แหล่งคาร์บอนจากโรงงานอุตสาหกรรมเกษตรเพื่อผลิตเอทานอล และบิวทานอลด้วยแบคทีเรียคลอสทริเดียม

Carbon Sources from Agricultural Industry for Ethanol and Butanol Production by *Clostridium* spp.

จันทรัสม์ โคมเวียน[1,2] และ ชมภูนุช กลิ่นวงษ์[2*]

Jantarush Comwien[1,2] and Chompunuch Glinwong[2*]

[1]*สหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย*

[2]*หน่วยปฏิบัติการวิจัยเชื้อเพลิงชีวภาพด้วยตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพ*

ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

[1]*Environmental Science Interdisciplinary Program, Faculty of Graduate School, Chulalongkorn University*

[2]*Biofuels by biocatalyst research unit, Faculty of Science, Chulalongkorn University*

Received : 20 November 2015

Accepted : 9 March 2016

Published online : 16 March 2016

บทคัดย่อ

ไบโอเอทานอลและบิวทานอลที่ผลิตจากวัสดุลิกโนเซลลูโลส เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจในการนำมาใช้เป็นพลังงานทดแทน เอทานอลและบิวทานอลเป็นเชื้อเพลิงเหลวที่สามารถนำมาใช้ทดแทนแก๊สโซลีนได้ การเผาไหม้มีความสมบูรณ์กว่าจึงมีแนวโน้มที่จะเป็นพลังงานทางเลือกที่ดี แต่เดิมสารตั้งต้นที่นำมาผลิตเอทานอลและบิวทานอลนั้นได้มาจากแป้งและน้ำตาล ซึ่งถือเป็นต้นทุนหนึ่งของกระบวนการผลิต ทำให้เอทานอล บิวทานอล และสารละลายอินทรีย์ที่ได้จากกระบวนการเหล่านี้มีแนวโน้มต้นทุนการผลิตที่สูง ในบทความนี้ ผู้เขียนได้รวบรวมข้อมูลแหล่งคาร์บอนที่มีศักยภาพในการนำมาใช้ทดแทนแหล่งคาร์บอนดั้งเดิม โดยเฉพาะของเหลือทิ้งจากภาคการเกษตรและภาคอุตสาหกรรม เช่น ซังข้าวโพด ขี้เลื่อย ชานอ้อย รวมทั้งของเหลือทิ้ง ขยะและน้ำเสียที่มีองค์ประกอบของแป้งและน้ำตาลจากโรงงานอุตสาหกรรมการเกษตร ซึ่งมีปริมาณมาก มีมูลค่าน้อย และไม่ก่อให้เกิดการแข่งขันทางด้านอาหาร ซึ่งแหล่งคาร์บอนเหล่านี้ ถือเป็นทางเลือกหนึ่งเพื่อแข่งขันกับสารตั้งต้นประเภทน้ำตาลที่มีราคาสูงกว่าได้ ทำให้ได้ผลผลิตเอทานอลและบิวทานอลที่มีศักยภาพในการนำไปเป็นเชื้อเพลิงเหลวในอนาคต

คำสำคัญ: ไบโอแอลกอฮอล์ เอทานอล บิวทานอล ชีวมวล ของเสียทางการเกษตร

*Corresponding author. E-mail : chompunuch.v@chula.ac.th

Abstract

Bioethanol and biobutanol from lignocellulosic biomass are interested alternative energies. Ethanol and butanol can be blended to benzene in the different ratios for any purpose. This leads the combustion of mixed fuel to be more complete which is an important property of eco-friendly biofuels. In the past, substrate for ethanol and butanol production has been derived from monosaccharides, disaccharide and starchy substrate. This results in high cost for ethanol and butanol production. For this reason, this review focuses on agricultural and industrial wastes such as lignocellulosic biomass from corncob, wood dust, bagasses including waste and wastewater from agricultural waste. The wastes are abundant and have low value. They also will not raise the problems of food or fuels dilemma. These wastes can be applied as alternative carbon sources competing the expensive sugar and starch substrates. The goal of this review is to summarize the possibility of using these wastes to produce ethanol and butanol as potential biofuels in the future.

Keyword: Bioalcohols, ethanol, butanol, biomass, agricultural waste

บทนำ

จากการรายงานของ International Energy Agency Statistic พบว่า ปริมาณน้ำมันประมาณ 60% ของน้ำมันที่ใช้ทั่วโลกนั้นอยู่ในภาคการขนส่ง การหาแหล่งพลังงานทดแทนแหล่งใหม่ที่มีความยั่งยืนมาทดแทนน้ำมันเชื้อเพลิงมีอยู่อย่างจำกัด เชื้อเพลิงชีวภาพจึงเป็นอีกหนึ่งตัวเลือกในการเป็นพลังงานทดแทนน้ำมันเนื่องจากสามารถใช้ทดแทนน้ำมันเชื้อเพลิงได้โดยตรง และการใช้เชื้อเพลิงชีวภาพยังเป็นการช่วยลดการปลดปล่อยแก๊สเรือนกระจก เพราะเชื้อเพลิงชีวภาพมีการเผาไหม้ที่สมบูรณ์กว่าเชื้อเพลิงปิโตรเลียม ในปัจจุบันเชื้อเพลิงชีวภาพได้รับความสนใจมากขึ้นโดยเฉพาะ “ไบโอแอลกอฮอล์ (bioalcohol)” ที่ผลิตจากชีวมวลด้วยเหตุผลหลัก 3 ประการ คือ

1. เป็นแหล่งพลังงานได้จากสารตั้งต้นที่ถูกนำกลับมาใช้ใหม่ (renewable sources) จึงเป็นแหล่งพลังงานที่ยั่งยืนต่อการพัฒนาในอนาคต

2. การปลดปล่อยแก๊สเรือนกระจกที่มีปริมาณน้อยกว่าจากปิโตรเลียมโดยตรง

3. มีความคุ้มทุนด้านเศรษฐศาสตร์ในอนาคต เนื่องจากราคาน้ำมันเชื้อเพลิงจากปิโตรเลียมมีราคาไม่คงที่ขึ้นกับสถานการณ์โลก และมีแนวโน้มสูงขึ้น

เอทานอลและบิวทานอลในบทบาทของการเป็นเชื้อเพลิงชีวภาพ

ไบโอแอลกอฮอล์ที่ผลิตขึ้นมากที่สุดปัจจุบันคือ เอทานอล (ethanol) รองลงมาคือ โพรพานอล (propanol) และบิวทานอล (butanol) ซึ่งแอลกอฮอล์เหล่านี้สามารถผลิตโดยจุลินทรีย์จากกระบวนการหมักซึ่งจุลินทรีย์สามารถใช้สารตั้งต้นได้หลายชนิด เช่น น้ำตาลชนิดต่างๆ เช่น น้ำตาลหัวบีต อ้อย แป้งชนิดต่างๆ เช่นจากข้าวสาลี ข้าวโพด ตลอดจนมีงานวิจัยที่พัฒนาการใช้เซลลูโลสและของเหลือจากภาคเกษตรมาใช้เป็นสารตั้งต้น ในอดีต อุตสาหกรรมการหมักแอซีโทน-บิวทานอล เกิดขึ้นที่ประเทศอังกฤษ เมื่อเริ่มสงครามโลกครั้งที่ 1 ในปี ค.ศ. 1914 เนื่องจากต้องการแอซีโทนเพื่อใช้สำหรับอุตสาหกรรมการทำวัตถุระเบิด และต้องการบิวทานอล มาใช้ในการผลิตยางสังเคราะห์โดยการเปลี่ยนไปเป็นบิวทาไดอีน (butadiene) ต่อมา เกิดอุตสาหกรรมการหมักแอซีโทน-บิวทานอล ที่ประเทศแคนาดา และสหรัฐอเมริกาตามลำดับ ในอดีต ช่วงสามสิบปีที่ผ่านมามีการพัฒนาที่รวดเร็วของอุตสาหกรรมการผลิตเชื้อเพลิงปิโตรเลียม (Li *et al.,*

