รายงานโครงการวิจัย

การผลิตไบโอเอทานอลจากชีวมวลโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพ

The production of bio – ethanol from biomass using biotechnology

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย

นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ

Ms. Boonruanrat Ruangwised

ปี พ.ศ. 2558

รายงานโครงการวิจัย

การผลิตไบโอเอทานอลจากชีวมวลโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพ

The production of bio – ethanol from biomass using biotechnology

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย

นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ

Ms. Boonruanrat Ruangwised

ปี พ.ศ. 2558

รูปแบบและองค์ประกอบรายงานโครงการวิจัยฉบับสมบูรณ์

หน้าปก

ปกใน/ปกรอง

คำปรารภ

สารบัญ **หน้า**

กิตติกรรมประกาศ -

ผู้วิจัย 7

กิจกรรมที่ 1 การศึกษา พัฒนาสายพันธุ์จุลินทรีย์ และการผลิตเอนไซม์ 7

เพื่อผลิตไบโอเอทานอลจากชีวมวล

ประกอบด้วยการทดลอง 5 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1.1 การคัดเลือกและศึกษาประสิทธิภาพการผลิตเอนไซม์ย่อย 7

สลายลิกโนเซลลูโลสจากจุลินทรีย์

การทดลองที่ 1.2 การโคลนยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตเอนไซม์ย่อย 7

สลายลิกโนเซลลูโลสจากจุลินทรีย์

การทดลองที่ 1.3 การผลิตเอนไซม์ที่ย่อยสลายลิกโนเซลลูโลส 7

หน้า

การทดลองที่ 1.4 การรวบรวมและพัฒนาสายพันธุ์ยีสต์สำหรับ 7

ผลิตไบโอเอทานอล

การทดลองที่ 1.5 การผลิตเอนไซม์ย่อยสลายชีวมวลระดับอุตสาหกรรมขนาดย่อม 8

กิจกรรมที่ 2 การศึกษาศักยภาพของพืชและชีวมวล (Biomass) 8

ในประเทศไทยสำหรับผลิตไบโอเอทานอล

ประกอบด้วยการทดลอง 5 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 2.1 ศึกษา คัดเลือก และทดสอบพืชที่มีศักยภาพในการผลิต 8

ไบโอเอทานอล

การทดลองที่ 2.2 ศึกษา คัดเลือก และทดสอบชีวมวลในภาคต่างๆ 8

ของประเทศไทยที่มีศักยภาพในการผลิตไบโอเอทานอล

การทดลองที่ 2.3 การพัฒนาพันธุ์พืชที่มีปริมาณลิกนินต่ำสำหรับ 8

การผลิตไบโอเอทานอล

การทดลองย่อยที่ 2.3.1 การโคลนยีนที่ควบคุมการสร้างลิกนินในพืช 8

การทดลองย่อยที่ 2.3.2 การถ่ายฝากยีนเพื่อยับยั้งขบวนการสร้างลิกนินในพืช 9

หน้า

การทดลองที่ 2.4 ผลของการถ่ายฝากยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ 9

เมตาบอลิซึมของน้ำตาลซูโครสในสาหร่าย *Chlamydomonas reinhardtii.* สำหรับการผลิตเอทานอล

กิจกรรมที่ 3 การแลกเปลี่ยนเชื้อพันธุกรรมพืชและจุลินทรีย์ที่มี 9

ประสิทธิภาพในการผลิตไบโอเอทานอล

ประกอบด้วยการทดลอง 2 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 3.1 การทดสอบพืช/สาหร่ายนำเข้าจากต่างประเทศที่เหมาะสม 9

สำหรับผลิตไบโอเอทานอลเทียบกับพืชท้องถิ่น

การทดลองที่ 3.2 การทดสอบจุลินทรีย์นำเข้าจากต่างประเทศที่มีประสิทธิภาพ 9

ในการผลิตไบโอเอทานอลเทียบกับจุลินทรีย์ท้องถิ่น

กิจกรรมที่ 4 การพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตเอทานอลจากชีวมวล 10

เพื่ออุตสาหกรรมขนาดย่อม

ประกอบด้วยการทดลอง 2 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 4.1 การพัฒนาเครื่องมือแปรสภาพชีวมวลในกระบวนการย่อยสลาย 10

หน้า

การทดลองที่ 4.2 การพัฒนาเครื่องจักรกลในกระบวนการหมักของ **10**

การผลิตเอทานอลจากชีวมวล

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ -

บทนำ **11**

บทคัดย่อ **14**

บทสรุปและข้อเสนอแนะ **18**

บรรณานุกรม

ภาคผนวก

ผู้วิจัย

กิจกรรมที่ 1 การศึกษา พัฒนาสายพันธุ์จุลินทรีย์ และการผลิตเอนไซม์เพื่อผลิตไบโอเอทานอลจากชีวมวล

การทดลองที่ 1.1 การคัดเลือกและศึกษาประสิทธิภาพการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสจากจุลินทรีย์

1. นางสาวภรณี สว่างศรี สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ หัวหน้าการทดลอง
2. นางสาวรุ่งนภา พิทักษ์ตันสกุล สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ผู้ร่วมวิจัย
3. นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ผู้ร่วมวิจัย
4. นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ผู้ร่วมวิจัย

การทดลองที่ 1.2 การโคลนยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสจากจุลินทรีย์

1. นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ หัวหน้าการทดลอง
2. นางสาวรุ่งนภา พิทักษ์ตันสกุล สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ผู้ร่วมวิจัย
3. นางสาวภรณี สว่างศรี สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ผู้ร่วมวิจัย
4. นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ผู้ร่วมวิจัย

การทดลองที่ 1.3 การผลิตเอนไซม์ที่ย่อยสลายลิกโนเซลลูโลส

1. นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ หัวหน้าการทดลอง
2. นางสาวรุ่งนภา พิทักษ์ตันสกุล สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ผู้ร่วมวิจัย
3. นางสาวภรณี สว่างศรี สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ผู้ร่วมวิจัย
4. นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ผู้ร่วมวิจัย

การทดลองที่ 1.4 การรวบรวมและพัฒนาสายพันธุ์ยีสต์สำหรับผลิตไบโอเอทานอล

1. นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ หัวหน้าการทดลอง
2. นายพงศกร สรรค์วิทยากุล สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ผู้ร่วมวิจัย
3. นางสาวรุ่งนภา พิทักษ์ตันสกุล สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ผู้ร่วมวิจัย
4. นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ผู้ร่วมวิจัย

การทดลองที่ 1.5 การผลิตเอนไซม์ย่อยสลายชีวมวลระดับอุตสาหกรรมขนาดย่อม

1.	นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	หัวหน้าการทดลอง
2.	นางสาวรุ่งนภา พิทักษ์ตันสกุล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	ผู้ร่วมวิจัย
3.	นางสาวภรณี สว่างศรี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	ผู้ร่วมวิจัย
4.	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	ผู้ร่วมวิจัย

