

ผลการกำจัดลิกนินและสัณฐานวิทยาของหญ้าเนเปียร์หลังการปรับสภาพด้วยวิธีการอบไอน้ำและวิธีไมโครเวฟร่วมกับสารประกอบเกลือเฟอร์ริกคลอไรด์

ปิติพร มโนคุ่น^{1*}

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ ศูนย์นนทบุรี ต.สวนใหญ่ อ.เมือง จ.นนทบุรี 11000

และ รุณิยา รังษิสุริยะชัย²

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ต.คลองหก อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12110

* Corresponding Author: pitiporn.m@rmutsb.ac.th

¹ อาจารย์ประจำ สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์และสถาปัตยกรรมศาสตร์

² ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาวิศวกรรมโยธา คณะวิศวกรรมศาสตร์

ข้อมูลบทความ

บทคัดย่อ

ประวัติบทความ :

รับเพื่อพิจารณา : 13 เมษายน 2563

แก้ไข : 2 พฤศจิกายน 2563

ตอบรับ : 7 ธันวาคม 2563

คำสำคัญ :

การปรับสภาพ / อบไอน้ำ /

ไมโครเวฟ เฟอร์ริกคลอไรด์ หญ้าเนเปียร์

งานวิจัยนี้ศึกษาการกำจัดลิกนินและสัณฐานวิทยาของหญ้าเนเปียร์หลังการปรับสภาพด้วยวิธีอบไอน้ำและวิธีไมโครเวฟร่วมกับการใช้สารประกอบเกลือเฟอร์ริกคลอไรด์ การปรับสภาพด้วยวิธีอบไอน้ำใช้อุณหภูมิการอบไอน้ำ 105 110 115 120 และ 125 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 20 40 และ 60 นาที การปรับสภาพด้วยวิธีไมโครเวฟปรับกำลังวัตต์ของไมโครเวฟที่ 300 450 และ 600 วัตต์ เป็นเวลา 2.5 และ 8 นาที การปรับสภาพทั้งสองวิธีทำการทดลองด้วยความเข้มข้นของสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ที่ 1 และ 2 โมลาร์ ผลการศึกษาพบว่า หญ้าเนเปียร์พันธุ์ปากช่อง 1 (*Pennisetum purpureum*) ก่อนปรับสภาพมีปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และองค์ประกอบอื่นเท่ากับร้อยละ 33.13, 9.73, 16.70 และ 40.45 ตามลำดับ ซึ่งปริมาณเซลลูโลสดังกล่าวเหมาะสมแก่การผลิตเอทานอล แต่มีปริมาณลิกนินสูงเช่นกัน การกำจัดลิกนินด้วยสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ความเข้มข้น 2 โมลาร์ร่วมกับวิธีไมโครเวฟที่ 600 วัตต์ เป็นเวลา 8 นาที ให้ผลดีที่สุดเท่ากับร้อยละ 52.50 ส่วนการอบไอน้ำที่อุณหภูมิ 125 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที ร่วมกับการใช้สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ความเข้มข้น 2 โมลาร์กำจัดลิกนินได้สูงสุดที่ร้อยละ 45.50 หลังการปรับสภาพ หญ้าเนเปียร์มีลักษณะพุ่ม และมีพื้นผิวแตกหัก ไม่ยึดเกาะกัน แสดงให้เห็นถึงโครงสร้างของลิกนินที่เป็นตัวยึดเกาะเซลลูโลสถูกทำลาย อย่างไรก็ตาม การกำจัดลิกนินทั้ง 2 วิธีให้ผลการทดลองในแง่ของการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของลิกนินไม่แตกต่างกัน เมื่อพิจารณาการใช้พลังงานและระยะเวลาในการปรับสภาพแล้ว วิธีไมโครเวฟเป็นทางเลือกที่ดีกว่า เนื่องจากใช้ระยะเวลาสั้นกว่าวิธีอบไอน้ำมาก

Effects of Salt-Assisted (Ferric Chloride) Steam Versus Salt-Assisted Microwave Pretreatments on Delignification and Morphology of Napier Grass (*Pennisetum purpureum*)

Pitiporn Manokhoon^{1*}

University of Technology Suvanabhumi, Suanyai District, Nonthaburi 11000

and Thaneeya Rangseesuriyachai²

Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Klong 6, Klong Luang, Pathumtani 12110

* Corresponding Author: pitiporn.m@rmutsb.ac.th

¹ Lecturer, Department of Environmental Engineering, Faculty of Engineering and Architecture.

² Assistant Professor, Department of Civil Engineering, Faculty of Engineering.

Article Info

Abstract

Article History:

Received: April 13, 2020

Revised: November 2, 2020

Accepted: December 7, 2020

Keywords:

Pretreatment / Steam /

Microwave / Ferric Chloride /

Napier Grass

This research studied the delignification process and its effect on the morphology of Napier grass (*Pennisetum purpureum*); salt-assisted (ferric chloride) steam (SS) and salt-assisted microwave (SM) were the selected delignification methods. SS involved steaming at temperatures of 105, 110, 115, 120 and 125°C for 20, 40, and 60 min. SM was conducted at different microwave power levels viz. 300, 450, and 800 W for 2, 5, and 8 min. Both delignification methods were performed at the ferric chloride concentrations of 1 and 2 M. The results showed that untreated Napier grass consisted of 33.13% cellulose, 9.73% hemicellulose, 16.70% lignin; 40.45% of other components made up the rest. The cellulose content was noted to be suitable for ethanol production; the lignin content was nevertheless excessive. Delignification with 2 M ferric chloride in combination with the use of microwave at 600 W for 8 min gave the best delignification result of 52.50%. SS pretreatment at 125°C for 40 min in combination with 2 M ferric chloride yielded the highest percentage of lignin removal of 45.50%. After pretreatment, Napier grass was noted to be porous, with cracked and uni-directionally separated surface, which implied the destroyed structure between lignin and cellulose. Both methods of delignification did not alter the chemical composition of lignin. By considering the power consumption and required pretreatment time, SM is superior since it requires much shorter time consumption than SS.

1. บทนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม ในแต่ละปีจะมีผลิต-ภัณฑ์ทางการเกษตรและของเหลือจากการเกษตรเป็นจำนวนมาก หญ้าเนเปียร์จัดเป็นพืชพลังงานที่รัฐบาลให้การสนับสนุนและส่งเสริมให้มีการเพาะปลูก โดยทั่วไปใช้ในการเลี้ยงสัตว์และเป็นพืชโตเร็วโดยสามารถเก็บเกี่ยวได้ปีละ 4 ครั้ง และมีผลผลิตต่อปีประมาณ 25 ตันต่อเฮคแตร์ (น้ำหนักแห้ง) เมื่อเก็บเกี่ยวทุกๆ 30 วัน [1] และในบางพื้นที่หญ้าเนเปียร์สามารถขึ้นเองจนเกิดเป็นวัชพืชหรือขึ้นในพื้นที่รกร้างทั่วไป [2] ซึ่งหญ้าเนเปียร์จัดเป็นวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลสประเภทหนึ่งที่มีองค์ประกอบทางเคมีที่ซับซ้อนประเภทเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และองค์ประกอบอื่นๆ การปรับสภาพวัตถุดิบมีวัตถุประสงค์เพื่อทำลายโครงสร้างที่ซับซ้อนของวัสดุชนิดลิกโนเซลลูโลส ซึ่งมีลิกนินเป็นองค์ประกอบหลักในผนังเซลล์ของพืชที่ทำหน้าห่อหุ้มเส้นใยของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสเข้าด้วยกัน ทำให้การย่อยสลายน้ำตาลโมเลกุลใหญ่เป็นเชิงเดี่ยวเป็นไปได้ยากในกระบวนการผลิตพลังงานจากชีวมวล ดังนั้นการกำจัดลิกนินซึ่งเป็นตัวขัดขวางเอนไซม์ในกระบวนการไฮโดรไลซิสจะสามารถทำให้ประสิทธิภาพการผลิตพลังงานชีวมวลมีสูงขึ้น [3] โดยการปรับสภาพนั้นสามารถทำได้หลากหลายวิธีด้วยกัน เช่น การปรับสภาพด้วยกรด การปรับสภาพด้วยด่าง การปรับสภาพด้วยไอน้ำ การปรับสภาพด้วยโอโซน เป็นต้น การปรับสภาพในแต่ละวิธีจะมีข้อดีและข้อเสียแตกต่างกันไป โดยทั่วไปการเลือกการปรับสภาพจะคำนึงถึงประสิทธิภาพการกำจัดเฮมิเซลลูโลสหรือลิกนิน ความต้องการพลังงานที่ต่ำ ราคาประหยัด และมีผลพลอยได้ที่เป็นพืชน้อย

การปรับสภาพด้วยวิธีอบไอน้ำนั้นเป็นวิธีที่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยเนื่องจากใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพน้อยและไอน้ำไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม มีความสมบูรณ์ในการนำองค์ประกอบจากพืชกลับมาใช้ประโยชน์ได้ดี มีค่าใช้จ่ายในการติดตั้งถูกลง [4-6] การปรับสภาพด้วยไมโครเวฟจะทำให้เกิดความร้อนภายในวัตถุดิบที่สม่ำเสมอและใช้ระยะเวลาที่สั้น [7] ซึ่งจะส่งผลถึงโครงสร้างโมเลกุลทั้งทางกายภาพและทางเคมี [8] ทำให้ลิกนินที่แทรกตัวอยู่ภายในโครงสร้างผลึกของเซลลูโลสมีโอกาสถูกแยกออกมาได้และยังช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวให้สามารถเข้าถึงเซลลูโลสได้มากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามการปรับสภาพด้วยวิธีการอบไอน้ำหรือไมโครเวฟเพียงอย่างเดียวยังไม่สามารถ

กำจัดลิกนินได้มากนัก จึงจำเป็นต้องมีการพัฒนาโดยการปรับสภาพควบคู่กับสารเคมี เช่น กรด ด่าง และสารประกอบเกลือ โดยเกลืออนินทรีย์ได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก เนื่องจากไม่ก่อให้เกิดมลพิษ มีความเป็นพิษต่ำมาก และมีฤทธิ์ในการเร่งปฏิกิริยาสูงเมื่อเทียบกับกรด รวมถึงเกลืออนินทรีย์ เช่น สารในกลุ่มของโลหะคลอไรด์นั้นสามารถทำปฏิกิริยากับไซแลน จึงสามารถกำจัดเฮมิเซลลูโลสได้โดยมีการรายงานจากหลายงานวิจัยพบว่า การกำจัดเฮมิเซลลูโลสจะมีผลโดยตรงต่อการเพิ่มขึ้นของเซลลูโลส [3, 9-10] เกลือคลอไรด์ที่มีวาเลนซ์ไอออน +3 จะมีผลต่อการสลายตัวสูงที่สุด [11] พบว่า $FeCl_3$ มีประสิทธิภาพการทำลายโครงสร้างของเซลลูโลสและลิกนินใน *Miscanthus straw* ดีที่สุดเมื่อเทียบกับเกลือคลอไรด์ที่มีวาเลนซ์ไอออน +1 และ +2 ตามลำดับ นอกจากนี้แล้ว $FeCl_3$ ยังสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ง่ายและมีฤทธิ์ในการกัดกร่อนอุปกรณ์ต่างๆ น้อย [10]

