



## บทนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม ประชาชนส่วนใหญ่มีอาชีพทางการเกษตรมาตั้งแต่อดีตและสืบทอดมาจนถึงปัจจุบัน จากหลักฐานในอดีตพบว่าได้มีการปลูกข้าวมากกว่า 3,500 ปีก่อนคริสตกาล โดยในสมัยก่อนการเกษตรทำเพื่อหล่อเลี้ยงชีวิต หรือเพาะปลูกเพื่อยังชีพและส่งเป็นภาษีให้แก่รัฐ ต่อมาเมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านจำนวนประชากร จำเป็นต้องเพิ่มปริมาณการผลิตเพื่อให้เพียงพอกับจำนวนประชากร และไปสู่การผลิตเพื่อการค้า พืชที่เพาะปลูกเป็นพืชที่มีความสำคัญในด้านการบริโภคและการใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรม เช่น ข้าว ข้าวโพด อ้อย และมันสำปะหลัง ซึ่งนำไปใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตแป้ง อุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาล และอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ เป็นต้น

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงพาณิชย์ รายงานว่าในปี พ.ศ. 2533/2534 ข้าว ข้าวโพด อ้อยและมันสำปะหลัง สามารถทำรายได้ให้ประเทศ โดยการส่งออกถึง 50,000 กว่าล้านบาท มีการผลิตข้าว 3,995.5 พันตันเป็นเงิน 29,559.5 ล้านบาท ข้าวโพด 1,215 ล้านตัน มูลค่า 38,087 ล้านบาท มันสำปะหลังประเทศไทยปลูกได้เป็นอันดับ 1 ของทวีปเอเชีย ผลิตได้ 6,066,759 ล้านตัน มีมูลค่าถึง 20,625 ล้านบาท

ในแต่ละฤดูของการเพาะปลูก พบว่าเมื่อเก็บเกี่ยวผลผลิตเพื่อเอาไปใช้ประโยชน์จะมีส่วนที่เหลือทิ้งไว้ในแปลงปลูกเป็นจำนวนมาก ส่วนที่เหลือเหล่านี้เป็นผลพลอยได้อย่างหนึ่งที่จัดว่าเป็นวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร (crop residues) ซึ่งมีการนำเอาไปใช้ประโยชน์ยังไม่มากนัก เช่น ชังข้าวโพดนำไปใช้เป็นเชื้อเพลิงเพื่อการหุงต้มในครัวเรือน ฟางข้าวใช้เป็นอาหารสำหรับสัตว์เลี้ยงแต่ไม่ค่อยได้ผลดีนัก เนื่องจากที่มีคุณค่าทางด้านอาหารต่ำ นอกจากนี้ยังมีบางส่วนที่ปล่อยทิ้งไว้ให้เกิดการเน่าสลายในแปลง ซึ่งบางครั้งก็ก่อให้เกิดปัญหาทางด้านสิ่งแวดล้อมตามมา

วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรเหล่านี้ จัดเป็นสารอินทรีย์ในกลุ่มของลิกโนเซลลูโลส (lignocellulose) องค์ประกอบทางเคมีส่วนใหญ่ประกอบด้วย

เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน อัตราส่วนที่พบมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของพืช เนื้อเยื่อ อายุ สภาพแวดล้อมในการเจริญเติบโต สภาพทางสรีรวิทยา และวิธีการวิเคราะห์ (Kirk, 1983) ปริมาณที่เป็นมาตรฐานของลิกนินเซลลูโลสพบว่ามีเซลลูโลส 47 เปอร์เซ็นต์ เฮมิเซลลูโลส 33 เปอร์เซ็นต์และลิกนิน 20 เปอร์เซ็นต์ (Coughlan, 1989)

