บทคัดย่อ

โครงการวิจัยเรื่อง '**พลังงานชีวภาพและผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากวัสดุเศษเหลือของปาล์มน้ำมันและน้ำมันปาล์มเพื่อการพัฒนาที่ยั่งยืน**' มีจุดประสงค์หลักเพื่อวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ใหม่ๆ และเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตก๊าซชีวภาพให้กับโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม งานวิจัยประกอบด้วย 10 โครงการย่อย ครอบคลุมการผลิตพลังงานชีวภาพ (ไฮโดรเจน มีเทน ไบโอดีเซล เอทานอล) และผลิตภัณฑ์ชีวภาพ (กรดอินทรีย์ ไซโล-โอลิโกแซคคาไรด์ ไฮโดรเจล ปุ๋ยหมัก น้ำมัน กรดไขมัน พอลิเมอร์ พอลิไฮดรอกซีแอลคาโนเอต เป็นต้น) วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตคือ วัสดุเศษเหลือจากปาล์มน้ำมันและน้ำมันปาล์ม (ลำต้นปาล์มน้ำมัน ทางใบปาล์ม ทะลายปาล์มเปล่า เส้นใยปาล์ม กากตะกอนดีแคนเตอร์ น้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม กลีเซอรอลดิบ) เนื้อหางานวิจัยในแต่ละโครงการย่อยสรุปได้ดังนี้

โครงการย่อยที่ 1: การเปลี่ยนวัสดุเศษเหลือของอุตสาหกรรมน้ำมันปาล์มเป็นพลังงานชีวภาพและเชื้อเพลิงชีวภาพอย่างยั่งยืน

งานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายที่จะผลิตหรือเพิ่มการเปลี่ยนวัสดุเศษเหลือของอุตสาหกรรมน้ำมันปาล์มจากสวนปาล์ม (ต้นปาล์มที่โค่นทิ้ง ทางใบปาล์ม) โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม (เส้นใยปาล์ม น้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม กากตะกอนดีแคนเตอร์) และโรงงานผลิตไบโอดีเซล (กลีเซอรอลดิบ) เป็นพลังงานชีวภาพและเชื้อเพลิงชีวภาพ (ก๊าซชีวภาพ ไฮโดรเจนชีวภาพ มีเทนชีวภาพ ไฮเทนชีวภาพ (ก๊าซผสมระหว่างไฮโดรเจนและมีเทน) เอทานอลชีวภาพ อะซิโตน-บิวทานอล-เอทานอล) จุดมุ่งหมายนี้บรรลุได้ด้วยการวิจัยและพัฒนาเกี่ยวกับเทคโนโลยีการหมักที่อุณหภูมิสูง (55-60 ℃) การหมักร่วม (ใช้วัสดุเศษเหลือผสม ได้แก่ น้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มร่วมกับกากตะกอนดีแคนเตอร์ หรือร่วมกับน้ำทิ้งโรงงานผลิตน้ำยางข้น) การหมักแบบสองขั้นตอนสำหรับการผลิตไฮโดรเจน-มีเทน (สภาวะที่อุณหภูมิสูง-อุณหภูมิสูง หรือ อุณหภูมิสูง-อุณหภูมิปานกลาง) การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสม (องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อรวมทั้งแร่ธาตุ และสภาวะแวดล้อม) การประยุกต์ใช้เซลล์ที่ถูกตรึง การวิเคราะห์โครงสร้างประชากรจุลินทรีย์ การปรับปรุงสายพันธุ์ยีสต์ที่ย่อยสลายน้ำตาลเพนโทส รวมทั้งการออกแบบถังหมักเพื่อการผลิตไฮโดรเจนจากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่อุณหภูมิสูง เมื่อเร็วๆนี้ แบคทีเรียที่ผลิตไฮโดรเจนได้อย่างมีประสิทธิภาพที่สุดที่อุณหภูมิสูง คือ *Thermoanaerobacterium thermosaccharolitycum* PSU-2 ได้รับการจำแนกเป็นสายพันธุ์ใหม่จากข้อมูลลำดับของจีโนมทั้งหมด

ผลการวิจัยและพัฒนา ดังกล่าวข้างต้นได้รับการตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติจำนวน 8 เรื่อง ในต้นฉบับที่ส่งตีพิมพ์จำนวน 2 เรื่อง และมีการตีพิมพ์เป็นบทหนึ่งของหนังสือ อ้างอิงได้ดังนี้

O-Thong, S. 2016. Microbial Population Optimization for Control and Improvement of Dark Hydrogen Fermentation. *in*: Angela Faustino Jozala (Eds.), Fermentation Process, INTECH 2016, p. 119-144. (ISBN 978-953-51-4825-8).

คำสำคัญ: ก๊าซชีวภาพ, ไฮโดรเจนชีวภาพ, มีเทนชีวภาพ, ไฮเทนชีวภาพ, วัสดุเศษเหลือของอุตสาหกรรมน้ำมันปาล์ม

โครงการย่อยที่ 2: การตรึงคาร์บอนไดออกไซด์โดยสาหร่ายไขมันสูงและการผลิตไบโอดีเซล

ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) เป็นก๊าซเรือนกระจกหลักที่เกิดจากการเผาไหม้ของน้ำมันเชื้อเพลิงและก๊าซธรรมชาติซึ่งได้มีความพยายามหลายอย่างในการดึง CO_2 กลับมาจากบรรยากาศด้วยวิธีทางกายภาพและเคมี ในขณะที่วิธีทางชีวภาพที่ใช้สาหร่ายขนาดเล็กถือเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพเช่นกัน เนื่องจากสาหร่ายมีอัตราการสังเคราะห์แสงมากกว่าพืชและสาหร่ายบางสายพันธ์มีปริมาณไขมันสูง โดยที่ไขมันส่วนใหญ่เป็นไตรกลีเซอไรด์ซึ่งคล้ายกับน้ำมันพืชทั่วไป จึงมีศักยภาพในการนำมาใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบผลิตไบโอดีเซลในงานวิจัยครั้งนี้ได้พบว่าสาหร่ายขนาดเล็ก *Nannochloropsis* sp. เป็นสาหร่ายที่เหมาะสมในการตรึง CO_2 และสะสมเป็นไขมันและมีการสร้างเม็ดสีภายในเซลล์ได้สูงจากการศึกษาผลของความเข้มแสงและระยะเวลาให้แสงต่อการลด CO_2 และการผลิตไขมัน พบว่าสภาวะที่เหมาะสม คือ ความเข้มแสงอิ่มตัวที่ 60 μmol photon $m^{-2}s^{-1}$ และมีการให้แสง 24 ชั่วโมง ทำให้ได้ชีวมวลของสาหร่ายสูงสุด คือ 0.850±0.16gL^{-1}โดยมีปริมาณไขมัน 44.7±1.2% และมีปริมาณเม็ดสีเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับพลังงานแสงเพิ่มขึ้นจากการศึกษาผลของ 3 สภาวะได้แก่ความเข้มข้นของเซลล์สาหร่ายเริ่มต้น ปริมาณ CO_2 และอัตราการไหลของแก๊ส และสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ด้วยวิธีการตอบสนองพื้นผิวรวมทั้งการหาผลปฏิสัมพันธ์และระดับที่เหมาะสม พบว่าการพ่นอากาศที่มีปริมาณ CO_2 ต่ำในอัตราการไหลของก๊าซสูงทำให้สาหร่ายมีชีวมวลสูงสุดแต่มีปริมาณไขมันต่ำภายใต้สภาวะที่เหมาะสมทำให้สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตชีวมวลและไขมันเพิ่มขึ้นเป็น 1.30±0.103 gL^{-1} และ 0.515±0.010 gL^{-1} ตามลำดับ กรดไขมันของ *Nannochloropsis* sp. ส่วนใหญ่เป็น C16-C18 ซึ่งมีศักยภาพในการใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตไบโอดีเซล

ในปัจจุบันมีหลายวิธีที่ใช้เก็บเกี่ยวชีวมวลสาหร่ายเช่นการปั่นแยกการกรองการตกตะกอนธรรมชาติและการตกตะกอนด้วยแรงโน้มถ่วงโดยการผลิตเชิงพาณิชย์ส่วนใหญ่เลือกการปั่นแยกหรือการกรองด้วยเมนเบรนเพื่อเก็บเกี่ยวสาหร่ายอย่างไรก็ตามกระบวนการเก็บเกี่ยวโดยใช้การหมุนเหวี่ยงหรือการกรองด้วยเมนเบรนจะใช้พลังงานสูง เทคโนโลยีการตรึงรูปเป็นหนึ่งในเทคนิคทางเลือกที่น่าสนใจเพื่อลดขั้นตอนการแยกชีวมวลออกจากของเหลวโดยสามารถเก็บเกี่ยวสาหร่ายตรึงรูปได้ผ่านวิธีการกรองแบบง่าย ไม่ต้องใส่พลังงานมากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าสาหร่าย *Nannochloropsis* sp. มีศักยภาพสูงที่จะถูกตรึงไว้ในเม็ดเจลอัลจิเนตและใช้ในการผลิตไขมันการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มด้วยแสง และการลด CO_2 โดยสาหร่ายตรึงรูปสามารถกำจัดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสลดลงได้มากกว่า 90% และลด CO_2 มากกว่า 99% นอกจากนี้ยังมีการผลิตชีวมวลและไขมันได้เท่ากับ 1.30±0.05 กรัมต่อลิตรและ 0.356±0.097 กรัมต่อลิตรตามลำดับการเลี้ยงสาหร่ายตรึงรูปแบบหมักซ้ำทำให้ผลผลิตชีวมวลและไขมันเพิ่มขึ้น 2.66 เท่าและ 1.41 เท่าตามลำดับและพบว่าการขยายขนาดการผลิตในถังปฏิกรณ์แบบฟลูอิไดซ์เบดให้ชีวมวลสูงสุดเท่ากับ 3.280±0.049 กรัมต่อลิตรและไขมันเท่ากับ 0.362±0.010 กรัมต่อลิตรโดยเซลล์ตรึงรูปสามารถเก็บเกี่ยวได้ง่ายโดยใช้วิธีการกรองกลยุทธ์นี้เป็นการเสนอแนวคิดแบบ biorefinery ที่มีประสิทธิภาพไม่เพียงแต่ในการลดมลภาวะน้ำทิ้งและลดปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์แต่ยังเป็นการผลิตพลังงานทดแทนที่มีต้นทุนต่ำอีกด้วย

คำสำคัญ: การตรึงคาร์บอนไดออกไซด์, สาหร่ายขนาดเล็กไขมันสูง, ลิปิด, ไบโอดีเซล, *Nannochloropsis* sp.

โครงการย่อยที่ 3: การทำนายชีวมวลของปาล์มน้ำมันสำหรับการสร้างโรงไฟฟ้าในภาคใต้ของประเทศไทย

งานวิจัยนี้ได้แบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ส่วน คือ กรณีศึกษาทั่วไปของโรงไฟฟ้าชีวมวลทางใบปาล์ม และกรณีศึกษาการกำหนดที่ตั้งโรงไฟฟ้าชีวมวลปาล์มที่โรงหีบน้ำมันปาล์ม กรณีศึกษาทั่วไปของโรงไฟฟ้าชีวมวลทางใบปาล์มสามารถตั้งโรงไฟฟ้าในจังหวัดชุมพรจำนวน 2 โรง สุราษฎร์ธานี 1 โรง และกระบี่ 2 โรง ซึ่งมีศักยภาพกำลังการผลิตไฟฟ้ารวม 112 เมกะวัตต์ มีราคารับซื้อชีวมวลทางใบปาล์มเฉลี่ยที่ 178.98 บาทต่อตัน กรณีศึกษาการกำหนดที่ตั้งโรงไฟฟ้าที่โรงหีบน้ำมันปาล์มโดยกำหนดราคารับซื้อทางใบปาล์มเท่ากับกรณีศึกษา 1 (178.98 บาทต่อตัน) ผลการศึกษาพบว่ามีจำนวนโรงไฟฟ้า 3 โรงในจังหวัด ชุมพร สุราษฎร์ธานีและกระบี่ ซึ่งมีศักยภาพการผลิตพลังงานไฟฟ้ารวมได้ถึง 148 เมกะวัตต์

คำสำคัญ: การทำนาย, ชีวมวลของปาล์มน้ำมัน, โรงไฟฟ้าในภาคใต้ของไทย, กรณีศึกษา

โครงการย่อยที่ 4: การผลิตกรดอินทรีย์และเอนไซม์จากต้นปาล์มน้ำมันจากต้นปาล์มน้ำมัน

ลำต้นปาล์มน้ำมัน (OPT) และทางปาล์มน้ำมัน (OPF) เป็นชีวมวลที่มีปริมาณมากในภาคใต้ของประเทศไทย หลังการสกัดน้ำตาล (64.59 กรัมต่อลิตรของน้ำคั้นเยื่อปาล์ม และ 57.68 กรัมต่อลิตรของน้ำคั้นทางปาล์ม) กากเยื่อต้นปาล์มและกากทางปาล์ม (OPTr and OPFr) จะใช้เป็นสับสเตรทเพื่อการผลิตเอนไซม์จากเชื้อราที่แยกได้โดยใช้การหมักแบบอาหารแข็ง (SSF) และอาหารเหลว (SmF) จากเชื้อราที่แยกได้ 8 สายพันธุ์ พบว่า คัดเลือกได้สายพันธุ์ TT1, TM3 และ TT2 และจำแนกได้เป็นเชื้อ *Ceratocystis paradoxa*, *Trichoderma koningiopsis* และ *Hypocrea nigricans* ตามลำดับ และกากเยื่อต้นปาล์มดีกว่ากากทางปาล์ม *C. paradoxa* TT1 ผลิต CMCase ได้สูงสุด (18.16 Unit gds^{-1}) ในอาหารเหลว ส่วน *T. koningiopsis* TM3 ผลิตได้ค่ากิจกรรมสูงสุดของเอนไซม์ xylanase (56.46 Unit gds^{-1}) และ FPase (2.13 Unit gds^{-1}) ในการเลี้ยงแบบอาหารแข็ง จากการย่อยสลายกากเยื่อต้นปาล์มด้วยเอนไซม์ พบว่าได้ปริมาณน้ำตาลสูงสุด (11.92 gL^{-1}) โดยให้ผลผลิต 0.48 gg^{-1} จากการใช้เอนไซม์จากเชื้อสายพันธุ์ TM3 ในปริมาณ 25 Unit g^{-1} ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 15 ชั่วโมง สำหรับการผลิตเอทานอลจากไฮโดรไลเสทของลำต้นปาล์ม (โดยไม่เติมสารอาหาร) พบว่า *Saccharomyces cerevisiae* TISTR5055 มีประสิทธิภาพดีกว่า *Candida shehatae* TISTR5843 และเชื้อผสมทั้งสองชนิด ส่วนการผลิตกรดอะซิติกโดยใช้เชื้อผสม *S. cerevisiae* and *Acetobacter aceti* โดยการหมักเป็นแบบสองขั้นตอน (two-stage) เปรียบเทียบกับการหมักพร้อมกัน (simultaneous fermentation) พบว่า การเติมสารอาหาร YM ในไฮโดรไลเสทของลำต้นปาล์ม ช่วยให้การผลิตเอทานอลเพิ่มขึ้น (4.10 gL^{-1} ที่ 12 ชั่วโมง และ 4.01 gL^{-1} ที่ 18 ชั่วโมงในการหมักพร้อมกัน) ส่วนการหมักพร้อมกันโดยไม่มีการเติมสารอาหารพบว่าได้อัตราการผลิตกรดอะซิติกสูงสุด (2.12 gL^{-1} ที่ 24 ชั่วโมง) จากการใช้เชื้อผสม ผลที่ได้นี้สูงกว่าค่าที่ได้จากการหมักแบบสองขั้นตอน 1.7 เท่า และ 4 เท่า (1.23 gL^{-1} ที่ 54 ชั่วโมง)

คำสำคัญ: เซลลูเลสและไซลาเนส, วัสดุเศษเหลือปาล์มน้ำมัน, การหมักแบบของแข็งและแบบของเหลว, เชื้อรา, เอทานอล, กรดอะซิติก

โครงการย่อยที่ 5: การสกัดเฮมิเซลลูโลสจากเส้นใยของทะลายปาล์มเปล่าและการประยุกต์ใช้เพื่อการผลิตไซโล-โอลิโกแซคคาไรด์และไฮโดรเจล