2014; Qureshi and Blaschek, 2001) แต่ในปัจจุบันราคาน้ำมันโลกมีความผันผวนมากและมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นทุกปี รัฐบาลในหลายประเทศจึงมีนโยบายสนับสนุนพลังงานทดแทน ซึ่งรวมถึงเชื้อเพลิงชีวภาพชนิดต่างๆที่เป็นพลังงานทางเลือกมากขึ้น รวมถึงเอทานอลและบิวทานอลนั่นเอง

เอทานอลและบิวทานอลเป็นสารเคมีที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรม เพราะสามารถนำมาใช้เป็นน้ำมันเชื้อเพลิงได้ โดยเฉพาะบิวทานอลที่มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับแก๊สโซลีน จึงสามารถใช้แทนแก๊สโซลีนได้โดยตรง เป็นเหตุให้มีงานวิจัยมากมายศึกษาถึงกระบวนการผลิตบิวทานอล ไม่ว่าจะเป็นการหาสารตั้งต้นในการผลิตที่มีความยั่งยืนนำกลับมาใช้ใหม่ได้ รวมถึงมีการพัฒนาในด้านของกระบวนการทางวิศวกรรมในเรื่องของระบบการหมักเพื่อจะเปลี่ยนชีวมวลเป็นบิวทานอล (Durr, 2007; Lee *et al*., 2008; Papousakis, 2008) อุตสาหกรรมการผลิตบิวทานอลมีแนวโน้มที่จะผลิตมาจากกระบวนการหมักด้วยแบคทีเรียแบบไม่ใช้อากาศโดยแบคทีเรียสกุลคลอสทริเดียม แบคทีเรียสกุลนี้เป็นสกุลที่รู้จักกันแพร่หลายและศึกษากันมาอย่างยาวนาน โดยมีการศึกษาครั้งแรกในปี ค.ศ. 1912 เมื่อนักเคมีชาวอิสราเอล Chaim Weizmann ได้ทำการแยกจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* และหมักโดยใช้แป้งเป็นสารตั้งต้น พบว่าแบคทีเรียสกุลนี้ให้ผลิตภัณฑ์เป็นแอซีโทน บิวทานอล และเอทานอล ซึ่งต่อมาได้มีการพัฒนาและนำมาใช้เป็นอุตสาหกรรมการหมักแอซีโทน-บิวทานอล-เอทานอล (ABE Fermentation) กันอย่างแพร่หลายในยุโรป ซึ่งมีงานวิจัยก่อนหน้าที่ศึกษาค้นคว้าเป็นจำนวนมาก ดังจะได้กล่าวในบทความนี้ สิ่งที่แตกต่างกันคือ ชนิดของ *Clostridium* spp. ที่มีความสามารถในการใช้สารตั้งต้นที่แตกต่างกันและให้ผลผลิตความเข้มข้นของบิวทานอลที่แตกต่างกัน (Jone and Wood, 1986) จุดเด่นของการใช้ *Clostridium* sp. ในการผลิตไบโอแอลกอฮอล์คือ แบคทีเรียสกุลนี้เป็นแบคทีเรียที่สร้างสปอร์ภายในเซลล์ (endospore) จึงมีความสามารถในการทนต่อสภาวะที่ไม่เหมาะสมได้ดีกว่าจุลินทรีย์สกุลอื่น จึงอาจกล่าวได้ว่าไม่มีแบคทีเรียในสกุลใดในกลุ่ม Archea และ Eucarya ที่จะมีประสิทธิภาพตามธรรมชาติเพียงพอในการผลิตบิวทานอลได้ในระดับอุตสาหกรรมเท่า *Clostridium* spp. (Qureshi *et al.,* 2008)

ปัจจุบัน ข้อจำกัดที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพของกระบวนการหมักบิวทานอลโดยใช้ *Clostridium* sp. เกิดจากราคาสารตั้งต้นที่มีราคาสูง สารตั้งต้นบางชนิดแม้จะมีราคาต่ำ แต่ก็มีสารที่เป็นตัวยับยั้งกระบวนการหมัก ซึ่งจะส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ ทำให้ผลิตบิวทานอลจากกระบวนการหมักได้ความเข้มข้นที่ต่ำ จากปัญหาที่กล่าวมาทั้งหมดนั้นจะเห็นว่า ปัญหาสำคัญ คือ การเลือกสารตั้งต้นและความทนต่อบิวทานอลของ *Clostridium* spp. ในส่วนของปัญหาที่เกี่ยวกับสายพันธุ์และความทนทานต่อบิวทานอลนั้น มีการวิจัยพัฒนาและคัดเลือกชนิดของ *Clostridium* spp. ให้มีความทนต่อบิวทานอลได้สูง เพื่อที่จะเพิ่มความเข้มข้นของบิวทานอลจากกระบวนการหมัก (Jang *et al,* 2012; Green, 2011; Jiang *et al*., 2009, Lee *et al*., 2009) การดัดแปลงพันธุกรรม (genetic engineering) กับ *Clostridium* spp. เพื่อให้มีความทนต่อบิวทานอลได้เพิ่มมากขึ้น ซึ่งมีการทำการศึกษาในหลายงานวิจัย (Mariano *et al.,* 2011; Li *et al.,* 2011; Lu *et al.,* 2012; Ezeji *et al*., 2003) เช่น การศึกษาวิถีเมแทบอลิซึมเพื่อให้ *Clostridium* spp. ผลิตบิวทานอลได้สูงขึ้น (Jang *et al*., 2012; Tracy *et al*., 2012; Lütke-Eversloh and Bahl, 2011, Yu *et al*., 2011) การเพิ่มความเข้มข้นของเซลล์ในการหมักเพื่อเพิ่มความเข้มข้นของบิวทานอลที่ได้ (Tashiro *et al.,* 2005) นอกจากนี้ปัจจัยสำคัญที่จะเป็นตัวกำหนดต้นทุนของการผลิตและปริมาณผลผลิตบิวทานอลที่สำคัญอย่างยิ่งคือ สารตั้งต้นที่ใช้ในกระบวนการหมัก ในบทความนี้จึงจะกล่าวสรุปและวิเคราะห์ข้อมูลเกี่ยวกับสารตั้งต้น อันเป็นปัจจัยหลักที่มีความสำคัญยิ่งต่อการช่วยลดต้นทุน และเพิ่มผลผลิตบิวทานอลจากกระบวนการทางชีวภาพ

สารตั้งต้นที่ใช้ในกระบวนการหมัก

1. First generation carbon sources: **น้ำตาลซูโครสและแป้ง** (sucrose and starch)

แหล่งคาร์บอนประเภทน้ำตาลและแป้งที่ได้จาก ข้าวโพด หัวบีท อ้อย มันฝรั่ง มันสำปะหลัง และข้าวฟ่าง สามารถนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการหมักเพื่อผลิต ABE ได้ หากใช้แป้งเป็นสารตั้งต้น การย่อยด้วยเอนไซม์แอมีเลสโดยกระบวนการ แซ็คคาริฟิเคชั่น (saccharification) และ ไฮโดรลิซิส (hydrolysis) จะช่วยเพิ่มปริมาณของน้ำตาลที่จะเข้าสู่กระบวนการหมักได้ จากรายงานของ Madihah และคณะ (2001) ได้มีการประยุกต์ใช้แป้งวุ้นสาคูเป็นสารตั้งต้นของการผลิตบิวทานอลด้วย *C. acetobutylicum* พบว่าสามารถผลิตเอทานอลและบิวทานอลได้ความเข้มข้น 0.5 และ 16 กรัมต่อลิตร คิดเป็นผลได้ของการผลิตเอทานอลและบิวทานอล (yield) 0.01 และ 0.27 กรัมต่อกรัมวัตถุดิบ อัตราการผลิต (productivity) เอทานอลและบิวทานอล 0.006 และ 0.207 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง อย่างไรก็ตาม เมื่อนำผลนี้มาเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของบิวทานอลที่ได้จากการหมักแป้งวุ้นสาคูกับแป้งจากมันฝรั่ง แป้งสาลี และแป้งข้าวโพด พบว่าความเข้มข้นของบิวทานอลที่ได้จากสารตั้งต้นเหล่านี้ มีค่าใกล้เคียงกันกับการใช้สารตั้งต้นที่เป็นน้ำตาล และไม่ว่าจะเป็นแป้งชนิดใด ก็ให้ผลที่ไม่แตกต่างกันมาก เมื่อใช้แบคทีเรียในการหมักเป็น *C. beijerinckii* BA101 (Ezeji *et al*., 2007)

