

การปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพด้วยวิธีทางชีววิทยาสังเคราะห์

BIOGAS UPGRADING THROUGH SYNTHETIC BIOLOGY

APPROACHES

นพดล ปันจันทร์*

Noppadol Panchan*

ภาควิชาวิศวกรรมกระบวนการและอุตสาหกรรม สถาบันวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

Department of Process and Industrial Engineering, Institute of Engineering and Industrial Technology,

Mahanakorn University of Technology

*corresponding author e-mail: noppadol@mut.ac.th

(Received: 18 July 2023; Revised: 18 October 2023; Accepted: 1 November 2023)

บทคัดย่อ

บทความนี้นำเสนอการประยุกต์ใช้ชีววิทยาสังเคราะห์ในการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ ซึ่งเป็นการบูรณาการองค์ความรู้ทางพันธุวิศวกรรม วิศวกรรมเมตาบอลิซึมและกลุ่มจุลินทรีย์เชิงวิศวกรรม ผสมผสานกับวิธีการทางชีววิทยาของระบบ เพื่อสร้างแบบจำลองทางคอมพิวเตอร์ที่ช่วยให้เข้าใจปฏิสัมพันธ์ของจุลินทรีย์ และสามารถออกแบบกลุ่มจุลินทรีย์ให้มีความสามารถเพิ่มการผลิตก๊าซชีวภาพที่มีประสิทธิภาพได้ ชีววิทยาสังเคราะห์มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการขับเคลื่อนการพัฒนานวัตกรรมเทคโนโลยีสู่เศรษฐกิจฐานชีวภาพที่ยั่งยืน

คำสำคัญ: การปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ ชีววิทยาสังเคราะห์ ชีววิทยาระบบ

Abstract

This article presents on the utilization of synthetic biology in the process of biogas upgrading, through the integration of interdisciplinary fields such as genetic engineering, metabolic engineering, engineered microbial consortia, and system biology. The aim is to develop computer-based models that aid in comprehending the intricate interactions

among microorganisms involved in biogas production. Furthermore, these models serve as a tool for designing optimized microbial communities that enhance the efficiency of biogas production. The significance of synthetic biology lies in its capacity to propel technological advancements and promote the realization of a sustainable bio-based economy.

Keywords: Biogas Upgrading, Synthetic Biology, System Biology

บทนำ

จากความต้องการแหล่งพลังงานสะอาดและยั่งยืนที่เพิ่มมากขึ้น เพื่อทดแทนการพึ่งพาพลังงานฟอสซิลนั้น ส่งผลให้พลังงานเชื้อเพลิงก๊าซชีวภาพ (Biogas) ได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้นเป็นอย่างมากในปัจจุบัน เนื่องจากก๊าซชีวภาพมีส่วนสนับสนุนต่อความเป็นอิสระด้านพลังงาน และการเป็นแหล่งพลังงานหมุนเวียนที่มีศักยภาพ โดยก๊าซชีวภาพนี้เกิดจากการย่อยสลายวัสดุทางชีวภาพหรือชีวมวล เช่น ของเหลือจากการเกษตร ขยะมูลฝอย กากตะกอนน้ำเสีย มูลสัตว์ เศษอาหาร และของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมอาหาร เป็นต้น โดยใช้จุลินทรีย์แบบไม่อาศัยออกซิเจน (Anaerobic microorganisms) ส่งผลให้เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ก๊าซชีวภาพที่มีองค์ประกอบหลัก ได้แก่ ก๊าซมีเทน (CH_4) ร้อยละ 55–65 และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ร้อยละ 35–45 อีกทั้งยังมีก๊าซเจือปนอื่นๆ ได้แก่ ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ร้อยละ 0–1 ก๊าซไนโตรเจน (N_2) ร้อยละ 0–3 ไฮโดรเจน (H_2) ร้อยละ 0–1 ออกซิเจน (O_2) ร้อยละ 0–2 และแอมโมเนีย (NH_3) ร้อยละ 0–1 (วิภาดา, สุภางค์ และวรวิฑูรี, 2553) แม้ว่าก๊าซชีวภาพจะมีศักยภาพสูงในการเป็นแหล่งพลังงานหมุนเวียนก็ตาม แต่ยังคงเผชิญกับความท้าทายที่ก่อให้เกิดข้อจำกัดในการใช้เป็นเชื้อเพลิง หรือนำไปพัฒนาเป็นสารเคมีที่มีมูลค่าที่สูงขึ้นได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์อยู่ในองค์ประกอบ ส่งผลต่อคุณภาพของก๊าซชีวภาพที่ลดลง เนื่องจากทำให้ก๊าซชีวภาพมีค่าความร้อนที่ต่ำ จนไม่มีความคุ้มค่าต่อการใช้เป็นเชื้อเพลิง อีกทั้งก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ ซึ่งเป็นก๊าซที่มีกลิ่นเหม็นรบกวนสิ่งแวดล้อม และมีฤทธิ์เป็นกรดที่สามารถกัดกร่อนผิวโลหะของเครื่องยนต์และระบบนำส่งก๊าซชีวภาพได้ (สิริชัย และคณะ, 2554)

การปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพจึงเป็นกระบวนการเพิ่มความบริสุทธิ์ให้แก่ก๊าซชีวภาพ โดยมีเป้าหมายหลักที่สำคัญคือการเพิ่มปริมาณก๊าซมีเทน ในขณะที่ลดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ และสิ่งปนเปื้อนอื่นๆ ออกจากก๊าซชีวภาพให้ได้มากที่สุด ซึ่งจากข้อกำหนดระหว่างประเทศ ระบุว่า ผลิตภัณฑ์ก๊าซชีวภาพควรมีก๊าซมีเทน

เป็นองค์ประกอบอย่างต่ำที่ร้อยละ 95 และองค์ประกอบของ CO₂ ไม่เกินร้อยละ 2 O₂ ไม่เกินร้อยละ 0.30 และ H₂S ไม่เกินร้อยละ 0.05 (Toledo–Cervantes et al., 2016) ซึ่งก๊าซชีวภาพที่ผ่านการปรับปรุงแล้วหรือที่เรียกว่า ไบโอมีเทน (Biomethane) นี้จะมีคุณสมบัติคล้ายกับก๊าซธรรมชาติ สามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงในยานพาหนะ ส่งผ่านระบบท่อก๊าซชีวภาพสำหรับผลิตความร้อนในโรงงานอุตสาหกรรมและบ้านเรือน และใช้ผลิตพลังงานไฟฟ้า เพื่อทดแทนการใช้ก๊าซธรรมชาติได้ (Carvalho et al., 2023) ในปัจจุบันมีวิธีและเทคโนโลยีที่หลากหลาย สำหรับการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ โดยส่วนใหญ่จะเน้นที่การแยกองค์ประกอบของก๊าซที่เจือปนออก ซึ่งเทคนิคที่ใช้ในการแยกก๊าซ ได้แก่ การดักจับด้วยน้ำ (Water scrubbing) การดูดซับแบบสลับความดัน (Pressure swing adsorption) การดูดซับด้วยสารเคมี (Chemical absorption) การแยกด้วยเยื่อเลือกผ่าน (Membrane separation) (เทอราบอน, 2561) อย่างไรก็ตามเทคโนโลยีเหล่านี้ถือเป็นการแก้ปัญหาที่ปลายทาง และยังมีข้อจำกัดในเรื่องของการใช้พลังงานสูง อีกทั้งยังต้องมีการใช้สารเคมีประเภทเอมีนเข้ามาช่วยในการดักจับคาร์บอนไดออกไซด์ด้วย ฉะนั้นการแก้ปัญหาที่ต้นทางตั้งแต่การเกิดก๊าซชีวภาพในกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศ น่าจะเป็นแนวทางที่มีประสิทธิภาพที่ดีกว่า ซึ่งจำเป็นต้องอาศัยเทคโนโลยีทางด้านชีวภาพเข้ามาช่วย

การปรับปรุงก๊าซชีวภาพโดยใช้วิธีการทางชีวภาพนั้น เป็นกระบวนการที่อาศัยกิจกรรมของจุลินทรีย์ในการเปลี่ยนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ให้เป็นก๊าซมีเทน โดยใช้กลุ่มจุลินทรีย์เฉพาะ ที่สามารถเพาะเลี้ยงและเติมลงในกระบวนการหมักก๊าซชีวภาพ เพื่อเพิ่มปริมาณการผลิตก๊าซมีเทน ในขณะที่สามารถลดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่เกิดขึ้นได้ การปรับปรุงคุณภาพโดยวิธีทางชีวภาพ มีข้อดี คือ เป็นกระบวนการที่นำกลับมาใช้ใหม่ได้และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม แต่อาจต้องมีการควบคุมกระบวนการที่ค่อนข้างละเอียดอ่อนและมีความซับซ้อนมาก (Enzmann et al., 2018)