การใช้วิธีการสองขั้นตอนตามลำดับคือ ใช้ peracetic acid (PA) และ alkaline peroxide (AP) ที่อุณหภูมิปานกลาง (20-35 ℃) สามารถกำจัดลิกนินออกจากเส้นใยของทะลายปาล์มเปล่า (EFB) ได้ 98% เมื่อใช้เส้นใยของ EFB 1 กิโลกรัม แยกได้ส่วนของแข็ง 200-250 กรัม และส่วนตะกอน 120-170 กรัม นำส่วนของแข็งมาย่อยด้วยเอนไซม์ (45 ℃ 72 ชั่วโมง) ได้น้ำตาล 629.8 กรัมต่อกิโลกรัมของ EFB แห้ง เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้เอนไซม์ย่อย EFB ที่ไม่ผ่านการปรับสภาพใดๆ ได้น้ำตาลเพียง 3 กรัมต่อกิโลกรัมของ EFB แห้ง ดังนั้น วิธีการปรับสภาพด้วย PA-AP จึงช่วยให้ได้น้ำตาลเพิ่มขึ้น 210 เท่า กระบวนการผลิตนี้ใช้เวลาทั้งสิ้น 93 ชั่วโมง (ใช้เวลา 9 ชั่วโมงที่ 35 ℃ เมื่อปรับสภาพด้วย PA และใช้เวลา 12 ชั่วโมงเมื่อปรับสภาพด้วย PA (20 ℃, 4% NaOH) และ72 ชั่วโมงเมื่อย่อยด้วยเอนไซม์)

คำสำคัญ: การปรับสภาพ, เฮมิเซลลูโลส, เซลลูโลส, เส้นใยของทะลายปาล์มเปล่า, ไซโล-โอลิโกแซคคาไรด์

โครงการย่อยที่ 6: การใช้ชีวมวลของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มเพื่อผลิตปุ๋ยหมัก

โรงงานสกัดน้ำมันปาล์มมักใช้เส้นใยปาล์ม (PPF) เป็นเชื้อเพลิงให้กับหม้อไอน้ำและไม่มีการใช้ประโยชน์จากกากตะกอนดีแคนเตอร์ (DC) งานวิจัยจึงต้องการใช้วัสดุเศษเหลือเหล่านี้เพื่อผลิตปุ๋ยหมัก โดยศึกษาผลของการให้อากาศ ใช้ส่วนผสมของ PPF:DC เท่ากับ 1:1 และปรับให้มีค่า C/N เท่ากับ 30-40:1 โดยการเติมยูเรีย ความชื้นเริ่มต้น 50-70% โดยใช้น้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์ ใช้หัวเชื้อ พด 1 ในการหมักขนาดกองละ 1000 กิโลกรัม (1 ตัน) เปรียบเทียบการหมัก 3 แบบ คือ แบบกองโดยไม่คลุม แบบปิดโดยให้อากาศ และแบบกลับกองปุ๋ยหมัก พบว่า แบบไม่คลุมและแบบกลับกองให้ปุ๋ยหมักที่ได้มาตรฐาน (C/N < 20:1) ภายในระยะเวลา 55 วัน (C/N เท่ากับ 19.9:1 และ 19.7:1 ตามลำดับ) ส่วนแบบปิดที่ให้อากาศไม่ได้มาตรฐาน (C/N เท่ากับ 22.7:1) จนถึงระยะเวลาสิ้นสุดการหมัก (60 วัน)

คำสำคัญ: เส้นใยปาล์ม, กากตะกอนดีแคนเตอร์, ปุ๋ยหมัก, การให้อากาศ

โครงการย่อยที่ 7: การใช้น้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มเพื่อการเก็บเกี่ยวน้ำมันและการผลิตพอลิเมอร์ชีวภาพ

ลักษณะน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มมีดังนี้ ค่าพีเอช 5.05 ซีโอดี 120,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ของแข็งทั้งหมด 47,696 มิลลิกรัมต่อลิตร ของแข็งแขวนลอย 19,066 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลทั้งหมด 8,550 มิลลิกรัมต่อลิตร ฟีนอลทั้งหมด 1,670 มิลลิกรัมต่อลิตร ไนโตรเจนทั้งหมด 800 มิลลิกรัมต่อลิตรรวมทั้งมีแร่ธาตุต่างๆ ในปริมาณเล็กน้อย เมื่อศึกษาผลของอัตราส่วนของเอทานอลกับ POME และอุณหภูมิต่อผลผลิตของพอลิเมอร์ พบว่าอัตราส่วนที่ 5.0 ให้ผลผลิตสูงสุด เมื่อวิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุล พบว่า พอลิเมอร์ประกอบด้วยสองหน่วยย่อย รหัส SC-S and SC-L และมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 1,223 และ 2,525 ดาลตัน ตามลำดับ ได้ผลผลิตเท่ากับ 65.31% and 12.82% ตามลำดับ เมื่อทำบริสุทธิ์บางส่วนและศึกษาคุณสมบัติ พบว่า พอลิเมอร์เหล่านี้ละลายได้ดีทั้งในน้ำและ DMSO แต่ไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ 8 ชนิดที่ทำการทดสอบ (acetronitrile, methanol, acetone, propanol, dichloromethane, chloroform, diethyl ether and hexane). เมื่อจำแนกพอลิเมอร์พบว่าประกอบด้วยน้ำตาลทั้งหมดเท่ากับ 241.29 และ 231.70 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ผลจากการวิเคราะห์

ด้วย HPLC หลังการย่อยด้วยกรด พบว่า พอลิเมอร์ SC-S และ SC-L ประกอบด้วยกรดกลูคิวโรนิก อะราบิโนส และไซโลสในปริมาณ 25.60, 43.20 และ 10.20 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับพอลิเมอร์ SC-S และ 10.40, 11.20 และ 20.90 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับพอลิเมอร์ SC-L ผลจากการวิเคราะห์พอลิเมอร์ทั้งสองชนิด พบว่ามีกลุ่มไฮดรอกซิล, อีเทอร์ แอลเคน และคาร์บอนิล ซึ่งเป็นกลุ่มโมเลกุลของน้ำตาล ดังนั้น พอลิเมอร์นี้จึงจัดเป็นพอลิเมอร์ชนิดพอลิแซคคาไรด์ และมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 1,223 และ 6,431 ดาลตัน ตามลำดับ

คำสำคัญ: น้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม, พอลิแซคคาไรด์, การทำบริสุทธิ์บางส่วน, คุณสมบัติของพอลิเมอร์

โครงการย่อยที่ 8: การแยกกรดไขมันอิสระออกจากน้ำมันปาล์มดิบโดยใช้การลอยตัวของฟองอากาศ