กิจกรรมที่ 2 การศึกษาศักยภาพของพืชและชีวมวล (Biomass) ในประเทศไทยสำหรับผลิตไบโอเอทานอล

ประกอบด้วยการทดลอง 3 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 2.1 ศึกษา คัดเลือก และทดสอบพืชที่มีศักยภาพในการผลิตไบโอเอทานอล

1.	นางสาวรุ่งนภา พิทักษ์ตันสกุล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	หัวหน้าการทดลอง
2.	นางสาวภรณี สว่างศรี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	ผู้ร่วมวิจัย
3.	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	ผู้ร่วมวิจัย
4.	นายวุฒิพล จันทร์สระคู	ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมขอนแก่น	ผู้ร่วมวิจัย
5.	นายพินิจ จิรัคคกุล	ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมขอนแก่น	ผู้ร่วมวิจัย

การทดลองที่ 2.2 ศึกษา คัดเลือก และทดสอบชีวมวลในภาคต่างๆของประเทศไทยที่มีศักยภาพในการผลิตไบโอเอทานอล

1.	นายพยุงศักดิ์ รวยอารี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	หัวหน้าการทดลอง
2.	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	ผู้ร่วมวิจัย
3.	นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	ผู้ร่วมวิจัย
4.	นายวุฒิพล จันทร์สระคู	ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมขอนแก่น	ผู้ร่วมวิจัย
5.	นายพินิจ จิรัคคกุล	ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมขอนแก่น	ผู้ร่วมวิจัย

การทดลองที่ 2.3 การพัฒนาพันธุ์พืชที่มีปริมาณลิกนินต่ำสำหรับการผลิตไบโอเอทานอล

การทดลองย่อยที่ 2.3.1 การโคลนยีนที่ควบคุมการสร้างลิกนินในพืช

1.	นางสุภาวดี ง้อเหรียญ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	หัวหน้าการทดลอง
2.	นายพงศกร สรรค์วิทยากุล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	ผู้ร่วมวิจัย
3.	นายพยุงศักดิ์ รวยอารี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	ผู้ร่วมวิจัย
4.	นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	ผู้ร่วมวิจัย
5.	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	ผู้ร่วมวิจัย

การทดลองย่อยที่ 2.3.2 การถ่ายฝากยีนเพื่อยับยั้งขบวนการสร้างลิกนินในพืช

1.	นางภุมรินทร์	วณิชชนานันท์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	หัวหน้าการทดลอง
2.	นางสุภาวดี	ง้อเหรียญ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	ผู้ร่วมวิจัย
3.	นางหทัยรัตน์	อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	ผู้ร่วมวิจัย

การทดลองที่ 2.4 ผลของการถ่ายฝากยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาบอลิซึมของน้ำตาลซูโครสใน สาหร่าย *Chlamydomonas reinhardtii.* สำหรับการผลิตเอทานอล

1.	นางสาวอรุโณทัย ซาววา	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	หัวหน้าการทดลอง
2.	นางสาวสุภาวดี ง้อเหรียญ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	ผู้ร่วมวิจัย
3.	นางสาวรุ่งนภา พิทักษ์ตันสกุล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	ผู้ร่วมวิจัย
4.	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	ผู้ร่วมวิจัย
5.	นายศรีเมฆ ชาวโพงพาง	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	ผู้ร่วมวิจัย

กิจกรรมที่ 3 การแลกเปลี่ยนเชื้อพันธุกรรมพืชและจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตไบโอเอทานอล

ประกอบด้วยการทดลอง 2 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 3.1 การทดสอบพืช/สาหร่ายนำเข้าจากต่างประเทศที่เหมาะสมสำหรับผลิตไบโอเอทานอล เทียบกับพืชท้องถิ่น

1.	นางสาวรุ่งนภา พิทักษ์ตันสกุล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	หัวหน้าการทดลอง
2.	นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	ผู้ร่วมวิจัย
3.	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	ผู้ร่วมวิจัย

การทดลองที่ 3.2 การทดสอบจุลินทรีย์นำเข้าจากต่างประเทศที่มีประสิทธิภาพในการผลิตไบโอเอทานอล เทียบกับจุลินทรีย์ท้องถิ่น

1.	นางหทัยรัตน์	อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	หัวหน้าการทดลอง
2.	นางสาวรุ่งนภา	พิทักษ์ตันสกุล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	ผู้ร่วมวิจัย
3.	นางบุญเรือนรัตน์	เรืองวิเศษ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	ผู้ร่วมวิจัย
4.	นางสาวภรณี	สว่างศรี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	ผู้ร่วมวิจัย

กิจกรรมที่ 4 การพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตเอทานอลจากชีวมวลเพื่ออุตสาหกรรมขนาดย่อม

ประกอบด้วยการทดลอง 2 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 4.1 การพัฒนาเครื่องมือแปรสภาพชีวมวลในกระบวนการย่อยสลาย

1. นายวุฒิพล จันทร์สระคู	ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมขอนแก่น	หัวหน้าการทดลอง
2. นายพินิจ จิรัคคกุล	ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมขอนแก่น	ผู้ร่วมวิจัย
3. นายมงคล ตุ่นเฮ้า	ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมขอนแก่น	ผู้ร่วมวิจัย
4. นายกลวัชร ทิมิลกุล	ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมขอนแก่น	ผู้ร่วมวิจัย

การทดลองที่ 4.2 การพัฒนาเครื่องจักรกลในกระบวนการหมักของการผลิตเอทานอลจากชีวมวล

1. นายพินิจ จิรัคคกุล	ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมขอนแก่น	หัวหน้าการทดลอง
2. นายวุฒิพล จันทร์สระคู	ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมขอนแก่น	ผู้ร่วมวิจัย
3. นายมงคล ตุ่นเฮ้า	ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมขอนแก่น	ผู้ร่วมวิจัย
4. นายกลวัชร ทิมิลกุล	ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมขอนแก่น	ผู้ร่วมวิจัย
5. นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	ผู้ร่วมวิจัย

