบอะโรมาติกเพียงเล็กน้อย

Ortega, Busto และ Perez-Mateos (2000) ศึกษาการปรับสภาพฟางข้าวสาลีโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1% (w/v) แล้วบ่มในเครื่องนึ่งความดันไอ (autoclave) อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่าสามารถลดปริมาณเฮมิเซลลูโลสได้มากและลดลิกนินได้บางส่วน และมีปริมาณเซลลูโลสในฟางข้าวเพิ่มขึ้นจาก 24% ไปเป็น 69% เมื่อเปรียบเทียบกับการปรับสภาพฟางข้าวสาลีที่ใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เข้มข้น 1% (w/v) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมงพบว่า ปริมาณเซลลูโลสในฟางข้าวเพิ่มขึ้นจาก 24% ไปเป็น 52% ซึ่งน้อยกว่าการปรับสภาพโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

2. **การย่อยสลายเซลลูโลสเพื่อให้ได้กลูโคส**

การย่อยสลายเซลลูโลสเพื่อให้ได้กลูโคสสามารถทำได้ 2 วิธี คือ วิธีทางเคมี และวิธีทางชีวภาพโดยการใช้เอนไซม์เซลลูเลส

2.1 <u>การย่อยสลายเซลลูโลสด้วยวิธีทางเคมี</u> สามารถทำได้โดยการใช้กรดเข้มข้น หรือกรดเจือจาง วิธีนี้เป็นการการย่อยสลายเซลลูโลสเพื่อให้ได้กลูโคสโดยตรง แต่ผลผลิตน้ำตาลที่ได้จะต่ำ เพราะมีการทำลายน้ำตาลที่เกิดขึ้นด้วยกรด โดยน้ำตาลจะทำปฏิกิริยาต่อไปกับกรดทำให้ได้ผลิตภัณฑ์พลอยได้ชนิดอื่น เช่น furfural และกรดยังทำปฏิกิริยากับสารอื่นที่ไม่ใช่เซลลูโลส ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ไม่ต้องการ กรดที่ใช้ในวิธีนี้ได้แก่ กรดซัลฟูริกเข้มข้น 70% หรือมากกว่า กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 40%หรือมากกว่า กรดซัลฟูริกเจือจาง 1% (w/v) เป็นต้น ในการทำปฏิกิริยาจะต้องใช้อุณหภูมิสูงประมาณ 140-160 องศาเซลเซียส ปฏิกิริยาจะเกิดแบบรุนแรงและไม่เฉพาะเจาะจง (McMillan, 1994) ภาชนะที่ใช้ต้องทนทานต่อการกัดกร่อนด้วยกรดสูงจึงมีราคาแพง นอกจากนี้น้ำทิ้งจากการย่อยสลายจะก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมเพราะมีกรดเจือปนอยู่

2.2 <u>การย่อยสลายเซลลูโลสด้วยวิธีทางชีวภาพ</u> ทำได้โดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสซึ่งจะทำปฏิกิริยาแบบไฮโดรไลซีสกับเซลลูโลส ชีวมวลพืชควรผ่านการปรับสภาพก่อนนำมาย่อยสลายด้วยเอนไซม์เพราะจะทำให้ได้ผลผลิตน้ำตาลที่สูงขึ้น การเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์จะเป็นแบบเฉพาะเจาะจง และไม่รุนแรง แต่จะใช้เวลานานกว่าวิธีทางเคมี อย่างไรก็ตามหากคำนึงสิ่งแวดล้อมแล้ววิธีการย่อยสลายจะได้เปรียบกว่า นอกจากนี้ยังสามารถนำเอนไซม์ไปใช้ในกระบวนการย่อยสลายและหมักแบบต่อเนื่องร่วมกับยีสต์ ซึ่งเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพมาก

2.2.1 <u>การทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส</u> เซลลูเลสเป็นเอนไซม์ที่มีองค์ประกอบซับซ้อน ประกอบด้วยเอนไซม์หลักสามชนิดที่ทำงานร่วมกันในการย่อยสลายเซลลูโลส (Smith and Aidoo, 1988; Radfort et al., 1996) ได้แก่