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการกำจัดลิกนินและลิกนินวิทยาของหญ้าเนเปียร์พันธุ์ปากช่อง 1 (*Pennisetum purpureum*) หลังการปรับสภาพด้วยวิธีการอบไอน้ำร่วมกับสารประกอบเกลือ (Salt-assisted steam : SS) และไมโครเวฟร่วมกับสารประกอบเกลือ (Salt-assisted microwave : SM) โดยสารประกอบเกลือที่เลือกใช้ได้แก่ เฟอร์ริกคลอไรด์ ซึ่งเป็นประโยชน์แก่ชุมชนเกษตรและปศุสัตว์ที่จะสามารถนำของเสียที่เหลือทิ้งจากการเลี้ยงสัตว์ไปใช้ประโยชน์เป็นพลังงานทดแทนได้โดยมีต้นทุนการผลิตที่ไม่สูง เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและสร้างความยั่งยืนของชุมชนพลังงานสีเขียวได้ต่อไปในอนาคต

2. วิธีดำเนินงานวิจัย

2.1 วัตถุดิบ

วัตถุดิบที่ใช้ในการปรับสภาพในงานวิจัยนี้ ได้แก่ หญ้าเนเปียร์สายพันธุ์ปากช่อง 1 (*Pennisetum purpureum*) มีอายุการปลูกประมาณ 30-45 วัน มีพื้นที่เพาะปลูกที่ทุ่งหลวง ตำบลบ้านเกาะ อำเภอพระนครศรีอยุธยา จังหวัด พระนครศรีอยุธยา พิกัด $14^{\circ} 21' 8.3046''$, $100^{\circ} 33' 32.2014''$ นำหญ้าเนเปียร์สายพันธุ์ปากช่อง 1 ชนิดสด มาทำการลดขนาดให้เล็กลงด้วยการหั่น แล้วนำไปตากแห้งหรืออบที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชม. ทำการคัดขนาดที่ผ่านตะแกรง

ให้มีขนาดเล็กกว่า 2 มิลลิเมตร และนำไปเก็บไว้ในถุงสุญญากาศ เพื่อรอทำการทดลองในขั้นตอนต่อไป

2.2 ขั้นตอนการดำเนินงาน

ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ได้ทำการศึกษาการปรับสภาพ หน้าเนเปียร์ด้วยวิธีการอบไอน้ำ และวิธีการปรับสภาพด้วย ไมโครเวฟร่วมกับเพอร์ริกคลอไรด์ โดยก่อนและหลังการปรับ สภาพจะทำการวิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมีของหน้า ในสภาพน้ำหนักแห้ง ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส (วิธี TAPPI T203 om-88) [12] และลิกนิน (วิธี TAPPI T222 om-88) [13] เพื่อเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีที่เปลี่ยนไปของการปรับ สภาพด้วยวิธีการต่างๆ โดยขั้นตอนการปรับสภาพในแต่ละวิธี มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

2.2.1 การปรับสภาพด้วยวิธีการอบไอน้ำร่วมกับ สารประกอบเกลือเพอร์ริกคลอไรด์

ทำการปรับสภาพโดยใส่หน้าแห้งที่เตรียมไว้ลงในขวด ทดลอง โดยเตรียมขวดสำหรับทำการปรับสภาพขนาด 300 มิลลิลิตร ใส่หน้าลงในขวดร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ผสมกับน้ำกลั่น แล้วนำไปผสมกับสารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ ที่ความเข้มข้น 2 ระดับความเข้มข้น คือ 1 และ 2 โมลาร์ และ แخذส่วนผสมไว้เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำ ส่วนผสมที่มีทั้งหน้าเนเปียร์และสารประกอบเกลือที่ผ่านการ แخذไว้ก่อนหน้านี้น้ำเข้าหม้อนึ่งความดันไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 105, 110, 115, 120 และ 125 องศาเซลเซียส และเวลาการอบไอน้ำที่ 20, 40 และ 60 นาทีในแต่ละอุณหภูมิ เมื่อทำการปรับสภาพเสร็จแล้วให้นำ ตัวอย่างส่วนผสมที่ผ่านการปรับสภาพแล้วมากรองเอาน้ำออก จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง แล้วนำไปทำการตรวจวัดองค์ประกอบหลังจากทำการ ปรับสภาพต่อไป

2.2.2 การปรับสภาพด้วยวิธีไมโครเวฟร่วมกับ สารประกอบเกลือ (เพอร์ริกคลอไรด์)

หน้าเนเปียร์ก่อนการปรับสภาพมีขนาดน้อยกว่า 2 มิลลิเมตร ถูกนำมาปรับสภาพด้วยสารประกอบเกลือเพอร์ริก- คลอไรด์ในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร โดยปรับสภาพที่ ความเข้มข้น 2 ระดับความเข้มข้น คือ 1 และ 2 โมลาร์ ปริมาณ ร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (หน้าเนเปียร์ 5 กรัม ต่อ สารละลาย 50 มิลลิลิตร) เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำสารผสม

ดังกล่าวนี้้นำเข้าไมโครเวฟโดยใช้เตาไมโครเวฟ SAMSUNG รุ่น MW87W ที่กำลังวัตต์ 300, 450 และ 600 วัตต์ เป็นเวลา 2, 5 และ 8 นาที เมื่อปรับสภาพหน้าเนเปียร์เสร็จจะทำ ให้แห้งโดยการอบที่อุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปทำการตรวจวัดองค์ประกอบหลังจาก ทำการปรับสภาพต่อไป

2.3 การวิเคราะห์โครงสร้างของหน้าเนเปียร์

หน้าเนเปียร์ก่อนและหลังการปรับสภาพถูกนำมา วิเคราะห์โครงสร้างระดับจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบ อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (รุ่น JSM-5410LV, บริษัท JEOL ประเทศ ญี่ปุ่น) ที่กำลังขยาย 200 เท่า เพื่อให้ได้ภาพที่มีความละเอียดในการระบุการวิเคราะห์ทางเคมีเชิงคุณภาพและ/หรือ โครงสร้างผลึก และทำการเปรียบเทียบผลระหว่างการปรับสภาพ ด้วยวิธีการเดียวกันแต่ต่างสภาวะ และระหว่างวิธีการปรับสภาพ แบบ SS และ SM

