

## โอกาสความเป็นไปได้ของการใช้เทคโนโลยีพลังงานชีวภาพในประเทศไทย

พัชนี ยะสุนทร<sup>1\*</sup> และ มาลินี ศรีอริยานันท์<sup>2</sup>

<sup>1</sup>คณะเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยอัสสัมชัญ กรุงเทพฯ

<sup>2</sup>วิศวกรรมศาสตรบัณฑิตสิรินธรไทย-เยอรมัน  
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ กรุงเทพฯ

\*corresponding author e-mail: patchaneysr@au.edu

### บทคัดย่อ

ในปัจจุบันความต้องการใช้พลังงานทั้งในภาคอุตสาหกรรมและครัวเรือนเพิ่มขึ้นทุกปี จึงต้องพึ่งพาการนำเข้าพลังงานจากต่างประเทศเป็นหลัก พลังงานที่ใช้ส่วนใหญ่เป็นเชื้อเพลิงซากดึกดำบรรพ์ (Fossil Fuels) บทความวิชาการฉบับนี้แสดงให้เห็นถึงสถานการณ์พลังงานและการพัฒนาการผลิตพลังงานชีวภาพ (Biofuel) ของประเทศไทย รวมถึงโอกาสความเป็นไปได้และเทคโนโลยีในการผลิตพลังงานชีวภาพ โดยเฉพาะการผลิตไบโอดีเซลจากมวลชีวภาพลิกโนเซลลูโลสที่ได้มาจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรในประเทศไทยและผลิตพลังงานจากกระบวนการหมักของกรดไขมันในแบคทีเรีย ซึ่งช่วยลดการพึ่งพาการนำเข้าพลังงานจากต่างประเทศ

**คำสำคัญ :** พลังงานชีวภาพ ไบโอดีเซล มวลชีวภาพลิกโนเซลลูโลส กรดไขมัน

## Feasibility and technology of biofuel production in Thailand

Patchanee Yasurin<sup>1\*</sup> and Malinee Sriariyanun<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Biotechnology Faculty, Assumption University, Bangkok

<sup>2</sup>The Sirindhorn Thai-German International Graduate School of Engineering,  
King Mongkut's University of Technology North, Bangkok

\*corresponding author e-mail: patchaneysr@au.edu

### Abstract

Nowadays, the energy demand in both industry and private sector is increasing every year. Most energy in the form of fossil fuels is imported. This review shows the overview of Thailand's energy situation and potential to produce biofuel. This review also shows the feasibility and technology in production of biofuel from lignocelluloses biomass which is the agricultural waste in Thailand and the production of fatty acid by using microorganisms in order to reduce the import of fossil fuels from overseas.

**keywords :** alternative energy, biodiesel, lignocelluloses biomass, fatty acid

**บทนำ**

เนื่องด้วยการเติบโตอย่างรวดเร็วของอุตสาหกรรมในประเทศไทยก่อให้เกิดความต้องการใช้พลังงานเพิ่มขึ้นประเทศไทยจึงต้องพึ่งพาการนำเข้าพลังงานจากต่างประเทศเป็นหลัก จากข้อมูลการใช้พลังงานในปี พ.ศ. 2554 พบว่าร้อยละ 60 ของความต้องการพลังงานเชิงพาณิชย์ขั้นต้น ได้มาจากการนำเข้าจากต่างประเทศ ข้อมูลในปี พ.ศ. 2555 พบว่าการนำเข้าพลังงานเพิ่มขึ้นร้อยละ 8.1 จากปี ค.ศ. 2001 ซึ่งยังมีแนวโน้มการนำเข้าที่สูงขึ้นอีกอย่างต่อเนื่อง เพราะไม่สามารถเพิ่มปริมาณการผลิตในประเทศได้อย่างมีประสิทธิภาพให้เพียงพอต่อความต้องการ ดังนั้นการพัฒนาพลังงานทดแทนอย่างจริงจังจะช่วยลดการพึ่งพาการนำเข้าพลังงานจากต่างประเทศ รวมไปถึงเป็นการเพิ่มความมั่นคงของสถานะพลังงานโดยรวมของประเทศและช่วยลดมลพิษที่ถูกปลดปล่อยจากการใช้พลังงานเชื้อเพลิงซากดึกดำบรรพ์ (fossil fuels)

ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2551 รัฐบาลประเทศไทยได้มีการวางแผนพัฒนาการผลิตพลังงานทดแทนทางเลือก ได้แก่ พลังงานชีวภาพ ทั้งไบโอเอทานอล (bioethanol) และไบโอดีเซล (biodiesel) เป็นระยะยาว 15 ปี จนถึง ปี พ.ศ. 2565 เพื่อใช้ทดแทนความต้องการการใช้ก๊าซโซลีน (gasoline) และน้ำมันดีเซล (diesel oil) ดังแสดงในตารางที่ 1 ด้วยเหตุนี้จึงมีการพัฒนาวิจัยการผลิตพลังงานทดแทนทางเลือกทั้งในเชิงปริมาณและคุณภาพเพื่อตอบสนองนโยบายดังกล่าว

อย่างไรก็ดีการเติบโตของการผลิตพลังงานชีวภาพในช่วงปี 2554-2555 ยังไม่สามารถบรรลุเป้าหมายที่รัฐบาลไทยตั้งกำหนดไว้ได้ คือผลิตแก๊ซโซฮอลได้เพียง 1.17 ล้านลิตรในปี 2553 จากเป้าหมาย 3 ล้านลิตร เป็นต้น จากสถานการณ์ในปัจจุบันรัฐบาลจึงได้จัดทำแผนการพัฒนาพลังงานทดแทนร้อยละ 25 ภายในระยะเวลา 10 ปี (พ.ศ. 2555-2564) หรือ alternative energy development plan (AEDP) เพื่อกำหนดกรอบและทิศทางการพัฒนาพลังงานทดแทนของประเทศ เช่น การปรับปรุงการผลิตไบโอดีเซลในปี 2564 จากเดิม 4.5 ล้านลิตรต่อวันเป็น 5.97 ล้านลิตรต่อวัน และเชื้อเพลิงใหม่ทดแทนดีเซลอีก 25 ล้านลิตรต่อวัน (เช่น FAEE, ED95, และดีโซฮอล)

