บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของประเด็นการวิจัย

ประเทศไทยกำลังประสบปัญหาเรื่องเชื้อเพลิง เนื่องจากสถานการณ์ราคาน้ำมันในตลาดโลกในปี พ.ศ. 2551 ราคาน้ำมันมีความแปรผันและปรับตัวขึ้นลงอย่างมากตามสถานการณ์ ประกอบกับผลกระทบทางด้านเศรษฐกิจของโลกและผลกระทบอย่างรุนแรงจากสถานการณ์ทางการเมืองในประเทศ ทำให้พลังงานเชื้อเพลิงมีไม่เพียงพอต่อความต้องการใช้ภายในประเทศ และแนวโน้มราคาน้ำมันในตลาดโลกเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง (เยาวเรศ, 2552; นวดล, 2552) กระทรวงพลังงานจึงมีเป้าหมายที่จะพัฒนาพลังงานทุกรูปแบบที่มีอยู่ในประเทศ เพื่อลดระดับการพึ่งพาการนำเข้าน้ำมันจากต่างประเทศ โดยกำหนดให้ภายในปี พ.ศ.2554 จะลดการพึ่งพาน้ำมันนำเข้าให้เหลือร้อยละ 33.6 (สำนักนโยบายและแผนพลังงาน, 2552)

การพัฒนาเชื้อเพลิงชีวภาพ หรือพลังงานชีวภาพ (Bioenergy) เป็นหนึ่งในเป้าหมายหลักของยุทธศาสตร์การพัฒนาพลังงานของประเทศไทยในปัจจุบัน (สำนักนโยบายและแผนพลังงาน, 2552) ดังนั้นรัฐบาลจึงมียุทธศาสตร์พัฒนาการผลิตเอทานอลและไบโอดีเซล เพื่อทดแทนการนำเข้าน้ำมันเบนซินและดีเซล เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม จึงมีพืชพลังงานหลายชนิดที่นำมาใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตเอทานอลได้ เช่น อ้อย มันสำปะหลัง ข้าวโพด ข้าวฟ่างหวาน เป็นต้น ซึ่งวัตถุดิบเหล่านี้เป็นองค์ประกอบสำคัญของการผลิตพลังงานชีวภาพ (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2551) ในขณะนี้ประเทศไทยมีน้ำมันแก๊สโซฮอล์อยู่ 2 ชนิดหลักๆ คือ แก๊สโซฮอล์ E10 และ E20 ซึ่งมีอัตราส่วนระหว่างน้ำมันเบนซินและเอทานอลที่ 9:1 และ 8:2 ตามลำดับ ในปี พ.ศ. 2550 ที่ผ่านมานั้นปริมาณการใช้น้ำมันแก๊สโซฮอล์ E10 ในประเทศไทยอยู่ที่ประมาณ 4.6 ล้านลิตรต่อวัน ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 23 ของความต้องการน้ำมันเบนซินทั้งหมดประมาณ 20 ล้านต่อวัน ทำให้มีปริมาณการใช้เอทานอลเป็นพลังงานทดแทนประมาณ 5 แสนลิตรต่อวัน แต่หลังจากมีการประกาศใช้น้ำมันแก๊สโซฮอล์ E20 เมื่อเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 รวมทั้งนโยบายทางด้านราคาของรัฐบาลที่ผ่านมานั้น คาดว่าปริมาณการใช้น้ำมันแก๊สโซฮอล์ทั้ง E10 และ E20 จะเพิ่มมากขึ้นอีก ส่งผลให้ปริมาณการใช้เอทานอลเพิ่มเป็นประมาณ 1.3 ล้านลิตรต่อวันในปี พ.ศ. 2551 และเพิ่มเป็น 2.4 ล้านลิตรต่อวัน ในปี พ.ศ. 2554 (มิตรผล, 2553)

