

**TWO-STAGE MICROWAVE/CHEMICAL PRETREATMENT PROCESS OF
NAPIER GRASS FOR MONOMERIC SUGAR PRODUCTION**



Sujitra Treeboobpha

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

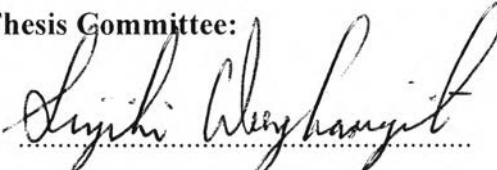
2012

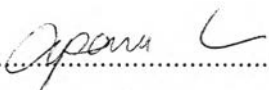
Thesis Title: Two-Stage Microwave/Chemical Pretreatment Process of Napier grass for Monomeric Sugar Production
By: Sujitra Treeboobpha
Program: Polymer Science
Thesis Advisors: Assoc. Prof. Sujitra Wongkasemjit
Assoc. Prof. Apanee Luengnaruemitchai
Asst. Prof. Thanyalak Chaisuwan

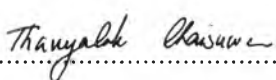
Accepted by The Petroleum and Petrochemical College, Chulalongkorn University, in partial fulfilment of the requirements for the Degree of Master of Science.

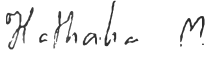

..... College Dean
(Asst. Prof. Pomthong Malakul)


Thesis Committee:


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


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


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


.....
(Asst. Prof. Hathaikarn Manuspiya)


.....
(Asst. Prof. Bussarin Ksapabutr)

ABSTRACT

5372026063: Polymer Science Program

Sujitra Treeboobpha: Two-Stage Microwave/Chemical Pretreatment Process of *Napier grass* for Monomeric Sugar Production.

Thesis Advisors : Assoc. Prof. Sujitra Wongkasemjit, Assoc. Prof.

Apanee Luengnaruemitchai, and Asst. Prof. Thanyalak Chaisuwan,

79 pp.

Keywords: *Napier grass* / Microwave irradiation/ Two-stage pretreatment

Disruption of the lignocellulosic structure of biomass by pretreatment plays a key role in producing bioethanol from lignocelluloses. A microwave pretreatment method using different catalysts, H₂SO₄, H₃PO₄, NH₄OH, and NaOH, was investigated. The pretreatment was performed at (0.5, 1, 2, 3, 4, and 5) % w/v concentrations while temperatures were studied in ranges of 40°C to 160 °C for alkaline pretreatment and 60°C to 160 °C for acid pretreatment. Pretreatment times were also performed at 5 min to 60 min. Three different liquid-to-solid ratios (15:1, 30:1 and 45:1) were also studied in the pretreatment. *Napier grass* was used as a raw material. Each catalyst provided different optimal conditions to produce amounts of monomeric sugars (30.93, 24.99, 6.19 and 6.15 g/100 g biomass) when treated with H₂SO₄, H₃PO₄, NH₄OH, and NaOH, respectively. In addition, optimal conditions for two-stage pretreatment provided the high total monomeric sugar yields 40.16 and 45.28 for microwave-assisted NH₄OH followed by H₂SO₄ and microwave-assisted NaOH followed by H₂SO₄, respectively. The structural change of the pretreated *Napier grass* was elucidated using Fourier transform infrared spectroscopy.

บทคัดย่อ

นางสาว สุจิตรา ศรีบุบผา : กระบวนการปรับสภาพสองขั้นตอนของพีชเนเปียร์ ด้วยรังสีไมโครเวฟและสารเคมีเพื่อการผลิตน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (Two-Stage Microwave/Chemical Pre-treatment Process of *Napier grass* for Monomeric Sugar Production) อ. ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร. สุจิตรา วงศ์เกษมจิตต์ รองศาสตราจารย์ ดร. อาภาณี เหลืองนฤมิตชัย และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธัญญลักษณ์ ฉายสุวรรณ 79 หน้า