ชีววิทยาสังเคราะห์ (Synthetic biology) เป็นสาขาสหวิทยาการใหม่ที่ผสมผสานองค์ความรู้ระหว่างชีววิทยา เคมี วิศวกรรมศาสตร์ และวิทยาการคอมพิวเตอร์ โดยมุ่งเน้นไปที่การออกแบบและสร้างระบบชีวภาพใหม่ หรือออกแบบระบบชีวภาพที่มีอยู่เพื่อการใช้งานที่เฉพาะเจาะจงมากยิ่งขึ้น โดยทำให้สามารถควบคุมกระบวนการของเซลล์และวิถีทางพันธุกรรมได้อย่างแม่นยำ ในปัจจุบันชีววิทยาสังเคราะห์ได้ปฏิวัติเทคโนโลยีและนำไปประยุกต์ใช้ในหลายภาคส่วน อาทิ ด้านวิทยาศาสตร์สุขภาพ ด้านการเกษตร ด้านการผลิตอาหาร และด้านการผลิตทางอุตสาหกรรมชีวภาพ (Thanthida, 2564) ในบริบทของการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพนั้น ชีววิทยาสังเคราะห์สามารถนำมาใช้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการทำงาน

ของจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างก๊าซชีวภาพด้วยการออกแบบและปรับแต่งกลุ่มจุลินทรีย์ให้มีความสามารถที่เหมาะสมต่อการสร้างก๊าซมีเทน ในขณะที่สามารถกำจัดหรือลดการเกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ไปพร้อมกันได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Scown & Kearsling, 2022)

ดังนั้นในบทความวิชาการนี้จะได้นำเสนอการทบทวนวรรณกรรมเกี่ยวกับกระบวนการเกิดก๊าซชีวภาพ การปรับปรุงก๊าซชีวภาพและองค์ความรู้ที่สำคัญทางด้านชีววิทยาสังเคราะห์ ที่นำมาประยุกต์ใช้ในการพัฒนาการผลิตก๊าซชีวภาพ อีกทั้งยังนำเสนองานวิจัยและวิทยาการทางด้านชีววิทยาสังเคราะห์ เพื่อพัฒนากลุ่มจุลินทรีย์ให้มีสมรรถนะและเสถียรภาพที่เหมาะสมสำหรับการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ

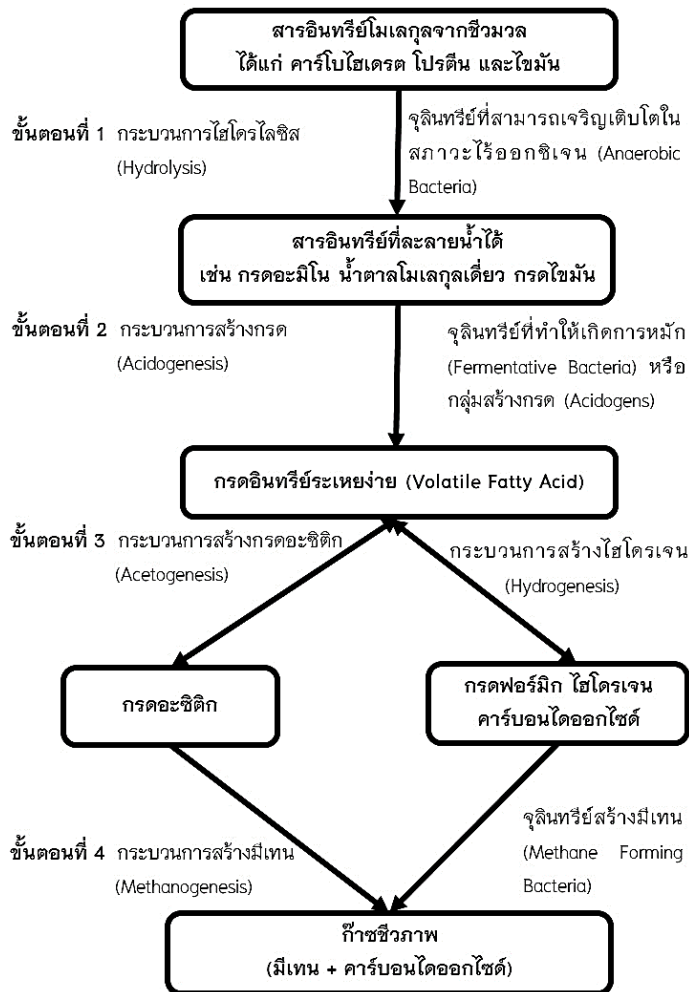
กระบวนการเกิดก๊าซชีวภาพ

การเกิดก๊าซชีวภาพเป็นกระบวนการทางชีววิทยา ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยจุลินทรีย์ในสภาวะที่ไร้อากาศ มีกระบวนการเกิดที่ซับซ้อนจากการทำปฏิกิริยาทางชีวเคมี ซึ่งต้องอาศัยเอนไซม์เข้ามาช่วยให้เกิดปฏิกิริยาที่ดีขึ้น ดังภาพที่ 1 แสดงขั้นตอนของกระบวนการเกิดก๊าซชีวภาพ ประกอบด้วย 4 ขั้นตอนหลัก ดังต่อไปนี้

ขั้นตอนที่ 1 กระบวนการไฮโดรไลซิส (Hydrolysis step) ในขั้นตอนนี้เป็นการย่อยสลายชีวมวล ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน ให้มีโมเลกุลขนาดเล็กลง โดยอาศัยเอนไซม์จากกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีการปล่อยเอนไซม์ออกมาภายนอกเซลล์ (Extracellular enzyme) ได้แก่ จุลินทรีย์ย่อยสลายเซลลูโลส (Cellulytic bacteria) จุลินทรีย์ย่อยสลายโปรตีน (Proteolytic bacteria) และจุลินทรีย์ย่อยสลายไขมัน (Lipolytic bacteria) ทำให้ได้เป็นกลูโคส กรดอะมิโน และกรดไขมัน

ขั้นตอนที่ 2 กระบวนการสร้างกรด (Acidogenesis step) ในขั้นตอนนี้สารอินทรีย์โมเลกุลขนาดเล็กจากขั้นตอนที่ 1 จะถูกจุลินทรีย์ในกลุ่มที่ทำให้เกิดการหมัก (Fermentative bacteria) หรือกลุ่มสร้างกรด (Acidogens) เปลี่ยนให้เป็นการดอินทรีย์โมเลกุลเล็ก และกรดไขมันระเหยง่าย (Volatile fatty acid; VFA) เช่น กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก กรดวาเลอริก และกรดแลกติก นอกจากนี้ยังเกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ไฮโดรเจน แอมโมเนีย ไฮโดรเจนซัลไฟด์ และแอลกอฮอล์ ทั้งนี้จุลินทรีย์ในนี้จะมีอัตราการเจริญสูงและทนทานต่อสภาวะที่เป็นกรดได้ดี เนื่องจากมีการอยู่ร่วมกันของจุลินทรีย์หลากหลายสปีชีส์ แตกต่างกันตามชนิดของวัตถุดิบ (วิภาดา, สุภาวงศ์ และวรวิฑูมิ, 2553)

ขั้นตอนที่ 3 กระบวนการสร้างกรดอะซิติก (Acetogenesis step) กระบวนการสร้างกรดอะซิติกจากการย่อยกรดไขมันระเหยง่ายโดยจุลินทรีย์ในกลุ่มอะซิโตเจนิค (Acetogenic bacteria) จะได้กรดไขมันระเหยง่ายที่มีอะตอมไม่เกินสองอะตอม ได้แก่ กรดอะซิติก กรดฟอร์มิก รวมไปถึงมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และก๊าซไฮโดรเจนเกิดขึ้นด้วย ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่มีความสำคัญในการสร้างก๊าซมีเทน



ภาพที่ 1 กระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศ (Anaerobic digestion) (วิภาดา, สุภางค์ และ วรฤดี, 2553)

ขั้นตอนที่ 4 กระบวนการสร้างมีเทน (Methanogenesis step) ขั้นตอนสุดท้ายนี้จะเป็นการสร้างก๊าซมีเทน โดยอาศัยจุลินทรีย์สร้างมีเทน (Methanogenic bacteria) หรือเมทาโนเจนส์ (Methanogens) ซึ่งแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ แบคทีเรียที่สร้างมีเทนจากการใช้คาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจน (Hydrogenotrophic methanogenic bacteria) และแบคทีเรียที่สร้างมีเทนจากการใช้กรดอะซิติก (Acetotrophic methanogenic bacteria) ซึ่งจะเปลี่ยนผลิตภัณฑ์ในขั้นตอนที่ผ่านมาให้เป็นก๊าซชีวภาพที่มีองค์ประกอบ คือ ก๊าซมีเทน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ ไฮโดรเจนซัลไฟด์ และอื่นๆ (สิริรัตน์ และปราโมช, 2548)

การปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ

การปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพในปัจจุบันมีด้วยกันหลากหลายเทคนิค โดยสามารถจำแนกได้ 3 ประเภท ได้แก่ การปรับปรุงคุณภาพด้วยวิธีทางกายภาพ (Physical Upgrading) การปรับปรุงด้วยวิธีทางเคมี (Chemical Upgrading) และ การปรับปรุงด้วยวิธีทางชีวภาพ (Biological Upgrading) โดยแต่ละเทคนิคมีข้อดีข้อเสียที่แตกต่างกัน ดังตารางที่ 1 แม้ว่าการปรับปรุงด้วยวิธีการทางกายภาพและวิธีการทางเคมีจะสามารถเพิ่มสัดส่วนของก๊าซมีเทนให้มากขึ้น จนกระทั่งผ่านเกณฑ์การเป็นไบโอมีเทนแล้วก็ตาม แต่การปรับปรุงคุณภาพของทั้งสองวิธีการ จัดเป็นการปรับปรุงคุณภาพภายหลังจากการผลิตก๊าซชีวภาพมาแล้ว ซึ่งกระบวนการปรับปรุงคุณภาพเหล่านี้มักเป็นหน่วยเพิ่มเติมที่ใช้สำหรับทำให้ก๊าซชีวภาพมีความบริสุทธิ์เพิ่มมากขึ้น จึงก่อให้เกิดค่าใช้จ่ายในการก่อสร้างและการควบคุมการดำเนินงานที่เพิ่มมากขึ้นตามมา อีกทั้งมีการใช้พลังงานสูง ในทางกลับกันการปรับปรุงคุณภาพด้วยวิธีการทางชีวภาพเป็นกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตก๊าซชีวภาพเป็นหลัก มักจะเป็นการปรับปรุงสถานะต่างๆ ภายในกระบวนการเพื่อให้เกิดเป็นก๊าซชีวภาพที่มีสัดส่วนของมีเทนที่สูง กล่าวได้ว่าวิธีการทางชีวภาพเป็นการผลิตและปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพนั้นได้ทันที โดยไม่จำเป็นต้องมีหน่วยหรือกระบวนการทำบริสุทธิ์เพิ่มเติม (Nagarajan et al., 2019)

การปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพด้วยวิธีการกำจัดคาร์บอนไดออกไซด์ด้วยการเติมก๊าซไฮโดรเจน (Hydrogenotrophic CO₂ removal) หรืออาจจะเรียกว่ากระบวนการสังเคราะห์มีเทนจากคาร์บอนไดออกไซด์ด้วยวิธีทางชีวภาพ (Biological methanation of CO₂) ซึ่งเป็นกระบวนการใช้ก๊าซไฮโดรเจนโดยกลุ่มอาร์เคียที่สามารถสร้างมีเทนจากคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจน (Hydrogenotrophic archaea) เพื่อเปลี่ยนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ให้เป็นผลิตภัณฑ์ก๊าซมีเทน ซึ่งกระบวนการนี้นอกจากจะเป็นการกำจัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

ออกจากก๊าซชีวภาพ เพื่อให้ได้ไบโอมีเทนที่มีความบริสุทธิ์มากขึ้นแล้ว ยังเป็นการใช้ประโยชน์ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อเพิ่มปริมาณก๊าซมีเทนได้ในทันที ถือเป็นกระบวนการปรับปรุงก๊าซชีวภาพที่มีประสิทธิภาพสูงและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมที่สุด โดยกระบวนการนี้สามารถแบ่งออกเป็น 2 กระบวนการย่อย ได้แก่ การปรับปรุงก๊าซชีวภาพภายในแหล่งกำเนิด (In-situ biogas upgrading) และการปรับปรุงก๊าซชีวภาพภายนอกแหล่งกำเนิด (Ex-situ biogas upgrading) (Andlar et al., 2021) โดยที่การปรับปรุงก๊าซชีวภาพภายในแหล่งกำเนิด จะเป็นการเติมก๊าซไฮโดรเจนจากภายนอกเข้าสู่ภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ เพื่อใช้ในการทำปฏิกิริยากับคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นภายในถังปฏิกรณ์ ซึ่งอาร์เคียจะทำหน้าที่เปลี่ยนก๊าซทั้งสองให้เป็นก๊าซมีเทน อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงนี้จะนำไปสู่การเพิ่มขึ้นของค่า pH ในระบบ ($\text{pH} > 8.5$) ซึ่งจะเป็นการยับยั้งการทำงานและความอยู่รอดของเมทาโนเจนส์ จึงมีความจำเป็นต้องควบคุมไม่ให้ค่า pH ในระบบสูงจนเกินไป (Wahid et al., 2019)

สำหรับการปรับปรุงก๊าซชีวภาพภายนอกแหล่งกำเนิดจะเป็นการเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนจากแหล่งภายนอกเข้าสู่ถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ซึ่งส่งผลให้เกิดผลิตภัณฑ์เป็นก๊าซมีเทน โดยกระบวนการนี้มีข้อดี คือ สามารถปรับปรุงเสถียรภาพของกระบวนการผลิตก๊าซชีวภาพแบบดั้งเดิมได้ เป็นกระบวนการทางชีวเคมีที่ง่ายขึ้น เนื่องจากไม่มีการย่อยสลายสารอินทรีย์ตั้งต้น เป็นกระบวนการที่ไม่ต้องพึ่งพาการใช้ชีวมวลเพียงอย่างเดียว โดยที่คาร์บอนไดออกไซด์จากแหล่งภายนอกสามารถนำมาใช้ในกระบวนการได้ ทำให้กระบวนการนี้มีความยืดหยุ่นสูง และกระบวนการนี้เหมาะสมต่อการไปใช้เป็นแหล่งพลังงานในพื้นที่ห่างไกลได้ (Andlar et al., 2021; Wu et al., 2023)

การปรับปรุงก๊าซชีวภาพผ่านกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง เป็นอีกหนึ่งเทคนิคการปรับปรุงด้วยวิธีทางชีวภาพที่ได้รับความนิยมในปัจจุบัน เนื่องจากเป็นกระบวนการที่มีส่วนช่วยในการลดการปลดปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สู่บรรยากาศ และสามารถดำเนินการได้ในสภาวะปกติ โดยกระบวนการนี้เป็นการเลี้ยงจุลินทรีย์ประเภทไซยาโนแบคทีเรียหรือสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีความสามารถในการสังเคราะห์แสงโดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งเมื่อเรานำก๊าซชีวภาพที่มีคาร์บอนไดออกไซด์เป็นองค์ประกอบอยู่ป้อนผ่านกระบวนการนี้ ไซยาโนแบคทีเรียจะเป็นตัวจับคาร์บอนไดออกไซด์ออกจากก๊าซชีวภาพ ทำให้ก๊าซชีวภาพมีสัดส่วนของมีเทนเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ไซยาโนแบคทีเรียบางชนิดยังมีความสามารถในการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ได้ ซึ่งจะช่วยเพิ่มความบริสุทธิ์ให้กับก๊าซชีวภาพได้อีกด้วย (Nagarajan et al., 2019)

อย่างไรก็ตามการปรับปรุงคุณภาพด้วยวิธีการทางชีวภาพโดยส่วนใหญ่ยังคงเป็นกระบวนการขนาดเล็กหรือระดับห้องปฏิบัติการเท่านั้น ซึ่งต้องทำการศึกษา วิจัยเพิ่มเติมเพื่อพัฒนาไปสู่กระบวนการในขนาดอุตสาหกรรมได้ อันจะช่วยสร้างความยั่งยืนให้กับอุตสาหกรรมการผลิตพลังงานชีวภาพได้ในอนาคต

ตารางที่ 1 การเปรียบเทียบเทคนิคในการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ

เทคนิค	องค์ประกอบของมีเทนในก๊าซชีวภาพหลังการปรับปรุงคุณภาพ	ข้อดี/ข้อเสีย	อ้างอิง
การปรับปรุงด้วยวิธีทางกายภาพ (Physical Upgrading)			
การดักจับด้วยน้ำ (Water scrubbing)	มีเทน: 96–98%	ข้อดี เป็นกระบวนการที่ควบคุมง่าย ไม่ใช้สารเคมี มีต้นทุนในการดำเนินการและซ่อมบำรุงต่ำ สามารถกำจัดก๊าซที่เป็นกรด เช่น H_2S ได้ และมีการสูญเสีย CH_4 น้อย (1–2%) ข้อเสีย ต้องใช้ความดันสูง (6–20 บาร์) หน่วยดักจับมีขนาดใหญ่และใช้น้ำปริมาณมาก และต้องมีหน่วยลดอุณหภูมิ ($<20^{\circ}C$) ทำให้ต้องใช้พลังงานสูง	Andlar et al., 2021; Kapoor et al., 2017
การดูดซับแบบสลับความดัน (Pressure Swing Adsorption)	มีเทน: 96–99%	ข้อดี เป็นกระบวนการที่ทำงานได้รวดเร็ว ไม่จำเป็นต้องใช้สารเคมี ขนาดของหน่วยดูดซับที่เล็ก และง่ายต่อการติดตั้ง ข้อเสีย มีการสูญเสีย CH_4 มาก ($<4\%$) ต้นทุนในการสร้างและดำเนินการสูง กระบวนการมีความซับซ้อน เกิดปัญหาวัสดุดูดซับถูกทำลายโดย H_2S และต้องมีการฟื้นฟูสภาพวัสดุดูดซับ	Khan et al., 2017