ปริมาณความต้องการใช้เอทานอลเป็นส่วนผสมกับน้ำมันเบนซิน เพื่อผลิตเป็นแก๊สโซฮอล์ในปี 2554 ยังคงมีแนวโน้มเติบโตตามปัจจัยจากราคาน้ำมันตลาดโลกที่เคลื่อนไหวในระดับสูงต่อเนื่องจากปี 2553 ประกอบกับภาครัฐและเอกชนของไทยส่งเสริมและสนับสนุนให้มีการใช้พลังงานทดแทนอย่างต่อเนื่อง ส่งผลให้ความต้องการใช้พลังงานทดแทนที่มีราคาถูกกว่าน้ำมันเป็นที่ต้องการมากขึ้น (ศูนย์วิจัยกสิกรไทย, 2553) โดยคาดการณ์ว่าปริมาณการใช้เอทานอลจะเพิ่มขึ้น

ไปถึงระดับประมาณ 1.9 - 2.0 ล้านลิตรต่อวันในปี 2554 จากปริมาณการใช้เฉลี่ยประมาณ 1.1 - 1.2 ล้านลิตรต่อวันในปัจจุบัน (ศูนย์วิจัยกสิกรไทย, 2553) อย่างไรก็ตามปัญหาและอุปสรรคของอุตสาหกรรมเอทานอลในปี 2554 ที่สำคัญ คือ ปัญหาพืชพลังงานซึ่งใช้เป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตเอทานอลทั้งมันสำปะหลังและกากน้ำตาลจากอ้อย เนื่องจากปริมาณผลผลิตได้รับผลกระทบจากภัยธรรมชาติ รวมถึงการระบาดของแมลงศัตรูพืช ซึ่งผลักดันให้ราคาวัตถุดิบผลิตเอทานอลจำพวกมันสำปะหลังและกากน้ำตาลปรับเพิ่มสูงขึ้น และส่งผลกระทบต่อต้นทุนการผลิตเอทานอลที่ปรับเพิ่มขึ้นด้วย (ศูนย์วิจัยกสิกรไทย, 2553)

ปัจจุบันมีโรงงานผลิตเอทานอล 18 โรงงาน มีกำลังการผลิตกว่า 2.8 ล้านลิตรต่อวัน (มูลนิธิพลังงานเพื่อสิ่งแวดล้อม, 2551) อีกทั้งยังมีผู้ได้รับอนุญาตตั้งโรงงานผลิตเอทานอลแล้วทั้งสิ้น 47 ราย ซึ่งทำให้มีกำลังการผลิตเป็น 9 ล้านลิตรต่อวันในปีพ.ศ. 2564 (ฐานเศรษฐกิจ, 2552) โดยโรงงานผลิตเอทานอลส่วนใหญ่ใช้วัตถุดิบในการผลิต คือ กากน้ำตาลและแป้งมันสำปะหลัง จากความต้องการเอทานอลที่สูงอย่างต่อเนื่อง มีความเป็นไปได้ว่าอาจเกิดการขาดแคลนวัตถุดิบขึ้นได้ในอนาคต

ปัจจุบันวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเอทานอล ได้แก่ กากน้ำตาลจากการผลิตน้ำตาลจากอ้อยและมันสำปะหลัง (มูลนิธิพลังงานเพื่อสิ่งแวดล้อม, 2551) อย่างไรก็ตามในบางครั้งผลผลิตอ้อยและมันสำปะหลังในประเทศไทยยังไม่เพียงพอต่อความต้องการของโรงงานผลิตน้ำตาล อาหารสัตว์ และโรงงานแปรรูปแป้ง และยังพบว่าคุณภาพของกากน้ำตาลที่ได้มีค่าไม่ค่อยคงที่ ในบางครั้งมีปริมาณน้ำตาลที่หมักได้ (fermentable sugar) เพียงร้อยละ 33 ทำให้ปริมาณการผลิตเอทานอลลดลง (บางจาก, 2553) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องหาแหล่งวัตถุดิบอื่นทดแทน