ปัจจุบันแป้งมันสำปะหลัง ได้ถูกใช้ในกระบวนการหมักเพื่อผลิตบิวทานอล โดยตัวอย่างการศึกษาหนึ่งที่ใช้ *C. saccharoperbutylacetonicum* N1–4 ที่มีการดัดแปลงพันธุกรรมให้มีการแสดงออกของ ไฮเปอร์แอมีโลไลติกแอคทิวิที (hyper-amylolytic activity) ซึ่งมีแอคทิวิทีของเอนไซม์แอมีเลสสูง พบว่า สามารถผลิตเอทานอลและบิวทานอลได้ที่ความเข้มข้น 0.7 และ16.4กรัมต่อลิตร คิดเป็นผลได้ของการผลิตเอทานอลและบิวทานอล 0.01 และ 0.26 กรัมต่อกรัมวัตถุดิบ และอัตราการผลิตเอทานอลและบิวทานอล 0.02 และ 0.45 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง (Thang *et al.,* 2010) นับว่ากระบวนการทางพันธุวิศวกรรมร่วมกับกระบวนการทางชีวเคมี สามารถเพิ่มผลผลิตและอัตราการผลิตของบิวทานอลที่มากขึ้นได้ดี

แต่กระบวนการที่ประสบความสำเร็จมากที่สุดและเป็นต้นแบบสำหรับโรงงานทั้งระดับ pilot, demo และ pioneer นั้นกลับไม่ใช่การผลิตโดยใช้สารตั้งต้นที่มาจากแป้ง ในแอฟริกาใต้ การผลิตบิวทานอลจากกากน้ำตาลที่ได้จากอ้อยนั้นประสบความสำเร็จเป็นอย่างมากในระดับอุตสาหกรรม จนในปี ค.ศ. 1980 ได้ประเมินการใช้กากถั่วเหลืองเป็นสารตั้งต้นในการผลิตบิวทานอลโดยใช้แบคทีเรีย *C. beijerinckii* BA101 พบว่าสามารถผลิตบิวทานอลได้ที่ความเข้มข้น 8 กรัมต่อลิตร ซึ่งคิดเป็นผลได้ของการผลิต 0.1 กรัมต่อกรัมวัตถุดิบ อัตราการผลิตบิวทานอล 0.8 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ จากกากน้ำตาลที่ใช้ 80 กรัมต่อลิตร (Qureshi and Blaschek, 2001)

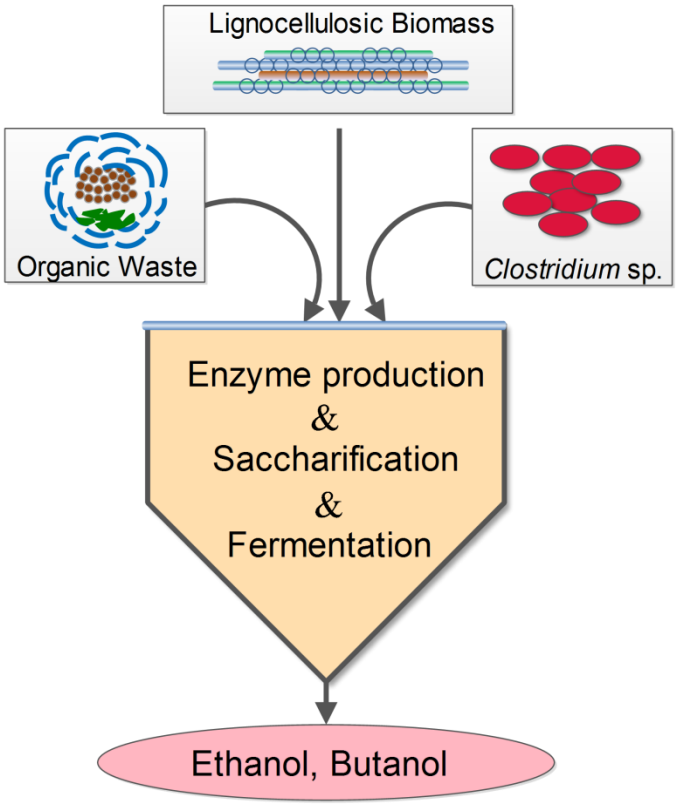
โดยสรุป แม้ว่าน้ำตาลซูโครสและแป้งจะเป็นสารตั้งต้นที่ดีสำหรับการหมักในการผลิตบิวทานอล แต่อัตราการผลิตด้วยสารตั้งต้นทั้งสองนี้ยังมีข้อจำกัดในเรื่องของการคำนวนความคุ้มทุน โดยเฉพาะเป็นสารตั้งต้นที่มีความต้องการทางตลาดอาหารที่สูง เมื่อนำมาใช้ในการผลิตเป็นเชื้อเพลิง ทำให้เกิดการแข่งขันราคากับอาหาร มีผลให้ราคาของน้ำตาลและแป้งสูงขึ้นได้ ดังนั้นการมองหาแหล่งวัตถุดิบที่จะใช้ในการผลิตเชื้อเพลิงจึงควรตระหนักถึงข้อนี้ โดยให้ความสำคัญกับแหล่งวัตถุดิบที่ไม่มีผลกระทบต่อราคาอาหารและไม่เป็นที่ต้องการของมนุษย์ การนำมวลชีวภาพจำพวกลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulosic biomass) จึงเป็นอีกหนึ่งตัวเลือกที่นักวิจัยได้ให้ความสนใจ ดังจะกล่าวในหัวข้อถัดไป

2. Second generation carbon sources: **ชีวมวลจำพวกลิกโนเซลลูโลส** (Lignocellulosic biomass)

ชีวมวลจากโรงงานอุตสาหกรรม เช่น กากวัตถุดิบเหลือใช้จากกระบวนการผลิตเอทานอล (dried distiller's grains and soluble: DDGS) (Ezeji and Blaschek, 2008) รำข้าว (rice bran) (Lee, 2009) ซังข้าวโพด (Qureshi *et al.,* 2008) ชานอ้อย (Lu *et al.,* 2012) จัดว่าเป็นชีวมวลที่มีศักยภาพ นักวิจัยสามารถประเมินถึงประสิทธิภาพการนำวัสดุ

เหล่านี้มาใช้ในการผลิตไบโอแอลกอฮอล์ เช่น การนำฟางข้าวบาร์เล่ ซังข้าวโพด และ หญ้าสวิสต์ มาหมักด้วย *C. beijerinckii* P260 (Qureshi *et al.,* 2010) การใช้รำข้าวสาลีที่เป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการโม่ข้าวสาลี มาหมักด้วย *C. beijerinckii* ATCC 55025 ในงานวิจัยนี้ รำข้าวสาลีผ่านกระบวนการไฮโดรลิซิส 53.1 กรัมต่อลิตร เมื่อวิเคราะห์แล้วประกอบด้วยน้ำตาลรีดิวซ์หลัก 3 ชนิด ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส 21.3 กรัมต่อลิตร น้ำตาลไซโลส 17.4 กรัมต่อลิตรและน้ำตาลอะราบิโนส 10.6 กรัมต่อลิตร เมื่อผ่านกระบวนการหมัก พบว่าได้ความเข้มข้นบิวทานอลถึง 8.8 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 72 ชั่วโมง (Liu *et al.,* 2010) แม้แต่รำข้าวและน้ำมันรำข้าวก็นำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการหมักเพื่อผลิตบิวทานอล โดยใช้ *C. saccharoperbutylacetonicum* N1–4 ได้ ซึ่งพบว่าสามารถหมักให้เอทานอลและบิวทานอลที่ความเข้มข้น 1.23 และ 7.72 กรัมต่อลิตร คิดเป็นผลได้ของการผลิตเอทานอลและบิวทานอล คือ 0.04 และ 0.27 กรัมต่อกรัมวัตถุดิบ และอัตราการผลิตเอทานอลและบิวทานอล 0.009 และ 0.06 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง (Al-Shorgani *et al.,* 2012) ผลวิจัยยังแสดงให้เห็นว่าส่วนมากแล้ว เอทานอลและบิวทานอลจะให้ผลผลิตมากที่สุดเมื่อใช้แหล่งอาหารเป็นน้ำตาลและแป้ง ดังจะเห็นได้จากผลผลิตบิวทานอล (g/L) และ ABE (g/L) และ ผลผลิต (g/g) ทั้งนี้มีงานวิจัยหลายชิ้นที่แสดงให้เห็นว่า มวลชีวภาพเมื่อนำมาเข้าสู่กระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ สามารถใช้เป็นสารตั้งต้นผลิตบิวทานอล และเอทานอลได้สูงกว่าการใช้แป้งและน้ำตาล ซึ่งเป็น First generation carbon sources