2.4 พลังงานที่ใช้ในการปรับสภาพปริมาเซลลูโลส ของหน้าเนเปียร์

การเปรียบเทียบพลังงานที่ใช้ในขั้นตอนการปรับสภาพ หน้าเนเปียร์คิดเทียบกับปริมาณเซลลูโลสที่ได้ต่อปริมาณหน้า ทั้งหมดที่ใช้ในการปรับสภาพของแต่ละวิธี ดังสมการที่ (1)

$$\text{พลังงานที่ใช้ (kJ)} = \frac{\text{Power (Kw)} \times \text{time (s)}}{\% \text{ wt. cellulose}} \quad (1)$$

3. ผลการทดลองและอภิปรายผล

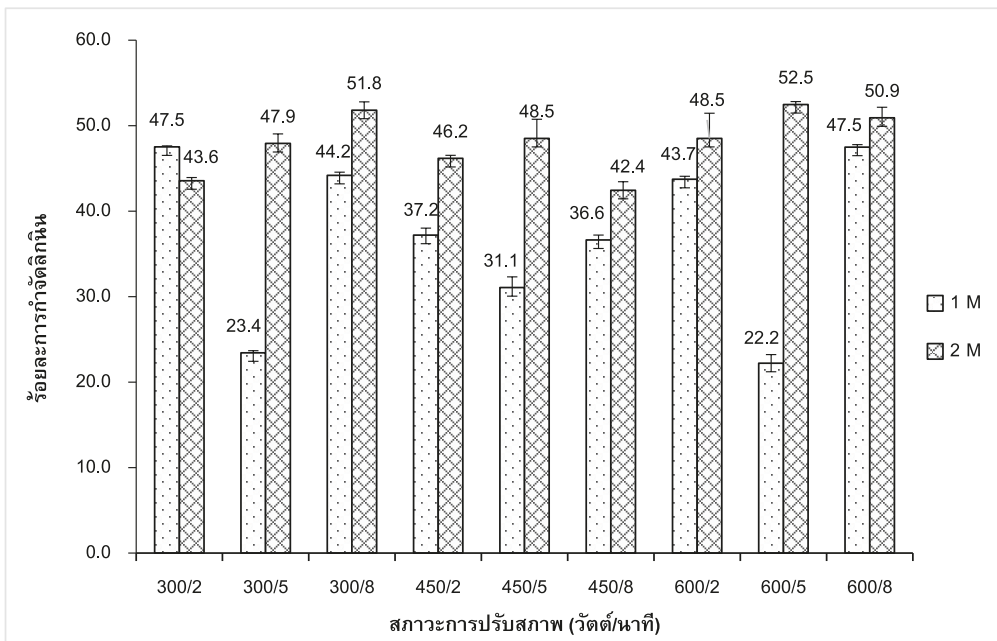
ผลการศึกษาการปรับสภาพหน้าเนเปียร์ด้วยวิธี SS และ SM โดยศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน รวมถึงสัณฐานวิทยา ของหน้าเพื่อดูการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างที่เกิดขึ้นหลังการ ปรับสภาพ แล้วทำการวิเคราะห์หาค่าการกำจัดลิกนินและการ คืนกลับของเซลลูโลส เพื่อใช้ในการหาสภาวะที่เหมาะสมของ การปรับสภาพต่อไป โดยลิกนินนั้นเป็นตัวขัดขวางพื้นที่ผิว ในการเข้าถึงได้ของสารเคมีหรือเอนไซม์ในกระบวนการเปลี่ยน ลิกโนเซลลูโลสเป็นกลูโคส [14] และเพื่อเพิ่มปริมาณเซลลูโลส ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการนำไปผลิตเอทานอลต่อไป ดังแสดง ผลการทดลองดังต่อไปนี้