เซลลูโลสเป็นองค์ประกอบทางเคมีที่พบว่ามีมากในผนังเซลล์พืช เกิดขึ้นโดยกระบวนการสังเคราะห์แสง ในวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรจึงมีเซลลูโลสเป็นจำนวนมาก นอกจากนั้นเซลลูโลสยังพบได้ในผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมหลายชนิด เช่น จากอุตสาหกรรมป่าไม้ ธรรมชาติของเซลลูโลสจะมีโครงสร้างที่เป็นผลึก (crystalline) ถูกล้อมรอบด้วยลิกนินจึงทำให้มีโครงสร้างที่แข็งแรง ทนทานต่อการย่อยสลายในทางธรรมชาติ การนำเอาสารประกอบเซลลูโลสมาใช้ประโยชน์ในการหมักแอลกอฮอล์มีความเป็นไปได้สูงโดยใช้กระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ เซลลูโลสเมื่อถูกย่อยสลายด้วยกรดหรือเอนไซม์จะได้น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลอื่น ๆ อีกหลายชนิด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับวิธีการและประสิทธิภาพของเอนไซม์

วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรในแต่ละวันมีอยู่เป็นจำนวนมาก การนำเอามาใช้ประโยชน์เพื่อการผลิตแอลกอฮอล์สามารถทำได้ ในช่วงสงครามโลกครั้งที่ 2 สหรัฐอเมริกาได้ผลิตเอทานอลสำหรับใช้เป็นเชื้อเพลิงในกองทัพ และญี่ปุ่นได้ใช้เอทานอลเป็นเชื้อเพลิงในเครื่องบินรบ ต่อมาน้ำมันเบนซินมีราคาถูกลงก็ได้เลิกไป การใช้เอทานอลเป็นเชื้อเพลิงได้รับความสนใจอีกครั้งหนึ่งเมื่อปี พ.ศ. 2516 ซึ่งเป็นช่วงที่เกิดการขาดแคลนน้ำมันดิบ และน้ำมันเบนซินมีราคาแพง จากวิกฤติการณ์ที่เกิดทำให้การใช้เอทานอลเป็นเชื้อเพลิงได้รับความสนใจอีกครั้ง โดยนำมาผสมกับแก๊สโซลีนทำให้เกิดน้ำมันเชื้อเพลิงที่มีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับน้ำมันเบนซิน ซึ่งต่อมาเรียกว่าแก๊สโซฮอลล์ (gasohol) (พูนสุข อรรถะสัมปณณะ, 2533) การผลิตเอทานอลจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรโดยกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพได้รับความนิยมสูงโดยเฉพาะประเทศเกษตรกรรม เพราะวัสดุในการผลิตมีราคาถูก (เวรารุณ ครูสง, 2529)

เอทานอล (ethanol) หรือ ethyl alcohol เป็นสารอินทรีย์ที่สามารถใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวาง การผลิตทำได้ทั้งการสังเคราะห์ทางเคมีและกระบวนการหมัก ลักษณะเป็นของเหลวใสไม่มีสี ใช้เป็นเชื้อเพลิงในการเผาไหม้

ได้ตี เซลลูโลสนับว่าเป็นแหล่งวัตถุดิบที่สำคัญอย่างหนึ่งในการใช้หมักเอทานอล (Lyons, 1981) ข้าวโพดเมื่อเก็บเกี่ยวผลผลิตจะเหลือส่วนของซัง (corn cobs) ซึ่งข้าวโพดมีสารอินทรีย์ที่เป็นเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส (อารี ชูวิสิฐกุล, 2535) มันสำปะหลังเมื่อเก็บเกี่ยวส่วนของรากจะเหลือลำต้น อ้อยเมื่อคั้นเอาน้ำตาลออกก็จะเหลือส่วนที่เรียกว่าชานอ้อย (bagasse) และข้าวเมื่อเก็บเมล็ดแล้วส่วนที่เหลือคือฟางข้าว วัสดุเหลือใช้จากการเกษตรทั้ง 4 ชนิดนี้ ในประเทศไทยมีเป็นจำนวนมาก ราคาถูก จึงเหมาะที่จะนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการหมักเอทานอล การผลิตเอทานอลจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรควรมีข้อพิจารณาถึงปริมาณของวัตถุดิบซึ่งจะต้องมีมากตลอดปี (พูนสุข อัดทะสัมปณณะ, 2533) นอกจากนี้ต้องพิจารณาถึงต้นทุนการผลิตและเทคโนโลยีการผลิตที่เหมาะสมอีกด้วย