ในอดีต งานวิจัยชิ้นหนึ่งของ Marchal 1985 ประเทศฝรั่งเศสได้ประเมินการผลิตบิวทานอลจากชีวมวล โดยใช้แหล่งคาร์บอนเป็นแก่นตะวัน (*Jerusalem artichoke* หรือ Sunchoke) และใช้ *C. acetobutylicum* ซึ่งเป็นชนิดที่คัดแยกได้จากหัวของแก่นตะวัน พบว่าเมื่อหมักในสภาวะที่เหมาะสม แบคทีเรียสามารถผลิตเอทานอล และบิวทานอลได้ที่ความเข้มข้น 0 และ 13.6 กรัมต่อลิตร คิดเป็นผลได้ของการผลิตเอทานอลและบิวทานอล 0 และ 0.23 กรัมต่อกรัมวัตถุดิบ โดยใช้เวลาในการหมัก 33 ชั่วโมง ซึ่งในกระบวนการนี้ไม่ผ่านกระบวนการไฮโดรลิซิส และไม่มีการเติมสารอาหารเสริมอื่นๆ โดยต่อมากระบวนการของงานวิจัยนี้ได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในถังหมักที่มีขนาดใหญ่ขึ้น และนับเป็นตัวอย่างหนึ่งของจุดเริ่มต้นกระบวนการผลิตไบโอรีไฟเนอรี่จากสารตั้งต้นโดยไม่ต้องผ่านกระบวนการไฮโดรลิซิสหรือแซคคาริฟิเคชั่น ซึ่งนับเป็นกระบวนการที่รวมเอาขั้นตอนทุกอย่างเป็นขั้นตอนเดียวโดยใช้จุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการใช้สารตั้งต้นรวมถึงการผลิตอย่างแท้จริง (consolidated bioprocess) ที่มีการพัฒนาเทคโนโลยีมาถึงปัจจุบัน



ภาพที่ 1 กระบวนการ consolidate bioprocess ซึ่งรวมเอาขั้นตอนการผลิตเอนไซม์ ย่อยเอนไซม์ รวมถึงกระบวนการหมักโดยจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอทานอลและบิวทานอลได้

ชีวมวลอาจเป็นสารตั้งต้นหนึ่งที่เป็นคำตอบ สำหรับการหาแหล่งคาร์บอนเพื่อผลิตไบโอแอลกอฮอล์โดยที่ไม่มีผลต่อราคาอาหารของมนุษย์ อย่างไรก็ตามปัญหาสำคัญของการนำมาผลิตเชื้อเพลิงคือ อุปสรรคทางด้านเทคโนโลยีและโลจิสติกส์ในการจัดการ ในการรวบรวมตลอดจนการเก็บรักษาวัสดุเหล่านี้ให้คงสภาพเหมาะสมที่จะนำไปใช้งาน เพื่อให้ได้ปริมาณตามความต้องการในการผลิตไบโอแอลกอฮอล์ในแต่ละวัน และการวิเคราะห์ถึงเทคโนโลยีที่เหมาะสมในการสกัดน้ำตาลออกมาจากโครงสร้างของลิกโนเซลลูโลส (Blanch *et al.*, 2011) ซึ่งแตกต่างกันไปในชีวมวลแต่ละชนิด จึงเป็นเทคโนโลยีที่มีความจำเป็น ดังนั้นแนวทางในการศึกษาวิจัยในเรื่องของการนำวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลสมาเป็นสารตั้งต้นในการผลิตไบโอแอลกอฮอล์จึงให้ความสำคัญไปที่การศึกษากระบวนการปรับสภาพวัตถุดิบ โดยเฉพาะในกระบวนการไฮโดรลิซิส เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของบิวทานอลที่สูง

3. Third generation carbon sources: **ขยะอินทรีย์และน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมเกษตร** (Wastewater and agricultural industrial residue)

3.1 **วัสดุเหลือจากโรงงานอุตสาหกรรมทางการเกษตร**

ขยะอินทรีย์ เป็นอีกหนึ่งสารตั้งต้นที่มีความน่าสนใจสำหรับผลิตไบโอแอลกอฮอล์ (Lopez-Contreas *et al.*, 2000) ตัวอย่างหนึ่งในการศึกษาน้ำตาลที่ได้จากขยะอินทรีย์ (domestic organic waste; DOW) มาเป็นสารตั้งต้นในการผลิตบิวทานอล โดยใช้ *C. acetobutylicum* ATCC824 เมื่อนำขยะสดและขยะแห้งมาผ่านการปรับสภาพแล้วได้ความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดที่แตกต่างกันอยู่ในช่วง 27.7-39.3% (W/W) โดยมีกลูโคสในขยะสด 18.4% ของวัตถุดิบ และ

ในขยะแห้ง 25.1% ของวัตถุดิบ เมื่อผ่านกระบวนการหมักด้วย *C. acetobutylicum* ATCC824 โดยไม่มีการเติมสารอาหารอื่นเพิ่มเติม ใช้ความเข้มข้นของหัวเชื้อที่ 10% (W/V) เมื่อผ่านกระบวนการหมัก พบว่าได้ความเข้มข้นของเอทานอลและบิวทานอลที่ 0 และ 3 กรัมต่อลิตร อัตราการผลิตเอทานอลและบิวทานอล 0 และ 0.03 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมงตามลำดับ จากขยะอินทรีย์ 100 กรัม และเมื่อนำขยะอินทรีย์เหล่านี้มาผ่านกระบวนการไฮโดรลิซิส โดยการเติมเอนไซม์เซลลูเลส (cellulases) และ บีตา-กลูโคซิเดส (β-glucosidases) พบว่าสามารถผลิตเอทานอลและบิวทานอลได้ความเข้มข้นที่สูงขึ้น เป็น 0.4 และ 4.2 กรัมต่อลิตรตามลำดับ อัตราการผลิตเอทานอลและบิวทานอล 0.008 และ 0.09 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมงตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการนำเอนไซม์มาประยุกต์ใช้สำหรับขยะอินทรีย์ช่วยเพิ่มผลผลิตบิวทานอลจากการหมักได้เป็นอย่างดี อย่างไรก็ตามผลผลิตบิวทานอลที่ได้ยังน้อยกว่าการใช้สารตั้งต้นประเภทลิกโนเซลลูโลส พลาสติกชีวภาพที่ถูกขึ้นรูปโดยใช้แป้งจากถั่วลิสง (packing peanut) ได้ถูกนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตบิวทานอลเนื่องจากพลาสติกชนิดนี้เป็นขยะที่มีจำนวนมากในแถบยุโรป เมื่อผ่านกระบวนหมักด้วย *C. beijerinckii* BA101 พบว่า ได้ความเข้มข้นของ ABE ถึง 8.3 กรัมต่อลิตร (แอซีโตน 1.7 กรัมต่อลิตร, บิวทานอล 6.5 กรัมต่อลิตร และเอทานอล 0.1 กรัมต่อลิตร โดยใช้พลาสติกชีวภาพถึง 80 กรัมต่อลิตรเป็นสารตั้งต้น และใช้เวลาในการหมัก 121 ชั่วโมง (Ezeji *et al.,* 2003)

