PREPARATION OF SILK FIBROIN/CELLULOSE WHISKERS BIONANOCOMPOSITE SPONGES FOR YEAST CELL IMMOBILIZATION USED IN CONTINUOUS ETHANOL PRODUCTION BY PACKED BED BIOREACTOR

Sureerat Jampa

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,
and Case Western Reserve University
2013

Thesis Title:	Preparation of Silk Fibroin/Cellulose Whiskers Bionanocomposite Sponges for Yeast Cell Immobilization Used in Continuous Ethanol Production by Packed Bed Bioreactor
By:	Sureerat Jampa
Program:	Polymer Science
Thesis Advisors:	Assoc. Prof. Ratana Rujiravanit
	Prof. Emeritus Seiichi Tokura

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

..... College Dean

(Asst. Prof. Pomthong Malakul)

Thesis Committee:

.....

(Assoc. Prof. Ratana Rujiravanit)

.....

(Prof. Emeritus Seiichi Tokura)

.....

(Prof. Sumaeth Chavadej)

.....

(Asst. Prof. Manisara Phiriyawirut)

ABSTRACT

5472048063: Polymer Science Program
Sureerat Jampa: Preparation of Silk Fibroin/Cellulose Whiskers Bionanocomposite Sponges for Yeast Cell Immobilization Used in Continuous Ethanol Production by Packed Bed Bioreactor
Thesis Advisors: Assoc. Prof. Ratana Rujiravanit and Prof. Emeritus Seiichi Tokura 150 pp.
Keywords: Silk fibroin/ Cellulose whiskers/ Yeast cell immobilization/ Continuous ethanol fermentation

Silk fibroin (SF)/cellulose whiskers (CLWs) bionanocomposite sponges were prepared as a supporting material for yeast cell immobilization for further using in continuous ethanol production. The SF/CLWs bionanocomposite sponges with high porosity were fabricated by freeze-drying a silk fibroin solution containing cellulose whiskers at different SF/CLWs weight ratios. The freeze-dried SF/CLWs sponges were subjected to methanol treatment to increase water stability. Increasing the CLWs content resulted in higher water stability, less shrinkage, and better mechanical properties of SF/CLWs bionanocomposite sponges. In the continuous ethanol fermentation process, the bionanocomposite sponges with a SF/CLWs weight ratio of 50/50 were used to immobilize *Saccharomyces serevisiae burgundy* KY11 yeast cells. The bionanocomposite sponges with the immobilized yeast cells were loaded into the glass column of a packed bed bioreactor. Continuous ethanol fermentation was operated by varying D-glucose concentrations (100, 150, 200 g/l), dilution rates (0.15, 0.20, 0.25 hr^{-1}), and hydraulic retention times (6.87, 5.15, 4.12 hr). The continuous ethanol fermentation with a high concentration of D-glucose, low dilution rate, and high hydraulic retention time resulted in the production of a higher ethanol concentration. At 0.15 hr^{-1} dilution rate and 200 g/l feed glucose concentration, the maximum ethanol production of 51.18 g/l with the volumetric ethanol productivity of 7.68 $gl^{-1}hr^{-1}$ was obtained under continuous ethanol fermentation.

บทคัดย่อ

สุรีรัตน์ จำปา : การเตรียมวัสดุคอมโพสิตที่มีรูพรุนจากไฟโบรอินจากรังไหมที่เสริมแรงด้วยเซลลูโลสวิสเกอร์เพื่อใช้ในการตรึงเซลล์ยีสต์สำหรับการหมักเอทานอลแบบต่อเนื่อง (Preparation of Silk Fibroin/Cellulose Whiskers Bionanocomposite Sponges for Yeast Cell Immobilization Used in Continuous Ethanol Production by Packed Bed Bioreactor) อ. ที่ปรึกษา : รศ. ดร. รัตนา รุจิวานิช และ ศ. ดร. เซอิชิ โทกุระ 150 หน้า