นอกเหนือจากกากน้ำตาลจากอ้อย และมันสำปะหลังแล้ว เอทานอลสามารถผลิตได้จากวัสดุทาง การเกษตรอื่นๆ อีกหลายชนิด เช่น ข้าว ข้าวโพด ข้าวฟ่างหวาน และพืชอื่นๆ หลายชนิดที่มีแป้งและน้ำตาลเป็นองค์ประกอบ (บางจาก, 2553) อย่างไรก็ตามในการคัดเลือกวัตถุดิบเพื่อนำมาผลิตเอทานอล ควรเลือกวัตถุดิบที่มีเพียงพอตลอดปี ราคาถูก ผลได้เอทานอลต่อหน่วยวัตถุดิบและต่อพื้นที่เพาะปลูกสูง และต้นทุนในการเตรียมวัตถุดิบเริ่มต้นก่อนการหมัก (pretreatment) ต่ำ

ข้าวฟ่างหวาน (*Sorghom bicolor* L. Moench) เป็นพืชชนิดหนึ่งที่ได้มีการศึกษาและพัฒนาเพื่อนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล เนื่องจากเป็นพืชที่มีความทนทานต่อสภาพแห้งแล้งได้ดี และคุณภาพของน้ำคั้นจากข้าวฟ่างหวานมีความใกล้เคียงกับน้ำคั้นจากอ้อย ซึ่งสามารถใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลได้โดยตรง ไม่ต้องผ่านการ pretreatment นอกจากนี้แล้วข้าวฟ่างหวานยังมีช่วงการเจริญเติบโตและเก็บเกี่ยวผลผลิตสั้นประมาณ 100 – 140 วัน โดยเฉลี่ย 1 ปี สามารถปลูกได้ถึง 3 ครั้ง ในขณะที่อ้อยปลูกได้ปีละ 1 ครั้ง ข้าวฟ่างหวานปลูกได้ง่ายโดยใช้เมล็ดพันธุ์เพียง 1.5 กิโลกรัมต่อไร่ อัตราขยายพันธุ์ 1 ต่อ 1000 ในขณะที่อ้อยมีอัตราการขยายพันธุ์เพียง 1 ต่อ 10 จึงทำให้ต้นทุนของการปลูกข้าวฟ่างหวานต่ำกว่าอ้อยมาก (ประสิทธิ์, 2547) นอกจากนี้แล้วทุกส่วนของข้าวฟ่างหวาน ได้แก่ เมล็ด น้ำคั้นจากลำต้น และชานต้นข้าวฟ่างหวาน สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลได้แต่ต้องผ่านกระบวนการ pretreatment ที่แตกต่างกัน

จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่า ข้าวฟ่างหวานสามารถนำมาใช้ผลิตเอทานอลได้ พบว่าข้าวฟ่างหวาน 1 ตัน สามารถผลิตเอทานอลได้ 76 ลิตร ในขณะที่อ้อย 1 ตัน สามารถผลิตเอทานอลได้ 70 ลิตร (บางจาก, 2553) ได้ 350 - 420 ลิตรต่อไร่ ต่อ 1 รอบของการปลูก (ประสิทธิ์, 2551) และจากการศึกษาของ Laopaiboon และคณะ (2007) พบว่าความเข้มข้นของเอทานอลจากการหมักแบบกะจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานมีความเข้มข้นสูงถึงร้อยละ 12.7 โดยปริมาตร (หรือ 100 กรัมต่อลิตร) โดยมีผลผลิตเอทานอลเท่ากับ 1.67 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง จึงทำให้ข้าวฟ่างหวานเป็นวัตถุดิบที่มีศักยภาพมากเมื่อเทียบกับแหล่งวัตถุดิบชนิดอื่น

