BIOREFINERY OF CASTOR SEED FOR SEPARATION OF OIL, PROTEIN AND CARBOHYDRATES TO PRODUCE VALUE ADDED PRODUCTS

BHUSHAN DOLE

CENTRE FOR RURAL DEVELOPMENT AND TECHNOLOGY

INDIAN INSTITUTE OF TECHNOLOGY DELHI

DECEMBER 2024

BIOREFINERY OF CASTOR SEED FOR SEPARATION OF OIL, PROTEIN AND CARBOHYDRATES TO PRODUCE VALUE ADDED PRODUCTS

by

BHUSHAN DOLE

CENTRE FOR RURAL DEVELOPMENT AND TECHNOLOGY

Submitted

In fulfilment of the requirements of the degree of doctor of philosophy

to the

INDIAN INSTITUTE OF TECHNOLOGY DELHI

DECEMBER 2024

CERTIFICATE

This is to certify that the thesis entitled "**Biorefinery of Castor Seed for Separation of Oil, Protein, and Carbohydrates to Produce Value Added Products**", being submitted by **Mr. Bhushan Dole** to the Indian Institute of Technology Delhi for the award of "**Doctor of Philosophy**" is a record of bonafide research work carried out by him. He has worked under my guidance and supervision and has fulfilled the requirements for the submission of this thesis. To the best of my knowledge, the results contained in this thesis have not been submitted in part or full to any other university or institute for the award of any degree or diploma.

Dr. Satya Narayan Naik
Professor (Emeritus)
Centre for Rural Development and
Technology
Indian Institute of Technology Delhi
New Delhi-110016

Acknowledgement

A mentor or a guide is one who nurtures, teaches, and gives directions to a student to find the right path for climbing the ladder of success. The technical and emotional support of a guide is always necessary to complete this long and exhilarating journey of Ph. D. I express my gratitude to all the individuals who helped me through this journey.

I would like to say that I was very grateful to Center for Rural Development, IIT Delhi for giving me this opportunity. I want to thank and express my deepest gratitude Prof. S. N. Naik, my guide, my mentor for his encouragement, direction, and inspiration for completing the thesis work successfully. His positive attitude towards my work has always been to make it more presentable, understandable, and complete my work with utmost care. I would also like to thank my SRC Members, Prof. Satyawati Sharma, Prof. K.K. Pant, and Prof. J. K. Sahu, for their astute and insightful recommendations and comments during my thesis work which strengthen my thesis work.

I would like to thank my seniors, Dr. D. K. Saxena, Dr. Madhumita Patel, Dr. N. K. Sahoo, Dr. Rachana Jain, Dr Mamta Tandon, Dr. Neeraj Awasthi, Dr. Swapnil Jaiswal, Dr. Sangram Satpathy, Dr. Lopa Pattnaik, Dr. Chandrakant Sarkar for their guidance and teaching me the instruments which helped me through my thesis. I express my sincere thanks towards my labmates Dr. Shreya Tripathi, Dr. Vidhi Bhimjiyani, Dr. Smriti Kala, Dr. Falguni Pattnaik, Dr. Nidhi Hans, Dr. Sagar Dhanushkar, Dr. Amreeta, and Ms. Divya during the thesis journey. I would like to thank Mr. Mewa Lal for his utmost support and co-operation.

Finally, a heartful thanks to my wife, Mrs. Madhurima Pandit for her patience, understanding, and support in this long journey of Ph. D. and life. I would like to thank my parents, sister and all family members for their blessings and support during all phases of my life.

Abstract

Castor is a plant found in arid regions of India, China, Brazil, etc. India is the largest producer and exporter of castor seed. The various products obtained from castor seed like oil, lubricants, deoiled cake, etc. With the growing need for sustainability and adaptation for green and ecological processes for extraction, production, and isolation of bioactive components from plants can be used for industrial expansion. This study includes the characterization and valorization of waste generated during this process. The research is based on the biorefinery concept of Castor seed bioactive compounds. India is a major producer of castor seed, but this agricultural source is underutilized.

This study includes the characterization and valorization of castor seed for oil, protein, and carbohydrates. The study includes the development of a green process to produce pharmaceutical and cosmeceutical grade oil, an emulsifier for industrial and cosmeceutical applications in the form of MG (Mono Glyceride) Ricinoleate. The castor protein consists of ricin as a toxic substance that remains underutilized as waste or fertilizer. Therefore, the thesis includes the isolation of protein by Sub Critical Water (SCW) Treatment Process and detoxification by high-pressure treatment. Carbohydrate fraction of the seed and cake after extraction is used in conversion to bioethanol.