ตารางที่ 1 (ต่อ)

เทคนิค	องค์ประกอบของมีเทนในก๊าซ ชีวภาพหลังการปรับปรุงคุณภาพ	ข้อดี/ข้อเสีย	อ้างอิง
การแยกด้วยอุณหภูมิต่ำ (Cryogenic Separation)	97–98%	ข้อดี มีการสูญเสีย CH_4 น้อย (2%) สามารถดูดซับ CO_2 ได้สูง ไม่จำเป็นต้องใช้สารเคมี สามารถผลิตมีเทนเหลวได้ และสามารถกำจัดก๊าซที่เป็นกรด เช่น H_2S ได้ดี ข้อเสีย ต้องใช้พลังงานสูง มีต้นทุนในการสร้างและดำเนินการสูง ต้องการอุปกรณ์ในกระบวนการหลายชนิด ได้แก่ อุปกรณ์ทำความเย็น อุปกรณ์แลกเปลี่ยนความร้อน และอุปกรณ์อัดความดัน	Khan et al., 2017; Andlar et al., 2021
การแยกด้วยเยื่อเลือกผ่าน (Membrane Separation)	96–98%	ข้อดี การดำเนินการง่ายและอุปกรณ์ไม่ซับซ้อน ค่าใช้จ่ายในการดำเนินการและซ่อมบำรุงต่ำ เป็นกระบวนการที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ไม่จำเป็นต้องใช้สารเคมี การใช้พื้นที่ในการติดตั้งไม่มาก และสามารถขยายขนาดได้ง่าย ข้อเสีย ต้องใช้ความดันสูง (20–36 บาร์) ต้องมีการเปลี่ยนเยื่อเลือกผ่านบ่อยครั้งและมีราคาสูง	Vrbivá & Cihotny, 2017

ตารางที่ 1 (ต่อ)

เทคนิค	องค์ประกอบของมีเทนในก๊าซ ชีวภาพหลังการปรับปรุงคุณภาพ	ข้อดี/ข้อเสีย	อ้างอิง
การปรับปรุงด้วยวิธีทางเคมี (Chemical Upgrading)			
การดักจับด้วยสารเคมี (Chemical Scrubbing)	96–99%	ข้อดี เป็นกระบวนการที่ทำงานได้รวดเร็ว มีต้นทุนในการสร้างและดำเนินการต่ำ สามารถกำจัดก๊าซที่เป็นกรด เช่น H_2S ได้อย่างมีประสิทธิภาพ อีกทั้งมีการสูญเสีย CH_4 น้อย (2–4%) ข้อเสีย มีความยุ่งยากในการจัดการกับสารเคมีประเภทเอมีน อีกทั้งยังมีราคาสูงและต้องใช้ในปริมาณมาก ต้องใช้พลังงานสูงในการฟื้นฟูสภาพสารเคมีให้สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ และหน่วยดักจับมีขนาดใหญ่ซึ่งต้องใช้พื้นที่มากในการติดตั้ง	Andlar et al., 2021; Vrbivá & Ciahotny, 2017

ตารางที่ 1 (ต่อ)

เทคนิค	องค์ประกอบของมีเทนในก๊าซ ชีวภาพหลังการปรับปรุงคุณภาพ	ข้อดี/ข้อเสีย	อ้างอิง
การปรับปรุงด้วยวิธีทางชีวภาพ (Biological Upgrading)			
การกำจัดคาร์บอนไดออกไซด์ด้วยการเติม ก๊าซไฮโดรเจน (Hydrogenotrophic CO ₂ removal)	97–99%	ข้อดี เป็นกระบวนการที่ดำเนินการในสภาวะที่ไม่รุนแรง มีประสิทธิภาพในการกำจัด CO ₂ เพื่อเปลี่ยนมาเป็น CH ₄ และมีต้นทุนการดำเนินงานต่ำ	Dong et al., 2022
		ข้อเสีย ยังคงอยู่ในการทดลองพื้นฐาน มีการทดสอบใช้งานจริงเฉพาะในขนาดเล็กเท่านั้น ซึ่งยังต้องศึกษาเพิ่มเติมเพื่อพัฒนาเป็นขนาดใหญ่ขึ้นได้ และยังมีข้อจำกัดในการถ่ายโอนมวลสารระหว่างก๊าซกับของเหลว	
กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง (Photosynthetic process)	97–99%	ข้อดี เป็นกระบวนการที่ใช้สภาวะไม่รุนแรง ทนต่อสภาวะที่มี CO ₂ และ pH สูงๆ ได้ สามารถเปลี่ยน CO ₂ ให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงได้	Nagarajan et al., 2019
		ข้อเสีย มีการถ่ายโอนมวลสารระหว่างก๊าซกับของเหลวที่ไม่ดี จำเป็นต้องมีหน่วยเติมสารอาหารสำหรับการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กและแบคทีเรีย	

แนวทางของชีววิทยาสังเคราะห์เพื่อการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ

ชีววิทยาสังเคราะห์เป็นวิทยาการที่มีสมรรถนะสูง ต่อการนำมาประยุกต์ในการปรับปรุงคุณภาพของก๊าซชีวภาพได้ โดยช่วยให้สามารถออกแบบและควบคุมกระบวนการของเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ก๊าซชีวภาพ ซึ่งจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการคัดเลือก และเพิ่มความทนทานของเซลล์ต่อสภาวะของกระบวนการผลิตก๊าซชีวภาพได้ แนวทางการประยุกต์ชีววิทยาสังเคราะห์ในการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพนั้น ต้องอาศัยวิธีการทางองค์ความรู้ชีววิทยาแขนงต่างๆ ดังนี้

1. พันธุวิศวกรรม (Genetic Engineering)

พันธุวิศวกรรมเป็นวิธีการหลักในชีววิทยาสังเคราะห์ ซึ่งเกี่ยวข้องกับการจัดการสารพันธุกรรม (DNA) ของสิ่งมีชีวิตเพื่อให้เกิดยีนใหม่ ดัดแปลงยีนที่มีอยู่หรือเปลี่ยนแปลงรูปแบบการแสดงออกของยีน พันธุวิศวกรรมมีบทบาทสำคัญในการปรับปรุงคุณภาพของก๊าซชีวภาพ จากการเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของจุลินทรีย์ให้สามารถใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ เพื่อนำมาสร้างเป็นก๊าซมีเทน และมีความทนทานภายใต้สภาวะของกระบวนการผลิตก๊าซชีวภาพได้ หนึ่งในการประยุกต์ใช้หลักพันธุวิศวกรรมในการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ คือ การนำเอนไซม์ (Enzyme) หรือวิถีเมตาบอลิซึม (Metabolic pathway) เข้าสู่จุลินทรีย์เป้าหมาย โดยนักวิจัยจะระบุยีนจากจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ และมีการทำงานของเมตาบอลิซึม ที่ช่วยปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพตามที่ต้องการได้ ตัวอย่างเช่น รหัสยีน (Gene encoding) สำหรับเอนไซม์คาร์บอนิกแอนไฮเดรส (Carbonic anhydrase) เพื่อเพิ่มอัตราการตรึงและการเปลี่ยนแปลงคาร์บอนไดออกไซด์ (Nawaly et al., 2023) เอนไซม์เข้ารหัส (Encoding enzyme) ซัลเฟอร์รีดักเตส (Sulfur reductase) หรือซัลไฟด์: ควิโนน ออกซิโดรีดักเตส (Sulfide: Quinone oxidoreductase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สามารถนำมาใช้ในการเพิ่มการเผาผลาญก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ได้ ซึ่งยีนเหล่านี้สามารถถ่ายโอนไปยังจุลินทรีย์เป้าหมายโดยใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมต่างๆ (Valenzuela–Heredia & Aroca, 2023)

2. วิศวกรรมเมตาบอลิซึม (Metabolic Engineering)

วิศวกรรมเมตาบอลิซึมมีบทบาทสำคัญในกระบวนการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ ผ่านการปรับเปลี่ยนเส้นทางเมตาบอลิซึมภายในจุลินทรีย์ให้มีความเหมาะสม และการควบคุมกิจกรรมของเอนไซม์และเมตาบอลิกฟลักซ์ (Metabolic flux) เพื่อให้ได้ผลผลิตของมีเทนที่สูงขึ้นและเป็นการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพแบบองค์รวม โดยมุ่งเน้นไปที่

การปรับปรุงกรรมของเอนไซม์หรือสมบัติการเร่งปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ให้มีความเหมาะสม และเพียงพอต่อการเพิ่มประสิทธิภาพของเส้นทางการตรึงคาร์บอน เช่น การปรับปรุงเอนไซม์คาร์บอนิกแอนไฮเดรส หรือ RuBisCO (Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase) ให้มีอัตราการตรึงหรือดูดซึมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และเปลี่ยนเป็นก๊าซมีเทนได้ดีขึ้น (Correa et al., 2023)