จากผลการศึกษาข้างต้นนั้นจะเห็นได้ว่าทั้งขยะอินทรีย์ (third generation carbon sources) และชีวมวลที่มีวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ (second generation carbon sources) นั้นมีประสิทธิภาพเพียงพอที่จะสามารถนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นของการผลิตบิวทานอลได้ แต่ก็ยังมีปัญหาหลักในเรื่องความบริสุทธิ์และการแยกผลิตภัณฑ์ที่มีความหลากหลายของสารประกอบที่ได้มาหลังจากกระบวนการไฮโดรลิซิส ได้แก่ เกลือ (salt), เฟอร์ฟูรัล (furfural), ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล (hydroxymethylfurfural), กรดแอซีติก (acetic acid), เฟอรูลิก (ferulic), กลูคูโรนิก (glucuronic), กรดคูมาริก (p-coumaric acid) และ สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) โดยสารเหล่านี้มีผลในการยับยั้งกระบวนการหมักบิวทานอลได้ ทำให้ยังคงต้องมีการพัฒนาศึกษาปรับปรุงแก้ไขวิธีในการไฮโดรลิซิสเพื่อให้ความเข้มข้นของบิวทานอลสูงขึ้นจากกระบวนการหมักในอนาคต

3.2 น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมเกษตร

น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมเกษตรจัดเป็นแหล่งสารตั้งต้นหนึ่งที่มีศักยภาพที่เป็นไปได้ในการนำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนตั้งต้นสำหรับจุลินทรีย์ในการผลิตสารเคมีประเภทต่างๆ (bio-based chemical) รวมถึงเชื้อเพลิงชีวภาพ (biofuels) ดังเช่น การศึกษาของ Ouephanit และคณะ (2011) ที่ศึกษาการนำน้ำเสียจากโรงงานแป้งมันสำปะหลังมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตเอทานอลและบิวทานอล โดยใช้ *C. butyricum* พบว่าสามารถผลิตเอทานอลและบิวทานอลได้ที่ความเข้มข้น 0.144 และ 1.81 กรัมต่อลิตร โดยใช้เวลา 96 ชั่วโมง โดยไม่มีการเติมสารอาหารเพิ่มเติมลงไปในกระบวนการ งานวิจัยอื่นก็มีการศึกษาประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลน้ำเสียบ่อสาหร่าย ซึ่งน้ำเสียบ่อสาหร่ายถูกใช้เป็นสารตั้งต้นเพียง 10 % ลงในอาหารสูตร T-6-1%น้ำตาลกลูโคส *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N_{1-4} พบว่าได้บิวทานอลที่ 0.17 กรัมต่อลิตร โดยใช้เวลา 96 ชั่วโมง อย่างไรก็ตามไม่พบว่ามีเอทานอลเกิดขึ้น (Ellis *et al.,* 2012) ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าการใช้น้ำเสียมาเป็นสารตั้งต้นในการผลิตยังมีข้อจำกัดในเรื่องของความเข้มข้นของตัวทำละลายที่ผลิตได้ จึงมีงานวิจัยเพื่อที่จะพัฒนากระบวนการผลิตเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการโดยนำน้ำเสียจากโรงงานน้ำตาลซึ่งมีส่วนผสมของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและน้ำตาลโมเลกุลคู่มาใช้ ได้ความเข้มข้นเอทานอลและบิวทานอลชนิดละ 0.3 กรัมต่อลิตรที่เวลา 120 ชั่วโมง และน้ำเสียจากโรงงานต้นแบบการผลิตเซลลูโลสิกเอทานอล ได้ความเข้มข้นเอทานอลและบิวทานอลที่ 0.4 และ 0.6 กรัมต่อลิตรที่เวลา 120 ชั่วโมง (Comwien *et al*., 2015) จากตัวอย่างการใช้น้ำเสียในการผลิตเอทานอล และบิวทานอลที่กล่าวมานั้น จะเห็นได้ว่า ความเข้มข้นของบิวทานอล และเอทานอลที่ผลิตได้นั้นยังต่ำเมื่อเทียบกับสารตั้งต้นประเภทอื่น ปัจจุบันจึงเป็นหัวข้อการวิจัยที่น่าจะมุ่งเป้าพัฒนาเนื่องจากสามารถ

ปรับปรุงและพัฒนาเพื่อเพิ่มศักยภาพของการผลิตของบิวทานอลและเอทานอล เพื่อที่จะเอาชนะข้อจำกัดเหล่านั้นต่อไปได้ในอนาคต

ตัวอย่างที่ประสบความสำเร็จในปัจจุบันที่เห็นในโรงงานอุตสาหกรรมทางการเกษตรจำนวนมากได้แก่ การนำน้ำเสียมาผลิตแก๊สชีวภาพเพื่อผลิตกระแสไฟฟ้าใช้ในโรงงาน (del Campo *et al*., 2014; McCabe *et al.,* 2014) เช่น โรงงานแป้งมันสำปะหลัง โรงงานแป้งหมี่ โรงงานกะทิ ต่างก็ใช้เทคโนโลยีเหล่านี้มาเพื่อช่วยเพิ่มมูลค่า และกำจัดสารอินทรีย์อันตรายในน้ำทิ้งควบคู่ไปกับการใช้ระบบบำบัดน้ำเสีย (Rasi *et al*., 2010) ในอดีตการใช้ระบบบำบัดน้ำเสียเพียงอย่างเดียวนั้นในบางกรณีใช้พื้นที่มากถึง 40-60% ของพื้นที่โรงงานอุตสาหกรรมและต้องมีการสร้างระบบบำบัดซึ่งประกอบไปด้วยถังเก็บน้ำ บ่อตกตะกอน อุปกรณ์ในการเติมออกซิเจนหรือหมุนเวียนน้ำ และบ่อพักน้ำเสียเพื่อผ่านขั้นตอนต่างๆ ทั้งกระบวนการทางกายภาพ และชีวเคมี เพื่อลดองค์ประกอบที่เป็นอันตราย จนถึงค่าการวิเคราะห์ที่เป็นไปตามประกาศกระทรวงอุตสาหกรรมก่อนจะสามารถปล่อยน้ำทิ้งที่มีการบำบัดออกจากโรงงานได้ ขั้นตอนเหล่านี้อาจใช้พื้นที่มากถึง 40% เมื่อเทียบกับเปอร์เซ็นต์พื้นที่ทั้งหมดของโรงงาน ขั้นตอนการบำบัดใช้พลังงานไฟฟ้า อาศัยกำลังคนและมีค่าใช้จ่ายในการดำเนินการหลายส่วนเพื่อให้ระบบดำเนินการได้อย่างสมบูรณ์ (Oon *et al*., 2015; Wang *et al.,* 2015) ปัจจุบันเมื่อมีระบบผลิตแก๊สชีวภาพมาควบคู่กัน อย่างน้อยก็สามารถทำให้โรงงานได้พลังงานไฟฟ้าหมุนเวียนกลับมาได้พร้อมกับการบำบัดของเสีย ระบบนี้น่าจะนับเป็นยุคเริ่มต้นของการพัฒนาการสร้างไบโอรีไฟเนอรี (Bio-refinery) จากของเสียโรงงานอุตสาหกรรม แต่อย่างไรก็ตาม ยังไม่ได้มีผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าเกิดขึ้น จากการดำเนินระบบบำบัดของเสีย ปัจจุบันมีการพัฒนาเทคโนโลยี เพื่อสร้างตัวทำละลายที่มีมูลค่าจากน้ำเสียควบคู่ไปกับระบบการบำบัดน้ำเสียแบบดั้งเดิม นั่นคือการสร้างโรงงานผลิตเอทานอลควบคู่ไปกับโรงงานอุตสาหกรรมน้ำตาล โดยนำกากน้ำตาลที่เหลือจากกระบวนการต้มมาเป็นสารตั้งต้นในการหมักเอทานอล ในประเทศบราซิลได้พัฒนาระบบดังกล่าวจนเป็นระบบที่มีความคงตัว และมีเอทานอลเป็นเชื้อเพลิงหลักที่สามารถผลิตได้จากอ้อยได้สำเร็จมาเป็นเวลานาน ปัจจุบัน เทคโนโลยีการผลิตเอทานอลจากมวลชีวภาพเริ่มเกิดขึ้นมากและเป็นเทคโนโลยีที่เป็นไปได้จริง จะเห็นได้ว่าในปัจจุบัน ประเทศไทยเริ่มนโยบายทางด้านพลังงานทดแทนที่ชัดเจน มีโครงการผลิตเอทานอลจากมวลชีวภาพที่ดำเนินการในปัจจุบันทั้งในระดับ pilot demo และ pioneer จำนวนหลายโรงดังแสดงในตารางที่ 1 และกระบวนการผลิตบิวทานอลก็มีศักยภาพที่จะเกิดขึ้นในอนาคต