3.1 องค์ประกอบทางเคมีของหญ้าเนเปียร์

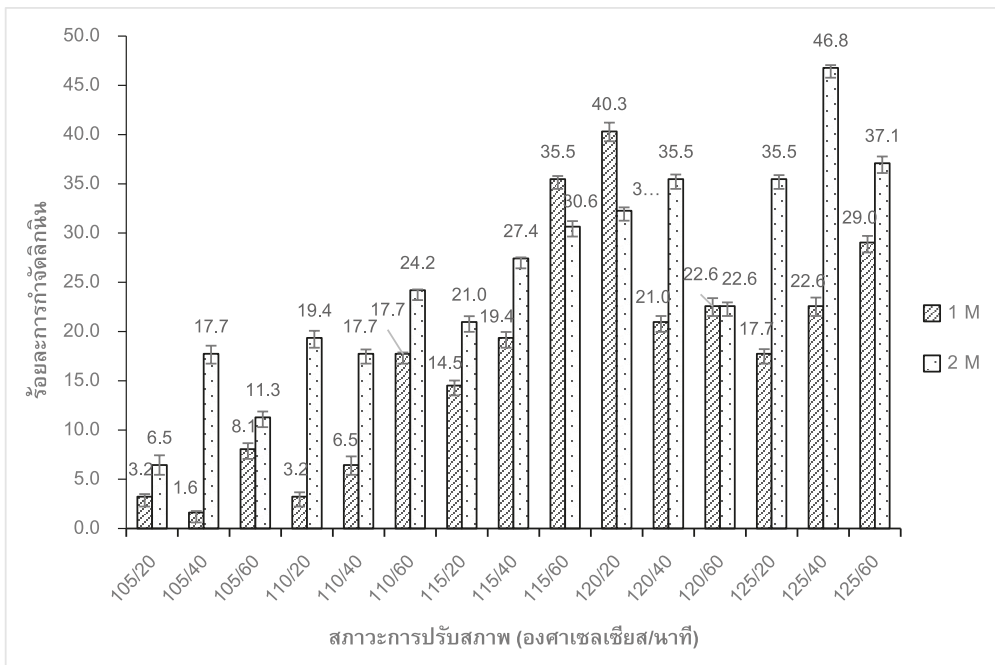
หญ้าเนเปียร์เป็นพืชชนิดดิกลินเซลลูโลสซึ่งประกอบไปด้วยส่วนประกอบที่สำคัญ 3 ชนิด คือ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ก่อนการปรับสภาพจึงได้ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีดังกล่าว โดยพบว่าหญ้าเนเปียร์พันธุ์ปากช่อง 1 ที่นำมาทำการทดลองประกอบไปด้วย เซลลูโลสเท่ากับร้อยละ 33.13 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 9.73 ลิกนินร้อยละ 16.70 และเป็นองค์ประกอบอื่น เช่น เถ้า สารประกอบอินทรีย์บางชนิด แร่ธาตุ ไซมัน และน้ำตาลที่ไม่มีโครงสร้าง เป็นต้น โดยพบว่าองค์ประกอบอื่นๆ มีปริมาณเท่ากับร้อยละ 40.45 จากองค์ประกอบดังกล่าว จะเห็นว่าหญ้าเนเปียร์มีค่าเซลลูโลสสูงซึ่งมีศักยภาพในการนำไปผลิตเอทานอล [15] แต่อย่างไรก็ตามก็มีค่าลิกนินสูงเช่นกัน ซึ่งจะเป็นอุปสรรคสำหรับจุลินทรีย์ในการย่อยน้ำตาลโมเลกุลใหญ่เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว จึงจำเป็นต้องมีกระบวนการในการกำจัดลิกนินเพื่อให้ประสิทธิภาพในการหมักเอทานอลดีขึ้น [16] และเมื่อทำการเปรียบเทียบกับงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่ามีความสอดคล้องกัน โดยค่าที่ได้อาจจะมีความแตกต่างกันได้เนื่องจากระยะเวลาของการตัด ส่วนประกอบของต้นพืช การเพาะปลูก สภาพภูมิอากาศและภูมิประเทศ อาจทำให้เกิดความแตกต่างกัน

โดยพบว่าหญ้าเนเปียร์มีค่าเซลลูโลสอยู่ระหว่างร้อยละ 34.00-37.00 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 18.00-20.00 และลิกนินร้อยละ 22.00-24.00 [17, 18]

รูปที่ 1 และ 2 แสดงผลการทดลองค่าร้อยละการกำจัดลิกนินของหญ้าหลังการปรับสภาพด้วยวิธี SM และ SS ที่สภาวะการปรับสภาพต่างๆ โดยก่อนการปรับสภาพและหลังการปรับสภาพแสดงผลการคำนวณเป็นการคำนวณผลของแต่ละองค์ประกอบ ไม่ใช่ขององค์ประกอบเมื่อเทียบเป็นส่วนประกอบทั้งหมดในหญ้า โดยผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าทั้งสองวิธีมีค่าการกำจัดลิกนินส่วนใหญ่สูงกว่าเมื่อความเข้มข้นของเฟอร์ริกคลอไรด์เป็น 2 โมลาร์ เมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองในแต่ละวิธีที่สภาวะต่างๆ กัน สามารถเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพโดยพิจารณาจากค่าการกำจัดลิกนินเป็นหลัก เนื่องจากการกำจัดลิกนินจะช่วยให้การเข้าถึงเอนไซม์ดีขึ้น และการกำจัดลิกนินจะช่วยให้การเปลี่ยนสภาพเป็นเซลลูโลสได้ดีขึ้น จะทำให้การหมักเอทานอลมีผลิตภัณฑ์ที่สูงขึ้น เนื่องจากเซลลูโลสมีน้ำตาลกลูโคสเป็นองค์ประกอบซึ่งเป็นน้ำตาลที่สามารถหมักเป็นไปเอทานอลได้ [19]



รูปที่ 1 ร้อยละการกำจัดลิกนินในสภาวะต่างๆ หลังการปรับสภาพด้วยวิธี SM



รูปที่ 2 ร้อยละการกำจัดลิกนินในสภาวะต่างๆ หลังการปรับสภาพด้วยวิธี SS

3.2 สภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพ

หลังจากการปรับสภาพด้วยวิธี SS และ SM ที่กล่าวไว้ข้างต้นนั้น ได้นำผลการทดลองมาพิจารณาเพื่อเลือกสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการปรับสภาพทั้งสองวิธีการโดยพิจารณาจากค่าร้อยละการกำจัดลิกนินเป็นหลัก เนื่องจากเป็นโครงสร้าง

ที่เป็นตัวบ่งชี้การเข้าถึงของเอนไซม์ที่จะใช้ในการย่อยสลายน้ำตาล ดังแสดงตารางเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของหญ้าเนเปียร์ก่อนและหลังการปรับสภาพที่ดีที่สุดในแต่ละวิธีที่

ความเข้มข้น 1 และ 2 โมลาร์ ตามลำดับ ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของหญ้าเนเปียร์ก่อนและหลังการปรับสภาพที่ดีที่สุดที่สภาวะต่างๆ

สภาวะการปรับสภาพ	เซลลูโลส (%wt)	เฮมิเซลลูโลส (%wt)	ลิกนิน (%wt)
ก่อนการปรับสภาพ	76.9 ± 0.2	23.1 ± 0.2	30.3 ± 0.5
หลังการปรับสภาพด้วยเพอร์ริกคลอไรด์ 1 โมลาร์	71.6 ± 0.4	28.7 ± 0.4	29.8 ± 0.9
หลังการปรับสภาพด้วยเพอร์ริกคลอไรด์ 2 โมลาร์	74.4 ± 1.2	25.9 ± 1.2	28.3 ± 0.9