บทนำ

พลังงานจัดเป็นปัจจัยสำคัญและมีความจำเป็นต่อการดำรงชีวิตของมนุษย์ หลายๆประเทศทั่วโลกจึงแสวงหาแหล่งพลังงานทดแทนรูปแบบใหม่เพื่อเป็นหลักประกันความมั่นคงด้านพลังงานในระยะยาว ทั้งยังเป็นการลดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ จากการใช้พลังงานที่ได้จากฟอสซิล เช่น น้ำมัน และ ถ่านหิน อันเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดภาวะโลกร้อนในภาวะของภูมิอากาศเปลี่ยนแปลงอย่างมาก ณ ปัจจุบัน น้ำมันเชื้อเพลิงซึ่งเป็นแหล่งพลังงานสำคัญของโลกกำลังจะหมดลง แหล่งอาหารของโลกก็ลดลงเช่นเดียวกันเนื่องจากการเพิ่มขึ้นของประชากรโลกแบบทวีคูณในขณะที่ผลิตอาหารเพิ่มขึ้นในอัตราที่ลดลงเนื่องจากความแห้งแล้ง การใช้พื้นที่เพื่อการอยู่อาศัยมากขึ้นและภัยธรรมชาติต่างๆ จึงมีความจำเป็นเร่งด่วนที่จะพัฒนาแหล่งของพลังงานเชื้อเพลิงเหลวจากแหล่งใหม่ที่ได้จากแหล่งคาร์บอนธรรมชาติโดยไม่รบกวนพืชอาหาร ซึ่งแหล่งของพลังงานรุ่นแรกได้แก่ ข้าวโพด แป้งมันสำปะหลัง อ้อยและอื่นๆ มีปริมาณจำกัดทั้งยังเป็นพืชอาหารและใช้ในการผลิตอาหารของโลก พืชพลังงานสำหรับใช้ในการผลิตเอทานอลแบ่งเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มแรก คือ พืชน้ำตาล เช่น อ้อย ข้าวฟ่างหวาน หัวผักกาดหวาน กลุ่มที่ 2 คือ พืชแป้งที่มีหัวใช้สะสมอาหารเช่น มันสำปะหลัง มันฝรั่ง มันเทศ พืชแป้งที่สะสมอาหารในรูปเมล็ดเช่น ข้าวโพด ข้าวสาลี ข้าว ข้าวบาร์เลย์ และกลุ่มที่ 3 คือ กลุ่มลิกโนเซลลูโลส ได้แก่ วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ต้นพืช ต้นข้าวโพด ฟางข้าว หญ้าswitch grass กากชานอ้อย กากมันสำปะหลัง เป็นต้น หากแต่ความต้องการของมนุษย์ยังมีเพิ่มขึ้นเรื่อยๆตามจำนวนประชากรที่เพิ่มสูงขึ้นในแต่ละปี ดังนั้นหลายประเทศจึงมีความพยายามอย่างยิ่งที่จะหาพลังงานทางเลือกอื่นในรูปแบบต่างๆ เช่น ก๊าซธรรมชาติ ไบโอดีเซล พลังงานลม น้ำ แสงอาทิตย์ เพื่อที่จะนำมาทดแทนน้ำมันปิโตรเลียม

ในปี ค.ศ. 2010 ทุกประเทศทั่วโลกหันมาให้ความสนใจกับการใช้ประโยชน์จากชีวมวลซึ่งจะเน้นการผลิตด้วยวัตถุดิบที่เป็นลิกโนเซลลูโลสเป็นหลัก แม้ว่าการผลิตเอทานอลส่วนใหญ่จะยังผลิตจากวัตถุดิบแป้งและน้ำตาล แต่เนื่องจากแป้งและน้ำตาลเป็นพืชอาหารอาจผลิตได้ไม่เพียงพอสำหรับการบริโภค จึงต้องใช้วัสดุอื่นทดแทน (พิสมัย, 2548) เช่นเดียวกับประเทศไทยซึ่งปัจจุบันกำลังประสบปัญหาแนวโน้มการใช้พลังงานที่สูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง และแหล่งพลังงานในประเทศมีอัตราการผลิตได้ไม่เพียงพอกับความต้องการในการใช้อุปโภคและบริโภคของประชากร ประกอบราคาน้ำมันซึ่งเป็นแหล่งพลังงานสำคัญในตลาดโลกมีราคาแพง และมีอยู่อย่างจำกัด จึงจำเป็นต้องมีมาตรการเร่งรัด และสนับสนุนให้มีการศึกษา ค้นคว้า หาแหล่งพลังงานทดแทนซึ่งจะนำมาซึ่งพลังงานทางเลือกใหม่มาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด การนำชีวมวลมาใช้เป็นวัตถุดิบในกระบวนการผลิตเอทานอลเพื่อทดแทน

พลังงานเชื้อเพลิงอย่างน้ำมันปิโตรเลียม อาทิเช่น วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร และอุตสาหกรรม อาทิเช่น เปลือกหรือแกนสับปะรด ทลายปาล์ม น้ำกากส่าจากโรงงานสุรา เศษไม้ขี้เลื่อยจากโรงงานทำไม้ ของเสียจากโรงงานทำกระดาษ ของเหลือใช้หลังจากการเก็บเกี่ยว เช่น กากถั่วเหลือง ฟางข้าว รำข้าว ชานอ้อย ซังและเปลือกข้าวโพด ขี้เลื่อยเป็นต้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรภายในประเทศ ซึ่งมีการรายงานประมาณการของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรของประเทศไทย ดังตารางที่1

ตารางที่ 1 ปริมาณวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร	ปริมาณ (ล้านตัน/ปี)
1. ฟางข้าว	40
2. ใบ ลำต้น เปลือกและซังข้าวโพด	6.4
3. ลำต้นและใบสับปะรด	4
4. ปาล์ม : ทะลายเปล่า กากเนื้อ เส้นใย กาก เมล็ดในและกะลา	2.7
5. ลำต้นและใบมันสำปะหลัง	1.7
6. กาบมะพร้าว กะลาเปล่า และกากมะพร้าว	1.1
รวม	**55.9**

วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรที่มีอยู่เป็นจำนวนมาก มักมีองค์ประกอบหลักเป็นเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน โดยเฉพาะเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส จัดเป็นโพลิเซคคาไรด์ที่มีมากในผนังเซลล์ของพืชทุกชนิด เซลลูโลสเป็นโพลิเมอร์ของน้ำตาลซึ่งต่อกันเป็นสายยาว การตัดเซลลูโลสอาจตัดด้วยกรดหรือเอนไซม์ พืชแต่ละชนิดก็มีสัดส่วนของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนินแตกต่างกัน ในกระบวนการผลิตแอลกอฮอล์จากชีวมวลจำเป็นต้องเปลี่ยนโครงสร้างของพืชให้ย่อยง่ายขึ้น แยกเอาเฮมิเซลลูโลสและลิกนิน ออกด้วยปฏิกิริยาของกรดหรือเอนไซม์ทีได้จากเชื้อรา แบคทีเรีย แอคติโนมัยซีส เป็นต้น เพื่อเปลี่ยนเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลแล้วหมักด้วยยีสต์จนได้แอลกอฮอล์ แต่ข้อดีของการใช้เอนไซม์จากจุลินทรีย์ในการย่อยสลายสารเหล่านี้เมื่อเทียบกับวิธีทางเคมี คือ การเร่งปฏิกิริยาโดยใช้เอนไซม์มีความจำเพาะกับสับสเตรทมากกว่า เอนไซม์ทำงานในสภาวะแวดล้อมที่ไม่รุนแรง และไม่มีการสูญเสียสับสเตรทในช่วงที่มีการเปลี่ยนแปลงทางเคมี ดังนั้นในด้านอุตสาหกรรมจึงได้มีการนำเอนไซม์เซลลูเลส (Cellulase) และไซแลนเนส (Xylanase) มาใช้อย่างกว้างขวาง เอนไซม์เซลลูเลส ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตเอทิลแอลกอฮอล์ น้ำตาลกลูโคส และอาหารสัตว์บางชนิดเป็นต้น ส่วนเอนไซม์ไซแลนเนส สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมหลายประเภท เช่น อุตสาหกรรมฟอกสีเยื่อกระดาษ อุตสาหกรรมอาหาร และอาหารสัตว์ เป็นต้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการผลิต

พลังงานทดแทนจากชีวมวล เป็นการใช้ประโยชน์จากความสามารถของจุลินทรีย์ในการย่อยสารประกอบเหล่านี้ให้มีประสิทธิภาพสูงสุด ให้สามารถกลับมาใช้ประโยชน์ได้คุ้มค่ามากยิ่งขึ้น ทั้งยังมีข้อดีหลายประการ เช่น เป็นการใช้วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรในท้องถิ่นนั้น ๆ ก่อให้เกิดการจ้างงานในท้องถิ่น ลดภาระการพึ่งพาแหล่งพลังงานจากต่างประเทศ ทำให้เกษตรกรมีรายได้ ลดการสูญเสียเงินตราออกนอกประเทศ มีความมั่นคงทางพลังงานเพิ่มขึ้น ใช้เทคโนโลยีที่ไม่ซับซ้อนในกระบวนการผลิตจึงพึ่งพาตนเองได้ พลังงานที่ได้ในรูปของเหลวสามารถนำไปใช้กับเทคโนโลยียานยนต์ในยุคปัจจุบัน ดังนั้นการวิจัยเพื่อศึกษาชนิดของจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส และไซแลนเนส จึงมีประโยชน์อย่างยิ่งต่อการพัฒนากระบวนการผลิตเอทานอลจากชีวมวลให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

อย่างไรก็ดี ปัญหาอุปสรรคของการส่งเสริมการใช้พลังงานทดแทน ไม่ว่าจะเป็นการผลิตเอทานอล ไบโอดีเซล หรือการผลิตไฟฟ้าจากเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร คือ ปัญหาด้านการขาดแคลนวัตถุดิบ ไม่ว่าจะเป็น มันสำปะหลัง กากน้ำตาล สำหรับการผลิตเอทานอล หรือน้ำมันปาล์ม น้ำมันพืชใช้แล้ว สำหรับการผลิตไบโอดีเซล ซึ่งแนวทางการแก้ไขจำเป็นที่จะต้องมีการส่งเสริมการปลูก มันสำปะหลัง อ้อย ปาล์มน้ำมัน หรือการส่งเสริมการปลูกพืชพลังงานอื่นๆที่มีศักยภาพในการผลิตเอทานอล หรือ ไบโอดีเซล เช่น ข้าวฟ่างหวาน สบู่ดำ เป็นต้น

แต่สำหรับปัญหาอุปสรรคของการผลิตพลังงานจากเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรนั้น แตกต่างกัน กล่าวคือ ประเทศไทยมีแหล่งชีวมวลที่เป็นเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรมากมายกระจัดกระจายไปในภูมิภาคต่างๆ ทั่วประเทศ ทั้งที่เป็นเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรที่อยู่ในโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปผลผลิตเกษตร และ ไร่ นา สวนเกษตร ทำให้ศักยภาพเชิงพาณิชย์ของการใช้เชื้อเพลิงจากเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรมีอยู่มาก ซึ่งจากข้อมูลการสำรวจปริมาณเชื้อเพลิงชีวมวลคงเหลือ ในปี 2549 ของมูลนิธิพลังงานเพื่อสิ่งแวดล้อม พบว่า มีเชื้อเพลิงชีวมวลที่ยังไม่ถูกนำมาใช้เป็นพลังงานความร้อนหรือไฟฟ้า อีกกว่า 34 ล้านตัน คิดเป็นพลังงานเทียบเท่ามันดิบ 7,200 ตัน (ktoe) ซึ่งการนำฟางข้าวมาผลิตเป็นเอทานอลก็เป็นอีกแนวทางหนึ่งเพื่อพัฒนาพลังงานทดแทนที่ยั่งยืนสำหรับประเทศไทย ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ปริมาณชีวมวลคงเหลือของประเทศไทย ปี 2549

ชนิดเชื้อเพลิงชีวมวล	ปริมาณคงเหลือ (ton)	พลังงานเทียบเท่าน้ำมันดิบ (ktoe)
ฟางข้าว	11,468,784.21	3,350.95
ใบอ้อย	6,854,574.70	2,514.43
เหง้ามันสำปะหลัง	3,613,504.37	470.10
ทะลายปาล์ม	957,764.30	164.32
ลำต้นข้าวโพด	2,394,527.90	113.48
ซังข้าวโพด	332,627.51	75.75
ใยปาล์ม	113,734.51	31.80

ที่มา : มูลนิธิพลังงานเพื่อสิ่งแวดล้อม, 2549

ในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลสำหรับเป็นพลังงานทดแทนจากเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว ทะลายปาล์ม ซังข้าวโพด และอื่นนั้น จำเป็นที่จะต้องมีการศึกษาระบบการเตรียมวัตถุดิบที่เหมาะสมต่อการหมักและการย่อยสลายของยีสต์ในการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลได้อย่างรวดเร็วและคุ้มค้าเชิงเศรษฐศาสตร์

บทคัดย่อ

จากการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่ประสิทธิภาพในการย่อยสลายลิกนินที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการ พบเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญเติบโตและผลิต ligninolytic enzymes บนอาหารแข็งทดสอบที่มีสาร Azure-B ABTS และ Guaiacol จำนวนทั้งสิ้น 20 ไอโซเลท ซึ่งสามารถผลิตเอนไซม์แลคเคสได้ดี เมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกนิน พบว่า เชื้อไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด 3 ไอโซเลท คือ Rigido G1 และหลินจือ เมื่อนำลำดับเบสมาเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล NCBI พบว่า คล้ายคลึงกับเชื้อรา 2 ชนิด คือ *Ganoderma lucidum* และ *Rigidoporus microporus*

ทำการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไซลาเนสแล้วนำมาโคลนยีนที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายชีวมวลที่เป็นโครงสร้างของลิกโนเซลลูโลส จำนวน 3 ยีนได้แก่ β-D-Xylosidase, endo-1,4-β-xylanase และ alpha-L-arabinofuranosidase แล้วถ่ายเข้าสู่เซลล์ยีสต์ สามารถคัดเลือกยีสต์ที่ได้รับการถ่ายยีน นำเซลล์ยีสต์ที่ได้มาตรวจสอบการปรากฏของยีนด้วยเทคนิคพีซีอาร์โดยใช้ไพรเมอร์ AOX ที่อยู่กับเวคเตอร์ เลี้ยงกระตุ้นการแสดงออกของยีนในอาหาร MGYH และกระตุ้นโดยการเติมเมทานอล พบว่ายีสต์ที่ได้สามารถผลิตโปรตีนได้

