PRODUCTION OF BIOETHANOL FROM THAI GRASSES

Tidarat Komolwanich

A Dissertation Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Doctor of Philosophy
The Petroleum and Petrochemical College, Chulalongkorn University
in Academic Partnership with
The University of Michigan, The University of Oklahoma,
and Case Western Reserve University
2016

Thesis Title:	Production of Bioethanol from Thai Grasses
By:	Tidarat Komolwanich
Program:	Polymer Science
Thesis Advisors:	Assoc. Prof. Sujitra Wongkasemjit
	Assoc. Prof. Thanyalak Chaisuwan

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

..... College Dean

(Asst. Prof. Pomthong Malakul)

Thesis Committee:

....

(Asst. Prof. Pomthong Malakul) (Assoc. Prof. Sujitra Wongkasemjit)

....

(Assoc. Prof. Thanyalak Chaisuwan) (Assoc. Prof. Apanee Luengnaruemitchai)

.....

(Asst. Prof. Bussarin Ksapabutr)

ABSTRACT

5592001063: Polymer Science Program
Tidarat Komolwanich: Production of Bioethanol from Thai Grasses.
Thesis Advisors: Assoc. Prof. Sujitra Wongkasemjit, and Assoc. Prof. Thanyalak Chaisuwan 166 pp.
Keywords: Bioethanol production/ Lignocellulosic biomass/ Two-stage pretreatment/ Microwave irradiation/ *Saccharomyces cerevisiae*

Two-stage microwave pretreatment (microwave/NaOH pretreatment followed by microwave/H_2SO_4 pretreatment) successfully released monomeric sugars from various types of Thai grasses, namely, Mission grass (*Pennisetum polystachyon*), Kans grass (*Saccharum spontaneum*), Giant reed (*Arundo donax*), and Tiger grass (*Thysanolaena maxima*). The optimum conditions of the pretreatment were investigated, and the maximum monomeric sugar yields were compared. The microwave-assisted NaOH and H_2SO_4 pretreatments with 15:1 liquid-to-solid ratio were studied by varying chemical concentration, reaction temperature, and reaction time to optimize the amount of the monomeric sugars. The changes in structure of grasses were characterized using fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and scanning electron microscope (SEM). Of all grasses studied, the one giving the most amount of monomeric sugar was chosen to study the ethanol production. After the grass underwent through the two-stage pretreatment, it was subjected to enzymatic hydrolysis. Glucose, the source of ethanol fermentation, was obtained after the hydrolysis process. The grass hydrolyzate was overlimed at various pHs; and then sodium sulfite was added to remove inhibitory compounds and degradation products, such as furfural and hydroxymethylfurfural. Yeast population count was studied under a microscope. The change of glucose concentration in the hydrolyzate was detected by high performance liquid chromatography (HPLC), and the production of ethanol was determined using gas chromatography (GC).

บทคัดย่อ

ธิดารัตน์ โกมลวานิช: การผลิตเอทานอลเพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิงจากหญ้าไทย (Production of Bioethanol from Thai Grasses) อ. ที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์ ดร. สุจิตรา วงศ์เกษมจิตต์ และรองศาสตราจารย์ ดร. ธัญญลักษณ์ ฉายสุวรรณ์ 166 หน้า