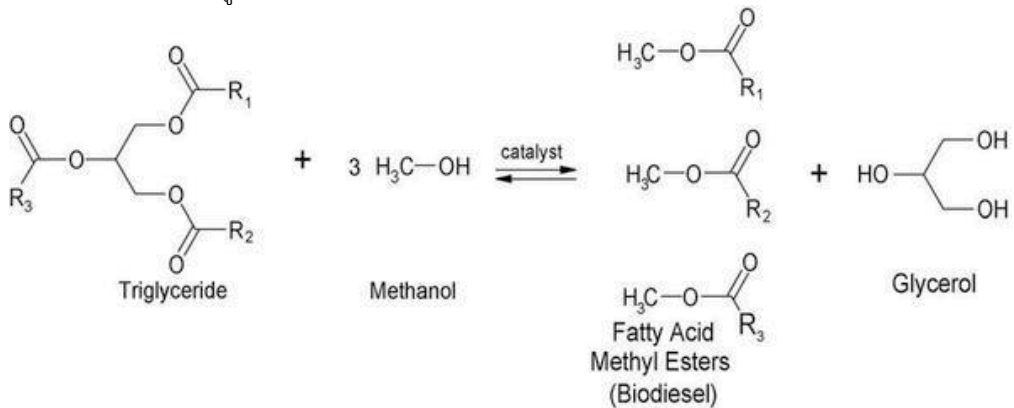
**ตารางที่ 1** แสดงถึงเป้าหมายการผลิตพลังงานชีวภาพ ไบโอเอทานอลและไบโอดีเซลเพื่อทดแทนการใช้พลังงานฟอสซิล กำหนดโดยรัฐบาลไทยเป็นระยะเวลา 15 ปี

ที่มา : (USDA 2011 annual report; <http://gain.fas.usda.gov>)

ชนิดพลังงานชีวภาพ	ปีที่กำหนดระยะเป้าหมายในการผลิตและปริมาณในการผลิต (ล้านลิตร/วัน)		
	2551-2554	2555-2559	2560-2565
ไบโอเอทานอล	3	6.2	9
ไบโอดีเซล	1.35	3.02	4.5

**สถานการณ์การผลิตไบโอดีเซลเพื่อใช้เป็นพลังงานทดแทนในปัจจุบัน**

ไบโอดีเซลคือพลังงานทดแทนน้ำมันดีเซล เป็นเชื้อเพลิงที่ได้จากการนำน้ำมันพืช เช่น ปาล์ม, ไขมันสัตว์, หรือน้ำมันพืชใช้แล้ว มาทำปฏิกิริยาทางเคมี ทรานเอสเตอริฟิเคชัน (transesterification) ได้เป็นสารโมโนอัลคิลเอสเทอร์ (mono - alkyl - ester) สำหรับการผลิตไบโอดีเซลในที่นี้คือ กรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ (fatty acid methyl ester: FAME) ดังแสดงในรูปที่ 1 ซึ่งมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซล เมื่อนำมาผสมกับน้ำมันดีเซลเกรดที่ใช้กันในปัจจุบันในสัดส่วน 5 - 10 (B5 - B10) สามารถนำมาใช้ในเครื่องยนต์ดีเซลได้เป็นอย่างดี และจากแผนนโยบายพัฒนาการผลิตพลังงานฉบับล่าสุด (AEDP) ได้มีการเตรียมการพัฒนามาตรฐานไบโอดีเซลแบบ FAME ให้สามารถมีส่วนผสมในน้ำมันดีเซลถึงร้อยละ 7 (B7) ซึ่งการผลิตไบโอดีเซลด้วยกระบวนการนี้เป็นกระบวนการที่ได้รับการพัฒนาประสิทธิภาพอย่างต่อเนื่องเป็นเวลายาวนานแล้ว เพราะเป็นวิธีที่ง่ายและสามารถใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเป็นกรด หรือเบสที่มีราคาถูก



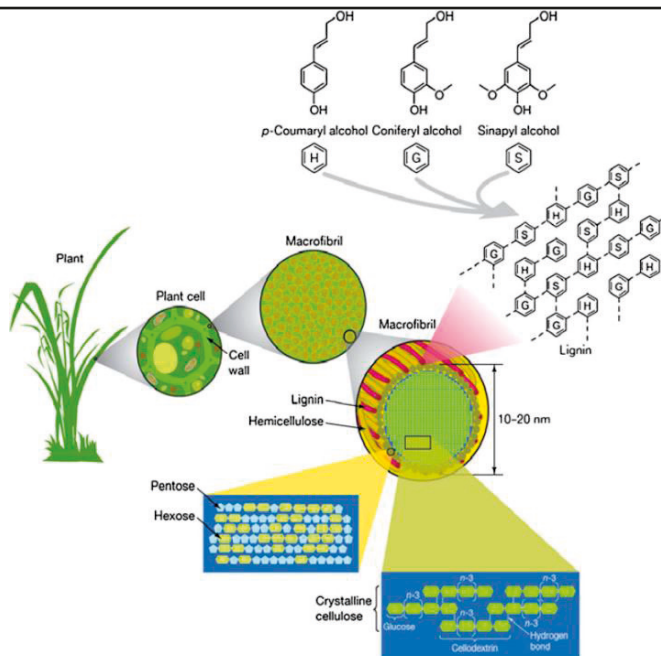
**ภาพที่ 1** ปฏิกิริยาทรานเอสเตอริฟิเคชัน (transesterification reaction) ไตรเอซิลกลีเซอไรด์ ซึ่งเป็นไขมันที่พบเป็นส่วนใหญ่ในน้ำมันพืชหรือไขมันสัตว์ ทำปฏิกิริยากับแอลกอฮอล์ (alcohol) เช่น เมทานอล (methanol) หรือเอทานอลโดยมีตัวเร่งปฏิกิริยาทั่วไปเป็นกรดหรือเบส เพื่อผลิตเป็นกรดไขมันเอซิลเอสเทอร์ (fatty acid acyl ester: FAAE) เช่น กรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ หรือ กรดไขมันเอทิลเอสเทอร์ (fatty acid ethyl ester: FAEE) และกลีเซอรอล โดยแพตต์เอซิลเอซิลเอสเทอร์สามารถนำเอาใช้เป็นไบโอดีเซลได้ (Van Kasteren & Nisworo, 2007)