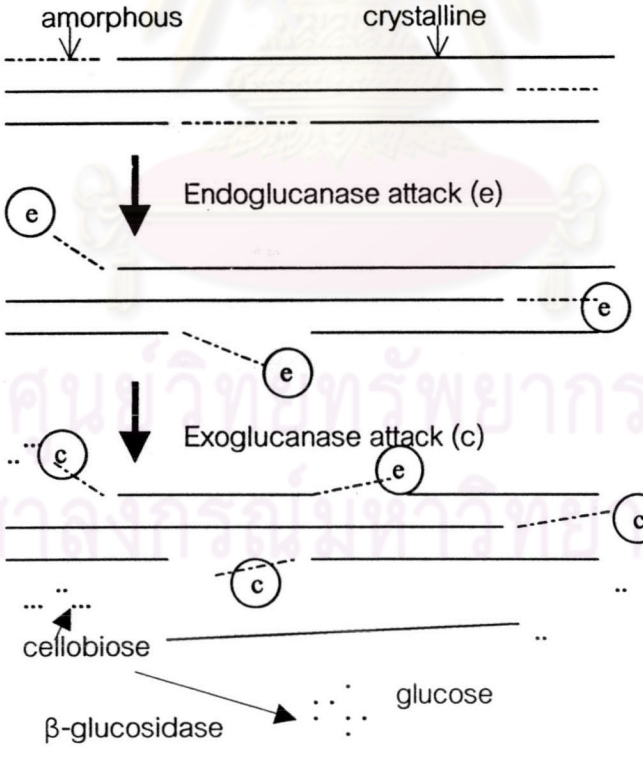
(1) exoglucanase (1,4-β-D-glucan cellobiohydrolase, [EC 3.2.1.91]) ทำหน้าที่

ตัดปลายสายส่วนที่เป็น non-reducing ของเซลลูโลส ทำให้ได้เซลโลไบโอสเป็นส่วนใหญ่ และได้กลูโคสด้วย

(2) endoglucanase (1,4-β-D-glucan 4-glucohydrolase [EC 3.2.1.4]) ทำหน้าที่ตัดพันธะ β-glucosidic โดยการตัดแบบสุ่ม ทำให้ได้กลูโคสและเซลโลไบโอส

(3) β-glucosidase (β-D-glucoside glucohydrolase [EC 3.2.1.21]) ทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกับเซลโลไบโอส และสายสั้นๆ ของ cellooligosaccharides ทำให้ได้น้ำตาลกลูโคส

การทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสเริ่มต้นที่การเข้าทำปฏิกิริยากับเซลลูโลสซึ่งเป็นสับสเตรท เอนไซม์ endoglucanase จะสลายโครงสร้างเซลลูโลสส่วนที่เป็น amorphous แต่จะทำปฏิกิริยาได้น้อยในส่วนของเซลลูโลสที่เป็น crystalline จากนั้นเอนไซม์ exoglucanase จะช่วยสลายโครงสร้างเซลลูโลสให้กลายเป็นเซลโลไบโอส ซึ่งเป็นน้ำตาลกลูโคส 2 โมเลกุล และเอนไซม์ β-glucosidase จะย่อยเซลโลไบโอสกลายเป็นน้ำตาลกลูโคส ดังภาพที่ 6



ภาพที่ 6 แบบจำลองการย่อยสลายด้วยเซลลูเลสของเซลลูโลสในส่วนที่เป็น crystalline และ amorphous (Radfort et al., 1996)

เชื้อราหลายชนิดที่ผลิตเซลลูเลสและได้มีการศึกษามาแล้ว เช่น *Trichoderma viride* *T. reesei* *Fusarium solani* (Wood, 1989; Eriksson et al., 1990) *Aspergillus niger* (Eriksson et al., 1990) *T. reesei* Rut C30 (Yu, Yum, and Koo,1998) เป็นต้น