การทำลายโครงสร้างลิกโนเซลลูโลสจากชีวมวลโดยการปรับสภาพ มีบทบาทสำคัญในการผลิตเอทานอลจากพีช มีการศึกษาวิธีการปรับสภาพโดยใช้ไมโครเวฟและตัวเร่งปฏิกิริยาที่แตกต่างกัน ได้แก่ กรดซัลฟูริก, กรดฟอสฟอริก, แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์, โซเดียมไฮดรอกไซด์ กระบวนการปรับสภาพได้ศึกษาที่ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3, 4, และ 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ในขณะที่อุณหภูมิการศึกษาอยู่ในช่วงของ 40 ถึง 160 องศาเซลเซียสสำหรับการปรับสภาพด้วยด่าง และ 60 ถึง 160 องศาเซลเซียสสำหรับการปรับสภาพด้วยกรด เวลาที่ใช้ในการศึกษา 5 ถึง 60 นาที อัตราส่วนของเหลวต่อของแข็งที่ศึกษาคือ 15:1, 30:1 และ 45:1 โดยใช้หญ้าเนเปียร์เป็นวัตถุดิบ ปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวสูงสุด (30.93, 24.99, 6.19 และ 6.15 กรัม/100 กรัมของกรัมชีวมวล) ที่สามารถผลิตได้เมื่อใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาด้วยกรดซัลฟูริก, กรดฟอสฟอริก, แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ และโซเดียมไฮดรอกไซด์ ตามลำดับ นอกจากนี้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการปรับสภาพสองขั้นตอนที่ให้ผลผลิตที่น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่มีปริมาณสูงคือ 40.16 กรัม/100 กรัมของกรัมชีวมวล เมื่อใช้ไมโครเวฟร่วมกับแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ตามด้วยกรดซัลฟูริกและ 45.28 กรัม/100 กรัมของกรัมชีวมวล เมื่อใช้ไมโครเวฟร่วมกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ ตามด้วยกรดซัลฟูริก การเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างเคมีทั้งก่อนและหลังกระบวนการบำบัดของหญ้าเนเปียร์ ศึกษาโดยใช้วิธีฟูเรียทรานสฟอร์มสเปคโตรสโคปี

ACKNOWLEDGEMENTS

The author would like to take this opportunity to thank Assoc. Prof. Sujitra Wongkasemjit, Assoc. Prof. Apanee Luengnaruemitchai, Asst. Prof. Thanyalak Chaisuwan, Ph. D. Students, all of my friends, and staffs for their kind assistance, creative suggestion, and encouragement. The author had enjoyable time working with all of them. The acknowledgments would not be complete without saying how much I appreciate the warm support I have received from my family.

Finally, the author is grateful for the scholarship and funding of the thesis work provided by the Ratchadapisake Sompote Fund, Asahi Glass Foundation, and the Center of Excellence on Petrochemical and Materials Technology.

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 Figure	xi
CHAPTER	
I INTRODUCTION	1
II LITERATURE REVIEW	3
2.1 The Composition of Lignocellulosic Biomass	3
2.1.1 Cellulose	4
2.1.2 Hemicellulose	7
2.1.3 Lignin	9
2.2 Ethanol Conversion Process	12
2.3 Pretreatment of Lignocellulosic Biomass	13
2.3.1 Physical Pretreatment	15
2.3.2 Chemical Pretreatment	16
2.3.3 Microwave Pretreatment	20
III EXPERIMENTAL	24
3.1 Materials	24
3.2 Equipment	24
3.3 Methodology	25

