บทคัดย่อ

ชื่อโครงการวิจัย	สภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดแคโรทีนอยด์ และการผลิตบิวทานอลจากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม
ชื่อผู้วิจัย	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กนกพร สังขรักษ์ หน่วยวิจัยชีวโมเลกุลพืช ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ อำเภอป่าพะยอม จังหวัดพัทลุง 93110 โทรศัพท์ 0 7460 9600 ต่อ 2355

ได้รับงบประมาณเงินแผ่นดิน ทุนอุดหนุนการวิจัยประเภท การวิจัยประยุกต์
ประจำปี พ.ศ. 2556-2557 จำนวน 700,000 บาท
ระยะเวลาทำการวิจัย 2 ปี ตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2555 ถึงวันที่ 30 กันยายน 2557

น้ำทิ้งโรงงานปาล์มน้ำมันจัดเป็นของเสียอันตรายที่ปล่อยจากอุตสาหกรรมน้ำมันปาล์ม น้ำทิ้งโรงงานปาล์มน้ำมันเมื่อนำมาศึกษาลักษณะบางประการพบว่า น้ำทิ้งจะมีปริมาณไนโตรเจนต่ำ ในขณะที่จะมีค่า BOD และ COD สูง น้ำทิ้งโรงงานปาล์มและน้ำมันที่ได้จากการสกัดน้ำทิ้งจะถูกนำมาใช้เป็นตัวอย่างในการสกัดแคโรทีน และวิตามินอี เมื่อทำการสกัดน้ำมันจากน้ำทิ้งโรงงานปาล์มด้วยเฮกเซน จะได้ปริมาณน้ำมัน 6.5 กรัม คิดเป็น 75 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณน้ำมันที่สกัดได้เมื่อเทียบกับปริมาณน้ำมันในน้ำทิ้งก่อนการสกัด (8.5 กรัม) สำหรับปริมาณแคโรทีน และวิตามินอีในน้ำมันที่สกัดจากน้ำทิ้งโรงงานปาล์มจะมีปริมาณ 2,050 พีพีเอ็ม และ 650 พีพีเอ็ม ตามลำดับ น้ำมันและน้ำทิ้งจากโรงงานปาล์มจะถูกนำมาแยกแคโรทีน และวิตามินอีด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี สำหรับตัวดูดซับที่ใช้ในคอลัมน์คือซิลิกาเจลซึ่งเตรียมได้จากขี้เถ้าแกลบ เพื่อลดค่าใช้จ่ายในกระบวนการแยกแคโรทีนออกจากน้ำทิ้งโรงงานน้ำมันปาล์ม และใช้ทดแทนซิลิกาทางการค้า เมื่อนำน้ำทิ้งโรงงานปาล์ม และน้ำมันที่สกัดได้มาผ่านคอลัมน์โครมาโทกราฟีจะได้น้ำมันปริมาณ (3-3.5 กรัม) โดยปริมาณน้ำมันที่ได้จะมีค่าไม่แตกต่างกันในตัวอย่างน้ำทิ้ง และน้ำมันที่สกัดจากน้ำทิ้ง แต่เมื่อพิจารณาปริมาณแคโรทีน และวิตามินอี พบว่า ค่าทั้งสองจากน้ำมันที่สกัดจากน้ำทิ้งจะมีปริมาณน้อยกว่าแคโรทีน และวิตามินอีจากน้ำทิ้งโรงงานปาล์ม (1,000 พีพี

เอ็ม และ 367 พีพีเอ็ม ตามลำดับ) ในขณะที่น้ำทิ้งโรงงานปาล์มจะมีปริมาณแคโรทีน (1,800 พีพีเอ็ม) และวิตามินอี (1,000 พีพีเอ็ม) สูง จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่า แคโรทีนสามารถสกัดได้โดยซิลิกาจากเถ้าแกลบ และใช้เฮกเซนเป็นตัวชะ ในขณะที่น้ำมันและวิตามินอีสามารถสกัดได้จากคอลัมน์โดยใช้ตัวชะที่เป็นเอทานอล และเฮกเซน แคโรทีน และวิตามินอีที่สกัดกลับคืนมาได้คิดเป็น 46.51-87.80 เปอร์เซ็นต์ และ 56.46-69.23 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเทียบกับปริมาณเริ่มต้น

ของเสียจากอุตสาหกรรมน้ำมันปาล์ม ได้แก่น้ำทิ้งโรงงานปาล์ม, ทะลายปาล์มเปล่า, กากตะกอนปาล์ม และกะลาปาล์ม ถูกนำมาใช้ในงานวิจัยเพื่อเป็นสารตั้งต้นในการผลิตอะซีโตน-บิวทานอล-เอทานอล ก่อนทดลองของเสียจะถูกนำมาปรับสภาพโดยน้ำทิ้งโรงงานปาล์มจะถูกนำมาหมุนเหวี่ยง และเก็บเฉพาะส่วนใส จากนั้นส่วนใสจะถูกเจือจางให้มีความเข้มข้นร้อยละ 25 ก่อนใช้งาน ในขณะที่ทะลายปาล์มเปล่า, กากตะกอนปาล์ม และกะลาปาล์มจะถูกนำมาปรับสภาพด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที หลังปรับสภาพทะลายปาล์มเปล่า, กากตะกอนปาล์ม และกะลาปาล์มจะมีปริมาณร้อยละ 95, 96 และ 93.1 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) ตามลำดับ การปรับสภาพทำให้ทะลายปาล์ม, กากตะกอนปาล์ม และกะลาปาล์มมีปริมาณลิกนินลดลง และมีปริมาณเซลลูโลสเพิ่มขึ้น ทะลายปาล์มหลังปรับสภาพให้ปริมาณเซลลูโลสสูงสุดเท่ากับร้อยละ 66.2 ของเสียจากอุตสาหกรรมปาล์มที่ปรับสภาพแล้วจะถูกนำมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตอะซีโตน-บิวทานอล-เอทานอล โดยเชื้อ **C. acetobutyricum** จากผลการทดลองพบว่าผลผลิตอะซีโตน-บิวทานอล-เอทานอลจะสูงสุดในอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ที่ประกอบด้วยน้ำทิ้งเจือจาง 180 มิลลิลิตร ที่มีทะลายปาล์มปรับสภาพ 10 กรัม ซึ่งจะให้ผลผลิตอะซีโตน-บิวทานอล-เอทานอลสูงสุดเท่ากับ 3.8 กรัมต่อลิตร (คิดเป็น อะซีโตน 0.1 กรัมต่อลิตร, บิวทานอล 3.5 กรัมต่อลิตร และเอทานอล 0.2 กรัมต่อลิตร) และให้ปริมาณกรดสูงสุด 2.0 กรัม

ต่อลิตร (คิดเป็นกรดอะซิติก 0.8 กรัมต่อลิตร และกรดบิวทิริก 1.8 กรัมต่อลิตร) ในระหว่างการผลิตอะซีโตน-บิวทานอล-เอทานอล พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อจะลดลงจาก 7.0 เป็น 5.5 อันเนื่องมาจากการผลิตกรดระหว่างกระบวนการหมัก (สอดคล้องกับปริมาณกรดอะซิติกและกรดบิวทิริกที่เกิดขึ้น) จากนั้นผลผลิตอะซีโตน-บิวทานอล-เอทานอลจะถูกเก็บเกี่ยวโดยการกลั่น ส่วนสารละลายหลังการกลั่นจะถูกนำมาใช้สำหรับสารตั้งต้นในการผลิตพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอต สารละลายเมื่อนำมาวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ พบว่ามีกรดอะซิติก, กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทิริก เป็นองค์ประกอบในปริมาณ 0.1 กรัมต่อลิตร ซึ่งกรดอะซิติกจัดเป็นสารตั้งต้นสำหรับการผลิตพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอต เมื่อนำสารละลายหลังการกลั่นมาเป็นสารตั้งต้นในการผลิตพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอตโดยเชื้อ **Ralstonia eutrophus** พบว่า เชื้อจะมีการเจริญเติบโตและการผลิตพอลิไฮ ดรอกซีอัลคาโนเอตหลัง 60 ชั่วโมงของการหมัก ใน 6 ชั่วโมงแรกจะมีการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เพียงเล็กน้อย (0.1±0.4 กรัมต่อลิตร) และจะมีปริมาณการผลิตสูงสุดใน 60 ชั่วโมงหลังการหมัก (6.5±0.4 กรัมต่อลิตร) โดยจุลินทรีย์จะผลิตพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตสูงสุด 48.4 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักเซลล์แห้ง เท่ากับ 3.12±0.24 กรัมต่อลิตร เมื่อนำพอลิเมอร์ที่ได้ไปวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีด้วยเครื่องก๊าซโครมาโทกราฟี และ ATR-FTIR สามารถระบุได้ว่าเป็นพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรต โดยเทียบกับพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตมาตรฐาน

คำสำคัญ : แคโรทีน, บิวทานอล, พอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอต, พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรต, อะซีโตน, เอทานอล

ABSTARCT

Palm oil mill effluent (POME), the most harmful waste from palm oil mill was firstly characterized Low nitrogen content with high BOD and COD in the effluent was detected. Carotene and vitamin E were recovered from crude POME and recovered oil of POME. The residual oil recovered from POME using *n*-hexane contained 6.5 g of oil and grease which 75% of oil recovery compared to the original (8.5 g). In addition, the carotene and vitamin E concentration of the extracted oil from POME were 2,050 ppm and 650 ppm, respectively. Thereafter, column chromatography was selected for separation of carotenes and vitamin E from POME and recovered oil of POME. The adsorbent (silica gel) was produced from rice hull ash. The silica product was substituted commercial silica to reduce recovery cost. After column chromatography, the oil content (3-3.5 g) was not significantly observed. However, lower concentration of carotene (1,000 ppm) and vitamin E (367 ppm) was noticed in recovered oil of POME. Crude POME had highest carotene (1,800 ppm) and vitamin E (1,000 ppm) concentration. This suggested that carotene can recover by silica from rice hull ash using *n*-hexane. However, oil and vitamin E were recovered by ethanol and *n*-hexane. The overall carotenes which can recovery from this experiment are 46.51-87.80%. Therefore, 56.46-69.23% of vitamin recovery was also determined compare to the original content (650 ppm).

The palm wastes including palm oil mill effluent (POME), empty fruit bunch (EFB), palm pressed fiber (PPF) and palm kernel shell (PKS) were collected and utilized as substrate for acetone-butanol-ethanol production. The

POME was centrifuge and supernatant was collected and dilute to 25% concentration before used. In the other hand, EFB, PPF and PKS were pretreated with stream explosion at 121^{o}C for 60 min. The EFB, PPF and PKS residues after pretreatment were 95, 96 and 93.1% (w/w), respectively. The pretreatment residues had lower lignin content with high cellulose content. The EFB yield highest cellulose content at 66.2%. Afterward, the ABE was produced from various treatments with different palm wastes. It was found that cultivation of *C. acetobutyricum* under 180 mL of diluted POME with 10 g/L of pretreated EFB gave the maximum ABE was 3.8 g/L (0.1 g/L acetone, 3.5 g/L butanol and 0.2 g/L ethanol) and 2.0 g/L total acids (0.8 g/L acetic acid and 1.2 g/L butyric acid). During cultivation, the pH decreased to a slightly acidic pH (from 7.0 to 5.5) due to the acid production (acetic acid and butyric acid). The ABE production was further recovery by distillation method. The supernatant after distillation was collected for polyhydroxyalkanoate production. Interestingly, the organic acid profiles such as acetic acid, particularly propionic and butyric acid in distilled supernatant were analyzed and presented in the amount of 0.1 g/L. Acetic and butyric present in distilled supernatant are possibly used for polyhydroxyalkanoate production. Maximum growth of *Ralstonia eutrophus*, polyhydroxyalkanoate-accumulating bacteria, was obtained after 60 h cultivation whereas polyhydroxyalkanoate concentration and polyhydroxyalkanoate content showed the same potential as cellular growth. Small amount of polymer (0.1±0.4 g/L) was first detected at 6 h of growth and reached the maximum value at the stationary phase after 60 h (6.5±0.4 g/L).

The maximum PHB in the cells was 48.4% of dry cell weight (DCW) and gave the PHB concentration about 3.12±0.24 g/L. The polymer was identified by gas chromatography and ATR-FTIR to be polyhydroxybutyrate compared with commercial polyhydroxybutyrate.

Keywords: Acetone, Butanol, Carotene, Ethanol, Polyhydroxyalkanoate, Polyhydroxybutyrate