สำหรับ *Acrophialophora* sp. เป็นเชื้อราที่คัดแยกได้จากดินบริเวณที่ปลูกป่านศรนารายณ์ (*Agave sisalana* Perrine.) สามารถผลิตเซลลูเลสได้แอคติวิตีสูงสุดเมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยมีแอคติวิตีของ exoglucanase ที่วัดด้วยวิธี Filter paper assay เท่ากับ 0.274 U/ml นอกจากนี้เชื้อราชนิดนี้ยังสามารถเจริญเติบและผลิตเซลลูเลสได้แม้อุณหภูมิจะสูงถึง 45 องศาเซลเซียส ในขณะที่เชื้อรา *Trichoderma reesei* ไม่สามารถทนร้อนได้เท่านี้ อย่างไรก็ตามเชื้อรานี้สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส แสดงว่ามีคุณสมบัติในการทนร้อนจึงเหมาะที่จะพัฒนาเพื่อใช้ในอุตสหกรรมต่อไป (พรเทพ ถนนแก้ว, 2538; Punnapayak, Kuhirun and Thanonkeo, 1999) แต่แอคติวิตีของเอนไซม์ที่ได้ยังไม่สูงมากนัก พิสุทธิ์ พวงนาค (2542) จึงได้ศึกษาการปรับปรุงสายพันธุ์ของเชื้อรานี้ จากผลที่ได้พบว่าการใช้แสงอัลตราไวโอเลตชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ทำให้ได้ *Acrophialophora* sp. สายพันธุ์กลายที่มีแอคติวิตีของเซลลูเลสทั้งสามองค์ประกอบดีขึ้น

3. การหมัก

การหมักเกิดขึ้นโดยเชื้อจุลินทรีย์ที่จะเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสไปเป็นเอทานอล ในทางทฤษฎีจุลินทรีย์สามารถเปลี่ยนกลูโคสไปเป็นเอทานอลได้ 51.1% โดยน้ำหนักของน้ำตาล แต่ในทางปฏิบัติน้ำตาลประมาณ 95% เท่านั้นที่ถูกเปลี่ยนไปเป็นเอทานอล น้ำตาลที่เหลือจะถูกใช้ในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (วราวุฒิ ครูส่ง, 2529: อ้างถึงใน สันทนา เสถียรไพศาล, 2539) จุลินทรีย์ที่มีบทบาทที่สำคัญในการหมัก คือ ยีสต์ และแบคทีเรีย ยีสต์หลายชนิดที่สามารถผลิตเอทานอลจากกลูโคสได้ เช่น *Saccharomyces cerevisiae* *S. uvarum* *Kluyveromyces fragilis* *K. marxianus* *Candida brassicae* *C. pseudotropicalis* เป็นต้น แบคทีเรียที่สามารถผลิตเอทานอลจากกลูโคสได้ เช่น *Zymomonas mobilis* *Clostridium thermocellum* เป็นต้น (Philippidis, 1996)

กระบวนการเปลี่ยนเซลลูโลสไปเป็นเอทานอล

Philippidis (1996) รายงานถึงกระบวนการที่ใช้ในการเปลี่ยนเซลลูโลสไปเป็นเอทานอลประกอบด้วย 3 กระบวนการ คือ

1. <u>การย่อยสลายและการหมักแบบแยกส่วน</u> (Separate Hydrolysis and Fermentation, SHF) เป็นกระบวนการที่แยกขั้นตอนระหว่างการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ให้ได้กลูโคสก่อน แล้วจึงนำไปหมักต่อเพื่อให้ได้เอทานอล ข้อดีของกระบวนการนี้คือ สามารถแยกขั้นตอนการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่มีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงาน 40-60 องศาเซลเซียส และการหมักที่มีอุณหภูมิประมาณ 30 องศาเซลเซียส เนื่องจากมีข้อจำกัดในการเจริญของยีสต์ แต่กระบวนการนี้มีข้อเสียที่สำคัญคือ กลูโคสที่เกิดขึ้นเมื่อมีปริมาณมากถึงจุดหนึ่งจะยับยั้งการทำงานของ β-glucosidase ในระหว่างการย่อยสลาย จึงทำให้ต้องใช้สับสเตรทปริมาณไม่มากแต่ใช้เอนไซม์ปริมาณมากเพื่อที่จะให้ได้ผลผลิตเอทานอลที่ยอมรับได้