อย่างไรก็ตามการใช้น้ำมันพืชเป็นวัตถุดิบโดยเฉพาะน้ำมันปาล์มเพื่อผลิตเป็นไบโอดีเซลนั้นจะต้องพึ่งพาการปลูกพืชน้ำมันจำนวนมาก ซึ่งถือว่าเป็นอุปสรรคและข้อจำกัดที่สำคัญในการผลิตไบโอดีเซล ตัวอย่างเช่น ความเสียหายของการผลิตพืชที่เป็นผลมาจากจากสภาวะปัญหาอากาศโลกเปลี่ยนแปลง หรือปัญหาภาวะโลกร้อน (global warming) ที่ไม่สามารถคาดการณ์ได้ หรือน้ำท่วม หรือปัญหาโรคติดต่อและแมลงศัตรูพืช นอกจากนี้พืชเหล่านี้ล้วนแต่เป็นพืชที่ใช้ในการบริโภคและเลี้ยงสัตว์ รวมไปถึงพืชเหล่านี้มีข้อจำกัดเกี่ยวกับภูมิภาคและสภาพอากาศที่เหมาะสมในการเพาะปลูก (geological restriction) ดังเห็นตัวอย่างได้ชัดจาก การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์ม ที่มีการลด

ปริมาณการผลิตในปี 2553 เพราะการผลิตน้ำมันปาล์มดิบที่เป็นวัตถุดิบมีปริมาณลดลงจนไม่เพียงพอ แม้แต่เพื่อตอบสนองความต้องการใช้ในครัวเรือนและอุตสาหกรรมอาหาร ด้วยเหตุนี้แนวทางการพัฒนาเชื้อเพลิงใหม่สำหรับเชื้อเพลิงใหม่ทดแทนดีเซลในอนาคตของแผน AEDP จึงแบ่งออกเป็น 3 แนวทางคือ 1) การพัฒนาพืชพลังงานใหม่คือสับปะรดและสาหร่าย 2) การพัฒนาการผลิต FAEE, ED95, และดีโซฮอล, และ 3) การพัฒนาเทคโนโลยีการแปรสภาพน้ำมันทดแทน 2 แนวทาง คือ น้ำมันดีเซลชีวภาพสังเคราะห์ (bio - hydrogenated diesel, BHD) และ เชื้อเพลิงจากการเผาชีวมวล (biomass - to - liquid, BTL) ถึงแม้ว่าในปัจจุบันได้มีความพยายามค้นหาพืชต่างๆที่สามารถผลิตน้ำมันได้ในปริมาณสูงในประเทศไทย (Winayanuwattikun et al., 2008) แต่การยกระดับสู่ระดับปฏิบัติการจริงคือการรณรงค์การเพาะปลูกก็จะต้องได้รับการสนับสนุนจากรัฐบาลเชิงนโยบายอย่างจริงจัง นอกจากนี้ยังมีการคิดถึงแนวทางการพัฒนาการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันของพืชที่ไม่สามารถบริโภคได้เช่นสับปะรด เพื่อจะได้ไม่มีการช่วงชิงกับการบริโภค แต่ไม่ว่าอย่างไรก็ตามก็คงไว้ซึ่งปัญหาของการจัดการพื้นที่เพาะปลูกและทรัพยากรเช่นแหล่งน้ำเป็นต้น ดังนั้นการค้นคว้าวิจัยปรับปรุงกระบวนการผลิตพลังงานชีวภาพให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้นจึงมีความจำเป็นเป็นอย่างยิ่ง เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการเพิ่มการผลิตพลังงานชีวภาพให้เพียงพอต่อความต้องการใช้ในประเทศ

#### **มวลชีวภาพลิกโนเซลลูโลสและศักยภาพในการนำมาใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อผลิตเป็นไบโอดีเซล**

มวลลิกโนเซลลูโลสพบเป็นสัดส่วนโดยรวมของพืช ประมาณร้อยละ 70 ของมวลโดยรวม ในพืชแต่ละชนิดและแต่ละส่วนจะมีปริมาณของเซลลูโลส, เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ในอัตราส่วนที่ต่างกัน ในผนังเซลล์ของพืช (cell wall) มวลลิกโนเซลลูโลสประกอบไปด้วย 1) เซลลูโลส (cellulose) คือ โฮโมโลกัสโพลีเมอร์ (a homologous polymer) ที่ประกอบไปด้วยสายยาวของหน่วยกลูโคส (glucose), 2) เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) คือ เฮเทอโรโลกัสโพลีเมอร์ (heterologous polymer) ของหน่วยน้ำตาล C5 และ C6 และ 3) ลิกนิน (lignin) คือ อะโรมาติกโพลีเมอร์ (a complex aromatic polymer) (Pauly & Keegstra, 2010; Chandel & Singh, 2011) (ภาพที่ 2) ดังนั้นทั้งเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสล้วนแต่มีศักยภาพในการนำไปใช้วัตถุดิบคือน้ำตาล เพื่อผลิตเป็นพลังงานชีวภาพในลำดับต่อไป เนื่องจากทั้งเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสมีอัตราส่วนใหญ่จากมวลรวมของพืชชนิดต่างๆ (Chandel & Singh, 2011) ดังแสดงให้เห็นในตารางที่ 2 ซึ่งแสดงให้เห็นถึงศักยภาพของการนำมาผลิตพลังงานชีวภาพเหล่านี้มาเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตพลังงานชีวภาพ และเพราะถึงจะมีอัตราส่วนที่แตกต่างหลากหลายในพืชแต่ละชนิดแต่ละส่วน แต่มวลลิกโนเซลลูโลสทั้งหมดก็ล้วนแต่ประกอบไปด้วยองค์ประกอบหน่วยย่อยเดียวกัน ดังนั้น การผลิตพลังงานชีวภาพจากมวลลิกโนเซลลูโลสจึงจะเป็นการแก้ปัญหาค่าใช้จ่ายที่แพงของพลังงานเพียงไม่กี่ชนิดลงไป