ทั้งนี้การปรับเปลี่ยนเส้นทางของเมตาบอลิซึมภายในจุลินทรีย์เป็นการเตรียมความพร้อมของสารตั้งต้นหรือซับสเตรต (Substrate) เพื่อสนับสนุนเส้นทางการสังเคราะห์มีเทน ให้มีการผลิตก๊าซมีเทนได้สูงสุด โดยมุ่งไปที่เอนไซม์เมทิล โคเอ็นไซม์ เอ็ม รีดักเตส (Methyl coenzyme M reductase; MCR) ซึ่งใช้เร่งปฏิกิริยาขั้นตอนสุดท้ายของการสังเคราะห์ก๊าซมีเทน เพื่อให้มีการแสดงออกที่เหมาะสมต่อการเพิ่มผลิตภัณท์ก๊าซมีเทน (Ram & Nikhil, 2022) นอกจากนี้ยังมีการจัดการกับปัจจัยร่วมและโคเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตมีเทน เช่น โคเอนไซม์ M และโคเอนไซม์ B ให้มีความพร้อมต่อการใช้งาน ทั้งนี้กลยุทธ์ทางวิศวกรรมเมตาบอลิซึมยังมุ่งเน้นไปที่การขยายช่วงของสารตั้งต้น ให้จุลินทรีย์สามารถใช้แหล่งคาร์บอนจากวัตถุดิบตั้งต้นของการผลิตก๊าซชีวภาพที่มีอยู่หลากหลายได้มากขึ้น โดยอาศัยการออกแบบเส้นทางเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์ เพื่อลดการเกิดผลิตภัณท์พลอยได้ที่ไม่ต้องการ เช่น กรดอินทรีย์หรือแอลกอฮอล์ (Ng, 2022)

3. ชีววิทยาระบบ (System biology)

ชีววิทยาระบบมีจุดมุ่งหมายเพื่อทำความเข้าใจปฏิสัมพันธ์และพฤติกรรมที่ซับซ้อนของระบบชีวภาพ โดยอาศัยการสร้างแบบจำลองทางคอมพิวเตอร์ การวิเคราะห์ข้อมูล และการตรวจสอบความถูกต้องของการทดลอง ในบริบทของการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ สามารถใช้วิธีการทางชีววิทยาระบบ เพื่อให้ทราบข้อมูลเชิงลึกเกี่ยวกับเครือข่ายเมตาบอลิซึม กลไกการการเปลี่ยนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นก๊าซมีเทน และกลไกการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ของจุลินทรีย์ ผ่านการรวมข้อมูลโอมิกส์ (Omics) ซึ่งประกอบด้วย จีโนมิกส์ (Genomics) เป็นการศึกษาสารพันธุกรรม (DNA) แบบองค์รวม ทรานสคริปโตมิกส์ (Transcriptomics) เป็นการศึกษาการถอดรหัสสารพันธุกรรมออกมาเป็น RNA แบบองค์รวม โปรตีโอมิกส์ (Proteomics) เป็นการศึกษาการแสดงออกของโปรตีน และเมตาโบโลมิกส์ (Metabolomics) เป็นการศึกษาปฏิกิริยาทางชีวเคมีของสารชีวโมเลกุล ผสมผสานกับการสร้างแบบจำลองทางคอมพิวเตอร์ เพื่อพัฒนาเป็นแบบจำลองทำนายพลศาสตร์และพฤติกรรมของกลุ่มจุลินทรีย์ในระหว่างกระบวนการหมักได้ (ศานต์ และอัญชิสา, 2561) อีกทั้งแบบจำลองเหล่านี้สามารถช่วยระบุปัญหาเมตาบอลิซึมที่สำคัญ เพื่อใช้เป็นแนวทางในการแก้ไขด้วยวิธี

ทางพันธุวิศวกรรมและเมตาบอลิซึม และการปรับสภาพกระบวนการให้เหมาะสมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพได้ ดังภาพที่ 2 นอกจากนี้วิธีการทางชีววิทยาระบบยังอำนวยความสะดวกในการออกแบบและเพิ่มประสิทธิภาพของกลุ่มจุลินทรีย์สังเคราะห์ โดยช่วยให้นักวิจัยสามารถทำนายและควบคุมปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่แตกต่างกันได้อีกด้วย (Basak et al., 2022)

ตัวอย่างการประยุกต์ใช้ชีววิทยาสังเคราะห์ในการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ

แม้ว่าการประยุกต์ใช้ความรู้ทางด้านชีววิทยาสังเคราะห์ สำหรับการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพในปัจจุบันยังอยู่ในช่วงเริ่มต้น แต่ก็ถือว่าเป็นก้าวที่สำคัญสำหรับการปฏิวัติทางด้านเทคโนโลยีที่เข้ามามีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการผลิตและการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ ซึ่งปัจจุบันได้มีการศึกษาวิจัยโดยมีการประยุกต์องค์ความรู้ด้านชีววิทยาสังเคราะห์เพื่อการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพดังต่อไปนี้

1. พันธุวิศวกรรมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของจุลินทรีย์

เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมถูกนำมาใช้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ที่สำคัญ ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างก๊าซชีวภาพ ผ่านการออกแบบโครงสร้างเมทาโนเจนส์แบบที่เรียวก่อให้เกิดกรด และจุลินทรีย์อื่นๆ เพื่อปรับวิถีเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์เหล่านี้ให้เหมาะสมต่อการเพิ่มการผลิตมีเทน และปรับปรุงความทนทานต่อสภาวะของกระบวนการ โดยการดัดแปลงพันธุกรรมเหล่านี้แสดงให้เห็นถึงผลลัพธ์ที่น่าพึงพอใจในระดับห้องปฏิบัติการ และในระดับนำร่อง (Pilot scale) ตัวอย่างเช่น การออกแบบจุลินทรีย์ *Methanosarcina acetivorans* ให้มีกิจกรรมการใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซไฮโดรเจนได้ดีขึ้น โดยกำหนดให้จุลินทรีย์ชนิดนี้มีการแสดงออกของเอนไซม์ฟอร์เมตดีไฮโดรจีเนสที่มากเกินไป จนส่งผลให้มีการสร้างมีเทนผ่านกระบวนการของไฮโดรเจนโทรฟิกเพิ่มมากขึ้น (Carr & Buan, 2022) การปรับปรุงความสามารถของเอนไซม์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการไฮโดรไลซิสของแบคทีเรียไฮโดรไลติกให้สามารถย่อยสลายสารอินทรีย์โมเลกุลขนาดใหญ่ ให้เป็นสารอินทรีย์โมเลกุลเล็กได้ดีขึ้น ซึ่งเกิดขึ้นในขั้นตอนไฮโดรไลซิสของการสร้างก๊าซชีวภาพ โดยการออกแบบแบคทีเรีย *Clostridium cellulovorans* ให้สามารถเพิ่มการย่อยสลายเซลลูโลส ผ่านการนำเข้ารหัสเอนไซม์เซลลูเลสจากยีนของแบคทีเรียเซลลูโลสชนิดอื่น ส่งผลให้มีการย่อยสลายเซลลูโลสได้ดีขึ้น และสามารถเพิ่มการผลิตก๊าซชีวภาพ จากวัตถุดิบชีวมวลที่อุดมไปด้วยเส้นใยเซลลูโลส โดยเฉพาะวัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตร (Yang, Xu & Yang, 2015) การดัดแปลงพันธุกรรมของ *Clostridium ljungdahlii* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดกรด (Acidogenic bacteria) เพื่อเพิ่ม

ความสามารถในการผลิตกรดอะซิติกและเอทานอล โดยใช้เอนไซม์เข้ารหัสยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ Acetyl-CoA และการลด Acetaldehyde ส่งผลให้เกิดผลผลิตกรดอะซิติกและเอทานอลที่เพิ่มขึ้น (Lo et al., 2020)

2. กลุ่มจุลินทรีย์เชิงวิศวกรรม (Engineered Microbial Consortia)