ปัจจุบันข้าวฟ่างหวานได้รับการส่งเสริมให้เป็นวัตถุดิบส่งโรงงานเอทานอล เพื่อเตรียมรับมือกับอ้อย มันสำปะหลัง และกากน้ำตาลที่อาจเกิดการขาดแคลนในอนาคต โดยส่วนประกอบของข้าวฟ่างหวานที่จะ นำมาใช้เพื่อป้อนให้กับโรงงานผลิตเอทานอลคือส่วนลำต้นที่จะมาคั้นเป็นน้ำ ขณะนี้มีโรงงานผลิตเอทานอล 3 แห่งที่สนใจข้าวฟ่างหวานเพื่อนำไปใช้ในการผลิต คือ โรงงานน้ำตาลขอนแก่น ที่อำเภอน้ำพอง จังหวัด ขอนแก่น โรงงานน้ำตาลมิตรผล ที่อำเภอภูเขียว จังหวัดชัยภูมิ และบริษัทไทยอะโกรเอนเนอร์จี อำเภอด่านช้าง จังหวัดสุพรรณบุรี การปลูกข้าวฟ่างหวานโดยได้ผลผลิตลำต้นสดของข้าวฟ่างหวานอยู่ในช่วง 3.0 – 6.5 ตันต่อไร่ (นิคม, 2552) ส่วนบริษัทไทยอะโกรเอนเนอร์จี อำเภอด่านช้าง จังหวัดสุพรรณบุรี สนใจในการนำข้าวฟ่างหวานมาผลิตเอทานอล (พืชพลังงาน, 2550) โดยสามารถปลูกข้าวฟ่างหวานได้ผลผลิตสูงถึง 10 ตันต่อไร่ (ประสิทธิ์, 2550)

อย่างไรก็ตามเมื่อได้วัตถุดิบที่มีศักยภาพในการใช้ผลิตเอทานอลแล้ว จำเป็นต้องมีกลยุทธ์ในการศึกษาวิจัยและพัฒนาเพิ่มเติมหรือปรับปรุงการผลิตเอทานอลให้มีประสิทธิภาพ และประสิทธิผลสูงขึ้น แนวทางหนึ่งคือ ใช้ยีสต์ที่สามารถผลิตเอทานอลได้สูง มีหลายงานวิจัยรายงานว่า *Saccharomyces cerevisiae* เป็นสายพันธุ์ยีสต์ที่สามารถผลิตเอทานอลสูง โดยเป็นสายพันธุ์หลักที่ใช้ในการผลิตเอทานอลในอุตสาหกรรม (industrial ethanol producer) ทั้งภายในประเทศ และโดยเฉพาะประเทศบราซิลที่มีการใช้ยีสต์สายพันธุ์นี้ในการผลิตเอทานอล (Mei และคณะ, 2009; Matsushika และคณะ, 2009; Yang และคณะ, 2010) เนื่องจากเป็นจุลินทรีย์ที่มีความปลอดภัย ในสภาวะที่เหมาะสมสามารถหมักเอทานอลจากน้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 อะตอมได้สูงถึงร้อยละ 20 (โดยปริมาตร) (Zaldivar และคณะ, 2001; Alfenore และคณะ, 2004; Yang และคณะ, 2010) โดยความสามารถในการผลิตเอทานอลของยีสต์นอกจากจะต้องมีอาหารที่สมบูรณ์แล้ว ปัจจัยที่สำคัญอย่างหนึ่งคือ การให้อากาศในระหว่างการเจริญของยีสต์ (Alfenore และคณะ, 2002; 2004; Seo และคณะ, 2009) เนื่องจากการสังเคราะห์องค์ประกอบของเซลล์เมมเบรนของยีสต์ (คือกรดไขมันและสเตอรอยด์) ต้องการโมเลกุลของออกซิเจน ซึ่งปริมาณองค์ประกอบดังกล่าวมีผลทำให้ยีสต์ทนต่อเอทานอลมากขึ้นและสามารถผลิตเอทานอลได้สูงขึ้น (Mantzouridou และคณะ, 2009)