ภาพที่ 2 ส่วนประกอบของผนังเซลล์พืช. ผนังพืชเซลล์ระดับโมเลกุลเป็นมวลลิกโนเซลลูโลสที่ประกอบด้วยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน โดยสายใยเซลลูโลสจะฝังตัวในเมทริกซ์ที่สานไปด้วยเฮมิเซลลูโลส และแทรกด้วยลิกนิน ซึ่งทั้งเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสล้วนแต่เป็นโพลีเมอร์ของหน่วยย่อยน้ำตาล C5 (pentose) และ C6 (hexose) ที่สามารถนำไปเป็นวัตถุดิบในการผลิตพลังงานชีวภาพได้ (Rubin, 2008)

มวลเซลลูโลสถือได้ว่ามีส่วนสูงโดยเฉลี่ยถึงกว่าร้อยละ 33 ของมวลแห้ง, และสูงถึงร้อยละ 64 ในฟางข้าว (Binod et al., 2010; Chandel & Singh, 2011) ด้วยเหตุนี้มวลชีวภาพลิกโนเซลลูโลสถือเป็นแหล่งวัตถุดิบในกระบวนการผลิตพลังงานชีวภาพที่สำคัญอย่างยิ่งในมุมมองเศรษฐศาสตร์เพราะมีปริมาณมาก คือทั่วโลกมีการผลิตมวลชีวภาพลิกโนเซลลูโลสสูงถึง  $85 \times 10^9$  ตันต่อปี โดยเฉพาะฟางของธัญพืชชนิดต่างๆ (cereal crops) เพียงอย่างเดียวก็มีปริมาณ  $2.9 \times 10^9$  ตันต่อปี (Sun et al., 2004) ในประเทศไทยสิ่งเหลือทิ้งจากการเกษตรตัวอย่างเช่น ฟางข้าว ที่มีปริมาณเซลลูโลสสูง และมีปริมาณเหลือทิ้งหลังการเก็บเกี่ยวในประเทศไทยเป็นจำนวนมากในแต่ละปี (38.1 ล้านตันจากการทำนาปีและนาปรังของทั่วประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2549) จากตัวเลขทางสถิติเหล่านี้แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ที่จะนำเอามวลลิกโนเซลลูโลสมาใช้เพื่อผลิตเป็นพลังงานทดแทนดีเซลได้เป็นอย่างดี โดยที่ไม่ต้องมีการใช้พื้นที่หรือทรัพยากรในการเพาะปลูกพืชน้ำมัน

ตารางที่ 2 ปริมาณองค์ประกอบของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินในมวลพืชชีวภาพชนิดต่างๆ องค์ประกอบแต่ละชนิดถูกแสดงออกคิดเป็นอัตราส่วนในผนังเซลล์ ซึ่งจะพบว่าในวัตถุดิบแต่ละชนิดจะมีปริมาณของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสที่แตกต่างกัน

ชนิดมวลชีวภาพ	เซลลูโลส (ร้อยละ)	เฮมิเซลลูโลส (ร้อยละ)	ลิกนิน (ร้อยละ)	แหล่งอ้างอิง
<b>ไม้เนื้อแข็ง</b>				
Birch	40.0	23.0	21.0	Olsson & Hahn-Hagerdal (1996)
<b>ไม้เนื้ออ่อน</b>				
Spruce	43.0	26.0	29.0	Olsson & Hahn-Hagerdal (1996)
Pine	46.4	8.8	29.4	Wayman & Parekh (1990)
<b>สิ่งหลงเหลือจากการเกษตร</b>				
Sugarcane bagasse	33.0	30.0	29.0	Neureiter et al. (2002)
Wheat straw	38.2	21.2	23.4	Wiselogle et al. (1996)
Corn stover	37.5	22.4	17.6	Zhu et al. (2007)
<b>พืชวัตถุดิบเพื่อผลิตพลังงานชีวภาพ</b>				
Switch grass	31.0	20.4	17.6	Wiselogle et al. (1996)
Miscanthus	40.0	18.0	25.0	Sorensen et al. (2008)
<b>ขยะจากชุมชน</b>				
Processed paper	47.0	25.0	12.0	Ackerson et al. (1991)
Newspaper	61.0	16.0	21.0	Ackerson et al. (1991)

### กระบวนการย่อยสลายมวลลิกโนเซลลูโลสเป็นน้ำตาล

การย่อยสลายเซลลูโลสในกระบวนการธรรมชาติโดยเชื้อจุลินทรีย์ (microbes) จะมีการผลิตและใช้เอนไซม์ทั้งเชิงเดี่ยว (single enzyme) และเอนไซม์เชิงรวม (multi-enzyme complexes) ที่เรียกว่าเซลลูโลโซม (cellulosome) เพื่อใช้ในการย่อยสลายมวลเซลลูโลส (Bayer et al., 2004) อย่างไรก็ตามการวิจัยพัฒนาเอนไซม์เหล่านี้ในเชิงประยุกต์ เพื่อนำมาใช้ในกระบวนการอุตสาหกรรมยังเป็นประเด็นที่ต้องการการสนับสนุน เนื่องด้วยอุปสรรคของโครงสร้างของผนังเซลล์พืชที่ไม่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์เพราะไม่สามารถปรับโครงสร้างให้สัมผัสกับพื้นผิวของสายใยเซลลูโลส, สาร