ปัจจุบันการผลิตเอทานอลโดยวิทยาศาสตร์ทางเทคโนโลยีชีวภาพนับว่ามีบทบาทมาก กระบวนการผลิตที่เกี่ยวข้องมีหลายขั้นตอนด้วยกัน ซึ่งแต่ละขั้นตอนมีความสำคัญต่อเนืองกัน ขั้นตอนแรกที่เกี่ยวข้องในการผลิตเอทานอลจากลิกนินเซลลูโลสที่สำคัญและจำเป็นมากคือการปรับสภาพหรือที่เรียกว่า pretreatment การปรับสภาพเป็นขั้นตอนเบื้องต้น มีจุดมุ่งหมายเพื่อให้เซลลูโลสอยู่ในสภาพที่เหมาะสมต่อการย่อยสลาย ผลที่เกิดขึ้นคือ ลดขนาดอนุภาคของเซลลูโลสให้เล็กลง ช่วยสกัดลิกนินออก ช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวในการสัมผัสกับเอนไซม์ ช่วยทำให้เกิดโครงสร้างที่เป็นอสัณฐาน ที่เรียกว่า amorphous และยังเป็นการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายได้ดียิ่งขึ้น วิธีการปรับสภาพมีหลายวิธีได้แก่ วิธีทางกายภาพหรือ physical pretreatment เช่น การตัด (cutting) การบด (milling) วัตถุดิบที่ผ่านขั้นตอนนี้จะมีขนาดเล็กลงเพื่อทำให้ขั้นตอนต่อไปมีประสิทธิภาพมากขึ้น วิธีต่อมาคือวิธีทางเคมีหรือ chemical pretreatment เช่นการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ วิธีนี้เป็นวิธีเก่าแก่ที่ใช้มานานและได้ผลดี และวิธีที่ใช้ทั้ง 2 วิธีใช้ร่วมกันหรือ combination pretreatment เป็นวิธีที่ใช้ทางกายภาพร่วมกับการใช้สารเคมี (Lyons, 1981) ศุภนิตย์และอังรา (2526) ได้ศึกษาถึงการสกัดลิกนินออกจากชานอ้อยด้วยวิธีการต่าง ๆ พบว่า การแช่ชานอ้อยด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 1 คืนแล้วนำมาต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที และวิธีการแช่ชานอ้อยด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลานาน 1 คืน นำไป นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส พบว่าทั้ง 2 วิธีเมื่อนำมาย่อยสลายให้ปริมาณน้ำตาลที่สูงกว่าวิธีอื่น ๆ

ขั้นตอนต่อมาคือ ขั้นตอนของการย่อยสลายเพื่อให้เกิดน้ำตาลหรือเรียกว่า hydrolysis การย่อยสลายทำได้ทั้งโดยการใช้กรด (acid hydrolysis) และการย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์ (enzymatic hydrolysis) การย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์มีความสำคัญมากในยุคปัจจุบัน เนื่องจากได้ผลผลิตที่เฉพาะเจาะจง ไม่มีผลกระทบต่อสภาพแวดล้อม เอนไซม์ที่ใช้ย่อยสลายเซลลูโลสมีชื่อว่า cellulolytic enzyme ได้แก่เอนไซม์เซลลูเลส (cellulases) แหล่งของเอนไซม์เซลลูเลสได้จากเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิด เช่น เชื้อรา แบคทีเรีย ในปัจจุบันเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อราเป็นที่ยอมรับว่ามีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสได้ดีที่สุด การผลิตเอนไซม์ทำได้โดยเลี้ยงเชื้อราในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมช่วงระยะเวลาหนึ่ง เพื่อให้เชื้อรามีการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส จากนั้นก็สกัดเอนไซม์ออกมาเพื่อใช้ในการย่อยสลายเซลลูโลสต่อไป