CHAPTER	PAGE
3.3.1 Biomass Preparation	25
3.3.2 Compositional Analysis	25
3.3.3 Pretreatment	27
3.3.4 Composition Analysis of The Prehydrolysates	28
IV RESULTS AND DISCUSSION	30
4.1 Raw Material Composition	30
4.2 Optimization of Microwave-Assisted Alkali Pretreatment	31
4.2.1 Effect of Time and Temperature	31
4.2.2 Effect of Alkali Concentration	34
4.2.3 Effect of Liquid-to-Solid Ratio (LSR)	35
4.3 Optimization of Microwave-Assisted Acid Pretreatment	36
4.2.1 Effect of Time and Temperature	36
4.2.2 Effect of Acid Concentration	40
4.2.3 Effect of Liquid-to-Solid Ratio	42
4.4 Two-stage Pretreatment	43
4.5 Effect of Pretreatment on Chemical Composition	44
4.6 FT-IR Analysis	46
4.7 Solid loss (%) and pH	48
V CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS	53
REFERENCES	54
APPENDIX	60
CURRICULUM VITAE	82

LIST OF TABLES

TABLE		PAGE
2.1	Cellulose, hemicellulose, and lignin contents in common agricultural residues and wastes	4
2.2	Comparison of advantages and disadvantages of different pre-treatment options for lignocellulosic materials	15
4.1	Chemical composition of <i>Napier grass</i>	29
4.2	Chemical composition of the solid residues from each treatment	43
A1	Peak areas and retention times of standard glucose	59
A2	Peak areas and retention times of standard xylose	58
A3	Peak areas and retention times of standard arabinose	58
B1	Momomeric sugar yields of <i>Napier grass</i> hydrolyzed with 0.5 % (w/v) NaOH using 15:1 LSR under different times and temperatures (g sugar/100 g biomass)	61 62 63
B2	Monomeric sugar yields of NaOH-pretreated <i>Napier grass</i> using 15:1 LSR at 60 °C for 10 min with different NaOH concentrations (g sugar/100 g biomass)	63
B3	Monomeric sugar yields of <i>Napier grass</i> using 0.5 % (w/v) NaOH at 60 °C for 10 min with different LSRs (g/100 g biomass)	63
B4	Momomeric sugar yields of <i>Napier grass</i> hydrolyzed with 0.5 % (w/v) NH ₄ OH using 15:1 LSR under different times and temperatures (g sugar/100 g biomass)	65
B5	Monomeric sugar yields of NH ₄ OH-pretreated <i>Napier grass</i> using 15:1 LSR at 60 °C for 30 min with different NH ₄ OH concentrations (g sugar/100 g biomass)	65

TABLE	PAGE	
B6	Monomeric sugar yields of <i>Napier grass</i> using 0.5 % (w/v) NH ₄ OH at 60 °C for 30 min with different LSRs (g/100 g biomass)	65
B7	Momomeric sugar yields of <i>Napier grass</i> hydrolyzed with 0.5 % (w/v) H ₂ SO ₄ using 15:1 LSR under different times and temperatures (g sugar/100 g biomass)	66
B8	Monomeric sugar yields of H ₂ SO ₄ -pretreated <i>Napier grass</i> using 15:1 LSR at 160 °C for 15 min with different H ₂ SO ₄ concentrations (g sugar/100 g biomass)	67
B9	Monomeric sugar yields of <i>Napier grass</i> using 1.0 % (w/v) H ₂ SO ₄ at 160 °C for 15 min with different LSRs (g/100 g biomass)	68
B10	Momomeric sugar yields of <i>Napier grass</i> hydrolyzed with 0.5 % (w/v) H ₃ PO ₄ using 15:1 LSR under different times and temperatures (g sugar/100 g biomass)	68
B11	Monomeric sugar yields of H ₃ PO ₄ -pretreated <i>Napier grass</i> using 15:1 LSR at 140 °C for 15 min with different H ₃ PO ₄ concentrations (g sugar/100 g biomass)	70
B12	Monomeric sugar yields of <i>Napier grass</i> using 1.0 % (w/v) H ₃ PO ₄ at 140 °C for 30 min with different LSRs (g/100 g biomass)	70
C1	% Weight loss and pH of <i>Napier grass</i> hydrolyzed with 0.5 % (w/v) NaOH using 15:1 LSR under different times and temperatures	71
C2	%Weight loss and pH of <i>Napier grass</i> hydrolyzed with 0.5 % (w/v) NH ₄ OH using 15:1 LSR under different times and temperatures	72
C3	Weight loss and pH of <i>Napier grass</i> hydrolyzed with 0.5 % (w/v) H ₂ SO ₄ using 15:1 LSR under different times and temperatures	74
C4	% Weight loss and pH of <i>Napier grass</i> hydrolyzed with 0.5 % (w/v) H ₃ PO ₄ using 15:1 LSR under different times and temperatures	75