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของหย้าเนเปียร์ก่อนและหลังการปรับสภาพที่ดีที่สุดที่สภาวะต่างๆ (ต่อ)

สภาวะการปรับสภาพ	เซลลูโลส (%wt)	เฮมิ เซลลูโลส (%wt)	ลิกนิน (%wt)
หลังการปรับสภาพด้วย ไมโครเวฟ 600 วัตต์ 8 นาที ร่วม กับเฟอร์ริกคลอไรด์ 1 โมลาร์	84.35 ± 0.8	15.65 ± 0.8	15.91 ± 0.3
หลังการปรับสภาพด้วย ไมโครเวฟ 600 วัตต์ 5 นาที ร่วม กับเฟอร์ริกคลอไรด์ 2 โมลาร์	83.5 ± 0.9	16.6 ± 0.9	14.4 ± 1.2
หลังการปรับสภาพด้วยไอน้ำ 120 องศาเซลเซียส 20 นาที ร่วมกับเฟอร์ริกคลอไรด์ 1 โมลาร์	88.3 ± 0.6	11.7 ± 0.6	18.5 ± 0.9
หลังการปรับสภาพด้วยไอน้ำ 125 องศาเซลเซียส 40 นาที ร่วมกับเฟอร์ริกคลอไรด์ 2 โมลาร์	85.9 ± 0.7	14.1 ± 0.7	16.5 ± 0.28

โดยพบว่าการกำจัดลิกนินสำหรับวิธี SM นั้น มีการกำจัดลิกนินได้สูงสุดที่ร้อยละ 52.50 ที่สภาวะการปรับสภาพด้วยความเข้มข้น 2 โมลาร์ กำลังวัตต์ของไมโครเวฟที่ 600 วัตต์เป็นเวลา 8 นาที อย่างไรก็ตามการพิจารณาสภาวะที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้งานจริงนั้น ควรมีการพิจารณาในด้านอื่นๆ ประกอบด้วย เช่น ราคา ระยะเวลาในการปรับสภาพ เป็นต้น เมื่อพิจารณาระหว่างการปรับสภาพด้วยการแช่เฟอร์ริกคลอไรด์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันพบว่า วิธี SM ที่ความเข้มข้นที่สูงกว่าให้ผลการกำจัดลิกนินที่ดีกว่าในทุกชุดการทดลองโดยเมื่อเปรียบเทียบที่สภาวะเดียวกันมีค่าการกำจัดลิกนินมากกว่าถึงประมาณสองเท่า แสดงให้เห็นว่าการแช่สารละลายที่มีความเข้มข้นสูงจะไปทำลายโครงสร้างลิกนินได้ดีกว่า เนื่องจากความเข้มข้นของเกลือเป็นหนึ่งในปัจจัยที่อาจส่งผลกระทบต่อเสถียรภาพทางอุณหพลศาสตร์ของลิกนิน [20] นอกจากนี้การที่เอนไซม์ถูกดูดซับเข้าไปในลิกนินทำให้เกิดโครงสร้างที่ซับซ้อนจึงยากต่อการทำงานของเอนไซม์ โดยเกลือของโลหะคลอไรด์เช่น $ZnCl_2$ และ $FeCl_3$ ก่อตัวเป็นไอออนโลหะที่กำจัดการก่อตัว

ของสารประกอบเชิงซ้อนของเอนไซม์ - ลิกนินโดยการสร้างสารประกอบเชิงซ้อนของลิกนิน - โลหะจึงช่วยเพิ่มการย่อยสลายของเอนไซม์ได้เป็นอย่างดี [21] และจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเฟอร์ริกคลอไรด์มีผลต่อการลดลงของเฮมิเซลลูโลสเนื่องจากโลหะคลอไรด์ทำหน้าที่เป็นกรดลูอิสในสารละลายและแยกตัวออกเป็นไอออนเชิงซ้อน ไอออนเหล่านี้กระจายเข้าสู่โครงสร้างวัสดุลิกโนเซลลูโลสโดยให้โปรตรอนที่สร้างโมเลกุลออกซิเจนของพันธะอีเธอร์ระหว่างน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวซึ่งทำให้เกิดการตัดพันธะที่นำไปสู่การสลายตัวของเฮมิเซลลูโลส [22]

นอกจากนี้ เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองการกำจัดลิกนินที่ความเข้มข้น 2 โมลาร์ ในช่วงอุณหภูมิและเวลาต่างๆ กันพบว่าการปรับสภาพโดยใช้ไมโครเวฟร่วมกับสารประกอบเกลือนั้นเมื่อความเข้มข้นของสารประกอบเกลือซึ่งได้แก่เฟอร์ริกคลอไรด์มีความเข้มข้นขึ้น การกำจัดลิกนินจะเกิดผลมาจากปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นกับสารประกอบเกลือเป็นหลัก โดยกำลังวัตต์และระยะเวลาการปรับสภาพของไมโครเวฟมีผลต่อการปรับสภาพน้อยมาก [23] พบว่ากำลังวัตต์และระยะเวลาการปรับสภาพของไมโครเวฟ

เป็นปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณการกำจัดลิกนินเพียงเล็กน้อย เนื่องจากอาจจะเกิดปฏิกิริยาการควบแน่นของลิกนินจึงทำให้กระบวนการในการกำจัดลิกนินเกิดการเสถียรหรือคงที่