จากการทดลองผลิตเอนไซม์ที่ย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสได้ดีได้แก่เอนไซม์เซลลูเลสและเอนไซม์ไซลาเนส โดยการศึกษาหาสับสเตรทที่เหมาะสมพบว่าเมื่อใช้เห็ดแครงเป็นจุลินทรีย์สำหรับผลิตเอนไซม์นั้น พบว่า สับสเตรทที่เหมาะสมได้แก่เปลือกข้าวโพด รองลงมาได้แก่หญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1 และต้นเลาตามลำดับ วัสดุที่เหมาะสมในการนำมาผลิตเอนไซม์ด้วยเชื้อรา *A. niger* ได้แก่ ไซแลน หญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1และเปลือกข้าวโพด และจะนำผลการทดลองไปขยายผลสู่การผลิตระดับอุตสาหกรรมขนาดเล็กต่อไป

การคัดเลือกและโคลนยีนสำหรับการสร้างยีสต์ได้ผลการโคลนยีน Xylose reductase สามารถโคลนยีน Xylose reductase ได้จากเชื้อรา *Neurospora sp.* ยีน *endo Xylanase* ได้จากเชื้อรา

Aspergillus niger และยีน *Xylital dehydrogenase* ได้จากเชื้อรา *Trichoderma sp.* แล้วส่งถ่ายเข้า เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* พบว่ายีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) ที่ได้รับการถ่ายฝาก ยีน Xylose reductase มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสและลิตเอทานอลได้สูงกว่า ที่ยีสต์ที่ไม่ได้รับการถ่ายยีนถึง 11.35 %

การผลิตเอนไซม์ในถังหมักขนาดย่อม เป็นงานวิจัยที่ได้นำเทคโนโลยีทางด้านการผลิตเอนไซม์มาศึกษาการพัฒนาสายพันธุ์จุลินทรีย์ และการผลิตเอนไซม์เพื่อผลิตไบโอเอทานอลจากชีวมวล โดยใช้เชื้อเห็ดแครงและเชื้อ *Aspergillus niger* เป็นกล้าเชื้อในการทดลอง ซึ่งการทดลองของเชื้อเห็ดแครง ได้ใช้เปลือกข้าวโพดบดเป็นวัสดุหลักในการหมักเชื้อ ส่วนการทดลองของเชื้อ *Aspergillus niger* ใช้หญ้าเนเปียบดเป็นวัสดุหลักในการหมัก ปริมาตร 300 ลิตร ต่อการทดสอบเชื้อหนึ่งตัวอย่าง จากนั้นเดินเครื่องการทำงานของถังหมัก โดยการกวนของใบพัด และเก็บตัวอย่างส่วนน้ำใส เพื่อนำไปวัดค่า ทดสอบประสิทธิภาพของเอนไซม์ด้วยเทคนิค Congored diffusion assay เตรียมอาหารแข็งที่มีซับเสรตต่าง ๆ เป็นองค์ประกอบพบว่าเอนไซม์ที่ผลิตได้นั้นมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายชีวมวลต่าง ๆ ได้

ด้านการศึกษาชนิดของพืชชีวมวลในประเทศไทยที่เหมาะสมในการนำมาผลิตไบโอเอทานอล เช่น ศักยภาพของสาหร่ายกับชีวมวลจากพืชที่ให้เซลลูโลสสูง ที่ไม่ใช่พืชอาหาร ปลูกง่ายในทุกสภาพพื้นที่ โตเร็ว ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่ดีที่จะนำมาใช้ในการผลิตไบโอเอทานอล ดังนั้น การทดลองนี้จึงได้ทำการศึกษา คัดเลือก และทดสอบพืชที่มีศักยภาพในการผลิตไบโอเอทานอล โดยเริ่มดำเนินการตั้งแต่ปี 2556-2557 สำรวจและรวบรวมชนิดพืชที่มีศักยภาพในการผลิตเอทานอลในพื้นที่เขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา และจังหวัดขอนแก่น ได้เก็บพันธุ์และพืชที่มีศักยภาพในการผลิตเอทานอลได้จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ ต้นเลา หญ้าเนเปียร์ (ขอนแก่น) หญ้าคิงเนเปียร์ (ปากช่อง1) อ้อยพลังงาน (ลูกผสม KJ) และ สาหร่ายขนาดเล็ก นำไปทดสอบการผลิตน้ำตาลพบว่าช่วงวันที่ 6-9 ที่มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดไปทดสอบกระบวนการหมักด้วยยีสต์ในสภาพไร้ออกซิเจนเป็นระยะเวลา 5 วัน พบว่าสาหร่ายขนาดเล็กสามารถย่อยสลายเป็นน้ำตาลกลูโคสได้ดีและเร็วที่สุดตั้งแต่วันที่ 1 รองลงมา ต้นเลา หญ้าคิงเนเปียร์ (ปากช่อง1) หญ้าเนเปียร์ (ขอนแก่น) และอ้อยพลังงาน ตามลำดับ

ได้ทำการเก็บรวมรวม ศึกษาชนิดและปริมาณชีวมวลที่มีศักยภาพในการผลิตไบโอทานอลและในแต่ละพื้นที่ สวพ. กรมวิชาการเกษตร ตัวอย่างชีวมวล ได้แก่ เปลือกยูคาลิปตัส อ้อยพลังงาน และทะลายปาล์ม ในการผลิตไบโอเอทานอล นำมาผ่านกระบวนการ pre-treatment ด้วย NaOH ที่ 0.4%, 1%, 2% และ 20% ตามลำดับ เพื่อแยกลิกนินออก นำไปหมักให้เป็นน้ำตาลและแอลกอฮอล์ ก่อนตรวจวิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลส

เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และปริมาณน้ำตาลและแอลกอฮอล์หลังหมัก ทำการทดลองและวิเคราะห์ผลที่ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมขอนแก่นและสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตรระหว่างปี พ.ศ. 2556 ถึง พ.ศ. 2557 ผลการทดลอง พบว่า เปอร์เซ็นต์การย่อยลิกนินของชีวมวลมีค่าต่ำสุด และเปอร์เซ็นต์การย่อยเฮมิเซลลูโลสมีค่าสูงสุด รองลงมาคือ เซลลูโลส

