COMPARISON OF VARIOUS CHEMICAL PRETREATMENT METHODS OF LIGNOCELLULOSIC BIOMASS

Ornuma Trisinsub

A Thesis Submitted in Partial Fulfilment of the Requirements
for the Degree of Master of Science
The Petroleum and Petrochemical College, Chulalongkorn University
in Academic Partnership with
The University of Michigan, The University of Oklahoma,
Case Western Reserve University, and Institut Français du Pétrole
2014

I28370120

570051

Thesis Title:	Comparison of Various Chemical Pretreatment Methods of Lignocellulosic Biomass
By:	Ornuma Trisinsub
Program:	Petrochemical Technology
Thesis Advisors:	Assoc. Prof. Apanee Luengnaruemitchai
	Assoc. Prof. Sujitra Wongkasemjit

Accepted by The Petroleum and Petrochemical College, Chulalongkorn University in partial fulfillment of the requirements for the Degree of Master of Science.

..... College Dean
(Asst. Prof. Pomthong Malakul)

Thesis Committee:

.....
(Assoc. Prof. Apanee Luengnaruemitchai)

.....
(Assoc. Prof. Sujitra Wongkasemjit)

.....
(Asst. Prof. Thanyalak Chaisuwan)

.....
(Dr. Ruengsak Thitiratsakul)

ABSTRACT

5571011063: Petrochemical Technology Program
Ornuma Trisinsub: Comparison of Various Chemical Pretreatment Methods of Lignocellulosic Biomass.
Thesis Advisors: Assoc. Prof. Apanee Luengnaruemitchai and Assoc. Prof. Sujitra Wongkasemjit 59 pp.
Keywords: Rice straw/ Ionic liquid pretreatment/ Biobutanol production/ ABE fermentation

Rice straw is one of Thailand's agricultural biomass feedstocks. An effective way to eliminate rice straw is by changing it to biofuel such as butanol. A chemical pretreatment process is usually used to disrupt the complex structure of rice straw to enhance the yield of sugar by hydrolysis step. In this study, 50% concentration of [EMIM][Ac], an alternative chemical pretreatment, was used to pretreat rice straw. The effects of temperature (140, 150, and 160 °C) and time in a microwave (25, 40, and 55 min) were considered to obtain an optimum condition which was found by response surface methodology (RSM). From RSM result, the maximum sugar concentration of 21.58 g/L was derived when rice straw was pretreated at 162 °C and 48 min. And when compared to NaOH (0.5% conc., 140 °C for 15 min) and HNO_3 (2% conc., 100 °C for 7 min) pretreatment, the highest total sugar yield was obtained via NaOH pretreatment (94%) but [EMIM][Ac] pretreatment gave a comparable yield (82.47%) to NaOH pretreatment indicating [EMIM][Ac] has a potential to use in pretreatment process of rice straw. Moreover, pretreated rice straw from each chemicals exhibited the higher surface area, pore diameter and crystallinity index than untreated rice straw due to the removal of lignin and hemicelluloses could enhance enzymatic accessibility to easily hydrolyze cellulose. When hydrolysate from each chemical pretreatments were fermented by *Clostridium beijerinckii* TISTR1461 at 37 °C for 72 h. The highest ABE yield was found in sugar solution from [EMIM][Ac] pretreatment whereas sugar product from HNO_3 pretreatment could not present the ABE product.

บทคัดย่อ

อรอุมา ตรีสินทรัพย์ : การเปรียบเทียบกระบวนการปรับสภาพโดยใช้สารเคมีของชีวมวล (Comparison of Various Chemical Pretreatment Methods of Lignocellulosic Biomass) อ. ที่ปรึกษา: รศ.ดร. อาภาณี เหลืองนฤมิตชัย และ รศ.ดร. สุจิตรา วงศ์เกษมจิตต์ 59 หน้า