2. <u>การเปลี่ยนเป็นเอทานอลด้วยจุลินทรีย์โดยตรง</u> (Direct Microbial Conversion, DMC) เป็นวิธีการที่รวมเอาการผลิตเซลลูเลส การย่อยสลาย และการหมักอยู่ในขั้นตอนเดียวกัน ซึ่งเป็นการประหยัดต้นทุนได้ เพราะลดจำนวนถังปฏิกิริยาและท่อส่งได้ อย่างไรก็ตาม ผลผลิตเอทานอลที่ได้ค่อนข้างต่ำ มีผลิตภัณฑ์พลอยได้หลายชนิด และจุลินทรีย์ที่สามารถใช้ในกระบวนการนี้ได้มีความทนทานต่อเอทานอลต่ำ จุลินทรีย์ที่สามารถเปลี่ยนเซลลูโลสเป็นเอทานอลได้โดยตรง เช่น *C. thermocellum C. thermohydrosulfuricum T. ethanolicus* และ *Fusarium oxysporum* เป็นต้น

3. <u>กระบวนการหมักและย่อยสลายแบบต่อเนื่อง</u> (Simultaneous Saccharification and Fermentation, SSF) เป็นกระบวนการที่รวมเอาการย่อยสลายเซลลูโลสและการหมักไว้ในขั้นตอนเดียวกัน กลูโคสที่เกิดขึ้นในระบบจะถูกใช้ไปในหมักโดยจุลินทรีย์อย่างต่อเนื่อง จึงพบว่ามีเซลโลไบโอสและกลูโคสอยู่ในระบบต่ำมาก ด้วยเหตุนี้จึงช่วยลดปัญหาของการยับยั้งการทำงานของเซลลูเลสโดยน้ำตาลที่เพิ่มขึ้นได้ และช่วยลดปริมาณเอนไซม์ที่ต้องใช้ได้อีกด้วย อย่างไรก็ตาม อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการนี้อยู่ที่ประมาณ 37-38 องศาเซลเซียส และจะดีที่สุดในช่วงประมาณ 40-60 องศาเซลเซียส เพราะเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการทำงานของเซลลูเลส ดังนั้นในการหมักด้วยยีสต์ สายพันธุ์ที่ใช้จะต้องมีความทนร้อนจึงจะได้ผลผลิตเอทานอลที่ดีเมื่อใช้อุณหภูมิตั้งแต่ 40 องศาเซลเซียสขึ้นไป

ยีสต์ในสกุล *Kluyveromyces* เป็นยีสต์ทนร้อนที่พบว่าทนร้อนได้มากกว่ายีสต์ในสกุล *Saccharomyces* และ *Candida* มีรายงานว่ายีสต์ในสกุล *Kluyveromyces* ที่ชื่อ *K. marxianus* สามารถเจริญเติบโตได้แม้อุณหภูมิจะสูงถึง 49 องศาเซลเซียส และสามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 40 องศาเซลเซียส Banat, Nigam และ Marchant (1992) ได้ทำการคัดแยกยีสต์ 5 ชนิดจากประเทศอินเดีย สองชนิดที่คัดแยกได้เป็น *K. marxianus* ในการศึกษาการเจริญเติบโตพบว่า ยีสต์ทั้ง 5 ชนิดที่คัดแยกได้สามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารกึ่งแข็ง

ในจานเลี้ยงเชื้อแม้อุณหภูมิจะสูงถึง 52 องศาเซลเซียส และมีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จากการทดลองเลี้ยงยีสต์ในอาหารที่มีกลูโคส 14% (w/v) และอาหารที่มีกากน้ำตาล พบว่า ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จะให้ผลผลิตเอทานอลสูงสุด รองลงมาคือที่ 45 องศาเซลเซียส โดยสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตเอทานอลสูงสุด คือ *K. marxianus* IMB3 สายพันธุ์นี้จึงได้มีการศึกษาต่อไปเพื่อนำมาใช้ในกระบวนการหมักและย่อยสลายแบบต่อเนื่อง

Boyle, Barron และ McHale (1997) ศึกษาการหมักและย่อยสลายแบบต่อเนื่องของฟางข้าวบาร์เลย์ ซึ่งผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10% (w/v) ใช้ เซลลูเลส 2% (w/v) และใช้ *K. marxianus* IMB3 ผลการหมักและย่อยสลายแบบต่อเนื่องที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณฟางข้าวที่เป็นสับสเตรท ผลผลิตเอทานอลจะเพิ่มขึ้น โดยได้ผลผลิต 3.9 8 และ 12 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้ฟางข้าว 2 4 และ 6% (w/v)