จากที่กล่าวมาทั้งหมด จะเห็นได้ว่า เทคโนโลยีเอทานอลจากน้ำตาลและแป้งเป็นเทคโนโลยีเกิดขึ้นจริงในปัจจุบัน ในส่วนของเอทานอลและบิวทานอลที่ได้จากมวลชีวภาพก็มีแนวโน้มที่เป็นไปได้สูง หากมีกฎหมายรองรับที่เอื้อต่อการจัดการกระบวนการที่เหมาะสม ทั้งนี้จะต้องมีความพร้อมคือมีผู้ผลิตที่มีเทคโนโลยีและการจัดการที่ดีและเอื้อต่อการลงทุน ซึ่งจะต้องวิเคราะห์ความเป็นไปได้ของการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพด้วยวัตถุดิบชนิดต่างๆ ซึ่งประกอบไปด้วยการวิเคราะห์วัฏจักรชีวิต (Life-cycle Analysis: LCA) ของการใช้พลังงานทางเลือก การวิเคราะห์ผลกระทบภายนอกที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของราคา (Pecuniary Externalities) ผลกระทบที่ไม่ได้คาดคิด (Unintended Consequences) ตลอดจนผลกระทบที่เกี่ยวข้องกับการจ้างงานและเศรษฐกิจ และปัจจัยทางด้านอื่นๆ ในประเทศไทย มีแผนการผลิตเอทานอล โดยได้กำหนดเป้าหมายในการผลิตและการใช้เอทานอลอยู่ที่ 3.0 ล้านลิตรต่อวัน ภายในปี 2011 ซึ่งใกล้บรรลุวัตถุประสงค์โดยในปี 2011 ประเทศไทยผลิตเอทานอลได้ 209 ล้านลิตรต่อวัน จาก 19 โรงงานในประเทศไทย (Boyd, 2009) และมีแนวโน้มว่าจะมีกำลังการผลิตเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ซึ่งในปี 2014 ประเทศไทยมีกำลังการผลิต 3.9 ล้านตันต่อวัน จากโรงงานเอทานอล 21 โรงงาน (Anun, 2014) ดังในตารางที่ 1 และมีแนวโน้มจะเพิ่มขึ้นเป็น 9.0 ล้านลิตรต่อวันภายในปี 2017-2022 ผู้ประกอบการโรงงานผลิตเอทานอลส่วนใหญ่ในประเทศไทยมีการกระจายตัวอยู่ในภาคกลาง

และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยจุลินทรีย์ที่นำมาประยุกต์ใช้งานสำหรับการผลิตเอทานอลในปัจจุบันส่วนใหญ่ยังคงเป็นยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ ซึ่งมีข้อดีในแง่ของกระบวนการผลิตที่ให้เอทานอลในปริมาณสูง ทั้งในแง่ของผลผลิตและเวลา (ตารางที่ 2) และไม่ต้องการกระบวนการหมักที่มีขั้นตอนการทำให้ถังหมักไร้เชื้ออย่างยิ่งยวด (Pfromm *et al*., 2010) อย่างไรก็ตาม การใช้ยีสต์เป็นจุลชีพหลักในชีวกระบวนการไม่สามารถผลิตบิวทานอล และแอลกอฮอล์ชนิดอื่นที่ให้ค่าพลังงานสูงกว่าเอทานอลได้ ทั้งยังต้องการน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวประเภทคาร์บอนหกอะตอม โดยเฉพาะกลูโคสมาเป็นสารตั้งต้นจึงจะสามารถให้ผลผลิตที่ดีได้ มีรายงานวิจัยก่อนหน้าที่แสดงว่า ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งไม่มีการดัดแปลงพันธุกรรมส่วนมากมีความสามารถในการใช้แหล่งคาร์บอนประเภทต่างๆได้จำกัดชนิดมาก (Barnett *et al.,* 1983; Duran-Lapujade *et al.,* 2004, Turcotte *et al*., 2009) การใช้ยีสต์สายพันธุ์ป่า (wild type) จึงอาจไม่ใช่คำตอบของสายพันธุ์ที่ดีที่สุด ที่จะสามารถในการผลิตตัวทำละลายจากสารตั้งต้นประเภทชีวมวล และของเสียซึ่งประกอบไปด้วยคาร์บอนหลากหลายชนิดอย่างสมบูรณ์ได้ นอกจากนั้น มีการตั้งโรงงานผลิตอยู่ในหลายจังหวัดโดยใช้วัตถุดิบจำพวก กากน้ำตาล อ้อย และมันสำปะหลังในการผลิตเอทานอล เมื่อรวมกำลังการผลิตเอทานอลทั้ง 21 โรงงานในประเทศไทยแล้ว คิดเป็นกำลังการผลิตรวม 309 ล้านตันต่อวัน ดังในตารางที่ 1 และในปัจจุบันประเทศไทยยังมีโรงงานเอทานอลที่กำลังก่อสร้างอีก 3 โรงงาน ดังนั้นในอนาคตเมื่อทำการก่อสร้างเสร็จทั้งหมด ประเทศไทยจะมีกำลังการผลิตเอทานอลรวมโดยประมาณถึง 5.3 ล้านตันต่อวัน ในส่วนนโยบายทางด้านพลังงานทางเลือกของบิวทานอลนั้น ยังเป็นที่จับตามองอยู่และคาดว่าจะมีกระบวนการจากทางภาครัฐมารองรับ อย่างไรก็ตาม การพัฒนาเทคโนโลยีที่เหมาะสมตลอดจนสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่รองรับต่อระบบการผลิต เป็นเรื่องที่สำคัญอย่างยิ่ง โดยเฉพาะ เมื่อมุ่งไปยังกระบวนการ consolidated bioprocess ซึ่งรวมเอาขั้นตอนการผลิตเอนไซม์ ย่อยเอนไซม์ รวมถึงกระบวนการหมักโดยจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอทานอลและบิวทานอลได้ในขั้นตอนเดียว (ภาพที่ 1) ซึ่งหากสามารถทำได้จะช่วยลดต้นทุนของกระบวนการให้ต่ำลงและจูงใจแก่ผู้ประกอบการในการสร้างอุตสาหกรรมฐานชีวภาพในประเทศไทยในอนาคต

ตารางที่ *2* แสดงการเปรียบเทียบการใช้ข้าวโพดเป็นสารตั้งต้นในการหมักเพื่อผลิตเอทานอลและบิวทานอลของยีสต์และ *C. acetobutyricum* (Pfromm *et al.,* 2010)

	ยีสต์	*C. acetobutylicum*
อัตราการผลิต (มิลลิโมลต่อวัน)	18.1	10.3
เอทานอล (20°C) (เฮกตาร์ลูกบาศก์เมตรต่อผลผลิต)	1893	129
บิวทานอล (20°C) (เฮกตาร์ลูกบาศก์เมตรต่อผลผลิต)	-	761
ค่าความร้อนต่ำ (Low Heating Value) (พิโคจูลต่อผลผลิต)	4	2.3

ตารางที่ 1 แสดงที่ตั้งและกำลังการผลิตเอทานอลของโรงงานผลิตเอทานอลในประเทศไทยในปี พ.ศ. 2557 (Thai Agro Energy Public, 2014)