ฟางข้าวเป็นวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรในประเทศไทย วิธีกำจัดฟางข้าวที่ให้ประสิทธิผลที่สุดคือการเปลี่ยนฟางข้าวให้เป็นเชื้อเพลิง เช่น บิวทานอล การปรับสภาพโดยใช้สารเคมีจึงมีความสำคัญในการกำจัดโครงสร้างที่ซับซ้อนของฟางข้าวและช่วยเพิ่มประสิทธิผลในการผลิตน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวในกระบวนการย่อยสลายเซลลูโลสโดยเอนไซม์ ในการศึกษานี้ ความเข้มข้น 50% โดยน้ำหนักของ1-เอทิล-3-เมทิล อิมิดาโซเลียมอะซิเตตซึ่งเป็นสารเคมีทางเลือกถูกนำมาใช้ในการปรับสภาพของฟางข้าว โดยสภาวะที่เหมาะสมของอุณหภูมิ (140, 150 และ 160 องศาเซลเซียส) และเวลา (25, 40 และ 55 นาที) ที่ใช้ในการปรับสภาพถูกนำมาพิจารณาในการศึกษานี้ สภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพฟางข้าวที่ให้ผลผลิตน้ำตาลที่มากที่สุดในกระบวนการย่อยสลายเซลลูโลสสามารถหาโดยใช้วิธีการแสดงผลตอบสนองบนโครงร่างพื้นผิวหรือ RSM ซึ่งพบว่าปริมาณน้ำตาลที่มากที่สุดคือ 21.58 กรัมต่อลิตร ภายใต้การปรับสภาพที่อุณหภูมิ 162 องศาเซลเซียส เวลา 48 นาที และเมื่อนำสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพโดยใช้ 1-เอทิล-3-เมทิล อิมิดาโซเลียมอะซิเตตมาเปรียบเทียบกับสภาวะที่เหมาะสมของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ความเข้มข้น 0.5 % โดยน้ำหนัก อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส 15 นาที)และกรดไนตริก (ความเข้มข้น 2 % โดยน้ำหนัก อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส 7 นาที)พบว่า ผลผลิตน้ำตาลที่สูงที่สุด (94%) มาจากการปรับสภาพฟางข้าวโดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ ในขณะที่การปรับสภาพฟางข้าวโดยใช้1-เอทิล-3-เมทิล อิมิดาโซเลียมอะซิเตตให้ผลผลิตที่สามารถเทียบเคียงโซเดียมไฮดรอกไซด์ได้ (82.47%) ซึ่งบ่งชี้ได้ว่า 1-เอทิล-3-เมทิล อิมิดาโซเลียมอะซิเตตมีศักยภาพที่จะนำมาใช้ในกระบวนการปรับสภาพฟางข้าว นอกจากนี้กระบวนการปรับสภาพโดยใช้สารเคมียังช่วยเพิ่มขนาดพื้นผิวและรูพรุนของฟางข้าว และเพิ่มดัชนีความเป็นผลึกเมื่อเทียบกับฟางข้าวที่ไม่ได้ปรับสภาพ เนื่องจากการกำจัดลิกนินและเฮมิเซลลูโลสในฟางข้าวทำให้เอนไซม์สามารถเข้าไปย่อยสลายเซลลูโลสได้ง่ายขึ้น และเมื่อนำสารละลายที่ได้จากการกระบวนการย่อยสลายเซลลูโลสไปหมักโดยใช้จุลินทรีย์ชนิด *Clostridium berjerinckii* TISTR1461 ที่สภาวะที่เหมาะสม (อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 72 ชั่วโมง) พบว่าสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยสลายเซลลูโลสในฟางข้าวที่ปรับสภาพด้วย1-เอทิล-3-เมทิล อิมิดา

โซเลียมอะซิเตตให้ผลผลิตของอะซิโตน-บิวทานอล-เอทานอล (ABE) ที่สูงที่สุด ในขณะที่สารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยสลายเซลลูโลสในฟางข้าวที่ปรับสภาพด้วยกรดไนตริกไม่สามารถผลิตอะซิโตน-บิวทานอล-เอทานอลได้เลย

ACKNOWLEDGEMENTS

Foremost, I would like to express the deepest appreciation to my advisors, Assoc. Prof. Apanee Luengnaruemitchai, Assoc. Prof. Sujitra Wongkasemjit, for the assistance, guidance and dedicated involvement in every step throughout the process in my research and thesis. And I would also like to express my committee members, Asst. Prof. Thanyalak Chaisuwan and Dr. Ruengsak Thitiratsakul, for insightful comments and suggestions.

In addition, I am grateful for the scholarships and funding of the thesis work provided by The Petroleum and Petrochemical College; and by the Center of Excellence on Petrochemical and Materials Technology, Thailand. And I would also like to thank The National Research University Project of CHE and The Ratchadaphiseksomphot Endowment Fund (EN269B) for financial support in my research.

Next, My sincere thanks also goes to Mr. Akarin Boonsombuti, senior in AL group, who always assisted and taught me in the laboratory and my friends in AL group who always listened and helped me in the difficult situations. .

Last but not least, I would like to thank my family for their unconditional support, understanding, encouragement and love.

TABLE OF CONTENTS

		PAGE
Title Page		i
Abstract (in English)		iii
Abstract (in Thai)		iv
Acknowledgements		vi
Table of Contents		vii
List of Tables		x
List of Figures		xi
CHAPTER		
I	**INTRODUCTION**	1
II	**LITERATURE REVIEW**	3
	2.1 Biobutanol Production	3
	2.2 Lignocellulosic Biomass	4
	2.2.1 Cellulose	4
	2.2.2 Hemicellulose	5
	2.2.3 Lignin	6
	2.3 Pretreatment of Lignocellulosic Biomass	7
	2.3.1 Physical Pretreatment	8
	2.3.2 Physico-chemical Pretreatment	9
	2.3.3 Chemical Pretreatment	10
	2.3.4 Biological Pretreatment	17
	2.4 Microwave Technology	18
	2.4.1 Microwave Heating for Chemical Pretreatment	19
	2.5 Enzymatic Hydrolysis	20
	2.6 Response Surface Methodology (RSM)	20
	2.6.1 Full Three-Level Factorial Designs	21