Belkacemi และคณะ (1998) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากหญ้าและวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร โดยใช้การปรับสภาพด้วยวิธี ammonia fiber explosion (AFEX) ในถังแสตนเลส ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ความดัน 3.45 MPa และนำของเหลวที่ได้จากการปรับสภาพพืชแต่ละชนิดมาหมักด้วยยีสต์ *Pachysolen tannophillus* จากผลการทดลองพบว่า ผลผลิตเอทานอลที่ได้จากอัลฟาฟา reed canary grass หญ้า timothy และฟางข้าบาร์เลย์ มีค่าใกล้เคียงกัน คือ ประมาณ 6 กรัมต่อลิตร ผลผลิตเอทานอลที่ได้จากต้นข้าวโพดประมาณ 4 กรัมต่อลิตร

Sreenath และคณะ (2001) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากเส้นใยอัลฟาฟาที่ผ่านการปรับสภาพด้วย liquid hot water ที่อุณหภูมิ 220 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที โดยเปรียบเทียบการหมักระหว่างกระบวนการ SSF และ SHF ที่ใช้ยีสต์ *Candida shehatae* FPL-702 เป็นหัวเชื้อ และใช้เอนไซม์ทางการค้าของ Novo และ Genencore ผลการทดลองที่ได้จากการย่อยสลายและการหมักด้วยกระบวนการ SSF พบว่า สามารถผลิตเอทานอลได้ 18.0 กรัมต่อลิตร ในขณะที่ผลผลิตเอทานอลที่ได้จากกระบวนการ SHF ได้เท่ากับ 9.6 กรัมต่อลิตร

Krishna, Janardhan และ Chowdary (2001) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากใบอ้อยซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งการเกษตรในประเทศอินเดีย เพราะจะถูกเผาทิ้งหลังการเก็บเกี่ยว และศึกษาการผลิตเอทานอลจากใบ *Antigonum leptopus* ซึ่งเป็นวัชพืชในอินเดีย ในการทดลองได้ทำการปรับสภาพพืชด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และใช้เซลลูเลสทางการค้าที่ผลิตจาก *T. reesei* QM-9414 ร่วมกับ β-glucosidase ของ Novozym ใช้ยีสต์ทนร้อน *Kluyveromyces fragilis* NCIM 3358 ผลการผลิตเอทาน อลด้วยกระบวนการ

SSF ที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส พบว่า *A. leptopus* ให้ผลผลิตเอทานอล 1.6-2.7% (w/v) โดยขึ้นอยู่กับการเติม β-glucosidase เสริม และใบอ้อยให้ผลผลิตเอทานอล 0.8-2.8% (w/v)

Chang และคณะ (2001) ศึกษาการผลิตเอทานอลจาก switchgrass และต้นข้าวโพดที่ผ่านการปรับสภาพด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (lime) ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และใช้กระบวนการ SSF ที่อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากผลการทดลองพบว่า switchgrass และต้นข้าวโพดที่ผ่านการปรับสภาพให้ผลผลิตเอทานอล 72% และ 62% จากค่าทฤษฎี ตามลำดับ ซึ่งผลผลิตเอทานอลจาก switchgrass นั้นใกล้เคียงกับผลผลิตเอทานอลจาก poplar ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีเดียวกัน คือ 73% จากค่าทฤษฎี และในการผลิตเอทานอลจาก switchgrass ด้วยกระบวนการ SSF นั้นพบว่า เซลโลไบโอสที่สะสมอยู่ในช่วง 3 แรกของการหมักลดลงเมื่อเวลาผ่านไป แสดงว่าเซลโลไบโอสเปลี่ยนไปเป็นกลูโคสได้เกือบสมบูรณ์ เพราะเหลือเซลโลไบโอสต่ำมาก (น้อยกว่า 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และกลูโคสก็เหลือปริมาณต่ำเช่นกัน คือ น้อยกว่า 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงว่ากลูโคสส่วนใหญ่ถูกใช้ไปอย่างต่อเนื่องโดยยีสต์

