PRETREATMENT BY MICROWAVE/ALKALI OF CORN COBS FOR BUTANOL PRODUCTION

Piyathida Ploypradith

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment 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
2011

I 28374551

Thesis Title:	Pretreatment by Microwave/alkali of Corn Cobs for Butanol Production
By:	Piyathida Ploypradith
Program:	Petrochemical Technology
Thesis Advisors:	Asst. 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:

.....
(Asst. Prof. Apanee Luengnaruemitchai)

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

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

.....
(Dr. Ruengsak Thitiratsakul)

ABSTRACT

5271025063: Petrochemical Technology Program
Piyathida Ploypradith: Pretreatment by Microwave/alkali of Corn Cobs for Butanol Production
Thesis Advisors: Asst. Prof. Apanee Luengnaruemitchai and Assoc. Prof. Sujitra Wongkasemjit 69 pp.
Keywords: Corn Cob/ Microwave Technique/ Enzymatic Hydrolysis/ Alkali Pretreatment

Biobutanol can be produced by Acetone–Butanol–Ethanol (ABE) fermentation of lignocellulosic biomass which can be converted into fermentable sugar such as glucose and xylose. The complex structure of lignocellulosic biomass minimizes the enzymatic hydrolysis accessibility. Therefore, a pretreatment step is necessary to enhance enzymatic accessibility by removing lignin and/or hemicellulose, increasing the biomass porosity or reducing the cellulose crystallinity. The purpose of this work is to optimize the conditions of a combined pretreatment of corn cobs using microwave and sodium hydroxide (0.75 % to 3 % (w/v)) in the temperature range of 60 to 120°C. The pretreated corn cobs were then subjected to enzymatic hydrolysis at 50 °C for 48 hours to produce the reducing sugar prior to ABE fermentation. The highest reducing sugar concentration of 45.6 g/L was obtained from the pretreated corn cobs with 2% of sodium hydroxide at 100 °C for 30 minutes. The results indicate that microwave–assisted alkali treatment was an efficient way to improve the enzymatic hydrolysis accessibility of corn cobs.

บทคัดย่อ

ปิยธิดา พลอยประดิษฐ์ : การพรีทรีทเมนท์ซังข้าวโพดด้วยรังสีไมโครเวฟและโซเดียมไฮดรอกไซด์เพื่อใช้ในการผลิตบิวทานอล (Pretreatment by Microwave/alkali of Corn Cobs for Butanol Production) อ. ที่ปรึกษา : ผศ.ดร. อาภาณี เหลืองนฤมิตชัย และ รศ. ดร. สุจิตรา วงศ์เกษมจิตต์ 69 หน้า

เนื่องจากคุณสมบัติของไบโอบิวทานอลซึ่งแสดงให้เห็นถึงความสามารถในการใช้เป็นเชื้อเพลิงสำหรับเครื่องยนต์ในอนาคต ไบโอบิวทางนอลจึงเป็นพลังงานทางเลือกหนึ่งที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในปัจจุบัน อีกทั้งยังสามารถผลิตได้โดยการหมักชีวมวลที่เหลือจากธรรมชาติ โดยเซลลูโลส, เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของชีวมวลจะถูกเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาลที่พร้อมสำหรับการหมัก เช่น กลูโคสและไซโลส หลังจากนั้นจะผ่านกระบวนการหมักด้วยวิธีเอบีอี เพื่อผลิตเป็นไบโอบิวทานอล แต่เนื่องจากโครงสร้างที่ซับซ้อนของชีวมวลที่ทำให้การเข้าถึงของเอนไซม์ในการย่อยสลายลดน้อยลง ดังนั้นขั้นตอนการพรีทรีทเมนท์จึงเป็นขั้นตอนสำคัญในการเพิ่มประสิทธิภาพในการเข้าถึงของเอนไซม์ในการย่อยสลาย โดยการกำจัดลิกนิน และ/หรือ เฮมิเซลลูโลส, เพิ่มปริมาณพื้นที่ผิวของชีวมวล หรือ ลดโครงสร้างที่เป็นผลึกของเซลลูโลสลง ดังนั้นจุดประสงค์ของงานวิจัยนี้คือการหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการพรีทรีทเมนท์ซังข้าวโพดด้วยไมโครเวฟและโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ (0.75 ถึง 3 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก/ปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 60 ถึง 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5, 10, 20 และ 30 นาที ตามลำดับ หลังจากนั้นซังข้าวโพดที่ผ่านกระบวนการพรีทรีทเมนท์จะถูกนำไปย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ซึ่งพบว่าสามารถผลิตน้ำตาลรีดิวส์ได้สูงถึง 42.9 กรัมต่อลิตรจากซังข้าวโพดที่ผ่านการพรีทรีทเมนต์ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก/ปริมาตร ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการพรีทรีทเมนท์ด้วยรังสีไมโครเวฟและโซเดียมไฮดรอกไซด์มีประสิทธิภาพในการเพิ่มประสิทธิภาพในการเข้าถึงของเอนไซม์ในการย่อยสลาย

ACKNOWLEDGEMENTS

First, I would like to take this opportunity to thank Asst. Prof. Apanee Luengnaruemitchai and Assoc. Prof. Sujitra Wongkasemjit for their support and guidance during my master thesis. I would also like to convey thanks to Asst. Prof. Thanyalak Chaisuwan, and Dr. Ruengsak Thitiratsakul who served as my thesis committee.

I am also sincerely thankful to B&C Pulaski Corporation Limited, Novozymes Inc., KI Ethanol Company Limited, and Boon Rawd Brewery Co., Ltd. for providing material support such as corn cob, cellulase enzyme, Saccharomyces cerevisiae yeast, and Beverage Cooler. Their contribution to this thesis work is highly appreciated.