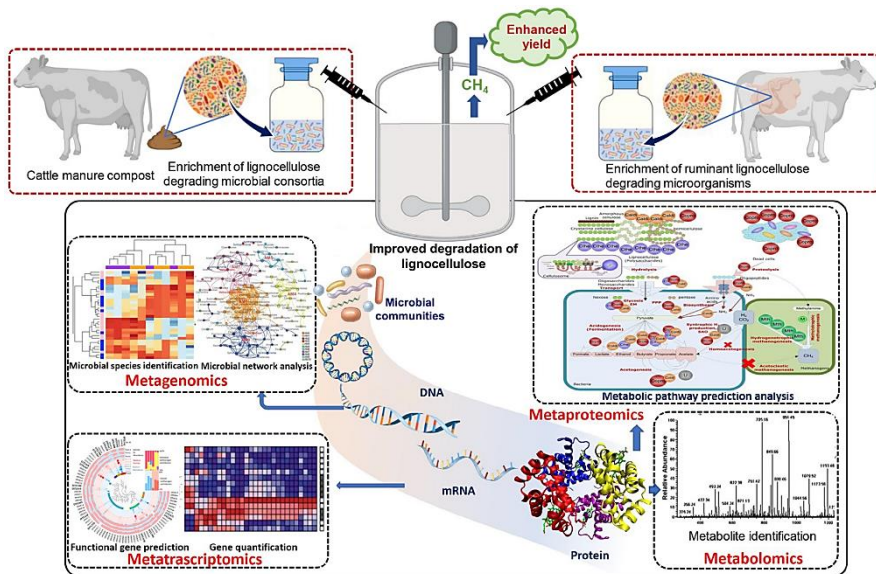
การพัฒนาจุลินทรีย์สังเคราะห์สำหรับการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพนับว่าเป็นสาขาที่เกิดขึ้นใหม่ภายในศาสตร์ชีววิทยาสังเคราะห์ นักวิจัยได้ทำการออกแบบและสร้างกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีฟังก์ชันการทำงานและการโต้ตอบเฉพาะ เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพที่ดีขึ้น ด้วยการรวมจุลินทรีย์ที่ผ่านการดัดแปลงพันธุกรรมที่เสริมความสามารถในกระบวนการเมตาบอลิซึมของกันและกัน ทั้งนี้กลุ่มจุลินทรีย์สังเคราะห์ได้แสดงให้เห็นถึงความเสถียรที่ดีขึ้น ประสิทธิภาพการแปลงที่สูงขึ้น และการปรับตัวที่ดีขึ้นกับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป เมื่อเทียบกับการใช้จุลินทรีย์ชนิดเดียว ตัวอย่างเช่น การพัฒนาของกลุ่มของจุลินทรีย์ที่ประกอบด้วย *Clostridium cellulovorans* ที่ทำให้เกิดกรดและ *Methanosarcina barkeri* ที่ทำให้เกิดมีเทน ที่ผ่านการดัดแปลงพันธุกรรมเพื่อปรับปรุงเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์ ซึ่งนำไปสู่การย่อยสลายเซลลูโลสที่เพิ่มขึ้นและเพิ่ม การผลิตก๊าซมีเทน (Tabatabaei et al., 2020) การออกแบบกลุ่มจุลินทรีย์โดยอาศัยการทำงานร่วมกันจากการมีกระบวนการเมตาบอลิซึมที่สำคัญที่แตกต่างกัน ในการย่อยสลายเซลลูโลสและสร้างก๊าซมีเทน โดยใช้จุลินทรีย์ 4 สายพันธุ์ที่ประกอบด้วย *Ruminiclostridium cellulolyticum* เป็นแบคทีเรียกลุ่มที่ย่อยสลายเซลลูโลส (Cellulytic bacteria) *Methanospirillum hungatei* เป็นแบคทีเรียที่กลุ่มที่ใช้ไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ในการสร้างมีเทน (Hydrogenotrophic methanogen) *Methanosaeta concilii* เป็นแบคทีเรียกลุ่มที่เปลี่ยนรูปอะซิเตตให้เป็นมีเทนและคาร์บอนไดออกไซด์ (Acetoclastic methanogens) และ *Desulfovibrio vulgaris* เป็นแบคทีเรียในกลุ่มที่ช่วยลดซัลเฟต (Sulfate reducing bacteria) ซึ่งนำไปสู่การย่อยสลายชีวมวลประเภทเซลลูโลสที่ดีขึ้น สามารถผลิตก๊าซมีเทนได้มากขึ้นโดยมีการเจือปนของก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่ลดลง (Wang et al., 2023a)

3. ชีววิทยาระบบและการสร้างแบบจำลองการคำนวณ (Systems Biology and Computational Modeling)

ชีววิทยาระบบและการสร้างแบบจำลองทางคอมพิวเตอร์ มีบทบาทสำคัญในการสร้างความเข้าใจและเพิ่มประสิทธิภาพกระบวนการปรับปรุงก๊าซชีวภาพ โดยการบูรณาการข้อมูลโอมิกส์ เพื่อสร้างแบบจำลองเครือข่ายเมตาบอลิซึม และการจำลองทางคณิตศาสตร์

อันจะช่วยให้อัตราการผลิตเชิงลึกเกี่ยวกับพลศาสตร์ และพฤติกรรมของกลุ่มจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ ซึ่งจะช่วยให้การออกแบบเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพสามารถทำนายประสิทธิภาพของกลุ่มจุลินทรีย์ และการระบุปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพของกระบวนการได้ ตัวอย่างเช่น การสร้างแบบจำลองเพื่อทำนายและทำความเข้าใจปฏิสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์ที่สลายเซลลูโลสและเมทาโบไลต์ ซึ่งใช้เป็นแนวทางในการออกแบบกลุ่มจุลินทรีย์ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตก๊าซชีวภาพ (Sposob et al., 2021) การวิเคราะห์สมดุลของฟลักซ์ (Flux balance analysis; FBA) เพื่อเป็นข้อมูลในการสร้างแบบจำลองด้วยคอมพิวเตอร์ สำหรับเพิ่มประสิทธิภาพวิถีเมแทบอลิซึมภายในจุลินทรีย์ และเพิ่มประสิทธิภาพเส้นทางการสังเคราะห์มีเทน โดยผ่านการจัดการกับปริมาณสารสัมพันธ์และการกระจายฟลักซ์ของปฏิกิริยาเมแทบอลิซึม (Wang et al., 2023b)

วิธีการทางชีววิทยาของระบบเกี่ยวข้องกับการรวมข้อมูลโอมิกส์ เช่น จีโนมิกส์ ทรานสคริปโตมิกส์ โปรตีโอมิกส์ และเมตาโบโลมิกส์ เพื่อทำความเข้าใจอย่างครอบคลุมเกี่ยวกับกลุ่มจุลินทรีย์ ผ่านการรวมข้อมูลทรานสคริปโตมิกส์และเมตาโบโลมิกส์ เพื่อสร้างเครือข่ายเมตาบอลิซึมของกลุ่มจุลินทรีย์ที่ผลิตก๊าซชีวภาพขึ้นใหม่ การวิเคราะห์เครือข่ายจะช่วยระบุปฏิสัมพันธ์เมตาบอลิซึมที่สำคัญ และเป้าหมายทางวิศวกรรมเมตาบอลิซึมที่เป็นไปได้สำหรับการผลิตก๊าซชีวภาพที่เพิ่มขึ้น (Basak et al., 2022) ดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ของสาขาต่างๆ ที่เป็นองค์ประกอบของโอมิกส์สำหรับการศึกษาการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ (Basak et al., 2022)

จากงานวิจัยที่ผ่านมาได้มีการนำองค์ความรู้ทางด้านชีววิทยาสังเคราะห์มาประยุกต์ใช้กับกระบวนการสังเคราะห์มีเทนจากคาร์บอนไดออกไซด์ด้วยวิธีทางชีวภาพ ดังตารางที่ 2 เช่น การใช้ความรู้ด้านชีววิทยาระบบมาช่วยในการออกแบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพสำหรับผลิตก๊าซชีวภาพ ผ่านกระบวนการปรับปรุงก๊าซชีวภาพภายในแหล่งกำเนิด โดยการป้อนก๊าซไฮโดรเจนจากภายนอกเข้าสู่ถังปฏิกรณ์ และควบคุมให้อัตราส่วนของ $H_2 : CO_2$ เท่ากับ 4 : 1 และค่า pH เท่ากับ 7.82 พบว่า สามารถปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพที่มีสัดส่วนของมีเทน ร้อยละ 67 ให้มีสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 94 ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Wahid et al., 2019) การใช้องค์ความรู้ด้านวิศวกรรมกลุ่มจุลินทรีย์ผนวกเข้ากับชีววิทยาระบบมาช่วยในการวิเคราะห์และออกแบบกลุ่มจุลินทรีย์ที่ประกอบด้วย จุลินทรีย์ที่สร้างก๊าซมีเทน สกุล *Methanoculleus* เพื่อสร้างมีเทนจากคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจน จุลินทรีย์ไฮโมอะซิโตเจนิค สกุล *Treponema* ให้มีหน้าที่เปลี่ยนกรดไขมันระเหยง่ายให้เป็นอะซิเตต พอร์เมต ไฮโดรเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ และจุลินทรีย์กลุ่มอะซิโตคลาสติก สกุล *Methanosaeta* ให้มีหน้าที่เปลี่ยนอะซิเตตเป็นมีเทน มาใช้ย่อยสลายกากตะกอนน้ำเสียผ่านกระบวนการปรับปรุงก๊าซชีวภาพภายในแหล่งกำเนิด โดยการป้อนก๊าซที่เกิดจากการเผาไหม้ถ่านหินที่ประกอบด้วยไฮโดรเจนและคาร์บอนมอนอกไซด์ ร้อยละ 92 และร้อยละ 8 ตามลำดับ เข้าสู่ถังปฏิกรณ์ชีวภาพ พบว่า กลุ่มจุลินทรีย์ดังกล่าวสามารถสร้างไบโอมิเทนให้อัตราส่วนของมีเทนสูงถึงร้อยละ 99 (Wang et al., 2013)