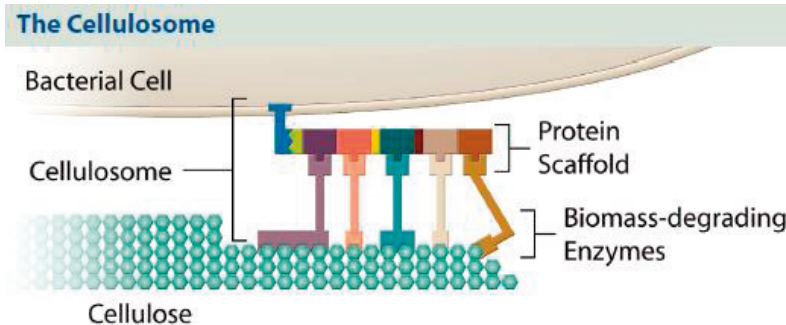
องค์ประกอบที่เป็นตัวยับยั้ง (inhibitors) ต่อการย่อยสลาย เช่น ลิกนิน, หรือแม้แต่สารเคมีที่ยับยั้งที่คงเหลือมาจากกระบวนการปรับสภาพมวลชีวภาพเริ่มต้น (Alvira et al., 2010; Binod et al., 2010) ซึ่งหนึ่งในกลยุทธ์ในการพัฒนากระบวนการย่อยสลายมวลเซลลูโลสคือการเลียนแบบธรรมชาติโดยใช้รา (fungi) และแบคทีเรีย (bacteria) บางชนิดที่พบในสิ่งแวดล้อม เช่น ดิน, พื้นของป่าเขตร้อน, ปุย, น้ำพุร้อน, หรือทางเดินอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องและแมลงเพื่อการผลิตเอนไซม์หลากหลายที่ทำงานย่อยสลายมวลเซลลูโลสทั้งเชิงเดี่ยวและเชิงรวม (Chandel & Singh, 2011) ดังแสดงในตารางที่ 3

**ตารางที่ 3** ตัวอย่างของเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเซลลูโลสไลติกเอนไซม์ (cellulolytic enzyme) ตัวอย่างราและแบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติ (native strain) และที่ผ่านการดัดแปลงทางพันธุกรรม (genetic engineered strain) ที่ได้มีการวิจัยมาก่อนหน้าว่าสามารถผลิตเอนไซม์ชนิดต่างๆที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสเป็นน้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลเชิงเดี่ยวชนิดอื่นๆ ซึ่งเป็นการแสดงถึงความเป็นไปได้ที่จะพัฒนาเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้เพื่อนำไปใช้ในการย่อยสลายมวลลิกโนเซลลูโลสต่อไป

เชื้อจุลินทรีย์	ชนิดมวลลิกโนเซลลูโลส	ชนิดเอนไซม์ที่ผลิตเพื่อสลายมวลเซลลูโลส	เอกสารอ้างอิง
<i>Trichoderma reesei</i> ZU-02	Corn cob residue	Cellulase	Liming & Xueliang (2004)
<i>Aspergillus niger</i> expressing <i>Helicobacter jecorina</i> endoglucanase cel 7B	Hydrolysate from sugarcane bagasse and spruce wood	Cellulase	Ariksson et al. (2009)
<i>Penicillium echinulatum</i>	Microbial pretreated sugarcane bagasse	Endoglucanase, Beta-glucosidase, Xylanase	Camassola & Dillon (2008)
<i>Neurospora crassa</i>	Mixture of wheat bran and wheat straw	Endoglucanase, Exoglucanase, Beta-glucosidase, Xylanase	Dogaris et al. (2009)
<i>Clostridium</i> sp. TCW1	Cellulosic feedstock	Endoglucanases, Exoglucanase, B-glucosidase	Lo et al. (2011)
<i>Rhodothermus marinus</i>	Lignocellulosicbi	Cellulases,	Gladden et al. (2011)
<i>Thermus thermophilus</i>	omass	Hemicellulases	
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Cellulose	-	Nakajima-Kambe et al. (2005)

ตัวอย่างการสำรวจแหล่งธรรมชาติเพื่อหาสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายมวลเซลลูโลส ได้แก่ การค้นพบแบคทีเรีย *C. thermocellum* จากทางเดินอาหารของวัวและม้าที่สามารถผลิตเซลลูโลสเอนไซม์ประกอบไปด้วยเอนไซม์ชนิดต่างๆที่สามารถย่อยสลายผนังเซลล์ทั้งหมด 25 ชนิด (Bayer et al., 2004; Gilbert, 2007; Gold & Martin, 2007) ซึ่งมีการจัดเรียงตัว

ระดับโมเลกุลเป็นกลุ่มก้อนโปรตีนแบบสแคฟโฟลด์ (scaffold) ดังแสดงในภาพที่ 3 การจัดเรียงตัวเชิงซ้อนซ้อนของเซลลูโลสโมเลกุลแบบตัวต่อเลโก้ (Lego-like arrangement) นี้ทำให้สามารถเกิดการปรับเปลี่ยนระบบการทำงาน (functionality) ตามสภาวะของสับสเตรท โดยการคอมบิเนชัน (combination) การทำงานของเอนไซม์แต่ละตัว ให้เหมาะสมกับการย่อยสลายสายใยเซลลูโลสที่มีองค์ประกอบที่หลากหลายในผนังเซลล์พืชแต่ละชนิด (Gilbert, 2007; Gold & Martin, 2007) ซึ่งคุณสมบัตินี้ทำให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายมวลลิกโนเซลลูโลสนั้นดีขึ้น