I would also like to thank my classmates, especially Kasid Tangmanasakul, who did research similarly to my thesis for his friendly suggestion and help on my research work.

I am especially thankful to my parents and my sister for their support, encouragement and suggestion to me. Because of them, I have been able to achieve my goals step by step. Their love, understanding, and support always accompany with me as I grow up.

Finally, the author is grateful for the scholarship and funding of the thesis work provided by the Petroleum and Petrochemical College; and the National Center for Petroleum, Petrochemicals, and Advanced Materials. In addition, this work was supported by the Higher Education Research Promotion and National Research University Project of Thailand, Office of the Higher Education Commission (EN269B).

TABLE OF CONTENTS

		PAGE
Title Page		i
Abstract (in English)		iii
Abstract (in Thai)		iv
Acknowledgements		v
Table of Contents		vi
List of Tables		viii
List of Figures		ix
CHAPTER		
I	**INTRODUCTION**	1
II	**LITERATURE REVIEW**	3
III	**EXPERIMENTAL**	23
	3.1 Materials	23
	3.2 Equipments	23
	3.3 Methodology	24
	3.4 Component Analysis of the Biomass Samples	25
	3.5 Crystallinity Measurement	26
	3.6 Surface Characteristics	26
	3.7 Reducing Sugar Analysis	26
	3.8 Monosaccharide Analysis	27
	3.9 Cellulase Activity Analysis	27
	3.10 BET Surface Area Analysis	29
IV	**RESULTS AND DISCUSSION**	31
	4.1 Abstract	31
	4.2 Introduction	32
	4.3 Experimental	33

CHAPTER		PAGE
	4.4 Results and Discussion	36
	4.5 Conclusions	51
	4.6 Acknowledgements	52
	4.7 References	52
V	**CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS**	54
	5.1 Conclusions	54
	5.2 Recommendations	54
	REFERENCES	55
	APPENDICES	59
	Appendix A Analytical Procedures	59
	Appendix B Experimental Data for Chapter 4	66
	CURRICULUM VITAE	69

LIST OF TABLES

TABLE		PAGE
2.1	Properties of n-butanol, ethanol, and gasoline	5
2.2	Lignocellulose contents of some agricultural wastes	6
2.3	Benefits and challenges of microwave processing	11
2.4	Summary of advantages and disadvantages with different methods for lignocellulosic biomass pretreatment	14
2.5	Effects of different pretreatments on physical/chemical composition or structure of lignocellulose	16
4.1	Elemental of corn cobs	36
4.2	Chemical composition of corn cobs	38
4.3	Effect of pretreatment of corn cobs on weight loss	40
4.4	Content of cellulose, hemicellose, and lignin in corn cobs	47
4.5	BET surface area, total pore volume, and average pore diameter of samples	49
4.6	Crystallinity index (%) of untreated and treated corn cobs	49
4.7	Comparison of total sugar concentration obtained from different pretreatment methods	50

LIST OF FIGURES

FIGURE		PAGE
1.1	Schematic of renewable energy share of global final energy consumption in 2008	1
2.1	Schematic of pathways to produce fuels and chemical from biomass	3
2.2	Schematic of variety of fermentation process to produce butanol	4
2.3	Schematic of lignocellulosic biomass	5
2.4	Cellulose structure and hydrogen bond network in cellulose molecules	7
2.5	Monosaccharide represent in hemicellulose.	7
2.6	Structures of monolignols	8
2.7	The electromagnetic spectrum with their applications at various frequencies	9
2.8	Interactions of microwave radiation with materials	10
2.9	Schematic of effect of pretreatment on enzymatic hydrolysis	11
2.10	Schematic of the role of pretreatment	13
2.11	SEM micrographs of rice straw before and after pretreatment in the following form: (a) Transverse section of rice straw before pretreatment (b) Transverse section of rice straw after pretreatment (c) Longitudinal section of rice straw before pretreatment (d) Longitudinal section of rice straw after pretreatments	17
2.12	Mode of action of cellulase enzymes in hydrolysis of cellulose	19
3.1	A CEM (Matthews, NC, USA) MAR-5 HP-500 microwave system	24

FIGURE **PAGE**

3.2	Incubator shaker	25
3.3	Cellulase activity measurement: (a) The substrate was added in sample, blank and standard tube, (b) Preparation of standard curve, and (c) The sample tube was measured to calculate the activity of cellulose	28
3.4	Schematic of pretreatment and hydrolysis procedure flow diagram	30
4.1	TG-DTG curves of corn cobs	37
4.2	Glucose concentration obtained from enzymatic hydrolysis of pretreated corn cob at different conditions (A) 60°C; (B) 80°C; (C) 100°C; (D) 120°C	41
4.3	The total sugar concentration obtained from enzymatic hydrolysis of pretreated corn cob at different conditions (A) 60°C; (B) 80°C; (C) 100°C; (D) 120°C	45
4.4	Glucose concentration and total sugar concentration from enzymatic hydrolysis of pretreated corn cob with 2% NaOH 30 minutes at 100°C (optimum condition)	46
4.5	Scanning electron microscope images of corn cobs. (A) Raw corn cobs without treatment; (B) Corn cobs after pretreatment with 0.75% NaOH at 60°C for 20 minutes; (C) Corn cobs after pretreatment with 0.75% NaOH at 100°C for 20 minutes; (D) Corn cobs after pretreatment with 2% NaOH at 100°C for 30 minutes.	48
4.6	Ethanol production from hydrolyzate of corn cobs pretreated under optimal conditions.	51