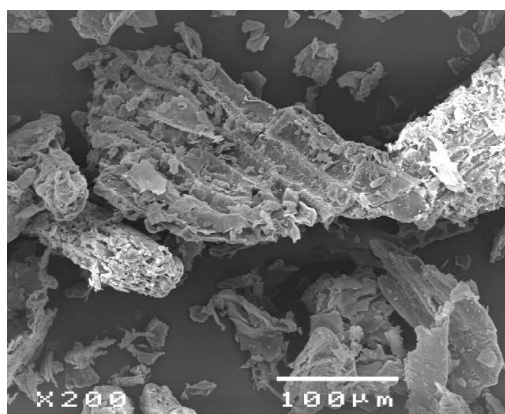
อย่างไรก็ตาม จากผลการทดลองเมื่อทำการปรับสภาพ โดยการแช่เฟอร์ริกคลอไรด์เพียงอย่างเดียวพบว่าประสิทธิภาพในการกำจัดลิกนินต่ำหรือแทบจะไม่เปลี่ยนแปลง ปริมาณเฮมิเซลลูโลสเพิ่มขึ้น และเซลลูโลสมีค่าลดลงเล็กน้อย ซึ่งอาจอธิบายได้ว่าการแช่สารประกอบเกลือจะมีประสิทธิภาพเมื่อมีการให้ความร้อนร่วมด้วย ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองด้วยวิธี SS พบว่าจากการทดลองหลังจากการปรับสภาพด้วยการแช่เฟอร์ริกคลอไรด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ และ 2 โมลาร์ เป็นเวลา 10 นาที ในแต่ละความเข้มข้น แล้วทำการอบไอน้ำโดยทำการแปรเปลี่ยนอุณหภูมิที่ 105 110 115 120 และ 125 องศาเซลเซียส เวลาในการอบไอน้ำ 20 40 และ 60 นาที โดยพิจารณาจากค่าร้อยละการกำจัดลิกนินเป็นหลัก พบว่าที่สภาวะการปรับสภาพด้วยความเข้มข้น 2 โมลาร์ ในการอบไอน้ำที่อุณหภูมิ 125 องศาเซลเซียส ในเวลา 40 นาที มีการกำจัดลิกนินได้สูงสุดที่ร้อยละ 45.50 เมื่อพิจารณาระหว่างการปรับสภาพด้วยการแช่เฟอร์ริกคลอไรด์ที่ความเข้มข้นทั้ง 2 ความเข้มข้น พบว่าที่ความเข้มข้นที่สูงกว่าให้ผลการกำจัดลิกนินที่ดีกว่าเกือบทุกชุดการทดลอง โดยเมื่อเปรียบเทียบที่สภาวะเดียวกันมีค่าการกำจัดลิกนินที่ดีที่สุด มีการกำจัดได้มากกว่าถึงประมาณสองเท่า แสดงให้เห็นว่าการแช่สารละลายที่มีความเข้มข้นสูงจะไปทำลายโครงสร้างลิกนินได้ดีกว่าเช่นเดียวกับการปรับสภาพด้วยวิธี SM และมีประสิทธิภาพดีกว่าการแช่สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์เพียงอย่างเดียวเช่นกัน เนื่องจากลิกนินถูกพันธะโควาเลนต์ด้วยเฮมิเซลลูโลสและในระหว่างการบำบัดด้วยความร้อนความเชื่อมโยงของลิกนิน - เฮมิเซลลูโลสได้รับการย่อยสลายที่นำไปสู่การลดลงบางส่วนและการย้ายตำแหน่งขององค์ประกอบลิกนิน พบว่าลิกนินบางส่วนละลายในไฮโดรไลเซตโดยขึ้นอยู่กับสภาวะของการปรับสภาพ [24] นอกจากนี้ [21] พบว่าในการปรับสภาพด้วยเกลือคลอไรด์ เช่น $FeCl_3$, $CuCl_2$, $AlCl_3$ เป็นต้น ที่ผ่านกระบวนการปรับสภาพด้วยการให้ความร้อนแล้ว มีค่าความหนืดของสารละลายลดลง ค่าความ

เป็นกรดต่างของสารละลายเกลือคลอไรด์จะลดลงซึ่งเป็นการเพิ่มศักยภาพในการแตกตัวของไอออนที่ส่งผลต่อการทำลายโครงสร้างของลิกนิน

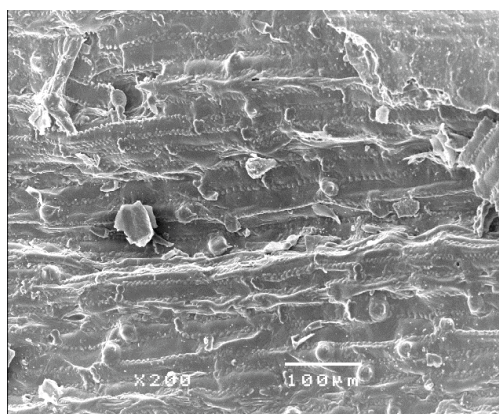
เมื่อทำการเปรียบเทียบการปรับสภาพระหว่างวิธี SM และ SS พบว่า การกำจัดลิกนินเกิดได้ดีกว่าที่การปรับสภาพด้วยการแช่เฟอร์ริกคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 2 โมลาร์เช่นเดียวกันทั้งสองวิธี แต่การกำจัดลิกนินเกิดได้ดีกว่าด้วยวิธี SM โดยสามารถกำจัดลิกนินได้มากกว่าวิธี SS ร้อยละ 7.00 แสดงให้เห็นว่าการใช้ไมโครเวฟสามารถเข้าไปทำลายโครงสร้างของลิกนินได้ดีกว่าไอน้ำ ดังนั้นจึงใช้ระยะเวลาในการปรับสภาพน้อยกว่าการใช้ไอน้ำ ซึ่งเมื่อพิจารณาถึงการนำไปใช้งานเพื่อการปรับสภาพวัตถุดิบจำนวนมากพบว่าการใช้ไมโครเวฟจะสามารถปรับสภาพได้เร็วกว่า ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ [24] ที่ศึกษาเปรียบเทียบระหว่างการใช้การปรับสภาพด้วยไมโครเวฟและไอน้ำพบว่าที่ระยะเวลาเดียวกันไมโครเวฟจะสามารถกำจัดลิกนินได้มากกว่าไอน้ำ