	บริษัท	จังหวัด	กำลังการผลิต (ลิตรต่อวัน)	สารตั้งต้น
7	บริษัท เพโทรกรีน จำกัด (กาฬสินธุ์)*	กาฬสินธุ์	230,000	กากน้ำตาล
8	บริษัท มิตรผล ไบโอฟูเอล จำกัด (ชัยภูมิ)*	ชัยภูมิ	230,000	กากน้ำตาล
9	บริษัท เอกรัฐพัฒนา จำกัด*	นครสวรรค์	230,000	กากน้ำตาล
18	บริษัท ขอนแก่นแอลกอฮอล์ จำกัด (Bo Phloi)*	กาญจนบุรี	200,000	กากน้ำตาล
19	บริษัท ไทย อะโกร เอ็นเนอร์ยี จำกัด (มหาชน)	สุพรรณบุรี	200,000	กากน้ำตาล
17	บริษัท มิตรผล ไบโอฟูเอล จำกัด (ด่านช้าง)*	สุพรรณบุรี	200,000	กากน้ำตาล
2	บริษัท ไทยแอลกอฮอล์ จำกัด (มหาชน)*	นครปฐม	200,000	กากน้ำตาล
1	บริษัท ไทย อะโกร เอ็นเนอร์ยี่ จำกัด(มหาชน)	สุพรรณบุรี	150,000	กากน้ำตาล
11	บริษัท ราชบุรีเอทานอล จำกัด *	ราชบุรี	150,000	กากน้ำตาล
12	บริษัท อีเอส เพาเวอร์ จำกัด*	สระแก้ว	150,000	กากน้ำตาล
3	บริษัท ขอนแก่นแอลกอฮอล์ จำกัด*	ขอนแก่น	150,000	กากน้ำตาล
10	บริษัท ไทยรุ่งเรืองพลังงาน จำกัด*	สระบุรี	120,000	กากน้ำตาล
5	บริษัท น้ำตาลไทยเอทานอล จำกัด*	กาญจนบุรี	100,000	กากน้ำตาล
6	บริษัท เค ไอ เอทานอล จำกัด*	นครราชสีมา	100,000	กากน้ำตาล
13	บริษัท แม่สอดพลังงานสะอาด จำกัด*	ตาก	200,000	ชานอ้อย
14	บริษัท ทรัพย์ทิพย์ จำกัด	ลพบุรี	200,000	มันสำปะหลัง
4	Thai Ethanol Company Limited*	ขอนแก่น	130,000	มันสำปะหลัง
15	บริษัท ไท่ผิง เอทานอล จำกัด	สระแก้ว	150,000	มันสำปะหลัง
16	บริษัท พี.เอส.ซี. สตาร์ช โปรดักส์ จำกัด (มหาชน)	ชลบุรี	150,000	มันสำปะหลัง
20	บริษัท ดั๊บเบิ้ล เอ เอทานอล จำกัด	ปราจีนบุรี	250,000	มันสำปะหลัง
21	บริษัท อุบล ไบโอ เอทานอล จำกัด	อุบลราชธานี	400,000	มันสำปะหลัง
	กำลังการผลิตรวม		3,890,000	

สรุป

จากงานวิจัยที่ได้กล่าวมาทั้งหมดนั้นสารตั้งต้นไม่ว่าจะเป็นน้ำตาล หรือวัสดุชีวมวลนั้น ล้วนแต่มีปัญหาในการนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตไบโอแอลกอฮอล์ทั้งสิ้น โดยน้ำตาลจะมีปัญหาหลักในเรื่องของราคาวัตถุดิบ ในขณะที่วัสดุมวลชีวภาพมีปัญหาหลักในขั้นตอนการปรับสภาพวัตถุดิบ ดังนั้นการมองหาแหล่งคาร์บอนแหล่งใหม่นั้น ต้องมีราคาถูก ไม่เป็นที่ต้องการของมนุษย์ และสารตั้งต้นหรือแหล่งคาร์บอนที่นำมาใช้ในการผลิตไบโอแอลกอฮอล์ต้องเป็นแหล่งคาร์บอนที่จุลินทรีย์สามารถนำมาใช้ในกระบวนการหมักเชื้อเพลิงชีวภาพได้โดยไม่ต้องปรับสภาพ ดังนั้นของเสียในภาคอุตสาหกรรมจึงเป็นแหล่งคาร์บอนแหล่งใหม่ที่น่าสนใจ โดยเฉพาะน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นองค์ประกอบที่สูง เช่น โรงงานผลิตน้ำตาล โรงงานแป้ง เป็นต้น อีกทั้งข้อมูลเหล่านี้ ยังไม่มีการรวบรวมถึงปริมาณน้ำตาลในน้ำเสีย และของเหลือทิ้งจากโรงงานเหล่านี้ จึงเป็นที่น่าสนใจเป็นอย่างยิ่งในการนำของเสียจากโรงงานเหล่านี้มาเป็นสารตั้งต้นในการผลิตแอลกอฮอล์ เพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานเชื้อเพลิงทดแทนน้ำมันปิโตรเลียมในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

Al-Shorgani, N. K., Kalil, M. S. and Yusoff, W. M. (2012). Biobutanol production from rice bran and de-oiled rice bran by *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4. *Bioprocess and Biosystems Engineering, 35*(5), 817-826.

Anun, L. and Somchai, L. (2014). *(Translation) Information Memorandum - Thai Agro Energy Public Company Limited (TAE)*; Limited TAEPC, editor^editors.

Barnett, J. A., Payne, R. W., and Yarrow, D. 1983. *Yeasts: characteristics and identification*, 1st Ed., Cambridge University Press, Cambridge.

Blanch, H. W., Simmons, B. A. and Klein-Marcuschamer, D. (2011). Biomass deconstruction to sugars. *Biotechnology Journal, 6*(9), 1086-1102.

Bloyd, C. (2009). *An update on ethanol production and utilization in Thailand*, editor^editors.: Pacific Northwest National Laboratory.

Comwien, J., Boonvithaya, N., Chulaluksananukul, W., & Glinwong, C. (2015). Direct Production of Butanol and Ethanol from Cane Sugar Factory Wastewater and Cellulosic Ethanol Pilot Plant Wastewater by *Clostridium beijerinckii* CG1. *Energy Procedia, 79*, 556-561.

del Campo, A. G., Fernández, F. J., Cañizares, P., Rodrigo, M. A., Pinar, F. J., et al. (2014). Energy recovery of biogas from juice wastewater through a short high temperature PEMFC stack. *International Journal of Hydrogen Energy, 39*(13), 6937-6943.

Duran-Lapujade, P., Jansen, M. L. A., Daran, J. M., van Gulik, W., Winde, J. H., Pronk, J. T. 2004. Role of transcriptional regulation in controlling fluxes in central carbon metabolism of Saccharomyces cerevisiae, a chemostat culture study. *J. Biol. Chem*, *10,* 9125-9138.

Dürre, P. (2007). Biobutanol: An attractive biofuel. *Biotechnology Journal, 2*(12), 1525-1534.

Ellis, J. T., Hengge, N. N., Sims, R. C., and Miller, C. D. (2012). Acetone, butanol, and ethanol production from wastewater algae. *Bioresource technology*, *111*, 491-495.

Ezeji, T. C., Groberg, M., Qureshi, N. and Blaschek, H. P. (2003). Continuous production of butanol from starch-based packing peanuts. *Applied Biochemistry and Biotechnology - Part A Enzyme Engineering and Biotechnology, 106*(1-3), 375-382.

Ezeji, T. C., Qureshi, N. and Blaschek, H. P. (2007). Production of acetone butanol (AB) from liquefied corn starch, a commercial substrate, using *Clostridium beijerinckii* coupled with product recovery by gas stripping. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 34*(12), 771-777.

Ezeji, T.and Blaschek, H. P. (2008). Fermentation of dried distillers' grains and solubles (DDGS) hydrolysates to solvents and value-added products by solventogenic C*lostridia*. *Bioresource Technology, 99*(12), 5232-5242.

Green, E. M. (2011). Fermentative production of butanol-the industrial perspective. *Current Opinion in Biotechnology, 22*(3), 337-343.

Jang, Y. S., Lee, J., Malaviya, A., Seung, D. Y., Cho, J. H., et al. (2012). Butanol production from renewable biomass: Rediscovery of metabolic pathways and metabolic engineering. *Biotechnology Journal, 7*(2), 186-198.