วัสดุคอมโพสิตที่มีรูพรุนซึ่งเตรียมจากไฟโบรอินจากรังไหมผสมกับเซลลูโลสวิสเกอร์ถูกใช้เป็นวัสดุตรึงเซลล์ยีสต์ สำหรับการผลิตเอทานอลแบบต่อเนื่อง วัสดุรูพรุนถูกเตรียมโดยการทำแห้งแบบเยือกแข็งของสารละลายไฟโบรอินจากรังไหมที่ผสมกับเซลลูโลสวิสเกอร์ในอัตราส่วนต่างๆโดยน้ำหนัก วัสดุรูพรุนที่เตรียมได้ถูกจุ่มในสารละลายเมทานอลเพื่อเพิ่มความสามารถในการคงรูปอยู่ในน้ำของวัสดุ นอกจากนี้การเพิ่มปริมาณเซลลูโลสวิสเกอร์ส่งผลทำให้วัสดุสามารถคงรูปอยู่ในน้ำได้ดีขึ้น การหดตัวของวัสดุลดลงและยังช่วยเพิ่มสมบัติเชิงกลของวัสดุอีกด้วย วัสดุคอมโพสิตที่มีรูพรุนในอัตราส่วนของไฟโบรอินจากรังไหม/เซลลูโลสวิสเกอร์เท่ากับ 50/50 โดยน้ำหนัก ถูกใช้เพื่อตรึงเซลล์ยีสต์สำหรับกระบวนการหมักเอทานอลแบบต่อเนื่อง วัสดุรูพรุนที่ตรึงเซลล์ยีสต์ถูกบรรจุในคอลัมน์แก้วเพื่อใช้ในการหมักเอทานอลแบบต่อเนื่องซึ่งความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส (100, 150, 200 กรัมต่อลิตร) อัตราการเจือจาง (0.15, 0.20, 0.25 ต่อชั่วโมง)และระยะเวลาการกักน้ำหมักในระบบ (6.87, 5.15, 4.12 ชั่วโมง) ถูกใช้สำหรับกระบวนการหมักเอทานอล นอกจากนี้ยังพบว่ากระบวนการหมักเอทานอลแบบต่อเนื่องที่มีการใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นสูง อัตราการเจือจางต่ำและมีระยะเวลาการกักน้ำหมักในระบบนานทำให้ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้มีความเข้มข้นสูง การหมักเอทานอลแบบต่อเนื่องที่อัตราการเจือจาง 0.15 ต่อชั่วโมงและความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส 200 กรัมต่อลิตรจะทำให้ได้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 51.18 กรัมต่อลิตรที่ความสามารถในการผลิตเอทานอลเท่ากับ 7.68 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to express my sincere gratitude to my thesis advisors Assoc. Prof. Ratana Rujiravanit and Prof. Emeritus Seiichi Tokura for their sincere assistances, invaluable knowledge, and beneficial techniques. Without their constructive suggestions and knowledgeable guidance in this study, this research would never have successfully been accomplished. I really appreciate in her kindness and would like to sincerely thank here.

Sincere thanks and deep appreciation are also extended to Prof. Sumaeth Chavadej and Asst. Prof. Manisara Phiriyawirut, my thesis examination committee, for their comments and useful suggestions. Moreover, I would like to show my heartfelt thanks to all teachers who have taught me all along.

I am grateful for the scholarship and financial support of Development and Promotion of Science and Technology Talents Project (DPST), the Petroleum and Petrochemical College, Chulalongkorn University, and the Center of Excellence on Petrochemical and Materials Technology, Thailand.

I greatly thank Dr. Chutima Vanichvattanadecha, Dr. Orathai Pornsunthorntawee, my Ratana's seniors, my friends, and all PPC staffs who gave me encouragement and heartfelt assist.

Finally, I would like to express my appreciation to my family for their love, understanding, help, encouragement and support throughout my life.

TABLE OF CONTENTS

CHAPTER **PAGE**

CHAPTER **PAGE**

CHAPTER **PAGE**

LIST OF TABLES

LIST OF FIGURES

FIGURE **PAGE**

FIGURE **PAGE**

FIGURE **PAGE**