

## Abstract

---

**Project Code :** TRG5780134  
**Project Title :** Relationship between enzymatic glucose production and composition, morphological, and structural changes of delignified Napier grass (*Pennisetum purpureum*)  
**Investigator :** Dr. Paripok Phitsuwan King Mongkut's University of Technology Thonburi  
**E-mail Address :** paripok.phi@kmutt.ac.th; paripok\_p@yahoo.com  
**Project Period :** 2 years (from June 2, 2014 to June 1, 2016)

### Abstract:

Different alkaline pretreatment technologies, including NaOH,  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ,  $\text{NH}_3$ , and  $\text{H}_2\text{O}_2$  in alkaline solution were used to delignify lignocellulose to improve glucose recovery from cellulose in stem of Napier grass that is a promising energy crop in Thailand and countries in the tropical region by enzymatic saccharification. The influences of the pretreatments on the structural alterations were examined using SEM, FTIR, XRD, and TGA, and the relationship of these changes and enzymatic digestibility of cellulose was addressed. The extensive removal of lignin (84%) in NaOH pretreated fibre agreed well with the high glucan conversion rate (94%) by enzymatic hydrolysis, while the fibre pretreated with  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ,  $\text{NH}_3$ , and  $\text{H}_2\text{O}_2$  approached 60%, 51%, and 42% respectively. The substantial solubilisation of lignin created porosity, allowing increased cellulose accessibility in the NaOH pretreated fibre to cellulases, whereas the high lignin content and its redeposition on the surfaces and the remaining of internal lignin and hemicellulose in the fibres were believed to impede enzymatic performance in  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ,  $\text{NH}_3$ , and  $\text{H}_2\text{O}_2$  pretreated fibres, respectively.

To reduce the energy consumption during the pretreatment process, the aqueous ammonia pretreatment of Napier grass at room temperature was assessed. The compositional and structural changes of Napier grass after treatment with aqueous ammonia (27%, w/w) at ambient temperature and its enzymatic digestibility were characterised and evaluated, respectively. This treatment highly protected carbohydrates in the fibre and greatly reduced lignin content (58.7%), resulting in the deconstruction and separation of the fibrous matrix. Fourier transform infrared analysis confirmed the selective removal of lignin and the increase amount of cellulose. Although the cellulose content became greater, the degree of crystallinity of the treated fibre marginally increased, which could be apparently connected with the partial disruption of cellulose crystal structure. It was found that the aqueous ammonia treatment markedly promoted the enzymatic cellulose digestibility from 18% to 53%. In addition, supplementation of xylanase to cellulase tremendously assisted the ultimate hydrolysis extent and greatly improved the final glucose yield rather than initial hydrolysis rate

**Keywords :** Napier grass; alkaline pretreatment; cellulose; cellulase; lignin

## บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : TRG5780134

ชื่อโครงการ : การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการผลิตน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์และองค์ประกอบ สัณฐาน และโครงสร้างของหญ้าเนเปียร์ (*Pennisetum purpureum*) ที่ถูกกำจัดลิกนิน

ชื่อนักวิจัย : ดร. ปรีปก พิศสุวรรณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

E-mail Address : paripok.ph@kmutt.ac.th; paripok\_p@yahoo.com

ระยะเวลาโครงการ : 2 ปี (ตั้งแต่ 2 มิถุนายน พ.ศ. 2557 ถึง 1 มิถุนายน พ.ศ. 2559)