Jiang, Y., Xu, C., Dong, F., Yang, Y., Jiang, W., et al. (2009). Disruption of the acetoacetate decarboxylase gene in solvent-producing *Clostridium acetobutylicum* increases the butanol ratio. *Metabolic Engineering, 11*(4-5), 284-291.

Jones, D. T. and Woods, D. R. (1986). Acetone-butanol fermentation revisited. *Microbiological Reviews, 50*(4), 484-524.

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

Lee, J. (2009). Identification of multiple cracks in a beam using natural frequencies. *Journal of Sound and Vibration, 320*(3), 482-490.

Lee, J. Y., Jang, Y.-S., Lee, J., Papoutsakis, E.T., and Lee, S.Y. (2009). Metabolic engineering of *Clostridium acetobutylicum* M5 for highly selective butanol production. *Biotechnology Journal, 4(*10), 9.

Li, S. Y., Srivastava, R. and Parnas, R. S. (2011). Study of in situ 1-butanol pervaporation from A-B-E fermentation using a PDMS composite membrane: Validity of solution-diffusion model for pervaporative A-B-E fermentation. *Biotechnology Progress, 27*(1), 111-120.

Li, X., Shi, Z. and Li, Z. (2014). Increasing butanol/acetone ratio and solvent productivity in ABE fermentation by consecutively feeding butyrate to weaken metabolic strength of butyrate loop. *Bioprocess and Biosystems Engineering, 37*(8), 1609-1616.

Liu, Z., Ying, Y., Li, F., Ma, C. and Xu, P. (2010). Butanol production by *Clostridium beijerinckii* ATCC 55025 from wheat bran. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 37*(5), 495-501.

López-Contreras, A. M., Claassen, P. A. M., Mooibroek, H. and De Vos, W. M. (2000). Utilisation of saccharides in extruded domestic organic waste by *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824 for production of acetone, butanol and ethanol. *Applied Microbiology and Biotechnology, 54*(2), 162-167.

Lu, C., Zhao, J., Yang, S. T. and Wei, D. (2012). Fed-batch fermentation for n-butanol production from cassava bagasse hydrolysate in a fibrous bed bioreactor with continuous gas stripping. *Bioresource Technology, 104,* 380-387.

Lütke-Eversloh, T. and Bahl, H. (2011). Metabolic engineering of *Clostridium acetobutylicum*: Recent advances to improve butanol production. *Current Opinion in Biotechnology, 22*(5), 634-647.

McCabe, B. K., Hamawand, I., Harris, P., Baillie, C. and Yusaf, T. (2014). A case study for biogas generation from covered anaerobic ponds treating abattoir wastewater: Investigation of pond performance and potential biogas production. *Applied Energy, 114,* 798-808.

Mariano, A. P., Qureshi, N., Filho, R. M. and Ezeji, T. C. (2011). Bioproduction of butanol in bioreactors: New insights from simultaneous *in situ* butanol recovery to eliminate product toxicity. *Biotechnology and Bioengineering, 108*(8), 1757-1765.

Marchal, R., Blanchet, D. and Vandecasteele, J. P. (1985). Industrial optimization of acetone-butanol fermentation: a study of the utilization of *Jerusalem artichokes*. *Applied Microbiology and Biotechnology, 23*(2), 92-98.

Nielsen, D. R. and Prather, K. J. (2009). *In situ* product recovery of n-butanol using polymeric resins. *Biotechnology and bioengineering, 102*(3), 811-821.

Oon, Y. L., Ong, S. A., Ho, L. N., Wong, Y. S., Oon, Y. S., et al. (2015). Hybrid system up-flow constructed wetland integrated with microbial fuel cell for simultaneous wastewater treatment and electricity generation. *Bioresource Technology, 186,* 270-275.

Ouephanit, C., Virunanon, C., Burapatana, V., & Chulalaksananukul, W. (2011). Butanol and ethanol production from tapioca starch wastewater by Clostridium spp. *Water Science & Technology*, *64(9),* 1774-1780.Papoutsakis, E. T. (2008). Engineering solventogenic *Clostridia*. *Current Opinion in Biotechnology, 19*(5), 420-429.

Pfromm, P. H., Amanor-Boadu, V., Nelson, R., Vadlani, P., Madl, R. 2010. Bio-butanol vs. bio-ethanol: A technical and economic assessment for corn and switchgrass fermented by yeast or *Clostridium acetobutylicum*. Biomass and Bioenergy, *34*, 515-524.

Qureshi, N. and Blaschek, H. P. (2001). Recent advances in ABE fermentation: hyper-butanol producing *Clostridium beijerinckii* BA101. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 27*(5), 287-291.

Qureshi, N., Saha, B. C.and Cotta, M. A. (2007). Butanol production from wheat straw hydrolysate using *Clostridium beijerinckii*. *Bioprocess and Biosystems Engineering, 30*(6), 419-427.

Qureshi, N., Ezeji, T. C., Ebener, J., Dien, B. S. and Cotta, M. A. (2008). Butanol production by *Clostridium beijerinckii.* Part I: Use of acid and enzyme hydrolyzed corn fiber. *Bioresource technology, 99*(13), 5915-5922.

Qureshi, N., Saha, B. C., Dien, B., Hector, R. E. and Cotta, M. A. (2010). Production of butanol (a biofuel) from agricultural residues: Part I - Use of barley straw hydrolysate. *Biomass and Bioenergy, 34*(4), 559-565.

Qureshi, N., Saha, B. C., Hector, R. E., Dien, B., Hughes, S., et al. (2010). Production of butanol (a biofuel) from agricultural residues: Part II - Use of corn stover and switchgrass hydrolysates. *Biomass and Bioenergy, 34*(4), 566-571.

Rasi, S., Lehtinen, J. and Rintala, J. (2010). Determination of organic silicon compounds in biogas from wastewater treatments plants, landfills, and co-digestion plants. *Renewable Energy, 35*(12), 2666-2673.

Roffler, S. R., Blanch, H. W. and Wilke, C. R. (1988). In situ extractive fermentation of acetone and butanol *Biotechnology and Bioengineering, 31*(2), 135-143.

Tashiro, Y., Takeda, K., Kobayashi, G. and Sonomoto, K. (2005). High production of acetone-butanol-ethanol with high cell density culture by cell-recycling and bleeding. *Journal of Biotechnology, 120*(2), 197-206.

Thang, V. H., Kanda, K. and Kobayashi, G. (2010). Production of acetone-butanol-ethanol (ABE) in direct fermentation of cassava by *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4. *Applied Biochemistry and Biotechnology, 161*(1-8), 157-170.

Tracy, B. P., Jones, S. W., Fast, A. G., Indurthi, D. C. and Papoutsakis, E. T. (2012). *Clostridia*: The importance of their exceptional substrate and metabolite diversity for biofuel and biorefinery applications. *Current Opinion in Biotechnology, 23*(3), 364-381.

Turcotte, B., Liang, X. B., Robert, F. and Soontorngun, N. 2009. Transcriptional regulation of nonfermentable carbon utilization in budding yeast. *FEMS Yeast Research, 10*: 2-13.

Wang, X.-H., Wang, X., Huppes, G., Heijungs, R. and Ren, N.-Q. (2015). Environmental implications of increasingly stringent sewage discharge standards in municipal wastewater treatment plants: case study of a cool area of China. *Journal of Cleaner Production, 94,* 278-283.

Xue, C., Zhao, J., Lu, C., Yang, S. T., Bai, F., et al. (2012). High-titer *n*-butanol production by *Clostridium acetobutylicum* JB200 in fed-batch fermentation with intermittent gas stripping. *Biotechnology and Bioengineering, 109(11),* 2746-2756.

Yu, M., Zhang, Y., Tang, I. C. and Yang, S. T. (2011). Metabolic engineering of *Clostridium tyrobutyricum* for *n*-butanol production. *Metabolic Engineering, 13*(4), 373-382.

Yang, D., Deng, L., Zheng, D., Liu, G., Yang, H. (2015). Separation of swine wastewater into solid fraction, concentrated slurry and dilute liquid and its influence on biogas production. *Fuel, 144*, 237-243.