ขั้นตอนการ hydrolysis นอกจากมีเอนไซม์เซลลูเลสแล้วยังมีปัจจัยด้านสภาพแวดล้อมที่เกี่ยวข้อง เช่น ความเป็นกรดเป็นด่าง อุณหภูมิ เมื่อเซลลูโลสผ่านการย่อยสลายจะได้ glucose cellobiose celotriose และ cello tetraose ปริมาณที่ได้ขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบ และเมื่อการย่อยสลายเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ก็จะได้ D-(+)-glucose เพียงอย่างเดียว (ปิ่น-ฉวี เวชชานูเคราะห์, 2526) จากนั้นก็นำน้ำตาลที่ได้มาใช้ในการหมักหรือ fermentation เพื่อให้เกิดเอทานอลต่อไป

การหมักเป็นกระบวนการทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะยีสต์ ผลที่ได้คือเอทานอลและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ การหมักเกิดขึ้นในสภาพที่ไร้ออกซิเจน ในทางจุลชีวอุตสาหกรรมการหมักนับว่ามีความสำคัญมาก นับตั้งแต่การผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เช่น เบียร์ ไวน์ การทำผลิตภัณฑ์อาหารหมักดอง เชื้อจุลินทรีย์ที่นับว่ามีบทบาทสำคัญคือยีสต์ ซึ่งเป็นเชื้อราเซลล์เดี่ยวที่มีบทบาทในเรื่องของการหมักเอทานอล มีหลายสายพันธุ์ด้วยกัน แต่ละสายพันธุ์ก็มีความสามารถในการใช้น้ำตาลแตกต่างกันและมีลักษณะการใช้งานต่างกัน เช่น Pichia stipitis ซึ่งเป็นยีสต์ที่มีความสามารถในการใช้น้ำตาลที่สกัดจากเฮมิเซลลูโลสมีคาร์บอน 5 อะตอม ได้แก่ น้ำตาลไซโลส น้ำตาลเพนโตส (Roberto et al., 1991) Candida brassica เป็นสายพันธุ์ที่ใช้หมักในสภาพที่มีการย่อยสลายและการหมักเกิดขึ้นพร้อมกัน (simultaneous fermentation)

Saccharomyces cerevisiae เป็นยีสต์ที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมการหมักน้ำตาลกลูโคส เป็นสายพันธุ์ที่ได้รับการคัดเลือกจนเป็นที่ยอมรับในอุตสาหกรรมการหมัก คุณสมบัติคือเจริญได้ดีในสภาพแวดล้อมที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสสูง มีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลได้ดี มีการทดลองของ Bertolini และคณะ (1991) ศึกษาการหมักเอทานอลจากน้ำตาลอ้อยที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 15-35 เปอร์เซ็นต์ pH 4.5 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสโดยใช้ยีสต์ S. cerevisiae พบว่าเชื้อยีสต์สามารถเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นเอทานอลได้สูงถึง 15.6 เปอร์เซ็นต์

การศึกษาถึงการหมักเอทานอลจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร โดยใช้กระบวนการย่อยสลายของเอนไซม์จากเชื้อราในครั้งนั้น เป็นแนวทางการศึกษาเพื่อนำวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลสที่มีอยู่ในท้องถิ่นมาใช้ประโยชน์ เปลี่ยนแปลงให้เป็นสารเคมีที่มีราคาสูง และข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนั้น สามารถใช้เป็นแนวทางนำไปประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรมต่อไป