8.1 การศึกษาการฟอกน้ำมันปาล์มดิบกรดสูงด้วยก๊าซไนโตรเจนที่สภาวะความดันบรรยากาศ

ได้ศึกษาการใช้ฟองก๊าซไนโตรเจน (N_2 bubbles) เพื่อปรับสภาพน้ำมันปาล์มดิบกรดสูง (High free fatty acid crude palm oil, High-FFA CPO) ที่ความดันบรรยากาศเปรียบเทียบกับไม่ใช้ N_2 ที่อุณหภูมิ 100, 150 และ 200 °C ในถังสแตนเลสทรงกระบอกแนวตั้งไม่มีฝาปิดปริมาตร 40 ลิตร บรรจุน้ำมัน 28 ลิตรควบคุมอุณหภูมิด้วยตัวควบคุมอิเล็กโทรนิคแบบ PID ที่ต่อพ่วงกับหัววัดอุณหภูมิแบบ Pt-100 และฮีทเตอร์ไฟฟ้า ในการพ่น N_2 ใช้หัวทราย (air stone) ทรงกระบอกขนาดเล็ก 3 หัว อัตราการพ่นรวม 2 L/min CPO มีอุณหภูมิเฉลี่ยตอนเริ่มต้น 46.7 °C เริ่มการทดลองด้วยการพ่น N_2 พร้อม ๆ กับการให้ความร้อนแก่น้ำมันจนถึงอุณหภูมิที่ต้องการแล้วรักษาอุณหภูมิดังกล่าวไว้ต่อไปอีก 4 ชั่วโมง ทำการเก็บตัวอย่างตอนเริ่มต้นให้ความร้อนและเมื่อถึงอุณหภูมิที่ต้องการ ต่อจากนั้น ในชั่วโมงแรกของการคงอุณหภูมิทำการเก็บตัวอย่างทุก 15 นาที ชั่วโมงที่ 2 ทุก 30 นาที ชั่วโมงที่ 3 และ 4 ทุก 60 นาที ผลการทดลองพบว่าที่ 100 °C (ทั้งพ่นและไม่พ่น N_2) รวมทั้งที่ 150 °C (ไม่พ่น N_2) ไม่สามารถลดปริมาณกรดไขมันอิสระ (Free Fatty Acids, FFA) ใน CPO ได้ ส่วนที่ 150 และ 200 °C (พ่น N_2) ลด FFA จาก 27.94% เป็น 25.12% และจาก 27.88% เป็น 17.19% ตามลำดับ CPO ที่ 200 °C (ไม่พ่น N_2) FFA ลดจาก 26.52% เป็น 19.48% สำหรับการวัดค่าสีของ CPO ในกรณีพ่น N_2 ทั้ง 3 อุณหภูมิพบว่า CPO มีสีเข้มขึ้นเท่ากันตั้งแต่ 30 นาทีแรกของการทดลอง ในขณะที่กรณีไม่พ่น N_2 สี CPO เข้มขึ้นช้ากว่า ค่าเพอร์ออกไซด์ของ CPO ทั้งพ่นและไม่พ่น N_2 ทั้ง 3 อุณหภูมิค่อนข้างคงที่อยู่ในช่วง 2-5 meq O_2/kg oil ค่าความชื้นและสารระเหยง่าย (moisture and volatile matter) ของ CPO ลดลงจาก 0.20-0.50% เหลือ 0.04-0.12% (พ่นN_2) และ 0.1-0.28% (ไม่พ่นN_2) การพ่นฟอง N_2 ใน CPO ที่อุณหภูมิตั้งแต่ 100 °C ที่สภาวะบรรยากาศนอกจากช่วยลดความชื้นและสารระเหยง่ายแล้วยังช่วยลด FFA ได้ที่อุณหภูมิสูงตั้งแต่ 150 °C และมีแนวโน้มจะลด FFA ได้มากที่อุณหภูมิสูงกว่า 200 °C อย่างไรก็ตามอุณหภูมิที่สูงทำให้ CPO มีสีเข้มขึ้น

คำสำคัญ: น้ำมันปาล์มดิบกรดสูง, การแยก, กรดไขมันอิสระ, ฟองก๊าซไนโตรเจน, การให้ความร้อน, ความดันบรรยากาศ

8.2 การศึกษาการฟอกน้ำมันปาล์มดิบกรดสูงด้วยก๊าซไนโตรเจนที่สภาวะความดันสุญญากาศ

ได้นำน้ำมันปาล์มดิบกรดสูง (High free fatty acid crude palm oil, High-FFA CPO) ที่มีกรดไขมันอิสระ (free fatty acids, FFA) 27% มาพ่นด้วยก๊าซไนโตรเจน (N_2) ที่อุณหภูมิ 100, 150 และ 200 °C ภายใต้สภาวะสุญญากาศ (-700 ถึง -730 mmHg) เปรียบเทียบกับการไม่พ่น N_2 เพื่อดูความสามารถในการแยก

สารประกอบที่ระเหยง่ายและ FFA ออกจาก CPO โดยใช้อุปกรณ์ที่ประกอบด้วยหม้อระเหยปริมาตร 40 L ใช้ CPO28L ต่อครั้ง ชุดควบแน่น และชุดหล่อเย็น ให้ความร้อนแก่ CPO ด้วยฮีทเตอร์ไฟฟ้าขนาด 2,500 W และทำสุญญากาศด้วยปั๊มสุญญากาศแบบโรตารี่ พ่นฟอง N_2 ด้วยอัตรา 2L/min ผ่านหัวจ่ายที่ทำจากหัวทรายตู้ปลาขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 18 mm และยาว 40 mm จำนวนสามหัว (เฉลี่ยหัวละ 0.67 L/min) เริ่มต้นด้วยการให้ความร้อน ทำสุญญากาศ และพ่น N_2 (กรณีที่พ่น N_2) ไปพร้อมกัน จนได้อุณหภูมิที่กำหนด แล้วรักษาสภาวะดังกล่าวไว้ต่อไปอีก 240 min จึงสุ่มตัวอย่างไปวิเคราะห์ ผลการทดลองกรณีไม่พ่น N_2 พบว่าปริมาณ FFA ใน CPO ที่อุณหภูมิ 100 °C ไม่เปลี่ยนแปลง ขณะที่อุณหภูมิ 150 และ 200 °C ปริมาณ FFA ใน CPO ลดลงเป็น 24.22% และ 15.12% ตามลำดับสำหรับกรณีพ่น N_2 พบว่าปริมาณ FFA ใน CPO ที่ 100 °C ไม่เปลี่ยนแปลง ขณะที่อุณหภูมิ 150 และ 200 °C ปริมาณ FFA ใน CPO ลดลงเป็น 23.91% และ 14.97% ตามลำดับ สีของ CPO เข้มขึ้นเมื่อผ่านอุณหภูมิที่สูงขึ้น ค่าเปอร์ออกไซด์ (peroxide value, PV) ของ CPO กรณีไม่พ่น N_2 ในทุกอุณหภูมิ ค่อนข้างคงที่อยู่ที่ 1.70-1.90 mg/kgตัวอย่าง ขณะที่ในกรณีพ่น N_2 ค่า PV สูงขึ้นจากค่าเฉลี่ย 1.30 เป็น 4.94 mg/kgตัวอย่าง ค่าความชื้นและสารระเหยง่าย (moisture and volatile matters) ทั้งสามอุณหภูมิมีค่าลดลงจาก 1.75% เป็น 0.08% การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการพ่นฟอง N_2 ภายใต้สภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิสูงกว่า 200 °C มีแนวโน้มลดค่า FFA ได้มากกว่าที่อุณหภูมิต่ำกว่า 200 °C ส่วนความชื้นและสารระเหยง่ายสามารถลดได้หมดตั้งแต่อุณหภูมิ 100 °C อย่างไรก็ตามผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าที่สภาวะสุญญากาศ การพ่นและไม่พ่นไนโตรเจนให้ผลใกล้เคียงกัน

คำสำคัญ: น้ำมันปาล์มดิบกรดสูง, การแยก, กรดไขมันอิสระ, สารประกอบที่ระเหยง่าย, ฟองก๊าซไนโตรเจน, การให้ความร้อน, ความดันสุญญากาศ

โครงการย่อยที่ 9: การผลิตไบโอดีเซลและสารหล่อลื่นชีวภาพจากตะกอนน้ำทิ้งโรงงานน้ำมันปาล์มด้วยกระบวนการเร่งทางชีวภาพ

น้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม มีปริมาณน้ำมันและไขมันสูง (5,569.82 มิลลิกรัมต่อลิตร) น้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มจะถูกนำมาสกัดน้ำมันด้วยวธีซอกเลตท์โดยใช้สารละลายผสมระหว่าง เฮกเซน เมทานอล และอะซิโตนเป็นตัวทำละลาย หลังจากสกัดพบว่าจะได้น้ำมันและไขมันจากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มเท่ากับ 4,455 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยว 80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำน้ำมันที่สกัดได้มาวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมัน พบว่าในน้ำมันจะมีกรดไขมันในปริมาณสูง (27.67±0.10%) ความชื้นในน้ำมันที่สกัดได้จากน้ำทิ้ง เท่ากับ 2.20±0.07% สำหรับค่าสปอนนิฟิเคชัน และมวลโมเลกุลของน้ำมันที่สกัดได้เท่ากับ 201.96±0.21 มิลลิกรัม โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ต่อกรัมน้ำมัน และ 833 กรัมต่อโมล ตามลำดับ