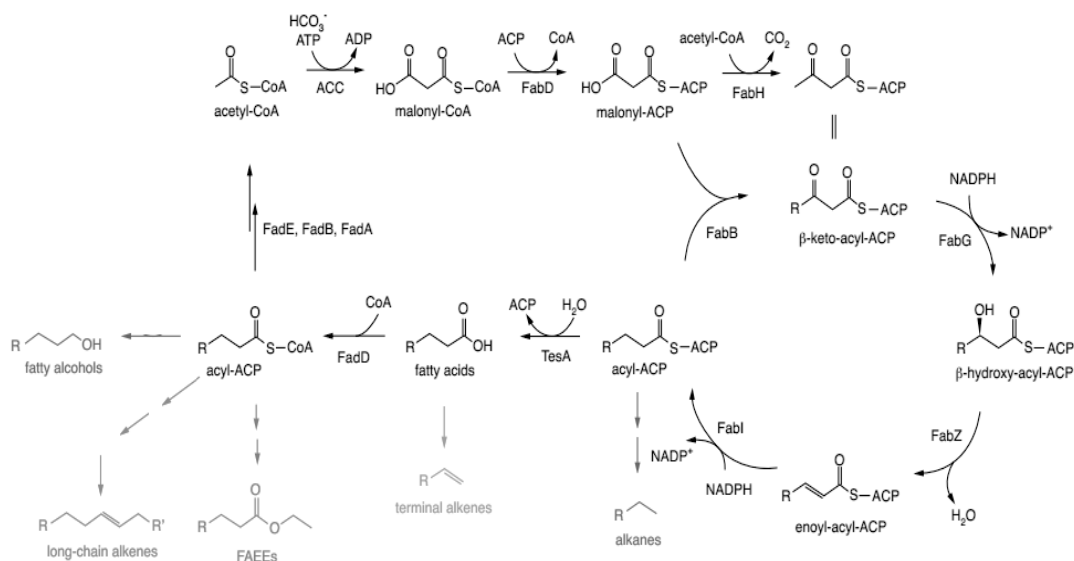
**ภาพที่ 3** ลักษณะจำลองของโครงสร้างและการจัดเรียงตัวของระดับโมเลกุลของเซลลูโลสโมเลกุล โปรตีนจำนวน 25 ชนิด (แทนด้วยรูปบล็อกแต่ละอัน) ที่ประกอบกันเป็นเซลลูโลสโมเลกุลที่ผลิตจากแบคทีเรีย *Clostridium thermocellum* โดยการกลุ่มเซลลูโลสโมเลกุลจะมีโดเมน (domain) ของโปรตีนที่ทำให้สแคฟโฟลด์โปรตีนสามารถยึดเกาะอยู่กับเซลล์แบคทีเรีย เมื่อเซลลูโลสโมเลกุลเกิดการสัมผัสกับพื้นผิวของมวลเซลลูโลส จะมีการสับเปลี่ยนตำแหน่งระดับโมเลกุลให้เอนไซม์แต่ละชนิดได้สัมผัสกับสับสเตรทจำเพาะแต่ละชนิดแบบ LEGO-like arrangement (Gilbert, 2007; Gold & Martin, 2007)

### กระบวนการผลิตพลังงานจากกระบวนการเมตาบอลิซึมของกรดไขมันในแบคทีเรีย

เนื่องจากกรดไขมันเป็นส่วนประกอบสำคัญในเยื่อหุ้มเซลล์ในสิ่งมีชีวิตกรดไขมันจึงมีปริมาณการผลิตในอัตราสูงเพื่อเปลี่ยนไปเป็นฟอสโฟลิปิด (phospholipid) สารจำพวกกรดไขมันสายยาว (long-chain fatty acyl) เป็นสารชีวโมเลกุล (biomolecules) ที่พลังงานสูงซึ่งนับว่าเป็นวัตถุดิบที่ดีในการนำไปผลิตเป็นพลังงานชีวภาพ (biofuels) ถึงแม้ว่ากรดไขมันอิสระนั้นจะไม่สามารถนำไปใช้เป็นพลังงานชีวภาพได้โดยตรงแต่อนุพันธ์ของกรดไขมัน (fatty acid derivatives) ได้แก่ แพตตีแอลกอฮอล์ (fatty alcohol), กรดไขมันเอซิดเอซิลเอสเตอร์ (fatty acid acyl ester), กรดไขมันอัลเคน (fatty acid-derivative alkanes), อัลคีน (alkenes) สามารถนำไปใช้เป็นพลังงานชีวภาพได้เพราะมีค่าการละลายน้ำต่ำ (water solubility), ความหนาแน่นของพลังงานสูง (energy density), และมีมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมน้อยกว่าฟอสซิลฟิวส์และเนื่องจากกระบวนการเมตาบอลิซึมในการสร้างกรดไขมันอิสระและกลไกควบคุมในการผลิตกรดไขมันนั้นถูกศึกษาและอธิบายในหลายๆที่ (Fujita et al., 2007; Chan & Vogel, 2010) จึงทำให้การศึกษาหาข้อมูลเพื่อพัฒนากระบวนการนั้นมีความเป็นไปได้สูง

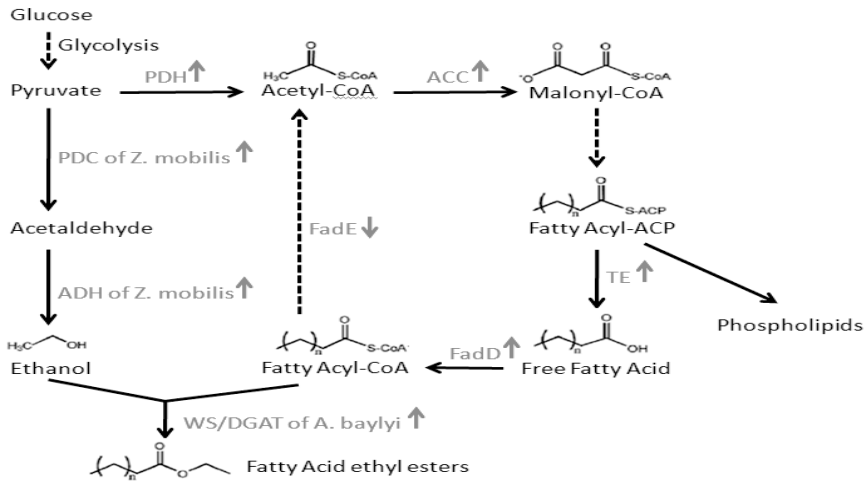


กระบวนการผลิตกรดไขมันดังแสดงในภาพที่ 4 นั้นโดยย่อเริ่มจาก อะเซทิลโคเอ (acetyl-CoA) จะถูกเปลี่ยนไปเป็นมาโลนิลโคเอ (malonyl - CoA) และเข้าสู่ขั้นตอนการเพิ่มสายยาวของกรดไขมันที่เป็นกระบวนการต่อเนื่อง คือ เบต้าคีโตรีดักชัน, ดีไฮเดรชัน และอีโนอิลรีดักชัน ซึ่งกระบวนการนี้สามารถเกิดซ้ำได้หลายรอบเพื่อเพิ่มความยาวโดยการเติมคาร์บอน (carbon) เข้าไปที่ละ 2 อะตอม