TABLE		PAGE
D1	The amount of H ₃ PO ₄ using 15:1 LSR and optimal pretreatment time at the each temperature (g/100g biomass)	77
D2	The amount of H ₃ PO ₄ using 15:1 LSR at 140 °C for 30 min with different H ₃ PO ₄ concentrations (g sugar/100 g biomass)	77
D3	The amount of H ₃ PO ₄ using 1.0 % (w/v) H ₃ PO ₄ at 140 °C for 30 min with different LSRs (g/100 g biomass)	78

LIST OF FIGURES

FIGURE		PAGE
2.1	Representation of lignocellulose structure showing cellulose, hemicellulose	4
2.2	Illustration of a cellulose chain	5
2.3	Schematic structure of corn fiber heteroxylan	7
2.4	Model for corn fiber cell walls	8
2.5	Phenyl propene unit	9
2.6	The structure of softwood lignin	11
2.7	Schematic representation of the cellulase enzymes over the cellulose structure	13
2.8	Schematic of the role of pretreatment in the conversion of biomass to fuel	14
2.9	FTIR spectra of raw rice straw and pretreated solid residues.	19
2.10	The temperature profile after 60 sec	21
4.1	Effect of NaOH concentration on the release of monomeric sugars of NaOH- pretreated <i>Napier grass</i>	31
4.2	Effect of NH ₄ OH concentration on the release of monomeric sugars of NH ₄ OH- pretreated <i>Napier grass</i>	32
4.3	The comparison of the total yield of monomeric sugars at different temperatures and times using 0.5 % w/v of NaOH and NH ₄ OH	33
4.4	Effect of NaOH and NH ₄ OH concentrations on the release of monomeric sugars of pretreated <i>Napier grass</i>	34
4.5	Effect of LSR on the release of the monomeric sugars using NaOH and NH ₄ OH	35

FIGURE		PAGE
4.6	Effect of H ₂ SO ₄ concentration on the release of monomeric sugars of H ₂ SO ₄ - pretreated <i>Napier grass</i>	37
4.7	Effect of H ₃ PO ₄ concentration on the release of monomeric sugars of H ₃ PO ₄ - pretreated <i>Napier grass</i>	38
4.8	The comparison of the total yield of monomeric sugars at different temperatures using 0.5 % w/v of H ₂ SO ₄ and H ₃ PO ₄	39
4.9	Effect of H ₂ SO ₄ and H ₃ PO ₄ concentration on the release of monomeric sugars of pretreated <i>Napier grass</i>	40
4.10	Effect of LSR on the release of the monomeric sugars of H ₂ SO ₄ and H ₃ PO ₄	41
4.11	The effect of pretreatment processes on the release of monomeric sugar yields of <i>Napier grass</i>	42
4.12	FTIR spectra of (A) raw <i>Napier grass</i> , (B) microwave-assisted alkali, (C) microwave-assisted acid, and (D) Two-stage pretreated <i>Napier grass</i>	46
4.13	The % solid loss of <i>Napier grass</i> after pretreatment	47
4.14	The pH of <i>Napier grass</i> hydrolysate	48
4.15	Hydrolysis of cellulose in acidic media	49
4.16	Alkaline cleavage of α-aryl ether bonds	50
4.17	Alkaline cleavage of β-aryl ether bonds	50
A1	Relationship between peak area and glucose concentration	59
A2	Relationship between peak area and xylose concentration	59
A3	Relationship between peak area and arabinose concentration	60