### บทคัดย่อ:

หญ้าเนเปียร์เป็นพืชที่มีศักยภาพสำหรับใช้เป็นพืชพลังงานในประเทศไทยรวมถึงประเทศเขตร้อนชื้น งานวิจัยนี้ศึกษาการกำจัดลิกนินออกจากลำต้นหญ้าเนเปียร์ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีต่างๆ โดยใช้ต่าง ได้แก่ โซเดียมไฮดรอกไซด์ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ สารละลายแอมโมเนีย และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในสารละลายต่าง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยเซลลูโลสซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของผนังเซลล์พืชให้เป็นกลูโคสด้วยเอนไซม์ ทำการศึกษาผลของการปรับสภาพต่อโครงสร้างของหญ้าเนเปียร์ที่เปลี่ยนแปลงไปด้วยเทคนิค Scanning electron microscopy, Fourier transform infrared spectroscopy, X-ray diffractometry, และ Thermogravimetry เพื่ออธิบายความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและการย่อยเซลลูโลสในหญ้าเนเปียร์ด้วยเอนไซม์ให้เป็นกลูโคส ภายใต้สภาวะที่ทำการศึกษพบว่า การปรับสภาพหญ้าเนเปียร์ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์สามารถกำจัดลิกนินได้สูงถึง 84% และมีค่าประสิทธิภาพการย่อยเซลลูโลสด้วยเอนไซม์ให้เป็นน้ำตาลกลูโคสสูงถึง 94% ขณะที่ค่าประสิทธิภาพการย่อยเซลลูโลสเป็นน้ำตาลกลูโคสของหญ้าเนเปียร์ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ สารละลายแอมโมเนีย และสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีค่า 60%, 51% และ 42% ตามลำดับ เนื่องจากการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์สามารถกำจัดลิกนินออกจากโครงสร้างของผนังเซลล์พืชได้มาก ทำให้เกิดช่องว่างที่ช่วยให้เอนไซม์เซลลูเลสเข้าถึงเซลลูโลสและเกิดการย่อยได้ดีขึ้น ขณะที่การปรับสภาพหญ้าเนเปียร์ด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ สารละลายแอมโมเนีย และสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ภายใต้สภาวะที่ศึกษาพบว่า มีปริมาณลิกนินเหลืออยู่มากกว่าการกำจัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ และมีการกระจายหรือจัดเรียงตัวของลิกนินใหม่ (กรณีใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์) รวมทั้งการมีลิกนินและเฮมิเซลลูโลสหลงเหลืออยู่ภายในโครงสร้างของไฟบริล (กรณีใช้สารละลายแอมโมเนีย และสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์) ซึ่งคาดว่าปัจจัยเหล่านี้จะมีผลต่อการเข้าถึงและขัดขวางการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสในการย่อยเซลลูโลสภายในผนังเซลล์พืชหลังผ่านการปรับสภาพ

เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ของการลดใช้พลังงานในกระบวนการปรับสภาพ ทำการปรับสภาพหญ้าเนเปียร์ด้วยสารละลายแอมโมเนียที่อุณหภูมิห้อง และประเมินประสิทธิภาพของกระบวนการปรับสภาพต่อการผลิตกลูโคสพบว่า การปรับสภาพหญ้าเนเปียร์ด้วยสารละลายแอมโมเนีย 27% (w/w) ที่อุณหภูมิห้องสามารถรักษาราคาปริมาณคาร์โบไฮเดรตในหญ้าเนเปียร์ที่ผ่านการปรับสภาพ และกำจัดลิกนินได้ถึง 58.7% ซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างและเกิดการแยกของเซลลูโลสไม่โครไฟบริล เมื่อวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของหญ้าเนเปียร์หลังปรับสภาพด้วยเทคนิค Fourier transform infrared spectroscopy พบว่า การปรับสภาพด้วยสารละลายแอมโมเนียจะจำเพาะต่อการกำจัดลิกนิน

สอดคล้องกับการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีที่มีปริมาณลิกนินลดลง และมีปริมาณเซลลูโลสที่สูงขึ้น  
อย่างไรก็ดี แม้ว่าปริมาณเซลลูโลสในหญ้าเนเปียร์หลังการปรับสภาพจะสูงขึ้น โครงสร้างผลึกของ  
เซลลูโลสมีค่าเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย ซึ่งอาจมีสาเหตุจากโครงสร้างผลึกของเซลลูโลสบางส่วนถูกทำลาย  
ระหว่างการปรับสภาพเนื่องจากสารและสภาวะที่ใช้ นอกจากนี้จากการศึกษาพบว่า การปรับสภาพหญ้า  
เนเปียร์ที่อุณหภูมิห้องสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยจาก 18 เป็น 53% และเมื่อผสมเอนไซม์  
เซลลูเลสกับไซลาลเนสพบว่า เอนไซม์ไซลาลเนสช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยโดยรวมและเพิ่มปริมาณ  
กลูโคสโดยรวม (ความเข้มข้นสุดท้าย) มากกว่าการส่งเสริมอัตราการย่อยเซลลูโลสในช่วงเริ่มต้น  
**คำสำคัญ :** หญ้าเนเปียร์ การปรับสภาพด้วยต่าง เซลลูโลส เซลลูเลส ลิกนิน