In the current scenario, castor seed is subjected to mechanical extraction by using conventional mechanical extraction followed by solvent extraction to isolate the oil, and waste generated in form of deoiled cake in solvent extraction industries are generally underutilized and therefore brought to use as biofertilizer. Castor oil which is extracted using solvent or mechanical extraction is used for lubricant purposes.

In the present study, the castor seed is utilized for the extraction of oil in non-conventional and greener processes like Sub-Critical Water Treatment, Aqueous Extraction, and Enzyme Assisted Aqueous Extraction methods. Current practices of using hazardous solvents for the extraction of oil fuels pollute the environment and are toxic in nature. The utilization of water as a universal solvent for the extraction of oil with the maximum possible yield aims at a greener process for industry. The Oil extracted deoiled cake contains huge amount of protein (approximately 20-40 %) which can become a very good source of income for farmers of our rural India. Soluble sugars in form of cellulose & hemicellulose are underutilized which are present in castor deoiled cake. The carbohydrates are intact in the cellular walls of castor seed and after protein extraction they are present in the cake. The biorefinery concept to the castor seed and deoiled cake is applied to recover the bioethanol for utilization as biofuel in production of biodiesel.

The current process for extraction of oil involving the usage of solvent hexane is replaced by water and water + enzyme combination in accordance with the green process. The extracted oil using water as a solvent with 2.5:1:0.25 ratio (water: seed: enzyme) showed more than 91% recovery as compared to solvent extraction (hexane) by industrial acceptable process. Sub Critical Water Treatment proved to be a better method in oil yield with more than 95 % recovery compared to that of solvent extraction of oil. The oil along with the byproduct of biodiesel, glycerol is used for producing high quality and high source of income product MG. Different co-solvent ratio for best optimal condition for highest yield of MG (59-62%) were carried out to extract a product of high value from waste.

The characterization of deoiled cake showed results as high in protein concentration (85% ±5) and also high in lignocellulosic biomass concentration (cellulose + hemicellulose = 32.4% ±2).

Thus, the use of cake for the isolation of protein with different method and production of bioethanol for various industrial uses by fermentation process was carried out in laboratory scale. Sub critical water treatment as a green process for separation and isolation of protein from cake using water with 90% purity concentration and breaking of cellulosic wall for maximum utilization of soluble sugars to obtain highest yield of bioethanol (more than 85%) was carried out with different alteration in pressure, temperature, water: cake ratio, run time.

अमूर्त

अरंडी भारत, चीन, ब्राजील आदि के शुष्क क्षेत्रों में पाया जाने वाला पौधा है। भारत अरंडी के बीज का सबसे बड़ा उत्पादक और निर्यातक है। अरंडी के बीज से प्राप्त विभिन्न उत्पाद जैसे तेल, स्नेहक, तेल रहित केक आदि। पौधों से जैव सक्रिय घटकों के निष्कर्षण, उत्पादन और अलगाव के लिए हरित और पारिस्थितिक प्रक्रियाओं के लिए स्थिरता और अनुकूलन की बढ़ती आवश्यकता के साथ औद्योगिक विस्तार के लिए इसका उपयोग किया जा सकता है। इस अध्ययन में इस प्रक्रिया के दौरान उत्पन्न अपशिष्ट का लक्षण वर्णन और मूल्यांकन शामिल है। यह शोध अरंडी के बीज के जैव सक्रिय यौगिकों की बायोरिफाइनरी अवधारणा पर आधारित है।

भारत अरंडी के बीज का एक प्रमुख उत्पादक है, लेकिन इस कृषि स्रोत का कम उपयोग किया जाता है। इस अध्ययन में तेल, प्रोटीन और कार्बोहाइड्रेट के लिए अरंडी के बीज का लक्षण वर्णन और मूल्यांकन शामिल है अरंडी के प्रोटीन में जहरीले पदार्थ के रूप में राइसिन होता है, जिसका अपशिष्ट या उर्वरक के रूप में कम उपयोग होता है। इसलिए, थीसिस में सब-क्रिटिकल वाटर (SCW) ट्रीटमेंट प्रोसेस द्वारा प्रोटीन को अलग करना और उच्च दबाव उपचार द्वारा विषहरण शामिल है। निष्कर्षण के बाद बीज और केक के कार्बोहाइड्रेट अंश का उपयोग बायोएथेनॉल में रूपांतरण में किया जाता है। वर्तमान परिदृश्य में, अरंडी के बीज को पारंपरिक यांत्रिक निष्कर्षण का उपयोग करके यांत्रिक निष्कर्षण के अधीन किया जाता है, जिसके बाद तेल को अलग करने के लिए विलायक निष्कर्षण किया जाता है, और विलायक निष्कर्षण उद्योगों में तेल रहित केक के रूप में उत्पन्न अपशिष्ट का आमतौर पर कम उपयोग किया जाता है और इसलिए इसे जैव उर्वरक के रूप में उपयोग में लाया जाता है। विलायक या यांत्रिक निष्कर्षण का उपयोग करके निकाला गया अरंडी का तेल स्नेहक उद्देश्यों के लिए उपयोग किया जाता है।