**ภาพที่ 4** แผนผังเมตาบอลิซึมในการผลิตกรดไขมันอิสระและอนุพันธ์กรดไขมัน (Zhang et al., 2011) แบคทีเรีย *Escherichia coli* สายพันธุ์ธรรมชาติ (native strain) จะผลิตกรดไขมันอิสระด้วยเอนไซม์ชนิดต่างๆที่มีอยู่ในเซลล์ ซึ่งผลผลิตที่ได้คือ acyl - ACP, fatty acid, และ acyl - ACP สามารถใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตเป็นพลังงานชีวภาพรูปแบบต่าง ๆ คือ fatty alcohol, Long - chain alkenes, FAEs, alkenes, alkanes ผ่านกระบวนการพันธุวิศวกรรม

จากความรู้เกี่ยวกับกระบวนการผลิตกรดไขมันนี้ จึงมีการศึกษาต่อเนื่องเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตกรดไขมันในปริมาณสูงโดยการผลิตแบคทีเรีย *Escherichia coli* ถูกผสมด้วยวิธีทางพันธุวิศวกรรม ดังแสดงตัวอย่างใน ซึ่งจากรายงานวิจัยพบว่าการผลิตกรดไขมันอิสระสูงถึง 1.2 กรัมต่อลิตรภายใน 72 ชั่วโมง (Steen et al., 2010) นอกจากนี้ยังมีการพัฒนางานวิจัยเพื่อทำการผลิต FAEs สำหรับการผลิตไบโอดีเซลในระดับถังหมักของห้องปฏิบัติการจากมวลน้ำตาลด้วยกระบวนการทางชีวภาพ (Duan et al., 2011) ดังแสดงในภาพที่ 5



ภาพที่ 5 กระบวนการผลิตสารตั้งต้นไบโอดีเซล FAEEs ด้วย *E. coli* สารพันธุกรรมที่มีการปรับปรุงทางพันธุกรรม (Duan et al., 2011) การตัดแต่งพันธุกรรมให้มีการผลิตเอนไซม์ชนิดต่างๆ (เช่น PDH หรือ ACC) ในปริมาณที่มากขึ้น (ลูกศรชี้ขึ้น) หรือปริมาณลดลง (ลูกศรชี้ลง) ทั้งหมด 8 จุดใน *E. coli* สายพันธุ์เดียวกัน เพื่อให้มีการผลิตสารสุดท้ายคือ FAEE (โดยประกอบไปด้วย C12 ถึง C18) ในปริมาณที่เพิ่มขึ้น ซึ่งการปรับเปลี่ยนทางพันธุกรรมนี้ยังมีการชักนำยีนจากแบคทีเรียต่างสปีชีส์เข้าสู่ *E. coli* ด้วย ได้แก่ *Zymomonas mobilis* และ *Acinetobacter baylyi* (รายชื่อตัวย่อ PDH: pyruvate dehydrogenase; ACC: acetyl-CoA carboxylase; PDC: pyruvate decarboxylase; ADH: alcohol dehydrogenase; TE: thioesterase; FadD: fatty acyl-CoA synthase; FadE: acyl-CoA dehydrogenase; WS/DGAT: wax synthase/acyl-coenzyme A: diacylglycerol acyltransferase)

### สรุป

ในประเทศไทยสิ่งเหลือทิ้งจากการเกษตรตัวอย่าง เช่น ฟางข้าว ที่มีปริมาณเซลลูโลสสูง และมีปริมาณเหลือทิ้งหลังการเก็บเกี่ยวในประเทศไทยเป็นจำนวนมากในแต่ละปี ซึ่งทำให้ประเทศไทยมีศักยภาพสูงในการผลิตพลังงานทดแทน โดยเฉพาะการผลิตไบโอดีเซลจากมวลชีวภาพลิกโนเซลลูโลสที่ได้มาจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรในประเทศไทย กระบวนการย่อยสลายมวลลิกโนเซลลูโลสเป็นน้ำตาลมีการผลิตและใช้เอนไซม์ เพื่อใช้ในการย่อยสลายมวลเซลลูโลส (Bayer et al., 2004) ซึ่งอุปสรรคของโครงสร้างของผนังเซลล์พืชที่ไม่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ ซึ่งหนึ่งในกลยุทธ์ในการพัฒนากระบวนการย่อยสลายมวลเซลลูโลสคือการเลียนแบบธรรมชาติโดยใช้รา และแบคทีเรีย บางชนิดที่พบในสิ่งแวดล้อม ในส่วนกระบวนการผลิตพลังงานจากกระบวนการเมตาบอลิซึมของกรดไขมันในแบคทีเรียกระบวนการผลิตกรดไขมันนี้ มีการศึกษาต่อเนื่องเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตกรดไขมันในปริมาณสูงโดยการผลิตแบคทีเรีย *E. coli* ลูกผสมด้วยวิธีทางพันธุวิศวกรรม ว่ามีการผลิตกรดไขมันอิสระสูงถึง 1.2 กรัมต่อลิตร ภายใน 72 ชั่วโมง (Steen et al., 2010) สิ่งประเทศไทยต้องการคือการพัฒนา

เทคโนโลยีในการผลิตพลังงานทดแทนในระดับอุตสาหกรรมเพื่อให้ผลผลิตที่สูงขึ้นและในขณะเดียวกันก็สามารถลดต้นทุนการผลิต

#### กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยอัสสัมชัญ และภาควิชาวิศวกรรมเคมีและกระบวนการบัณฑิตวิทยาลัยวิศวกรรมศาสตรนานาชาติสิรินธรไทย-เยอรมัน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ ที่ให้การสนับสนุนข้อมูล เครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ

#### เอกสารอ้างอิง

- Ackerson, M., Clausen, E., & Gaddy, J. (1991). **Production of ethanol from MSW via concentrated acid hydrolysis of the lignocellulosic fraction.** In: Energy from biomass wastes VolXV. Edited by DL K. Chicago, IL: Institute of Gas Technology, 725-743.
- Atriksson, B., Rose, S., van Zyl, W., Sjode, A., Nilvebrant, N., & Jönsson, L. (2009). **Cellulase production from spent lignocellulose hydrolysates by recombinant aspergillus niger.** applied and environmental microbiology, 75(8), 2366-2374.
- Alvira, P., Tomás-Pejó, E., Ballesteros, M., & Negro, M. (2010). **Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review.** Bioresource Technology, 101(13), 4851-4861.
- Bayer, E., Belaich, J., Shoham, Y., & Lamed, R. (2004). **The cellulosomes: Multienzyme Machines for Degradation of Plant Cell Wall Polysaccharides.** Annual Review of Microbiology, 58, 521-554.
- Binod, P., Sindhu, R., Singhanian, R., Vikram, S., Devi, L., Nagalakshmi, S., Kurien, N., Sukumaran, R., & Pandey, A. (2010). **Bioethanol production from rice straw: An overview.** Bioresource Technology, 101(13), 4767-4774.
- Camassola, M., Dillon, A. (2008). **Biological pretreatment of sugar cane bagasse for the production of cellulases and xylanases by penicillium echinulatum.** Industrial Crops and Products, 29(2-3), 642-647.
- Chan, D., & Vogel, H. (2010). **Current understanding of fatty acid biosynthesis and the acyl carrier protein.** Biochemical Journal, 430(1), 1-19
- Chandel, A., & Singh, O. (2011). **Weedy lignocellulosic feedstock and microbial metabolic engineering: advancing the generation of 'Biofuel'.** Applied Microbiology and Biotechnology, 89(5), 1289-1303.
- Dogaris, I., Vakontios, G., Kalogeris, E., Mamma, D., & Kekos, D. (2009). **Induction of cellulases and hemicellulases from neurospora crassa under solid-state cultivation for bioconversion of sorghum bagasse into ethanol.** Industrial Crops and Products, 29 (2-3), 404-411.
- Duan, Y., Zhu, Z., Cai, K., Tan, X., & Lu, X. (2011). **De novo biosynthesis of biodiesel by escherichia coli in optimized fed-batch cultivation.** PLoS ONE, 6(5), e20265.
- Fujita, Y., Matsuoka, H., & Hirooka, K. (2007). **Regulation of fatty acid metabolism in bacteria.** Molecular Microbiology, 66(4), 829-839.

- Gilbert, H. (2007). **Cellulosomes: microbial nanomachines that display plasticity in quaternary structure**. *Molecular Microbiology*, 63(6), 1568-1576.
- Gladden, J., Allgaier, M., Miller, C., Hazen, T., Vanderghenst, J., Hugenholtz, P., Simmons, B., Singer, S. (2011). **Glycoside hydrolase activities of thermophilic bacterial consortia adapted to switchgrass**. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(16), 5804-5812.
- Gold, N., & Martin V. (2007). **Global view of the clostridium thermocellum cellulosome revealed by quantitative proteomic analysis**. *Journal of Bacteriology*, 189(9), 6787-6795.
- Liming, X., Xueliang, S. (2004). **High-yield cellulase production by trichoderma reesei ZU-02 on corn cob residue**. *Bioresource Technology*, 91(3), 259-62.
- Lo, Y., Huang, CY., Cheng, CL., Lin, CY., & Chang, JS. (2011). **Characterization of cellulolytic enzymes and bioH(2) production from anaerobic thermophilic *Clostridium* sp. TCW1**. *Bioresource Technology*, 102(18), 8384-8392.
- Nakajima-Kambe, T., Okada, N., Takeda, M., Akutsu-Shigeno, Y., Matsumura, M., Nomura, N., & Uchiyama, H. (2005). **Screening of novel cellulose-degrading bacterium and its application to denitrification of groundwater**. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 99(4), 429-433.
- Neureiter, M., Danner, H., Thomasser, C., Saidi, B., & Braun, R. (2002). **Dilute-acid hydrolysis of sugarcane bagasse at varying conditions**. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 98-100(1-9), 49-58.
- Olsson, L., & Hahn-Hagerdal, B. (1996). **Fermentation of lignocellulosic hydrolysates for ethanol production**. *Enzyme and Microbial Technology*, 18(5), 312-331.
- Pauly, M., & Keegstra, K. (2010). **Plant cell wall polymers as precursors for biofuels**. *Current Opinion in Plant Biology*, 13(3), 305-312.
- Rubin, E. (2008). **Genomics of cellulosic biofuels**. *Nature*, 454(7206), 841-845.
- Sorensen, A., Teller, P., Hilstrom, T., & Ahring, B. (2008). **Hydrolysis of Miscanthus for bioethanol production using dilute acid presoaking combined with wet explosion pre-treatment and enzymatic hydrolysis**. *Bioresource Technology*, 99, 6602-6607.
- Steen, E., Kang, Y., Bokinsky, G., Hu, Z., Schirmer, A., McClure, A., Cardayre, S., & Keasling, J. (2010). **Microbial production of fatty-acid-derived fuels and chemicals from plant biomass**. *Nature*, 463(7280), 559-562.
- Sun, X., Sun, R., & Tomkinson, J. (2004). **Degradation of wheat straw lignin and hemicellulose polymers by a totally chlorine-free method**. *Polymer Degradation and Stability*, 83(1), 47-57.
- Van Kasteren, J.M.N., & Nisworo, A.P. (2007). **A process model to estimate the cost of industrial scale biodiesel production from waste cooking oil by supercritical transesterification**. *Resources, Conservation and Recycling* August, 50(4), 442-458.
- Wayman, M., & Parekh, S. (1990). **Biotechnology of biomass conversion; Fuels and chemicals from renewable resources**. Milton, Keynes: Open University Press.
- Winayanuwattikun, P., Kaewpiboon, C., Piriyananon, K., Tantong, S., Thakernkamkit, W., Chulalaksananukul, W., & Yongvanich, T. (2008). **Potential plant oil feedstock for lipase-catalyzed biodiesel production in Thailand**. *Biomass and Bioenergy*, 32(12), 1279-1286.

- Wiseloge, A., Tyson, S., & Johnson, D. (1996). **Biomass feedstock resources and composition**. In: **Handbook on bioethanol: production and utilization**. Edited by CEW. Washington DC: Taylor & Francis, 105–118.
- Zhang, F., Rodriguez, S., & Keasling, J. (2011). **Metabolic engineering of microbial pathways for advanced biofuels production**. *Current Opinion in Biotechnology*, 22(6), 775-783.
- Zhu, Y., Lee, Y., & Elander, R. (2007). **Conversion of aqueous ammoniated corn stover to lactic acid by simultaneous saccharification and co-fermentation**. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 137-140(1-12), 721-38.