การโคลนยีนที่ควบคุมการสร้างลิกนินในพืช มีวัตถุประสงค์เพื่อโคลนยีนและศึกษาคุณสมบัติของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างลิกนินในพืชและสร้างชุด cassette ยีนในรูปแบบ antisense เพื่อยับยั้งการแสดงออกของยีน สำหรับนำไปถ่ายฝากเข้าสู่พืชเพื่อใช้ในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์พืชให้มีปริมาณลิกนินต่ำเหมาะสมกับการนำไปผลิตไบโอเอทานอล โดยยีนที่ทำการโคลนในครั้งนี้มีจำนวน 4 ยีน ได้แก่ 4-coumarate:CoA ligase (*4CL*), cinnamyl alcohol dehydrogenase (*CAD*), caffeic acid O-methyltransferase (*COMT*) และ caffeoyl coenzyme A O-methyltransferase (*CCOMT*) เป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์ลิกนินในพืช งานวิจัยนี้ได้ทำการโคลนยีน *4CL CAD COMT* และ *CCOMT* จากหญ้าคิงเนเปียร์ (KN) และหญ้าคิงเนเปียร์ลูกผสมปากช่อง 1 (KP) ซึ่งเป็นพืชชีวมวลทางเลือกสำหรับนำมาผลิตไบโอเอทานอล สามารถนำชุดยีนดังกล่าวไปศึกษาการแสดงออกของยีน โดยการถ่ายฝากเข้าสู่พืชชีวมวล เช่น หญ้าคิงเนเปียร์ อ้อย และ เลา เป็นต้น เพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืชให้มีปริมาณลิกนินต่ำเหมาะสมกับการนำไปผลิตไบโอเอทานอลต่อไป

ทำการถ่ายฝากยีนเพื่อยับยั้งขบวนการสร้างลิกนินให้มีปริมาณลิกนินต่ำเพื่อการผลิตไบโอเอทานอล โดยศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำใบอ่อนของหญ้าเนเปียร์พันธุ์ปากช่อง 1 ให้เกิดแคลลัสและยอดนำไปใช้ในการถ่ายยีนได้ การเลือกใช้แคลลัสของหญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1 มาถ่ายยีนโดยวิธี Leaf disc โดยใช้ *A. tumefaciens* สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนใบยาสูบที่ได้รับการถ่ายยีนเกิดต้นใหม่ได้

Chlamydomonas reinhardtii คือ สาหร่ายสีเขียวเซลล์เดียว เป็นเทคโนโลยีชีวภาพที่ถูกนำมาใช้เป็นต้นแบบและผลิตภัณฑ์ มีคุณสมบัติโตเร็ว เลี้ยงง่าย เจริญเติบโตโดยการสังเคราะห์แสงเพียงอย่างเดียว สามารถสะสมคาร์โบไฮเดรตไว้ในเซลล์ซึ่งสามารถนำมาเป็นชีวมวลได้ การทดลองนี้จึงศึกษาผลของการถ่ายฝากยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาบอลิซึมของน้ำตาลซูโครส ได้แก่ ยีน *Sucrose synthase (SUS)* เพื่อใช้เป็นสาหร่ายชีวมวล ทำการสร้างเวคเตอร์สำหรับถ่ายยีน *SUS* ให้ได้ดีเอ็นเอสายผสมที่อยู่ในเวคเตอร์ pChlamy3 มีขนาด 6947 เบส เพื่อถ่ายยีนเข้าสาหร่าย พบว่า ได้สาหร่าย *Chlamydomonas reinhardtii* C.137 ที่ได้รับการถ่ายยีน *SUS* (C.137+*SUS*) จำนวน 1 ไอโซเลต

ได้ทำการศึกษาการทดสอบพืชและสาหร่ายชีวมวลในประเทศไทยเพื่อทดแทนพืชพลังงานเปรียบเทียบกับสาหร่ายนำเข้าจากต่างประเทศที่เหมาะสมสำหรับผลิตไบโอเอทานอล โดยเริ่มดำเนินการตั้งแต่ปี 2557-2558 รวบรวมชนิดพืช/สาหร่ายที่มีศักยภาพในการผลิตเอทานอลจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ ต้นเลา หญ้าเนเปียร์

(ขอนแก่น) หญ้าคิงเนเปียร์ (ปากช่อง1) อ้อยพลังงาน (ลูกผสม KJ) สาหร่าย *Chlorella pyrenoidosa* (ADOA4) เปรียบเทียบกับ *Chlorella* sp. (J1) จากประเทศญี่ปุ่น

ได้นำเข้าจุลินทรีย์และยีสต์ผลิตเอทานอลจากต่างประเทศมาศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพจุลินทรีย์นำเข้าจากต่างประเทศที่ใช้ในการผลิตไบโอเอทานอลเทียบกับจุลินทรีย์ท้องถิ่น เพื่อลดต้นทุนและเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตไบโอเอทานอล สามารถแยกเชื้อยีสต์ที่แตกต่างกันได้ 25 ไอโซเลต โ

ด้านเครื่องจักรในการผลิตเอทานอลได้พัฒนาและปรับปรุงเครื่องจักรกลต้นแบบให้สามารถใช้ในการแปรสภาพชีวมวลในขบวนการผลิตเอทานอลให้มีประสิทธิภาพ ทำการออกแบบและสร้างต้นแบบเครื่องมือแปรสภาพชีวมวลสำหรับผลิตเอทานอล ได้แก่ เครื่องหั่นย่อยเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร และพืชพลังงานที่มีคุณสมบัตินำไปผลิตเอทานอลได้ เช่น ทะลายปาล์ม หญ้าเนเปียร์ ต้นเลา และอ้อยพลังงาน ทดสอบและประเมินผลเครื่องต้นแบบ หาสมรรถนะและประสิทธิภาพการทำงาน สามารถทำการแปรสภาพวัสดุพืชชีวมวลที่มีสภาพแห้งได้ดีกว่าสภาพวัสดุที่สดหรือมีความชื้นสูง เพราะฉะนั้นก่อนการหั่นย่อยแปรสภาพวัสดุต้องทำการตากแดดให้แห้งก่อนเสมอ

ได้ทำการวิจัยและพัฒนาเครื่องจักรกลในกระบวนการหมักของการผลิตเอทานอลจากชีวมวล เป็นการบูรณาการเครื่องจักรและเทคโนโลยีชีวภาพเพื่อผลิตพลังงาน โดยเครื่องจักรในกระบวนการผลิตจะต้องประกอบด้วย เครื่องสับย่อยหยาบและเครื่องบดหยอดละเอียดเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของจุลินทรีย์ โดยกระบวนการเตรียมวัตถุดิบก่อนใช้งาน (Pre-treatment) สามารถทำได้โดยทั้งทางกายภาพ ทางเคมีและทางชีวภาพ หรือใช้ร่วมกันขึ้นอยู่ชนิดชีวมวลและความเหมาะสมของสมบัติทางกายภาพและเคมีในชีวมวล โดยเครื่องจักรในกระบวนการผลิตจะประกอบด้วย1) ถังหมักแบบกะ ขนาด 600 ลิตร มีระบบการให้ความร้อนและมีระบบควบคุมด้วยระบบ PID สามารถควบคุมอุณหภูมิและใบกวนตามเงื่อนไขที่ตั้งไว้ 2) ปั๊มชนิดเกียร์ปั๊มใช้ในการดึงของเหลวจากถังหมักผ่านถังกรอง 3) ถังกรองซึ่งจะมีชั้นกรองหยาบและละเอียดภายใต้ความดัน ไม่เกิน 3 bar 4) ชุดให้ความร้อนก่อนเข้ากระบวนการกลั่นพร้อมระบบควบคุมอุณหภูมิ 5) ถังกลั่นลำดับส่วนใช้ในการกลั่นเอทานอลออกจากน้ำ 6) เครื่องควบแน่นใช้ระบบเครื่องทำความเย็นมาประยุกต์ใช้ 7) ถังบรรจุ ซึ่งกระบวนการผลิตเอทานอลจากชีวมวลที่ออกแบบมี ปริมาตรการหมัก 480 ลิตร กำลังการผลิตเอทานอล 48 ลิตรต่อกะ ที่ปริมาณเอทานอลหลังการหมัก 10 เปอร์เซ็นต์

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

ประกอบด้วย

1. ผลการวิจัยของโครงการ เน้นผลผลิต Output ตรงเป้าประสงค์ของโครงการ ตามวัตถุประสงค์

1.1 ได้จุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกโนเซลลูโลส

1.2 ได้ยีนที่มีประสิทธิภาพในการนำไปผลิตเอนไซม์ด้วยเทคนิค recombinant DNA

1.3 ได้เทคนิคการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสจากเห็ดในระดับห้องปฏิบัติการ

1.4 ได้สายพันธุ์ยีสต์ซึ่งเหมาะสมต่อกระบวนการผลิตเอทานอล

1.5 ได้ชนิดได้ชนิดของชีวมวลที่เหมาะสมนำมาใช้ผลิตไบโอเอทานอลนิดของพืชที่เหมาะสมนำมาใช้ผลิตไบโอเอทานอล

1.6 ได้ชนิดของชีวมวลที่เหมาะสมนำมาใช้ผลิตไบโอเอทานอล

1.7 ได้ยีนและข้อมูลยีนที่เกี่ยวข้องกับขบวนการสร้างลิกนินในพืช

1.8 สูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการชักนำแคลลัส และสูตรสำหรับการ regenerate

1.9 ได้รูปแบบ เทคนิควิธีการ และแนวทางการออกแบบเครื่องมือแปรสภาพชีวมวล

1.10 ได้ต้นแบบเครื่องจักรต้นแบบในการเตรียมวัตถุดิบ(Pretreatment) ก่อนกระบวนการหมักผลการทดสอบเบื้องต้นกับชีวมวลชนิดต่างๆ

1.11 ทราบชนิดของจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายชีวมวลได้ดี ทราบสภาวะที่เหมาะสมในการผลิต crude enzyme

1.12 ได้จุลินทรีย์ตัดต่อพันธุกรรมที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกโนเซลลูโลส

1.13 ได้เทคนิคการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสจากราในระดับห้องปฏิบัติการ

1.14 ได้ยีสต์ซึ่งสามารถใช้ในการย่อยสลายเซลลูโลส

1.15 ได้เทคนิคการผลิตเอนไซม์จากจุลินทรีย์ในระดับอุตสาหกรรมเบื้องต้นขนาด 100 ลิตร

1.16 ได้เทคนิคและวิธีการ Pre-treatment เพื่อแยกลิกนินออกจากพืชที่คัดเลือกได้เพื่อนำไปหมักให้เป็นน้ำตาลและแอลกอฮอล์

1.17 ได้เทคนิคและวิธีการ Pre-treatment เพื่อแยกลิกนินออกจากชีวมวลที่คัดเลือกได้เพื่อนำไปหมักให้เป็นน้ำตาลและแอลกอฮอล์

1.18 ได้เทคนิค RNAi หรือเทคนิคอื่นๆ ในการยับยั้งการแสดงออกของยีน (knockout gene) ที่เกี่ยวข้องกับขบวน การสร้างลิกนิน

1.19 ได้เทคนิคการถ่ายยีนเข้าสู่พืช และการตรวจสอบยีน

1.20 ได้สาหร่าย *Chlamydomonas reinhardtii* ที่ได้รับการถ่ายยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาบอลิซึมของน้ำตาลซูโครส

1.21 ได้ชนิดของพืช/สาหร่ายขนาดใหญ่ที่เพาะเลี้ยงได้ในประเทศไทย (พืชท้องถิ่น) ที่เหมาะสมนำมาใช้ผลิต ไบโอเอทานอล

1.22 ได้ชนิดของจุลินทรีย์ที่เพาะเลี้ยงได้ในประเทศไทย ที่เหมาะสมในการนำมาใช้ผลิตไบโอเอทานอล

1.23 ได้ต้นแบบเครื่องลดขนาด/เครื่องมือแปรสภาพชีวมวลและผลการทดสอบเบื้องต้นกับชีวมวลชนิดต่างๆ

1.24 ได้ปัจจัยในการพัฒนาระบบการผลิตไบโอเอทานอลและแบบทางวิศวกรรมของระบบการหมักและการกลั่นลำดับส่วน

1.25 ได้เทคนิคการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสจากจุลินทรีย์ตัดต่อพันธุกรรมในระดับห้องปฏิบัติการ

1.26 ได้ยีสต์ซึ่งได้รับการถ่ายฝากยีนและสามารถย่อยสลายเซลลูโลสเพื่อเปลี่ยนเป็นเอทานอลได้

1.27 ได้เทคนิคการผลิตเอนไซม์จากจุลินทรีย์ในระดับอุตสาหกรรมขนาด 600 ลิตร

1.28 ได้ชุดยีน (plasmid construct) ที่เกี่ยวข้องกับขบวนการยับยั้งการสร้างลิกนินในพืช สำหรับนำไปถ่ายฝากเข้าสู่พืชต้นแบบ

1.29 สาหร่าย *Chlamydomonas reinhardtii* ที่มีประสิทธิภาพในการสะสมน้ำตาลเพื่อการผลิตเอทานอล

1.30 ทราบข้อมูลลักษณะทางการเกษตรของพืชที่แสดงออกเมื่อได้รับการถ่ายยีนเปรียบเทียบกับพืชเดิม

1.31 ได้ชนิดของพืช/สาหร่ายนำเข้าที่หมาะสมนำมาใช้ผลิตไบโอเอทานอล

1.32 ได้ชนิดของจุลินทรีย์นำเข้าที่หมาะสมนำมาใช้ผลิตไบโอเอทานอล

1.33 ได้ต้นแบบเครื่องจักรระบบการผลิตไบโอเอทานอล

1.34 ได้เครื่องมือแปรสภาพในขบวนการย่อยสลายชีวมวลในขบวนการผลิตเอทานอล

2. ข้อเสนอแนะ (เชิงการนำไปใช้ประโยชน์ บอกผลลัพธ์ (Outcome) ที่มีผลกระทบในทางกว้างที่นำผลผลิตไปใช้ หรือวิจัยต่อ)