การนำความรู้ด้านพันธุวิศวกรรม ผนวกเข้ากับความรู้ด้านการวิศวกรรมกลุ่มจุลินทรีย์และชีววิทยาระบบ เพื่อปรับแต่งโครงสร้างและพลศาสตร์ของเมทาโนเจนส์ให้มีความสามารถในการสร้างไบโอมิเทนได้มีประสิทธิภาพที่ดียิ่งขึ้น ผ่านการวิเคราะห์ลำดับของยีนด้วยเทคนิค 16S rRNA and *mcrA* gene amplicon sequencing ร่วมกับการวิเคราะห์ข้อมูลจีโนมบนฐานข้อมูล MiDAS (Microbial Database for Activated Sludge) และ ฐานข้อมูล FunGene ซึ่งได้ออกแบบเมทาโนเจนส์ที่ประกอบด้วยกลุ่มจุลินทรีย์ที่สร้างมีเทนจากคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจน สกุล *Methanoculleus* และ *Methanobacterium* และจุลินทรีย์ไฮโมอะซิโตเจนิค สกุล *Clostridia* มาผลิตไบโอมิเทนโดยผ่านกระบวนการปรับปรุงก๊าซชีวภาพภายนอกแหล่งกำเนิด โดยมีการเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนจากแหล่งภายนอกเข้าสู่ถังปฏิกรณ์ชีวภาพ พบว่า สามารถผลิตไบโอมิเทนที่มีสัดส่วนของมีเทนสูงถึงร้อยละ 97 (Logroño et al., 2020) การประยุกต์ใช้ความรู้ด้านชีววิทยาระบบมาช่วยในการออกแบบกระบวนการปรับปรุงก๊าซชีวภาพภายนอกแหล่งกำเนิด โดยทำปฏิกิริยาในถังปฏิกรณ์แบบ Dual-membrane aerated biofilm reactor; dMBfR และทำการวิเคราะห์

หาลำดับยีนของจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค 16S rRNA เพื่อช่วยในการออกแบบกลุ่มจุลินทรีย์ที่เหมาะสม พบว่า กระบวนการนี้สามารถผลิตไบโอมีเทนที่มีสัดส่วนของมีเทนสูงถึงร้อยละ 97.6 (Wu et al., 2023)

นอกจากนี้การปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพผ่านกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง (Photosynthetic process) ได้มีการนำองค์ความรู้ทางด้านชีววิทยาสังเคราะห์มาช่วยในการออกแบบกลุ่มของจุลินทรีย์ในกลุ่มไซยาโนแบคทีเรียหรือสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีความสามารถในการใช้คาร์บอนไดออกไซด์เพื่อการสังเคราะห์แสงและผลิตก๊าซมีเทนออกมา โดยกลุ่มไซนาโนแบคทีเรียที่ออกแบบได้ประกอบด้วย *Limnothrix planktonica* (32.9%), *Acutodesmus obliquus* (2.6%), *Chlorella vulgaris* (2.6%), *Mychonastes homosphaera* (5.9%), *Navicula sp.* (0.7%), *Phormidium sp.* (19.7%) and *Stigeoclonium tenue* (35.5%) โดยทำปฏิกิริยาสังเคราะห์แสงภายในบ่อเลี้ยงสาหร่ายแบบ High-Rate Algal Pond (HRAP) ที่มีการต่อเข้ากับหอดูดซึม พบว่า ก๊าซชีวภาพที่ผลิตได้มีองค์ประกอบของมีเทนสูงถึงร้อยละ 97.2 (Toledo–Cervantes et al., 2016)

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบการประยุกต์ใช้ชีววิทยาสังเคราะห์กับการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพด้วยวิธีทางชีวภาพ

วิธีการทางชีวภาพ	วิธีการทางชีววิทยาสังเคราะห์	สภาวะที่เหมาะสม	ชนิดของจุลินทรีย์	สัดส่วนมีเทนหลังการปรับปรุงคุณภาพ (%)	อ้างอิง
การปรับปรุงก๊าซชีวภาพภายในแหล่งกำเนิด (In-situ Biogas Upgrading)	ชีววิทยาระบบ	องค์ประกอบก๊าซชีวภาพเริ่มต้น: CH ₄ 66.70% และ CO ₂ 33.30% ปริมาณ H ₂ ที่เติม 2.32 mL/h อัตราส่วน H ₂ : CO ₂ เท่ากับ 4 : 1 pH 7.82 ถังปฏิกรณ์แบบไม่เติมอากาศ อัตราการผลิตก๊าซชีวภาพ 1.68 mL/h	– <i>Methanobacterium</i>	94	Wahid et al., 2019
	วิศวกรรมกลุ่มจุลินทรีย์ชีววิทยาระบบ	องค์ประกอบก๊าซชีวภาพเริ่มต้น: CH ₄ 64.40% และ CO ₂ 34.20% ปริมาณ H ₂ ที่เติม 110.5 mL/h pH 8.0 ถังปฏิกรณ์ก๊าซชีวภาพแบบกะ อัตราการผลิตก๊าซชีวภาพ 55 mL/h	– <i>Methanoculleus</i> – <i>Treponema</i> – <i>Methanosaeta</i>	99	Wang et al., 2013
การปรับปรุงก๊าซชีวภาพภายนอกแหล่งกำเนิด (Ex-situ Biogas Upgrading)	พันธุวิศวกรรม	ปริมาณ H ₂ ที่เติม 800 mL/min และ CO ₂ ที่เติม 200 mL/min ความดัน 2.2 บาร์ อุณหภูมิ 37 °C ถังปฏิกรณ์ก๊าซชีวภาพแบบ CSTR	– <i>Methanocelleus</i> – <i>Methanobacterium</i> – <i>Clostridia</i>	97	Logroño et al., 2020

ตารางที่ 2 (ต่อ)

วิธีการทางชีวภาพ	วิธีการทางชีววิทยา สังเคราะห์	สภาวะที่เหมาะสม	ชนิดของจุลินทรีย์	สัดส่วนมีเทนหลัง การปรับปรุง คุณภาพ (%)	อ้างอิง
	ชีววิทยาระบบ	องค์ประกอบก๊าซชีวภาพเริ่มต้น: CH ₄ 60% และ CO ₂ 40% ความดันย่อยของ H ₂ ที่เติม 1.25 atm ถึงปฏิกรณ์แบบ dMBfR	– <i>Clostridium</i> – <i>Petrimonas</i> – <i>Citrobacter</i> – <i>Acetobacterium</i>	97.6	Wu et al., 2023
การปรับปรุงก๊าซชีวภาพผ่าน กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง (Photosynthesis Biogas Upgrading)	วิศวกรรมกลุ่มจุลินทรีย์	องค์ประกอบก๊าซชีวภาพเริ่มต้น: CH ₄ 70% CO ₂ 29.5% และ H ₂ S 0.5% อัตราการป้อนก่อนตั้งต้น 1.6 m ³ /h ถึงปฏิกรณ์แบบ HRAP	– <i>Limnithrix</i> <i>planktonica</i> – <i>Acutodesmus</i> <i>obliquus</i> – <i>Chlorella vulgaris</i> – <i>Mychonastes</i> <i>homosphaera</i> – <i>Navicula</i> sp. – <i>Phormidium</i> sp. – <i>Stigeoclonium</i> <i>tenue</i>	97.2	Toledo–Cervantes et al., 2016

สรุป

บทความวิชาการนี้ได้กล่าวถึงกระบวนการเกิดก๊าซชีวภาพ เทคนิคต่างๆ ที่ใช้ในการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ รวมไปถึงองค์ความรู้และการประยุกต์ใช้แนวทางชีววิทยาสังเคราะห์ในการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นไบโอมีเทนที่มีความเหมาะสมต่อการนำไปใช้เป็นพลังงานทดแทน ทั้งนี้องค์ความรู้ด้านชีววิทยาสังเคราะห์นับเป็นวิธีที่ได้รับความนิยมเป็นอย่างมากในปัจจุบัน ซึ่งเกิดจากการบูรณาการองค์ความรู้ทางด้านพันธุวิศวกรรม วิศวกรรมเมตาบอลิซึม ชีววิทยาระบบ และข้อมูลชีวสารสนเทศ ทำให้สามารถสร้างแบบจำลองที่มีสมรรถนะต่อการระบุแนวทางปรับปรุงที่เหมาะสม รวมทั้งสามารถออกแบบและสร้างกลุ่มจุลินทรีย์เชิงวิศวกรรม เพื่อให้การผลิตก๊าซชีวภาพมีประสิทธิภาพและมีเสถียรภาพสูง ส่งผลกระทบเชิงบวกต่อเศรษฐกิจและสิ่งแวดล้อม และตอบโจทย์แนวทางเศรษฐกิจฐานชีวภาพได้อย่างยั่งยืน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบันวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ที่ให้การสนับสนุนสาธารณูปโภคที่จำเป็น ต่อการศึกษาค้นคว้าและเรียบเรียงบทความวิชาการฉบับนี้