กระบวนการปรับสภาพพืชสองขั้นตอนด้วยรังสีไมโครเวฟและสารเคมีที่ใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาสามารถนำมาใช้ปรับสภาพพืชเพื่อสกัดน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวจากหญ้า โดยในงานวิจัยนี้ได้นำตัวอย่างหญ้าไทย ได้แก่ หญ้าขจรจบดอกเล็ก หญ้าดอกเลา ด้นอ้อ และหญ้าก๋ง มาใช้ในการศึกษา เนื่องจากมีสัดส่วนน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวสูงที่สุด โดยในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาสภาวะของกระบวนการปรับสภาพพืชสองขั้นตอนด้วยรังสีไมโครเวฟและสารเคมีที่ใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ที่อัตราส่วนของเหลวต่อของแข็ง 15:1 และทำการศึกษาผลของอุณหภูมิ เวลา และความเข้มข้นของตัวเร่งปฏิกิริยา เพื่อหาสภาวะที่ดีที่สุดที่สามารถสกัดน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวจากหญ้า โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดและเทคนิคฟูเรียทรานสฟอร์มสเปคโตรสโคปี ศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางกายภาพและทางเคมีของตัวอย่างหญ้าจากกระบวนการปรับสภาพพืช และหญ้าที่สามารถสกัดน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวปริมาณมากที่สุดถูกนำมาศึกษาการผลิตเอทานอล ซึ่งหลังจากตัวอย่างหญ้าผ่านขั้นตอนการปรับสภาพพืช น้ำหมักจากหญ้าจะนำมาใช้ในขั้นตอนการย่อยสลายเซลลูโลสเพื่อให้ได้กลูโคสโดยการใช้เอนไซม์ และการหมักเพื่อผลิตเอทานอลด้วยยีสต์ โดยทำการศึกษาผลของค่าความเป็นกรดด่างที่ส่งผลต่อการกำจัดสารยับยั้งการผลิตเอทานอลด้วยยีสต์ ผลของค่าความเป็นกรดด่าง เวลา และสายพันธุ์ของยีสต์เพื่อหาสภาวะที่ดีที่สุดในการผลิตเอทานอล การเปลี่ยนแปลงของประชากรของยีสต์ ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสและเอทานอลถูกนำมาศึกษาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ ไฮเปอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโตกราฟี และก๊าซโครมาโตกราฟี ตามลำดับ

ACKNOWLEDGEMENTS

Firstly, I would like to gratefully give thanks to my research advisor, Assoc. Prof. Sujitra Wongkasemjit, who is the major part of my success. She provides not only opportunities but also encouragement, valuable advice, and motivation. Moreover, I would like to especially thank her for believing in me. In my view, she is more than an advisor. She is like a mother who wants to see the success of her children.

I would like to sincerely thank another research advisor, Assoc. Prof. Thanyalak Chaisuwan who inspires, assists, and guides me when I face the problems. I wish to thank my thesis committee, Asst. Prof. Pomthong Malakul, Assoc. Prof. Apanee Luengnaruemitchai and Asst. Prof. Bussarin Ksapabutr, for their suggestion.

Another important part of my success is my colleague team: Sirirat Prasertwasu, Patomwat Tatijarern, and Darin Khumsupan. They are an excellent teamwork with sharing and supporting each other, advice, joyfulness, happiness, and great friendship. Nevertheless, they also gave me a valuable experience and good memories.

I would like to specially thank Dr. Rujirat Longloilert, Dr. Thitirat Inprasit, and Chayanaphat Chokradjaroen who always give me guidance, inspired idea, and great assistance. Furthermore, I would like to also thank Nuntapron Trisinsomboon for her help and kindness.

I am grateful for the partial scholarship and partial funding of the thesis work provided by the Petroleum and Petrochemical College; and the Excellence Center for Petrochemicals and Materials Technology, Chulalongkorn University.

I am genuinely thankful to Sureerat Jampa and Ratchadawan Yokubon who always cheer me up throughout my study for Ph.D. They provided kindness, helpful advice, great motivation, and powerful encouragement. Many thanks go to them for supporting me.

Lastly, I would like to praise my parents for their sacrifice, understanding, unconditioned love, gentle support, and powerful inspiration. They are the most significant part of this achievement.

TABLE OF CONTENTS

CHAPTER PAGE

CHAPTER PAGE

LIST OF TABLES

TABLE **PAGE**

CHAPTER VII

LIST OF FIGURES

FIGURE **PAGE**

CHAPTER IV

FIGURE **PAGE**

CHAPTER V

FIGURE **PAGE**

CHAPTER VI

FIGURE **PAGE**

FIGURE **PAGE**

CHAPTER VII