ในหลายประเทศมีการผลิตเอทานอลจากพืชเกษตรและนำเอทานอลมาใช้ทดแทนน้ำมันเบนซินอย่างจริงจัง เช่น ในประเทศบราซิลมีการผลิตเอทานอลจากอ้อย ซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ มีการใช้เอทานอล 95.5% (hydrous ethanol) ผสมกับแก๊สโซลีน (gasoline) โดยมีเอทานอล 24% โดยปริมาตร ในทวีปอเมริกาตอนเหนือมีการใช้ E85 และ E10 (gasohol) ซึ่งมีส่วนผสมของเอทานอลในน้ำมันเบนซิน 85% และ 10% โดยปริมาตร ตามลำดับ ในการผลิตเอทานอลเพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิงมีประเทศผู้ผลิตหลัก คือ บราซิล ผลิตจากน้ำอ้อยและกากน้ำตาล ในปี 1999 ได้ผลผลิต 10.5×10^9 ลิตร (hydrous) และ 6.5×10^9 ลิตร (anhydrous) ในสหรัฐอเมริกาผลิตจากข้าวโพดเป็นหลัก (95%) เสริมด้วยการใช้ข้าวสาลีและข้าวบาร์เลย์ ในปี 1998 ได้ผลผลิต 5.3×10^9 ลิตร (anhydrous) และแคนาดาผลิตจากข้าวโพดและข้าวสาลี ในปี 1998 ได้ผลผลิต 0.24×10^9 ลิตร (anhydrous) (Wheals et al., 1999)

สำหรับในประเทศสหรัฐอเมริกานอกจากจะผลิตเอทานอลจากพืชเกษตรแล้ว ยังมีโครงการเสริมในการผลิตโดยใช้ switchgrassแม้ว่าปัจจุบันจะยังไม่มีการผลิตในระดับโรงงานอุตสาหกรรม แต่กระทรวงพลังงานของสหรัฐอเมริกาเชื่อมั่นเป็นอย่างยิ่งว่าเทคโนโลยีการผลิตจะพร้อมและทำได้จริงประมาณปี 2010 เนื่องจากมีการศึกษาอย่างจริงจังถึงการนำ switchgrass มาเป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล มีการประมาณการว่าจะสามารถผลิตเอทานอลจาก switchgrass ได้ประมาณ 80 แกลลอนต่อ switchgrass 1ตัน ดังนั้นถ้าได้ผลผลิตซี วมวล switchgrass 6 ตันต่อเอเคอร์ จะได้เอทานอลประมาณ 480 แกลลอน (Norby, 2000)

สำหรับประเทศไทยเริ่มมีการผลิตเอทานอลอย่างจริงจังและนำมาใช้ผสมกับน้ำมันเบนซินเพื่อเป็นเชื้อเพลิงสำหรับรถยนต์เมื่อไม่กี่ปีที่ผ่านมา เนื่องจากในปี 2000 ทั่วโลกประสบปัญหาวิกฤตการณ์น้ำมันอีกครั้ง จนถึงปัจจุบันราคาน้ำมันก็ยังคงสูงอยู่ การผลิตเอทานอลในประเทศไทยจะเน้นที่วัตถุดิบทางการเกษตรคือ อ้อย กากน้ำตาล และมันสำปะหลัง โดยที่วัตถุดิบ 1 ตัน เมื่อใช้อ้อยจะได้เอทานอล 70 ลิตร เมื่อใช้กากน้ำตาลจะได้เอทานอล 260 ลิตร เมื่อใช้มันสำปะหลังสดจะได้เอทานอล 180 ลิตร ในโครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา มีการผลิตเอทานอลที่มีความบริสุทธิ์ 95% จากกากน้ำตาล และเอทานอลที่มีความบริสุทธิ์ 91% จากน้ำอ้อย โดยมีกำลังการผลิต 25 ลิตรต่อชั่วโมง และในอนาคตอันใกล้นี้ประเทศไทยจะมีการประกาศเลิกใช้สาร Methyl Tertiary Butyl Ether (MTBE) ซึ่งเป็นสารเพิ่มค่าออกเทนที่มีความเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม และต้องนำเข้าจากต่างประเทศ แล้วเปลี่ยนมาใช้เอทานอลแทนสารนี้ (คณะกรรมาธิการพลังงาน สภาผู้แทนราษฎร, 2545)