ในการทดลองนี้จะทำการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มด้วยวิธีการเร่งเอนไซม์ไลเปส สำหรับเอนไซม์ไลเปสจะมีสองชนิดคือ เอนไซม์ไลเปสทางการค้าที่ได้จากจุลินทรีย์ *Candida rugosa* และไลเปสที่ผ่านการทำบริสุทธิ์บางส่วนจากผลปาล์มหลังการเก็บเกี่ยว 120 ชั่วโมง ในการผลิตไบโอดีเซลโดยใช้ไลเปสจะกำหนดกิจกรรมของเอนไซม์ที่ 36 ยูนิตต่อ 10 กรัมของน้ำมัน สำหรับสารตั้งต้นในการผลิตไบโอดีเซลจะใช้น้ำมันที่สกัดได้จากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม และทำการเร่งด้วยปฏิกิริยา ทรานส์เอสเทอริฟิเคชันจากผลการทดลองพบว่าการผลิตไบโอดีเซลโดยการเร่งด้วยเอนไซม์ไลเปสทางการค้าจะให้ผลผลิตสูงสุด

(91.75±2.51%) ตามด้วยเอนไซม์ไลเปสจากผลปาล์มที่ผ่านการทำบริสุทธิ์บางส่วน (91.04±1.98%) และเอนไซม์ไลเปสอย่างหยาบจากผลปาล์ม (90.37±1.43%) สำหรับการเร่งปฏิกิริยาด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์จะให้ผลผลิตไบโอดีเซลต่ำที่สุด (89.30±2.51%) สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไบโอดีเซลจากเอนไซม์ไลเปสอย่างหยาบจากผลปาล์ม คือ อัตราส่วนระหว่างเมทานอลต่อน้ำมัน เท่ากับ 6:1 โดยมีกิจกรรมของเอนไซม์ 36 ยูนิตต่อ10 กรัมของน้ำมัน บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ความเร็วในการเขย่า 200 รอบต่อนาที นาน 36 ชั่วโมง จะได้ผลผลิตไบโอดีเซลเท่ากับ 92.07±1.04% ผลผลิตที่ได้ไม่มีความแตกต่างจากผลผลิตไบโอดีเซลที่เร่งปฏิกิริยาด้วยเอนไซม์ไลเปสทางการค้า (92.11±1.54%) เมื่อนำไบโอดีเซลที่ได้ทั้งหมดมาวิเคราะห์ตามวิธีมาตรฐาน ASTM พบว่า คุณสมบัติของไบโอดีเซลที่ได้จากการเร่งปฏิกิริยาด้วยเอนไซม์ไลเปสอย่างหยาบผ่านมาตรฐานไบโอดีเซลของประเทศไทย และ ASTM

ไบโอดีเซลที่ได้จะถูกนำมาใช้ต่อเพื่อเป็นสารตั้งต้นในการผลิตสารหล่อลื่นชีวภาพด้วยกระบวนการทรานเอสเทอริฟิเคชันอีกครั้ง โดยใช้เอนไซม์ไลเปสร่วมกับไตรเมทิลโลโพรเพนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ภายใต้สภาวะการเร่งปฏิกิริยาที่เหมาะสม ประกอบด้วย กิจกรรมของเอนไซม์ 70 กิโลยูนิต สัดส่วนของไตรเมทิลโลโพรเพน 3.15 มิลลิลิตรต่อสารตั้งต้น 1 มิลลิลิตร ความชื้น 3 % อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 250 รอบต่อนาที นาน 18 ชั่วโมง จะได้สารหล่อลื่นชีวภาพ 83.5% เมื่อนำสารหล่อลื่นชีวภาพไปวิเคราะห์คุณลักษณะบางประการพบว่าสารหล่อลื่นชีวภาพมีค่าความหนืด 193 จุดวาบไฟ 210 องศาเซลเซียส และผ่านเกณฑ์มาตรฐานสารหล่อลื่น เกรด VG32

คำสำคัญ: ทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน น้ำทิ้ง ไบโอดีเซล โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ไลเปส

โครงการย่อที่ 10: การใช้ผลพลอยได้จากการผลิตพลังงานชีวภาพ (ไฮโดรเจน, มีเทน) เป็นสับสเตรทสำหรับการผลิตสารออกฤทธิ์หรือพลังงานชีวภาพ

10.1 การผลิตไฮโดรเจนจากกลีเซอรอลดิบโดยกระบวนการหมักแบบสองขั้นตอนในสภาวะไม่ใช้แสงและใช้แสง

การผลิตไฮโดรเจนจากกลีเซอรอลดิบด้วยการหมักแบบสองขั้นตอนในสภาวะไม่ใช้แสงโดยใช้เชื้อ *Klebsiella* sp. TR17 และสภาวะใช้แสงโดยเชื้อ *Rhodopseudomonas palustris* TN1 (*Rps. palustris* TN1) พบว่า ในสภาวะไม่ใช้แสงมีการผลิตไฮโดรเจน 64.24 mmol H_2/L โดยให้ผลผลิตไฮโดรเจน 5.74 mmol H_2/g COD ซึ่งมีอัตราการใช้กลีเซอรอลดิบ 80.21% น้ำทิ้งที่ได้จากการหมักแบบไม่ใช้แสงถูกนำมาใช้ในการหมักแบบใช้แสง ทำการศึกษาความเข้มข้นของน้ำทิ้งที่ได้จากการหมักแบบไม่ใช้แสง (ระดับการเจือจาง 0-5 เท่า) เติมและไม่เติม yeast extract (2.3 g/L) + $NaHCO_3$ (0.63 g/L) และ glutamate (2-8 mM) พบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตไฮโดรเจนโดยเชื้อ *Rps. palustris* TN1 คือ น้ำทิ้งที่ได้จากการหมักแบบไม่ใช้แสงที่ระดับเจือจาง 5 เท่า ไม่เติม yeast extract + $NaHCO_3$ และ 2 mM glutamate ซึ่งผลิตไฮโดรเจนได้ 3.12 mmol H_2/L และให้ผลผลิตไฮโดรเจน 0.68 mmol H_2/g COD จากการผลิตทั้งสองขั้นตอนพบว่า ให้ผลผลิตไฮโดรเจน 6.42 mmol H_2/g COD (10.4%)

คำสำคัญ: ไฮโดรเจน, กลีเซอรอลดิบ, การหมักแบบไม่ใช้แสง, การหมักแบบใช้แสง

10.2 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเชื้อ *Streptomyces philanthi* RM-1-138

Streptomyces มีความสามารถในการป้องกันพืชจากเชื้อก่อโรคหลายชนิดและมีการใช้สายพันธุ์ต่างๆ ของแบคทีเรียชนิดนี้เป็นสารควบคุมทางชีวภาพ ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า *Streptomyces philanthi* RM-1-138, *S. philanthi* RL-1-178 และ *Streptomyce mycarofaciens* SS-2-243 มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Botrytis cinerea* ได้ 41 สายพันธุ์บนอาหารแข็ง PDA สารระเหยที่ผลิตโดย *Streptomyces* spp. มีผลต่อการเจริญของเชื้อ *B. cinerea* 10 สายพันธุ์ ในขณะที่สารละลายส่วนใส (หลังการเหวี่ยงแยกเซลล์ออก) ที่ความเข้มข้นต่ำ (เจือจางที่ 10^{-3}) ให้ผลยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อ *B. cinerea* BC1 ได้ 100% และมีประสิทธิภาพในการป้องกันมะเขือเทศจากเชื้อ *B. cinerea* ด้วยวิธี whole plant test ได้ 57.4% และ detached leaf test ได้ 60.1% โดยใช้ *S. philanti* RM-1-138 ผลการทดลองเหล่านี้แสดงให้เห็นว่า *S. philanthi* RM-1-138 อาจมีศักยภาพในการควบคุมเชื้อราสีเทาที่เกิดจาก *B. cinerea* ในมะเขือเทศ นอกจากนี้ เชื้อนี้ยังผลิตไคติเนสและ β -1,3 glucanase ซึ่ง เป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในการควบคุมเชื้อราที่ก่อโรคพืช การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมและองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์ไคติเนสและ β -1,3 glucanase ของเชื้อ *S. philanthi* RM-1-138 โดยใช้วิธีการศึกษาแบบแปรเปลี่ยนครั้งละหนึ่งปัจจัย (one-factor-at-a-time) และวิธีการตอบสนองของพื้นผิว (RSM) ตามลำดับ พบว่าสภาวะที่เหมาะสม คือ pH 7.5 และอุณหภูมิ 30 °C องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมประกอบด้วย ไคติน 4.88 กรัมต่อลิตร กลูโคส 6.27 กรัมต่อลิตร และ malt extract 17.05 กรัมต่อลิตร ซึ่งจากสภาวะที่เหมาะสมนี้กิจกรรมของเอนไซม์ไคติเนส (0.53 U/ml) และ β -1,3 glucanase (8.79 U/ml) เพิ่มขึ้น 53 และ 80 เท่าตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสูตรดั้งเดิม จากการศึกษาการยับยั้งเชื้อรา *Rhizoctonia solani* PTRRC-9 ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคกาบใบแห้งในข้าว โดยใช้สารละลายส่วนใสที่ทำให้บริสุทธิ์บางส่วนเปรียบเทียบกับสารกำจัดเชื้อราทางการค้า คือ carbendazim® และ propiconazole® (100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) พบว่าเอนไซม์ที่บริสุทธิ์บางส่วนจากการเลี้ยงเชื้อในสูตรอาหารที่เหมาะสมมีฤทธิ์ต้านเชื้อรา *R. solani* PTRRC-9 เพิ่มขึ้น 4.0 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับการเลี้ยงเชื้อในอาหารสูตรดั้งเดิมและมีฤทธิ์เท่ากับสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา propiconazole® แต่มีฤทธิ์ต่ำกว่า carbendazim® เล็กน้อย

คำสำคัญ: การควบคุมทางชีวภาพ, น้ำเลี่ยงเชื้อที่ผ่านการกรอง, ไคติเนส, β -1,3 กลูคาเนส, การทำให้บริสุทธิ์บางส่วน

ABSTRACT

The project entitled '**Bioenergy and Bioproducts from Wastes of Oil Palm and Palm Oil for Sustainable Development**' aimed to research and develop new products and increase the efficiency of biogas production for palm oil mill. The research work was consisted of 10 subprojects covering the production of bioenergy (hydrogen, methane, biodiesel, ethanol) and bioproducts (organic acid, xylo-oligosaccharide, hydrogel, compost, oil, fatty acid, polymer, polyhydroxyalkanoate, etc.). Palm oil and oil palm wastes (oil palm trunk, oil palm frond, empty fruit bunch, palm pressed fiber, decanter cake, palm oil mill effluent, crude glycerol) were used as feedstock. The research

Subproject 1: Sustainable Conversion of Palm Oil Industrial Wastes to Bioenergy and Biofuels

This research work aimed to produce and/or increase the conversion of palm oil industrial wastes from plantation (felled oil palm trunk (OPT), oil palm frond (OPF)), palm oil mill (palm pressed fiber (PPF), palm oil mill effluent (POME), decanter cake (DC)) and biodiesel plant (crude glycerol) to bioenergy and biofuels (biogas, biohydrogen, biomethane, biohythane (mixture of hydrogen and methane), bioethanol, acetone-butanol-ethanol (ABE)). These objectives were achieved through the research and development on thermophilc (55-60 $^{\circ}$C) fermentation technology, co-digestion (using mixture of different wastes such as POME with DC, POME with para-rubber latex wastewater), two-stage fermentation for hydrogen-methane production (thermophilic-thermophilic, thermophilic-mesophilic condition), optimization studies (medium composition including trace elements and environmental condition), implementation of immobilized cells. Microbial community and strain improvement of the pentose-fermenting yeast including fermenter design for production of hydrogen from POME at high temperature were also carried out. Recently, our most efficient hydrogen producer at high temperature, *Thermoanaerobacterium thermosaccharolitycum* PSU-2, was classified to be a new species based on the data from the whole genome sequencing.

The experimental work of these new findings were published in 8 international papers, 2 submitted manuscripts and one electronic book chapter cited as following.

O-Thong, S. 2016. Microbial Population Optimization for Control and Improvement of Dark Hydrogen Fermentation. *in*: Angela Faustino Jozala (Eds.), Fermentation Process, INTECH 2016, p. 119-144. (ISBN 978-953-51-4825-8).

Keywords: biogas, biohydrogen, biomethane, biohythane, palm oil industrial wastes

Subproject 2: Biocapturing of CO_2 from Biogas and Biodiesel Production using Oleaginous Microalgae

Carbon dioxide (CO_2) is the main greenhouse gas produced during combustion of petroleum fuel and natural gas. Many attempts including physical and chemical treatments have been used to recover CO_2 from atmosphere. In biological approach, microalgae appear more photosynthetically efficient than terrestrial plants and are the candidates as efficient CO_2 fixers. As an extra benefit, microalgal biomass and lipids for energy use are produced after the CO_2 capture by microalgae. Lipids from microalgae mostly accumulated as triglycerides are chemically similar to common plant oils and have been suggested as a high potential source of biodiesel. In this study, *Nannochloropsis* sp. was found to be the most suitable oleaginous microalgae to fix CO_2 from simulated flue gas and produce lipids and pigments. For efficient CO_2 mitigation and lipid production by the microalgae, the synergistic effects of light intensity and photoperiod were investigated. The saturation light intensity was 60 μmol·photon·$m^{-2}s^{-1}$, and with full illumination the biomass obtained was 0.850 ± 0.16 gL^{-1} with a lipid content of 44.7±1.2%. The pigment content increased with increasing light energy supply. Three main operating factors including initial cell concentration, CO_2 content and gas flow rate were mathematically modeled and optimized through Response Surface Methodology. Their interaction effects and optimal levels were successfully determined. The feedings with a low CO_2 content at a high gas flow rate gave the maximum biomass but with low lipid content. After optimization, the biomass and lipid production were increased up to 1.30± 0.103 g·L^{-1} and 0.515±0.010 g·L^{-1}, respectively. The fatty acids of *Nannochloropsis* sp. lipids were mainly C16-C18 indicating its potential use as biodiesel feedstocks.

To date, there are several methods that have been used for harvesting of microalgal biomass such as centrifugation, foam fractionation, filtration, flocculation, and gravity sedimentation. Most commercial systems choose centrifugation or filtration to harvest microalgae. However, the harvesting processes using centrifugation or filtration consume large amounts of energy. The immobilization technology is one of interesting alternative techniques to simplify the separation of microalgal biomass from liquid phase. The immobilized microalgae can be harvested by a simple sieving method without involving huge amounts of energy input. This study also showed that oleaginous microalga *Nannochloropsis* sp. has high potential to be immobilized in alginate gel beads and used for lipid production, phytoremediation of secondary effluent from palm oil mill and CO_2 mitigation. The immobilized cells contributed to removal of nitrogen and phosphorus >90% and CO_2 mitigation >99%. They also gave the biomass and lipid production of 1.30±0.05 g/L and

0.356±0.097 g/L, respectively. The repeated-batch cultivation improved the biomass and lipid production by 2.66 folds and 1.41 folds, respectively. The scale up in 3 L-fluidized bed photobioreactor gave the maximum biomass of 3.280 ± 0.049 g/L and lipid production of 0.362 ± 0.010 g/L. The immobilized cells could be easily harvested by a simple sieving method without involving huge amounts of energy input. This strategy could be a promising biorefinery concept which is effective not only in CO_2 mitigation and removal of pollutants but also low-cost production of renewable energy.

Keywords: carbon dioxide capturing, oleaginous microalgae, lipid, biodiesel, *Nannochloropsis* sp.

Subproject 3: Field biomass modeling: Oil palm biomass availability model for power production in Southern Thailand

This project simulated economic competition scenarios for biomass power plants business in the most oil palm -dense provinces in Southern Thailand. There were two scenarios, namely independent investors where the power plants can be set up anyplace along the main highways and those at the mills, which the mills residues can be incorporate in the fuel supply. For the first scenario, five power plants are feasible with the total capacity of 112 MW. The frond biomass from the plantation must be acquired at not more than 178.98 Baht per ton. However, the most competitive sites for power generation business are three power plant at the mills (scenario 2), where the total capacity of 148 MW could be installed.

Keywords: modeling, oil palm biomass, power plant in Southern Thailand, case study

Subproject 4: Production of organic acids and enzymes from oil palm trunk (OPT)

Oil palm trunk (OPT) and oil palm frond (OPF) are abundant biomass in Southern Thailand. After extraction of sugars (64.59 gL^{-1} OPT sap and 57.68 gL^{-1} OPF sap), their residues (OPTr and OPFr) were used as substrates for production of enzymes by various fungal isolatesthrough solid-state fermentation (SSF) and submerged fermentation (SmF). Among eight strains tested, the isolates TT1, TM3 and TT2 were selected and identified as *Ceratocystis paradoxa*, *Trichoderma koningiopsis* and *Hypocrea nigricans*, respectively. OPTr was a better substrate for enzymes production than OPFr. *C. paradoxa* TT1 gave the highest CMCase (18.16 Unit gds^{-1}) in SmF while *T. koningiopsis* TM3 exhibited the highest xylanase (56.46 Unit gds^{-1}) and FPase (2.13 Unit gds^{-1}) activity in SSF. Enzymatic hydrolysis of OPTr revealed that the maximum reducing sugars (11.92 gL^{-1}) with the yield of 0.48 gg^{-1} was obtained by using the TM3 enzymes at 25 Unit g^{-1} at 50 °C for 15 h. For ethanol production

from the OPTr hydrolysate (without nutrients added), *Saccharomyces cerevisiae* TISTR5055 was more efficient than *Candida shehatae* TISTR5843 and the co-cultures. Two-stage process and simultaneous fermentation using the co-cultures of *S. cerevisiae* and *Acetobacteraceti* were compared. Supplementation of YM nutrients to the OPTr hydrolysate exhibited strong influence on ethanol production (4.10 gL^{-1} at 12 h in two-stage process and 4.01 gL^{-1} at 18 h in simultaneous fermentation) but not acetic acid production.Without nutrients addition, the maximum acetic acid concentrationand productivity (2.12 gL^{-1} at 24 h) were achieved from the simultaneous fermentation of the co-cultures which were 1.7 folds and 4 folds higher than those from the two-stage process (1.23 gL^{-1} at 54 h).

Keywords: Cellulase and xylanase, Oil Palm Residues, Solid-State and Submerged Fermentation, Fungi, Ethanol, Acetic Acid

Subproject 5: Extraction of hemicellulose from empty fruit bunch (EFB) fiber and applications for the production of xylo-oligosaccharide and hydrogel

A sequential two-step treatment with peracetic acid (PA) and alkalinity peroxide (AP) at mild temperatures (20-35 °C) removed more than 98% of the lignin from oil palm empty fruit bunch (EFB) fiber. For each kilogram of EFB fiber treated, 200-250 g of a solids fraction and 120-170 g of a precipitate fraction were recovered after the treatment. Subsequent enzymatic hydrolysis (45 °C, 72h) of the recovered solids (excluding the precipitate) resulted in a glucose yield of 629.8±0.5 g per kg of the original dry EFB biomass. Enzymatic hydrolysis of untreated EFB yielded only 3.0±0.0 g glucose per kg of dry EFB. Therefore, the PA-AP pretreatment enhanced glucose recovery from EFB by nearly 210-fold. The total treatment time was 93 h (a 9 h PA treatment at 35 °C, a 12 h treatment with AP (20 °C, 4% NaOH), 72 h of enzymatic hydrolysis).

Keywords: pretreatment, hemicelluloses, cellulose, EFB fiber, xylo-oligosaccharide

Subproject 6: Utilization of Palm Oil Mill Biomass Residues for Production of Compost

In Thailand, all palm oil mills have been utilized palm pressed fiber (PPF) as boiler feedstock for a long time while the decanter cake (DC) was left unused. Alternative approach for utilization of these residues for production of bioproducts such as compost was proposed. This study was conducted at a palm oil mill to investigate effect of aeration modes on compost making from PPF mixed with DC at the optimum ratio of 1:1. The carbon to nitrogen (C/N) ratio of the mixture was adjusted to 30-40:1 by adding urea. The initial moisture content was adjusted to 50-70% using decanter effluent. The mixed cultures

Supper LDD1 was inoculated to each pile (1 ton/pile). Different aeration modes were applied to the three mixtures piles: no covered aerated pile, covered aerated pile and turning pile. Physical and chemical changes of the composting materials were observed during 60 days fermentation. Temperature increased in all treatments indicating the biodegradation of organic matter in the residues. The C/N ratio of the no covered aerated pile and turning pile met the Compost Standard (C/N < 20:1) within 55 days (19.9:1 and 19.7:1, respectively) but not for the covered aerated pile (22.7:1) even at the end of fermentation (60 days).

Keywords: palm pressed fiber, decanter cake, compost, aeration

Subproject 7: Utilization of palm oil mill effluent for oil recovery and polymer production

Palm oil mill effluent (POME) had the following characteristics; pH 5.05, 120,000 mg/l COD, 47,696 mg/l total solid with 19,066 mg/l suspended solid, 8,550 mg/l total sugar, 1,670 mg/l total phenol, 800 mg/l total nitrogen and contained trace amount of mineral salts. Effects of ethanol to POME ratio and temperature on yield of the biopolymers were studied. Among various ratio examined at room temperature, the ratio of 5.0 gave the highest yield. The biopolymers contained two subunits with the molecular weight (MP) of 1223 (SC-S) and 2525(SC-L) dalton determined by gel filtration chromatography with Sephadex G-25 column eluted by distilled water. The yields of SC-S and SC-L were 65.31% and 12.82%, respectively. The biopolymers were partially purified and studied on some properties. They were soluble in both water and DMSO but insoluble in eight organic solvents tested (acetronitrile, methanol, acetone, propanol, dichloromethane, chloroform, diethyl ether and hexane). Characterization on the biopolymers revealed that they were composed of total sugars at 241.29 and 231.70 mg/l, respectively. Results from HPLC, after acid hydrolysis, revealed that the biopolymers SC-S and the SC-L were composed of glucuronic acid, arabinose and xylose in the amount of 25.60, 43.20and 10.20 mg/g (SC-S) and 10.40, 11.20 and 20.90 mg/g (SC-L), respectively. FT-IR spectra of the two biopolymers showed the presence of hydroxyl, ether, alkane and carbonyl groups which indicated a group of sugar molecule. So they were classified as polysaccharide polymers. The molecular weights (MP) were 1223 and 6431 Da, respectively.

Keywords: palm oil mill effluent, polysaccharides, partial purification, property of polymer

Subproject 8: Separation of free fatty acids (FFA) from crude palm oil using bubble flotation

8.1 Study of N_2 bubbles refining of high free fatty acid crude palm oil at atmospheric pressure

This project was aimed to study effects of sparging of nitrogen (N_2) bubbles in crude palm oil (CPO) at atmospheric pressure and temperatures of 100, 150 and 200 °C. The experiments were performed in a 40 liter-vertical-cylindrical stainless tank with 28 liter-working volume. The CPO temperature was controlled by electronic PID controller equipped with Pt-100 temperature sensor and electric heater. Three small cylindrical-shape air stones were used to generate small N_2 bubbles in CPO with total N_2 flow rate of 2 L/min. With initial temperature about 46.7 °C, CPO was heated to the desired temperatures together with N_2 sparging. The desired temperatures were kept for 4 hours. Samplings were made at the beginning and during the 4 hours of the desired temperatures. Analysis of free fatty acids (FFA), color, peroxide value, moisture and volatile matter were carried out. Results showed that N_2 sparging together with heating at 100 °C and heating at 100 and 150 °C without N_2 sparging could not reduce FFA in CPO, whereas the N_2 sparging at 150 and 200 °C could reduce FFA from 27.94% to 25.21% and 27.88% to 17.19%, respectively. Heating of CPO at 200 °C without N_2 sparging could reduce FFA from 26.52% to 19.48%. For all 3 temperatures, heating together with N_2 sparging made the CPO equally darker since the first 30 minutes of the experiments, which was faster than the case of heating without N_2 sparging. For all experiments, peroxide value (PV) remained constant in the range of 2-5 meqO_2/kg oil. Moisture and volatile matters reduced from 0.2-0.5% to 0.04-0.12% with N_2 sparging and to 0.1-0.28% without N_2 sparging. Dispersion of N_2 bubbles at atmospheric pressure in CPO at temperature above 100 °C helped to reduce moisture and volatile matter, whereas reduction of FFA content in CPO could be achieved at temperature greater than 150 °C. Predictably, efficient separation of FFA can be obtained at temperature above 200 °C. However, the high temperatures make the oil darker.

Key words: high free fatty acid crude palm oil, separation, free fatty acid, nitrogen bubble), heating, atmospheric pressure

8.2 Study of N_2 bubbles refining of high free fatty acid crude palm oil at vacuum pressure

Crude palm oil (CPO) containing 27% free fatty acids (FFA) was sparged with N_2 at temperatures of 100, 150 and 200 °C under vacuum (-700 to -730 mmHg) in order to see ability of N_2 to separate volatile compounds and FFA from CPO. The device consisted of a 40

L stainless steel evaporator filled with 28 L CPO, water cooled condenser, a 2500 W electric heater, a rotary vacuum pump and 3 air stones (cylindrical shape) for N_2 sparging with total N_2 flow rate of 2 L/min. The vacuum pressure in the evaporator were made before N_2 sparging together with oil heating. The desired temperatures were held for 4 hours. Samplings were taken just before and after the experiments. Experiments with non N_2 sparging were made for comparison. The non-N_2 sparging tests showed that %FFA remained constant at 100 °C whereas at 150 and 200 °C, FFA reduced to 24.22% and 15.12%, respectively. The N_2 sparging tests showed that %FFA remained constant at 100 °C whereas at 150 and 200 °C, FFA reduced to 23.91% and 14.19%, respectively. The color of CPO was darker at higher temperatures. Peroxide values (PV) of CPO in case of N_2 sparging at all temperatures were quite stable at 1.70-1.90 mg/kg. While in case of N_2 sparging, PV increased from 1.30 to 4.94 mg/kg oil. The moisture and volatile matters of the three temperatures decreased from 1.75% to 0.08%. These experiments demonstrated that N_2 sparging under vacuum at temperatures above 200 °C have a potential to decrease more FFA. Moisture and volatiles compounds could be reduced at temperature 100 °C. However, vacuumed CPO with and without N_2 sparging showed quite similar results.

Key words: high free fatty acid crude palm oil, separation, free fatty acid, volatile compounds, nitrogen bubble, heating, vacuum pressure

Subproject 9: Production of biodiesel and bio-lubricant from sediment and PHA from supernatant of palm oil mill effluent (POME) using by biological catalyst process

POME is considered as an alternative source for oil because it contained high oil and grease content (5569.82 mg/L). Oil was extracted from POME by the soxhlet method using a mixture of hexane, methanol and acetone. The highest oil and grease content that could be recovered from POME was 4455 mg/L which means that 80% of the oil and grease could be recovered from POME. High FFA in residual oil (27.67%), moisture content of residual oil was 2.20 ± 0.07%. The saponification value of 201.96 ± 0.21 mg KOH/g oil gave the average molecular weight of 833 g/mol.

Biodiesel was produced from POME using by via an enzyme-catalyst. The crude, partial purified (recovered from oil palm fruit at 120 h) and commercial lipase (*Candida rugosa*) was utilized as the catalyst. Each enzyme was dissolved in buffer and the concentration was fixed at 36 U/10 g oil. POME was used as the sole substrate for the transesterification process. Biodiesel yields from all lipase tested in this study were not significantly different. The highest biodiesel yield (91.75 ± 2.51%) was obtained from

commercial lipase-catalyst followed by partial purified lipase (91.04 ± 1.98%) and crude lipase (90.37 ± 1.43%). The lowest biodiesel yield (89.30 ± 2.51%) was achieved from NaOH-catalyst. The optimum condition for biodiesel production from POME using crude lipase containing a 6:1 level of methanol-to-oil using 36 U/10 g oil of lipase under incubation temperature, a mixing speed and reaction time of 35 °C, 200 rpm and 36 h, respectively. 92.07 ± 1.04% of biodiesel yield was achieved under these optimal conditions. Similar yield (92.11 ± 1.54%) was also obtained from commercial lipase under the same condition. Biodiesel from residual oil and crude lipase as the substrate and catalyst was characterized according to ASTM standards. The results show that most properties of biodiesel from crude lipase are acceptable, according to Thai biodiesel and ASTM standards.

Biodiesel was used as the substrate for the bio-lubricant production by transesterification process. The lipase and trimethylolpropane) was utilized as the catalyst. The optimum condition containing a 70 KUnit lipase, 3.5:1 trimethylolpropane to biodiesel ratio, 3% moisture content and under reaction time of 30 °C, 250 rpm and 18 h, respectively. Under these optimal conditions, the maximum bio-lubricant yield reached 83.5%. The bio-lubricant was characterized results show that density of 193 and flash point of 210 °C, the properties of bio-lubricant are acceptable, according to bio-lubricant standards VG32.

Key words: transesterification, palm oil mill effluent, biodiesel, palm oil mill, lipase

Project 10 Utilization of the by-products from bio-fuel production (hydrogen, methane) as the substrate for active compounds or biofuel production

10.1 Biohydrogen production from crude glycerol by two stage of dark and photo fermentation

Hydrogen production from crude glycerol by two-stage processes of dark fermentation using *Klebsiella* sp. TR17 and photo fermentation using *Rhodopseudomonas palustris* TN1 (*Rps. palustris* TN1) was investigated in batch experiments. In dark fermentation, the cumulative hydrogen production and hydrogen yield was 64.24 mmol H_2/L and 5.74 mmol H_2/g COD consumed, respectively with 80.21% of glycerol conversion rate. The dark fermentation effluent (DFE) was employed for photo fermentation. Effect of DFE concentrations (0-5 times dilution), with and without supplementation of yeast extract (2.3 g/L) + $NaHCO_3$ (0.63 g/L), and glutamate (2-8 mM) were optimized. The optimal conditions for hydrogen production from *Rps. palustris* TN1 were 5 times dilution of DFE without the supplement of yeast extract + $NaHCO_3$ and 2 mM glutamate. Under the optimum conditions, the cumulative hydrogen production of 3.12 mmol H_2/L and hydrogen yield of 0.68 mmol

H_2/gCOD consumed was obtained. The total hydrogen yield of two-stage processes was estimated to be 6.42 mmol H_2/g COD consumed which was 10.4% of the theoretical yield.

Keywords: biohydrogen, crude glycerol, dark fermentation, photo fermentation

10.2 Bioactive compounds from *Streptomyces philanthi* RM-1-138

Streptomyces is a genus known for its ability to protect plants against many pathogens and various strains of this bacteria have been used as biological control agents. In this study, the efficacy of *Streptomyces philanthi* RM-1-138, *S. philanthi* RL-1-178, and *Streptomyce mycarofaciens* SS-2-243 to control various strains of *Botrytis cinerea* was evaluated both in vitro and in vivo. In vitro studies using confrontation tests on PDA plates indicated that the three strains of *Streptomyces* spp. inhibited the growth of 41 strains of *B. cinerea*. Volatile compounds produced by *Streptomyces* spp. had an influence on the growth of ten strains of *B. cinerea* while its culture filtrate at low concentration (diluted at 10^{-3}) showed a complete inhibition (100%) of spore germination of *B.cinerea* strain BC1. A significant protection efficacy of tomato against *B. cinerea* was observed on both whole plant test (57.4%) and detached leaf test (60.1%) with *S. philanti* RM-1-138. Moreover, this antagonistic strain had a preventive and a curative effect. These results indicated that *S. philanthi* RM-1-138 may have the potential to control gray mold caused by *B. cinerea* on tomato. Moreover, *S. philanti* RM-1-138 could produced Chitinase and β-1,3 glucanase. Chitinase and β-1,3 glucanase are enzymes that play important roles in the biocontrol of fungal plant pathogens. The effects of environmental conditions and culture medium composition on simultaneous chitinase and β -1,3 glucanase production from *S. philanthi* RM-1-138 were investigated using a conventional (one-factor-at-a-time) method and a response surface methodology (RSM), respectively. The optimum cultivation conditions were at pH 7.5 and a temperature of 30 °C. The optimized medium (4.88 g/l chitin, 6.27 g/l glucose, and 17.05 g/l malt extract) exhibited 53- and 80-fold increase in the activity of chitinase (0.53 U/ml) and β-1,3 glucanase (8.79 U/ml), respectively, compared to the original medium. The culture filtrate from the original and the optimized medium were partially purified and tested (by agar-well diffusion assay) for their antifungal activities against *Rhizoctonia solani* PTRRC-9 compared to the chemical fungicides carbendazim® and propico- nazole® (100 µg/ml). The partially purified enzymes from the optimized medium exhibited 4.0-fold stronger antifungal activities against *R. solani* PTRRC-9 compared to that from the original medium and equal to that of the chemical fungicide propiconazole® but slightly lower than that of carbendazim®.

Keywords: biological control, culture filtrate, chitinase, β -1,3 glucanases, partially purified