กระบวนการหมักเพื่อผลิตเอทานอลของยีสต์นั้น เกิดขึ้นได้เนื่องจากยีสต์สามารถเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นเอทานอล และคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน โดยผ่านวิถีไกลโคไลซีส ในทางทฤษฎีน้ำตาลกลูโคสสามารถเปลี่ยนเป็นเอทานอลได้ประมาณร้อยละ 51 (กรัมของเอทานอลที่ผลิตได้ต่อกรัมกลูโคสที่ถูกใช้) และได้คาร์บอนไดออกไซด์อีกประมาณร้อยละ 49 (กรัม

คาร์บอนไดออกไซด์ต่อกรัมกลูโคสที่ถูกใช้) อย่างไรก็ตาม ในทางปฏิบัติแหล่งคาร์บอนบางส่วนที่ใช้ถูกนำไปใช้เพื่อเปลี่ยนเป็นเซลล์และสร้างผลพลอยได้ (by-products) เช่น กลีเซอรอล ซัคซิเนท และสารประกอบอื่นๆ ดังนั้นผลได้ของเอทานอลที่เกิดขึ้นจริงจะมีค่าประมาณร้อยละ 90 - 95 ของผลได้ทางทฤษฎี (Sobocan และ Glavic, 2000; Lee และคณะ, 2009)

ดังนั้นจะเห็นว่าเมื่อเข้าสู่กระบวนการหมักเอทานอลยีสต์จะไม่ต้องการอากาศ เนื่องจากเมื่อยีสต์เปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นไพรูเวท (pyruvate) แล้ว ยีสต์จะเปลี่ยนไพรูเวทเป็นเอทานอลและคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (Roehr, 2001) นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยพบว่า สรีระวิทยาของยีสต์ยังมีผลต่อการผลิตและการทนต่อเอทานอลด้วย (Vapálenská และคณะ, 2005; Svaldo-Lanero และคณะ, 2007)

งานวิจัยนี้จึงมีจุดมุ่งหมายหลักเพื่อศึกษาการเจริญของยีสต์ในน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานภายใต้สภาวะที่ให้อากาศที่อัตราและเวลาที่แตกต่างกัน เพื่อให้ได้เซลล์ยีสต์จำนวนมาก แข็งแรงและว่องไว (active) เพื่อใช้ในการผลิตเอทานอลความเข้มข้นสูงภายใต้สภาวะที่ไม่มีอากาศโดยหมักต่อเนื่องจากการเจริญของยีสต์ โดยใช้ยีสต์สายพันธุ์ที่สามารถผลิตเอทานอลสูงคือ *S. cerevisiae* NP01 (Laopaiboon และคณะ, 2008) ในขณะเดียวกันยังต้องการศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลและการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของเซลล์และสรีระวิทยาของเซลล์ในสภาวะที่ผลิตเอทานอลความเข้มสูงจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวาน โดยข้อมูลที่ได้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลและนำไปประยุกต์ใช้สำหรับต่อยอดเพื่อนำไปใช้ในกระบวนการหมักในระดับเชิงพาณิชย์ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อศึกษาการเตรียมกล้าเชื้อโดยใช้น้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานแทนอาหารสังเคราะห์
1.2.2 เพื่อศึกษาการให้อากาศในกระบวนการหมักที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตเอทานอล
1.2.3 เพื่อหาอัตราการให้อากาศและระยะเวลาในการให้อากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์เพื่อผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวาน
1.2.4 เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการหมักเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานโดยกระบวนการต่อเนื่องกัน จากการเจริญไปสู่การหมักเอทานอล
1.2.5 เพื่อศึกษาการนำเซลล์ยีสต์ที่มีประสิทธิภาพมาใช้ในการผลิตเอทานอลในกระบวนการหมักแบบกะ
1.2.6 เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการหมักเพื่อผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานโดยกระบวนการหมักแบบต่างๆ