การศึกษาถึงการผลิตเอทานอลจากชีวมวลมีในประเทศไทยเช่นกัน พรเทพ ถนนแก้ว (2538) และ Punnapayak และคณะ (1999) รายงานถึงเชื้อราที่คัดแยกได้จากบริเวณที่ปลูกต้นป่านศรนารายณ์ (*Agave sisalina*) คือ เชื้อรา *Acrophialophora* sp. เป็นเชื้อราทนร้อนเจริญและผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ดีที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทั้งนี้ได้มีการนำเอนไซม์ที่ผลิตได้ไปใช้ในการหมักเส้นใยป่านศรนารายณ์ด้วยกระบวนการ SSF ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* พบว่าให้ผลผลิตเอทานอลสูงสุด 0.11 กรัมต่อกรัม สับสเตรท สันทนา เสถียรไพศาล (2539) รายงานถึงการผลิตเอทานอลจากเส้นใยป่านศรนารายณ์โดยใช้เชื้อรานี้เช่นกัน พบว่าเมื่อหมักที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ได้ผลผลิตเอทานอลสูงสุด 0.304 กรัมต่อกรัมสับสเตรท ระวีวรรณ แกล้วกล้า (2538) รายงานถึงการผลิตเอทานอลจากฟางข้าว โดยหมักที่อุณหภูมิห้องแบบไม่ใช้ออกซิเจนเป็นเวลา 4 วัน ได้เอทานอลเข้มข้น 1.3% โดยปริมาตร Pumtong และคณะ (1999) รายงานถึงการใช้ฝักจามจุรีมาผลิตแอลกอฮอล์โดยวิธีการตรึงเซลล์ยีสต์ และสามารถทำไวน์จากฝักจามจุรีได้ Phowchinda (1999) รายงานถึงการใช้เปลือกสับปะรดมาผลิตเอทานอล ได้ผลผลิตสูงถึง 0.48 กรัมต่อกรัมสับสเตรท

การกลั่น

การกลั่นเป็นการแยกผลิตภัณฑ์เอทานอลออกจากน้ำหมัก ในอุตสาหกรรมจะใช้วิธีการกลั่นลำดับส่วนซึ่งสามารถแยกเอทานอลที่มีความเข้มข้น 8-12% (v/v) จากน้ำหมัก ให้ได้เอทานอลที่มีความบริสุทธิ์ 95.6% (v/v) อย่างไรก็ตามการกลั่นที่ความดันบรรยากาศปกติจะไม่สามารถผลิตเอทานอลที่มีความบริสุทธิ์สูงกว่านี้ได้ เนื่องจากจะเกิดองค์ประกอบที่เป็นของผสม

azerotrope หรือของผสมของสารที่มีจุดเดือดคงที่ แต่การนำเอทานอลไปใช้เป็นเชื้อเพลิงจะต้องทำให้เอทานอลมีความบริสุทธิ์ไม่ต่ำกว่า 99.5% (v/v) ซึ่งเรียกว่า เอทาน อลไร้น้ำ (anhydrous ethanol) ดังนั้นจึงต้องใช้เทคนิคอื่นมาแยกน้ำออกจากเอทานอลที่มีความบริสุทธิ์ 95.6% (v/v)

เทคโนโลยีที่ใช้ในการแยกน้ำเพื่อผลิตเอทานอลไร้น้ำที่นิยมใช้มี 3 วิธี ได้แก่

1. กระบวนการแยกน้ำด้วยวิธีกลั่นสกัดแยกกับสารตัวที่สาม (extractive distillation with the third componet) เป็นวิธีดั้งเดิมที่ใช้กันมานานจนถึงปัจจุบัน และใช้กันในเชิงพาณิชย์ แต่ได้มีการเปลี่ยนสารตัวที่สามจากเบนซินไปเป็นไซโคลเฮกเซน ซึ่งมีอันตรายน้อยกว่า

2. กระบวนการแยกด้วยวิธีเมมเบรน (membrane pervaporation) โดยเมมเบรนที่ใช้จะดูดซับสารอินทรีย์ที่ระเหยได้ออกจากน้ำ

3. กระบวนการแยกด้วยวิธีโมเลคูลาซีฟ (molecular sieve separation) โมเลคูลาซีฟที่ใช้เป็นวัสดุดูดซับประเภท crystalline aluminosilicate material ซึ่งจะช่วยแยกน้ำออกจากของผสมได้ (คณะกรรมาธิการพลังงาน สภาผู้แทนราษฎร, 2545; http://www.frtr.gov/matrix2/section4/4_54.html)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย