



FINAL REPORT

การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไฮโดรเจนจากไฮโดรไลเสทลำต้นปาล์มน้ำมัน
ร่วมกับน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์โดยเชื้อ *Thermoanaerobacterium*

thermosaccharolyticum KKU19

Optimization of hydrogen production with co-substrate of oil palm
trunk hydrolysate and slaughterhouse wastewater by
Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum KKU19

ASSOC. PROF. DR. ALISSARA REUNGSANG

DR.KHANITTHA MOOSOPHIN

SONTAYA KHAMTIB

RESEARCH FUND WAS RECEIVED FROM
NATIONAL RESEARCH COUNCIL OF THAILAND 2556
KHON KHAEN UNIVERSITY

ISBN.....

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาวิธีการเพิ่มปริมาณไฮโดรเจนสะสมสูงสุดจากไฮโดรไลเสตลำดับน้ำปาล์ม น้ำมัน โดย *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* KKU19 โดยใช้น้ำทิ้งโรงฆ่าสัตว์เป็น สับสเตรทร่วม ดังนั้น เพื่อให้บรรลุเป้าหมายของการทดลองจึงได้แปรผันปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อการ ผลิตไฮโดรเจนจากไฮโดรไลเสตลำดับน้ำปาล์มน้ำมันร่วมกับน้ำทิ้งโรงฆ่าสัตว์ โดยในขั้นตอนแรกได้ ใช้วิธี Plackett-Burman คัดกรองปัจจัยหลักที่มีผลต่อการผลิตไฮโดรเจน ซึ่งพบว่า ความเข้มข้นของ เซลล์เริ่มต้น อัตราส่วนซีโอดีทั้งหมด (tCOD) ต่อไนโตรเจนทั้งหมด (TN) และความเข้มข้นของ คอปเปอร์ซัลเฟต มีผลต่อการผลิตไฮโดรเจน จากนั้นได้ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิต ไฮโดรเจนจากไฮโดรไลเสตลำดับน้ำปาล์มน้ำมันร่วมกับน้ำทิ้งโรงฆ่าสัตว์โดยใช้การออกแบบการ ทดลองแบบพื้นผิวตอบสนองร่วมกับการทดลองแบบส 2^4 วนประสมกลาง ผลการทดลองพบว่าค่า ไฮโดรเจนสะสมสูงสุด เท่ากับ 2604 ± 86 มิลลิลิตรไฮโดรเจนต่อลิตรสับสเตรทที่ความเข้มข้นของ เซลล์เริ่มต้น 223.78 มิลลิกรัมเซลล์แห้งต่อลิตร อัตราส่วนของซีโอดีทั้งหมดต่อไนโตรเจนทั้งหมด 49.87 และความเข้มข้นของคอปเปอร์ซัลเฟต 13.33 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งค่าไฮโดรเจนสะสมสูงสุด โดยเฉลี่ยที่ได้มีค่าสูงกว่าค่าไฮโดรเจนสะสมสูงสุดจากการผลิตไฮโดรเจนโดยใช้ไฮโดรไลเสตลำดับ น้ำปาล์มน้ำมันเพียงอย่างเดียวถึง 1.14 เท่า (2289 มิลลิลิตรไฮโดรเจนต่อลิตรสับสเตรท) และพบว่า กรดบิวทิริก และกรดอะซิติก เป็นผลิตภัณฑ์หลักในน้ำหมักของกระบวนการผลิตไฮโดรเจน

คำสำคัญ: *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* KKU19; สับสเตรทร่วม; ลำดับน้ำปาล์ม น้ำมัน; ไฮโดรไลเสต; น้ำทิ้งโรงฆ่าสัตว์; อุณหภูมิสูง

ABSTRACT

Enhancement of hydrogen production potential (P_s) from the oil palm trunk hydrolysate by *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* KKU19 was conducted by co-digestion with a slaughterhouse wastewater. In order to achieve the goal, the key factors affecting a co-digestion of OPT hydrolysate with a slaughterhouse wastewater was investigated. Plackett-Burman method was used to screen the key factors influencing P_s . Results indicated that initial cell concentration, tCOD/TN (total COD/total nitrogen) ratio and CuSO_4 concentration had the influence on P_s and were further optimized using response surface methodology (RSM) with central composite design (CCD). Maximum P_s of 2604 ± 86 mL H_2 /L substrate was achieved at initial cell concentration of 223.78 mg dry cell/L, tCOD/TN ratio of 49.87 and CuSO_4 concentration of 13.33 mg/L. The P_s obtained was approximately 1.14 times higher than the results obtained when only OPT hydrolysate (control) was used as the substrate to produce hydrogen by the strain KKU19 (2289 mL H_2 /L substrate). Main soluble metabolite products were butyric and acetic acids.

Keywords: *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* KKU19; co-digestion; oil palm trunk; hydrolysate; slaughterhouse wastewater; thermophilic.

TABLE OF CONTENTS

	Page
ACKNOWLEDGEMENTS	i
ABSTRACT (THAI)	iii
ABSTRACT (ENGLISH)	iv
TABLE OF CONTENTS	v
LIST OF TABLES	vii
LIST OF FIGURES	viii
CHAPTER I INTRODUCTION	1
1.1 Rationale and Background	1
1.2 Thesis Objectives	3
CHAPTER II LITERATURE REVIEW	4
2.1 Oil palm trunk (OPT)	4
2.2 Hydrogen production from lignocellulosic hydrolysate	5
2.3 Hydrogen production from co-digestion of substrate	6
CHAPTER III MATERIALS AND METHODS	9
3.1 Microorganism	9
3.2 OPT hydrolysate and SHW	9
3.3 Plackett-Burman design	10
3.4 Response surface methodology (RSM)	11
3.5 Batch fermentation	12
3.6 Analytical methods	12
CHAPTER IV RESULTS AND DISCUSSION	14
4.1 Screening of key factors affecting a co-digestion of OPT hydrolysate with SHW	14
4.2 The path of steepest ascent	16
4.3 Effect of the key factors on a co-digestion of OPT hydrolysate with SHW	16
4.4 Optimization and confirmation of the experiment	20

TABLE OF CONTENTS (Cont.)

	Page
CHAPTER V CONCLUSIONS	24
REFERENCES	25

LIST OF TABLES

	Page	
Table 2.1	Composition of OPT	5
Table 2.2	Hydrogen production from lignocellulosic hydrolysate	6
Table 2.3	Hydrogen production from co-digestion of substrate	8
Table 3.1	Characteristics of OPT hydrolysate and SHW	10
Table 3.2	Level of the variables studied in Plackett-Burman design	11
Table 4.1	Plackett-Burman experimental design matrix for evaluating factors influencing P_s	15
Table 4.2	Coefficient, estimated effect and corresponding <i>F-value</i> and <i>p-value</i> in the Plackett-Burman	15
Table 4.3	Experimental design and results of the path of steepest ascent	16
Table 4.4	Central composite experiment design matrix defining initial cell concentration (X_1), tCOD/TN ratio (X_2) and CuSO_4 concentration (X_6) for optimizing the hydrogen production and the corresponding experimental result	17
Table 4.5	ANOVA for the model regression representing P_s in CCD	19
Table 4.6	Confirmation hydrogen production experiment	22
Table 4.7	Comparisons hydrogen production using the hydrolysate of lignocellulosic materials by thermophilic hydrogen producer	23

LIST OF FIGURES

	Page
Figure 4.1	
Response surface plots showing the effect of initial cell concentration (X_1) and tCOD/TN ratio (X_2) (A); the effect of initial cell concentration (X_1) and CuSO_4 concentration (X_6) (B); the effect of tCOD/TN ratio (X_2) and CuSO_4 concentration (X_6) (C) on the hydrogen production.	20

ACKNOWLEDGEMENTS

This research is financially supported by National Research Council of Thailand-Khon Kaen University 2556.