वर्तमान अध्ययन में, अरंडी के बीज का उपयोग गैर-पारंपरिक और हरित प्रक्रियाओं जैसे सब-क्रिटिकल वाटर ट्रीटमेंट, जलीय निष्कर्षण और एंजाइम सहायता प्राप्त जलीय निष्कर्षण विधियों में तेल के निष्कर्षण के लिए किया जाता है। तेल ईंधन के निष्कर्षण के लिए खतरनाक विलायकों का उपयोग करने की वर्तमान प्रथाएं पर्यावरण को प्रदूषित करती हैं और प्रकृति में जहरीली होती हैं। तेल के निष्कर्षण के लिए एक सार्वभौमिक विलायक के रूप में जल का उपयोग अधिकतम संभव उपज के साथ उद्योग के लिए एक हरित प्रक्रिया का लक्ष्य रखता है। तेल से निकाले गए तेल रहित केक में भारी मात्रा में प्रोटीन (लगभग 20-40%) होता है जो हमारे ग्रामीण भारत के किसानों के लिए आय का एक बहुत अच्छा स्रोत बन सकता है। सेल्यूलोज और हेमीसेल्यूलोज के रूप में घुलनशील शर्करा का कम उपयोग किया जाता है जो अरंडी के तेल रहित केक में मौजूद होते हैं। कार्बोहाइड्रेट अरंडी के बीज की कोशिकीय दीवारों में बरकरार रहते हैं और प्रोटीन निष्कर्षण के बाद वे केक में मौजूद होते हैं। जैव ईंधन के रूप में उपयोग के लिए बायोएथेनॉल को पुनः प्राप्त करने के लिए अरंडी के बीज और तेल रहित केक में बायोरिफाइनरी अवधारणा को लागू किया जाता है।

विलायक हेक्सेन के उपयोग को शामिल करने वाली तेल के निष्कर्षण की वर्तमान प्रक्रिया को हरित प्रक्रिया के अनुसार पानी और पानी + एंजाइम संयोजन द्वारा प्रतिस्थापित किया जाता है। 2.5:1:0.25 अनुपात (पानी: बीज: एंजाइम) के साथ विलायक के रूप में पानी का उपयोग करके निकाले गए तेल ने औद्योगिक स्वीकार्य प्रक्रिया द्वारा विलायक निष्कर्षण (हेक्सेन) की तुलना में 91% से अधिक रिकवरी दिखाई। तेल की पैदावार में सब क्रिटिकल वाटर ट्रीटमेंट, तेल के विलायक निष्कर्षण की तुलना में 95% से अधिक रिकवरी के साथ बेहतर तरीका साबित हुआ। तेल के साथ-साथ बायोडीजल के उपोत्पाद, ग्लिसरॉल का उपयोग उच्च गुणवत्ता और उच्च आय स्रोत वाले उत्पाद एमजी के उत्पादन के लिए किया जाता है। कचरे से उच्च मूल्य का उत्पाद निकालने के लिए एमजी की उच्चतम पैदावार (59-62%) के लिए सर्वोत्तम इष्टतम स्थिति के लिए विभिन्न सह-विलायक अनुपात का उपयोग किया गया।

तेल रहित केक के लक्षण-निर्धारण से उच्च प्रोटीन सांद्रता (85% ±5) और साथ ही उच्च लिग्नोसेल्यूलोसिक बायोमास सांद्रता (सेल्यूलोज + हेमीसेल्यूलोज = 32.4% ±2) के रूप में परिणाम सामने आए। इस प्रकार, विभिन्न विधि से प्रोटीन के पृथक्करण के लिए केक का उपयोग और किण्वन प्रक्रिया द्वारा विभिन्न औद्योगिक उपयोगों के लिए बायोएथेनॉल का उत्पादन प्रयोगशाला पैमाने पर किया गया। 90% शुद्धता सांद्रता वाले जल का उपयोग करके केक से प्रोटीन को अलग करने और पृथक करने के लिए हरित प्रक्रिया के रूप में उप-क्रिटिकल जल उपचार और घुलनशील शर्करा के अधिकतम उपयोग के लिए सेल्यूलोसिक दीवार को तोड़ने से बायोएथेनॉल की उच्चतम उपज (85% से अधिक) प्राप्त की गई, जिसे दबाव, तापमान, पानी: केक अनुपात, रन टाइम में विभिन्न परिवर्तनों के साथ किया गया।

Table of Content

List of Figures

List of Tables