2.1 สามารถนำจุลินทรีย์ที่ดีไปผลิตเอนไซม์ย่อยลิกโนเซลลูโลสหรือนำไปโคลนยีนต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องทำให้ผลิตเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพดี

2.2 สามารถนำยีนที่ได้ไปโคลนเข้าสู่เวคเตอร์และยีสต์หรือ *E. coli* ซึ่งจะทำให้ผลิตเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการย่อยสลายลิกโนเซลลูโลส

2.3 สามารถนำเทคโนโลยีไปใช้ในการขยายขนาดในการผลิตในระดับอุตสาหกรรมได้

2.4 สายพันธุ์ยีสต์ที่ดีจะช่วยให้การผลิตเอทานอลประสบความสำเร็จได้เพิ่มขึ้น

2.5 เกษตรกรมีทางเลือกในการผลิตพืชชีวมวล ได้รายได้เพิ่มในสภาวะที่ใช้ปุ๋ยและปัจจัยการผลิตอื่นลดลง ทำให้มีผลกำไรเพิ่ม

2.6 เกษตรกรมีทางเลือกในการเก็บรวบรวมชีวมวล / เกษตรกรขายวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรได้รายได้เพิ่ม เป็นการเพิ่มอาชีพใหม่ ๆ ให้ท้องถิ่นต่าง ๆ

2.7 นำยีนที่ได้ไปใช้ในการสร้างพืชพันธุ์ใหม่ที่มีลิกนินต่ำเหมาะสำหรับการย่อยสลายด้วยเอนไซม์กลุ่มลิกโนเซลลูโลสทำให้ได้เอทานอลเพิ่ม

2.8 สามารถผลิตพืชจากเซลเดียวเพื่อนำไปใช้ในกระบวนการฝากถ่ายยีนของพืชและผลิตแคลลัสปริมาณมากเพื่อการขยายพันธุ์พืชที่ต้องการได้แก่พืชที่มีลิกนินต่ำซึ่งเหมาะสำหรับการผลิตเอทานอลต่อไป

2.9 นำรูปแบบและแนวทางการออกแบบเครื่องจักรไปสร้างเครื่องจักรย่อยสลายพืชและชีวมวล

2.10 นำเครื่องจักรที่ผลิตได้ไปย่อยวัสดุ/พืชเหลือใช้เพื่อป้อนเข้าสู่ขบวนการหมักเอทานอล

2.11 นำจุลินทรีย์และข้อมูลในการผลิต crude enzyme ที่ได้ไปใช้ในการผลิตเอนไซม์ที่ต้องการ

2.12 นำจุลินทรีย์ตัดต่อพันธุกรรมไปผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสในระดับต่างๆ ต่อไป

2.13 สามารถนำเทคโนโลยีไปใช้ในการขยายขนาดในการผลิตได้

2.14 ยีสต์ที่ได้สามารถนำไปหมักน้ำตาลให้เป็นเอทานอลในขบวนการหมักต่อไป

2.15 ถ่ายทอดเทคโนโลยีให้ผู้ผลิตนำไปผลิตเอนไซม์ต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง

2.16 นำเทคนิคที่ได้ไปช่วยในการเตรียมวัตถุดิบสำหรับการผลิตเอทานอลจากพืชที่มีลิกนิน

2.17 นำเทคนิคที่ได้ไปช่วยในการเตรียมวัตถุดิบสำหรับการผลิตเอทานอลจากชีวมวล

2.18 การยับยั้งการสร้างลิกนินในพืชที่ต้องการจะทำให้ได้พืชที่มีลิกนินต่ำเหมาะสมในการนำมาย่อยสลายและการหมักให้เป็นเอทานอลได้ดีกว่าพืชปกติ

2.19 นำเทคโนโลยีไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืชให้มีลิกนินต่ำ

2.20 ได้สาหร่าย *Chlamydomonas reinhardtii* ที่ได้รับการถ่ายยีนจำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สาหร่ายที่มียีน *Sucrose phosphate synthase, Sucrose synthase* และ *Invertase*

2.21 ทำให้มีพืชที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอทานอลเพิ่มมากขึ้น เกษตรกรมีทางเลือกในการจัดหา/เพาะปลูกพืชเหล่านี้ทำให้มีรายได้เพิ่มขึ้น

2.22 มีแหล่งของจุลินทรีย์ใหม่ ๆ ทำให้เพิ่มทางเลือกในการผลิตไบโอเอทานอลเพิ่มขึ้น

2.23 นำเครื่องมือที่ได้ที่ได้ไปช่วยย่อยพืชและชีวมวลชนิดต่าง ๆ เพื่อนำไปผลิตเอทานอลต่อไป

2.24 นำปัจจัยต่างๆ ที่ได้ไปพัฒนาการผลิตเครื่องจักรสำหรับผลิเอทานอลจากชีวมวล

2.25 สามารถนำเทคโนโลยีการผลิตเอนไซม์ไปใช้ในการขยายขนาดในการผลิตได้

2.26 ผลิตเอทานอลจากชีวมวลโดยใช้ยีสต์ที่ได้

2.27 ถ่ายทอดเทคโนโลยีให้ผู้ผลิต

2.28 นำพืชดัดแปรพันธุกรรมไปใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล

2.29 นำข้อมูลที่ได้ไปใช้สร้างพืชที่มีลิกนินต่ำเหมาะสมในการผลิตเอทานอลต่อไป

2.30 ได้ข้อมูลการสะสมแป้ง สะสมน้ำตาล และการผลิตเอทานอล จากสาหร่ายที่ได้รับการถ่ายยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาบอลิซึมของน้ำตาลซูโครส 3 สายพันธุ์ ซึ่งหน่วยงานที่เกี่ยวข้องสามารถนำข้อมูลไปใช้เพื่อการผลิตเอทานอล รวมถึงต่อยอดสู่ระดับอุตสาหกรรม

2.31 ได้ชนิด/พันธุ์พืชใหม่ ๆ เพิ่มช่องทางการผลิตไบโอเอทานอลและสร้างความร่วมมือระหว่างประเทศต่อไป

2.32 ได้จุลินทรีย์ชนิดใหม่ ๆ เพิ่มช่องทางการผลิตไบโอเอทานอลและสร้างความร่วมมือระหว่างประเทศต่อไป

2.33 นำเครื่องมือไปย่อยวัสดุ / พืชเหลือใช้เพื่อขบวนการหมักเอทานอล

2.34 นำเครื่องไปใช้หมักเอทานอลได้