CHAPTER		PAGE
III	**EXPERIMENTAL**	22
	3.1 Materials and Equipment	22
	3.1.1 Materials	22
	3.1.2 Equipment	22
	3.2 Experimental Procedures	23
	3.2.1 Microwave/Ionic Liquid Pretreatment	23
	3.2.2 Microwave/Alkali Pretreatment	25
	3.2.3 Microwave/Dilute Acid Pretreatment	25
	3.2.4 Enzymatic Hydrolysis	25
	3.2.5 Fermentation	25
	3.3 Analytical Methods	26
	3.3.1 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)	26
	3.3.2 Scanning Electron Microscope (SEM)	26
	3.3.3 BET Surface Area Analysis	26
	3.3.4 X-Ray Diffraction (XRD)	27
	3.3.5 Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)	27
	3.3.6 Thermogravimetric Analysis (TGA)	28
	3.3.7 Acetone-Butanol-Ethanol (ABE) Analysis	28
IV	**RESULTS AND DISCUSSION**	29
	4.1 Composition of Rice Straw	29
	4.2 Optimization of the Total Sugar Concentration using Response Surface Methodology (RSM)	30
	4.3 Confirmation of Total Sugar Concentration from Response Surface Methodology (RSM)	32
	4.4 Comparison of Chemical Pretreatment Method of Rice Straw	33
	4.4.1 Total Sugar Concentration	33
	4.4.2 Crystallinity Index by X-Ray Diffraction	34

CHAPTER **PAGE**

4.4.3 Crystallinity Index and Functional Group by Fourier Transform Infrared Spectroscopy 36

4.4.4 Thermal Analysis 38

4.4.5 Surface Morphology 39

4.4.6 Surface Area and Pore Diameter 40

4.5 Comparison of Acetone-Butanol-Ethanol (ABE) Concentration of Pretreated Rice Straw 41

V CONCLUSION AND RECOMMENDATION 45

5.1 Conclusion 45

5.2 Recommendation 45

REFERENCES 46

APPENDICES

Appendix A Retention Time and Calibration Curve of Monomeric Sugar by HPLC 54

Appendix B Retention Time and Calibration Curve of Acetone-Butanol-Ethanol by GC 55

Appendix C Instrument Control Parameters of GC-MS- 56

CURRICULUM VITAE 58

LIST OF TABLES

TABLE		PAGE
2.1	Properties of butanol and other fuels	3
3.1	Code level of each variables	23
3.2	Pretreatment condition of each experimental runs	23
4.1	Composition of untreated rice straw	30
4.2	Experimental design and results of the central composite design of Aqueous-[EMIM][Ac]/Microwave pretreatment	31
4.3	Comparison of theoretical and actual total sugar concentration	32
4.4	Comparison of total sugar concentration by different chemical pretreatment methods	34
4.5	Crystallinity index of rice straw before and after pretreatment	36
4.6	Total crystallinity index of rice straw before and after pretreatment	37
4.7	Surface area and pore diameter of rice straw before and after pretreatment	41
4.8	The ABE yield and productivity of pretreated rice straw at 72 h	42
A1	Retention time of monomeric sugar	54
C1	Instrument control parameters	56
C2	GC-MS analysis of ABE solution from different pretreatment methods of rice straw	57

LIST OF FIGURES

FIGURE		PAGE
2.1	Biobutanol production process	4
2.2	The structures of cellulose	5
2.3	Monomer of hemicelluloses	6
2.4	Types of lignin	7
2.5	Effect of pretreatment of lignocellulosic biomass	8
2.6	Main cations and anions in ILs	13
2.7	Dissolution mechanism of cellulose in [BMIM][Cl]	15
2.8	Comparison of recycling of ionic liquid in ionic liquid alone and ammonia-ionic liquid combined treatment	17
2.9	The temperature profile after 60 sec heated by microwave heating compared to treatment in oil bath	18
2.10	Response surface results	21
2.11	Full three-level factorial design for the optimization of two variables	21
3.1	Schematic of aqueous ionic liquid pretreatment and hydrolysis procedure flow diagram	24
4.1	Response surface for total sugar concentration: effects of temperature and time	32
4.2	Contour plots for total sugar concentration: effects of temperature and time	32
4.3	XRD patterns of untreated rice straw (A), pretreated rice straw by 0.5%NaOH (B), 2%HNO_3 (C) and 50% [EMIM][Ac] (D)	35
4.4	FTIR spectras of untreated rice straw (A), pretreated rice straw by 50% [EMIM][Ac] (B), 0.5%NaOH (C) and 2%HNO_3 (D)	37
4.5	The TGA curves of untreated and three chemicals pretreated rice straw	38
4.6	SEM images of untreated rice straw (A), pretreated rice straw by 50% [EMIM][Ac] (B), 2%HNO_3 (C) and 0.5%NaOH (D)	40

FIGURE **PAGE**

4.7	ABE concentration of chemical pretreated rice straw in fermentation technique	42
4.8	Comparison of butanol and isobutanol pathway	44
A1	Calibration curve of glucose (A) and xylose (B)	54
B1	Calibration curve of acetone (A), ethanol (B) and butanol (C)	55