เอกสารอ้างอิง

- เทอร์ราบอน. (2561). การปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ด้วยสารละลายเอมีน. สืบค้นเมื่อ 8 กรกฎาคม 2566, จาก <https://www.terrabon.com>
- ธัญธิดา ทองเพชร. (2564). ทำความรู้จัก Synthetic Biology คืออะไร สร้างความเปลี่ยนแปลงในอุตสาหกรรมไหนบ้าง?. สืบค้นเมื่อ 7 กรกฎาคม 2566, จาก <https://techsauce.co/tech-and-biz/what-is-synthetic-biology>
- วิภาดา ศิริอนุสรณ์ศักดิ์, สุภางค์ จุฬาลักษณ์านุกูล, และวรวิมล จุฬาลักษณ์านุกูล. (2553). ก๊าซชีวภาพแหล่งพลังงานทดแทน. วารสารวิทยาศาสตร์ มศว., 26(2), 197–210.
- ศานต์ เศรษฐชัยมงคล, และอัญชิชา กุลทวีสุข. (2561). นมเปรี้ยวคีเฟอร์: เทคโนโลยีชีวภาพจากมุมมองวิทยาการด้านโอมิกส์. วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม, 13(1), 1–18.
- สิริชัย คุณภาพดีเลิศ, ปฏิรูป ผลจันทร์, อุเทน กันทา, และประเสริฐ ฤกษ์เกรียงไกร. (2554). การปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพด้วยการดูดซับด้วยน้ำอัดความดัน. วารสารวิชาการ วิศวกรรมศาสตร์ ม.อบ., 4(1), 42–49.

- สิริรัตน์ สุวณิชย์เจริญ, และปราโมช เชื้อวชาญ. (2548). ระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ. **จุลสารสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ฉบับที่ 3**. สืบค้นเมื่อ 12 กรกฎาคม 2566, จาก https://www.stou.ac.th/schools/shs/booklet/6_2548/occhealth.htm
- Andlar, M., Belskaya, H., Morzak, G., Śantek, M.I., Tominac, V.P., & Śantek, B. (2021). Biogas production and upgrading technologies: a review. **Food Technology & Biotechnology**, **59**(4), 387–412.
- Basak, B., Ahn, Y., Kumar, R., Hwang, J.H., Kim, K.H., & Jeon, B.H. (2022). Lignocellulolytic microbiomes for augmenting lignocellulose degradation in anaerobic digestion. **Trends in Microbiology**, **30**(1), 6–9.
- Carr, S., & Buan, N.R. (2022). Insights into the biotechnology potential of Methanosarcina. **Frontier in Microbiology**, **13**, 1034674–1034687.
- Correa, S.S., Schultz, J., Lauersen, K.J., & Rosado, A.S. (2023). Natural carbon fixation and advances in synthetic engineering for redesigning and creating new fixation pathways. **Journal of Advance Research**, **47**, 75–92.
- Carvalho, F.S.D., Reis, L.C.B.D.S., Lacava, P.T., Araújo, F.H.M.D., & Carvalho Jr., J.A.D. (2023). Substitution of Natural Gas by Biomethane: Operational Aspects in Industrial Equipment. **Energies**, **16**, 839–857.
- Dong, Z., Ding, Y., Chen, F., Zhu, X., Wang, H., Cheng, M., & Liao, Q. (2022). Enhanced carbon dioxide biomethanation with hydrogen using anaerobic granular sludge and metal–organic frameworks: Microbial community response and energy metabolism analysis. **Bioresource Technology**, **362**, 127822–127830.
- Enzmann, F., Mayer, F., Rother, M., & Holtmann. (2018). Methanogens: biochemical background and biotechnological applications. **AMB Express**, **8**, 1–22.
- Kapoor, R., Subbarao, P.W.V., Vijay, V.K., Shah, G., Sahota, S., Singh, D., & Verma, M. (2017). Factors affecting methane loss from water scrubbing based biogas upgrading systems. **Applied Energy**, **208**, 1379–1388.
- Khan, I.U., Othman, M.H.D., Hashim, H., Matsuura, T., Ismail, A.F., Arzhandi, M., R.–D., & Azelee, I.W. (2017). Biogas as a renewable energy fuel–A review of biogas upgrading, utilization and storage. **Energy Conversion and Management**, **150**, 277–294.
- Lo, J., Humphreys, J.R., Jack, J., Urban, C., Magnusson, L., Xiong, W., Gu, Y., Ren Z.J., & Maness, P.C. (2020). The metabolism of *Clostridium ljungdahlii* in phosphotransacetylase negative strains and development of an ethanologenic strain. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, **8**, 560726–560737.

- Logroño, W., Popp D., Kleinstaub, S., Sträuber, H., Harms, H., & Nikolausz, M. (2020). Microbial resource management for ex-situ biomethanation of hydrogen at alkaline pH. **Microorganisms**, **8**, 614–631.
- Nagarajan, D., Lee, D.-J., & Chang, J.-S. (2019). Integration of anaerobic digestion and microalgal cultivation for digestate bioremediation and biogas upgrading. **Bioresource Technology**, **290**, 121804–121821.
- Nawaly, H., Tanaka, A., Toyoshima, Y., Tsuji, Y., & Matsuda, Y. (2023). Localization and characterization of carbonic anhydrases in *Thalassiosira pseudonana*. **Photosynthesis Research**, **156**, 217–229.
- Ng, W. (2022). Application of metabolic engineering approaches in enhancing biological hydrogen production. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology Research**, **4**(2), 204–207.
- Ram, N.R., & Nikhil, G.N. (2022). A critical review on sustainable biogas production with focus on microbial–substrate interactions: bottlenecks and breakthroughs. **Bioresource Technology Reports**, **19**, 101170–101188.
- Scown, C.D., & Keasling, J.D. (2022). Sustainable manufacturing with synthetic biology. **Nature Biotechnology**, **40**, 304–307.
- Sposob, M., Moon, H.S., Lee, D., & Yun, Y.M. (2021). Microbiome of seven full-scale anaerobic digestion plants in South Korea: effect of feedstock and operational parameters. **Energies**, **14**, 665–675.
- Tabatabaei, M., Aghbashlo, M., Valijanian, E., Panahi, H.K.S., Nizami, A.S., Ghanavati, H., Sulaiman, A., Mirmohamadsadeghi, S., & Karimi, K. (2020). A comprehensive review on recent biological innovations to improve biogas production, part 2: mainstream and downstream strategies. **Renewable Energy**, **146**, 1392–1407.
- Toledo–Cervantes, A., Serejo, M.L., Blanco, S., Pérez, R., Lebrero, R., & Muñoz, R. (2016). Photosynthetic biogas upgrading to bio-methane: boosting nutrient recovery via biomass productivity control. **Algal Research**, **17**, 46–52.
- Valenzuela–Heredia, D., & Aroca, G. (2023). Methane biofiltration for the treatment of simulated diluted biogas emission containing ammonia and hydrogen sulfide. **Chemical Engineering Journal**, **469**, 143704–143712.
- Vrbivá, V., & Cihotny, K. (2017). Upgrading biogas to biomethane using membrane separation. **Energy & Fuels**, **31**, 9393–9401.
- Wahid, R., Mulat, D.G., Gaby, J.C., & Horn, S.J. (2019). Effects of H₂: CO₂ ratio and H₂ supply fluctuation on methane content and microbial community composition during in-situ biological biogas upgrading. **Biotechnology for Biofuels**, **12**, 104–118.
- Wang, D., Hunt, K.A., Candry, P., Tao, X., Wofford, A.Q., Zhou, J., McInerney, M.J., Stahl, D.A., Tanner, R.S., Zhou, A., Winkler, M., & Pan, C. (2023a). Cross-feeding, competition, and positive and

- negative synergies in a four-species synthetic community for anaerobic degradation of cellulose to methane. *mBio*, **14**(2), 1–16.
- Wang, N., Yang, Y., Xu, K., Long, X., Liu, H., Zhang, Y., Liu, H., Chen, T., & Li, J. (2023b). Insight into the metabolic pathway of EAD based on metabolic flux, microbial community, and enzyme activity. *Biochemical Engineering Journal*, **196**, 108938–108948.
- Wang, W., Xie, L., Luo, G., Zhou, Q., & Angelidaki, I. (2013). Performance and microbial community analysis of the anaerobic reactor with coke oven gas biomethanation and in-situ biogas upgrading. *Bioresource Technology*, **146**, 234–239.
- Wu, K.K., Zhao, L., Zheng, X.-C., Sun, Z.-F., Wang, Z.-H., Chen, C., Xing, D.-F., Yang, S.-S., & Ren, N.-Q. (2023). Recovery of methane and acetate during ex-situ biogas upgrading via novel dual-membrane aerated biofilm reactor. *Bioresource Technology*, **382**, 129181–129189.
- Yang, X., Xu, M., & Yang, S.T. (2015). Metabolic and process engineering of *Clostridium cellulovorans* for biofuel production from cellulose. *Metabolic Engineering*, **32**, 39–48.