3.3 สัมฐานวิทยาของหญ้าเนเปียร์

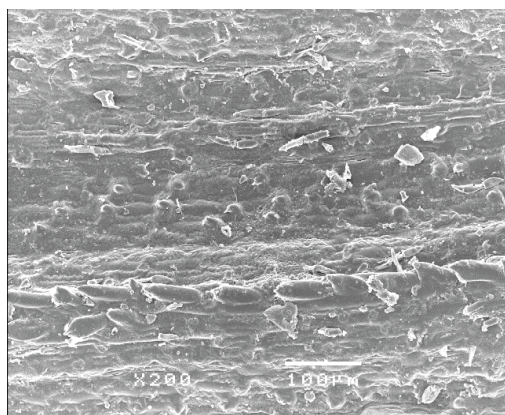
รูปที่ 3 (ก - จ) แสดงสัมฐานวิทยาของหญ้าเนเปียร์ ก่อนและหลังการปรับสภาพด้วยวิธี SS และ SM โดยการส่องดูลักษณะโครงสร้างพื้นผิวของหญ้าเนเปียร์เพื่อให้ทราบถึงการจัดเรียงตัวของโครงสร้างผลึกของเส้นใยประเภทลิกโนเซลลูโลส ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดด้วยกำลังขยาย 50 ไมโครเมตร พบว่า พื้นผิวของตัวอย่างหลังการปรับสภาพมีความขรุขระกว่าพื้นผิวก่อนการปรับสภาพ โดยตัวอย่างหญ้าเนเปียร์ก่อนการปรับสภาพจะมีลักษณะโครงสร้างที่มีการยึดเกาะกันเป็นโครงข่าย มีความต่อเนื่องกันของเส้นใยและมีการถักกันของเส้นใยเป็นโครงตาข่าย เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างหญ้าเนเปียร์หลังการปรับสภาพด้วยวิธี SS และ SM พบว่า หลังการปรับสภาพลักษณะพื้นผิวของหญ้าจะมีลักษณะขรุขระ และเส้นขวางที่เป็นโครงถักหายไป มีรูพรุน และมีลักษณะพื้นผิวที่แตกหัก ไม่ยึดเกาะกัน ซึ่งโครงสร้างดังกล่าวแสดงให้เห็นถึงการทำลายโครงสร้างของลิกนินที่เป็นตัวยึดเกาะเซลลูโลส ทำให้สารเคมีและความร้อนสามารถเข้าไปถึงเซลลูโลสและจะสามารถย่อยน้ำตาลได้ง่ายขึ้น



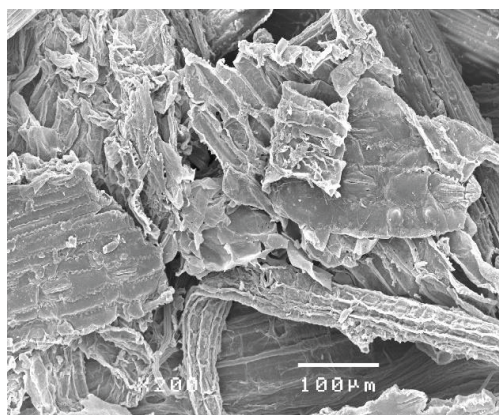
(ก)



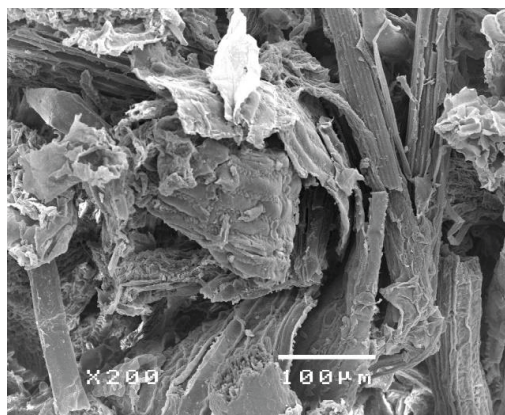
(ข)



(ค)



(ง)



(จ)

รูปที่ 3 สัณฐานวิทยาของหญ้าเนเปียร์ก่อนการปรับสภาพและหลังการปรับสภาพด้วยวิธี SM และ SS ที่สภาวะที่เหมาะสม (ก) ก่อนการปรับสภาพ (ข) วิธี SM ที่ 600 วัตต์ 8 นาที ความเข้มข้น 1 โมลาร์ (ค) วิธี SM ที่ 600 วัตต์ 5 นาที ความเข้มข้น 2 โมลาร์ (ง) วิธี SS ที่ 120 องศาเซลเซียส 20 นาที ความเข้มข้น 1 โมลาร์ (จ) วิธี SS ที่ 125 องศาเซลเซียส 40 นาที ความเข้มข้น 2 โมลาร์

3.4 พลังงานที่ใช้ในการปรับสภาพปริมาณเซลลูโลสของหญ้าเนเปียร์

พลังงานที่ใช้ในการปรับสภาพหญ้าเนเปียร์ขึ้นอยู่กับวิธีการปรับสภาพหญ้าเนเปียร์และปริมาณของวัตถุดิบที่ใช้ในการปรับสภาพ ซึ่งจากตารางที่ 2 จะพบว่า การปรับสภาพหญ้าเนเปียร์ด้วยวิธี SM ที่ 600 วัตต์ 8 นาที ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ใช้พลังงานในการปรับสภาพน้อยที่สุดที่ 68.30 ± 0.8 กิโลจูลต่อกรัม ส่วนการปรับสภาพหญ้าเนเปียร์ด้วยวิธี SS ที่

120 องศาเซลเซียส 20 นาที ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ใช้พลังงานในการปรับสภาพน้อยที่สุดที่ 90.10 ± 0.6 กิโลจูลต่อกรัม ซึ่งการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟนั้นจะทำให้เกิดความร้อนภายในวัตถุดิบที่สม่ำเสมอและใช้ระยะเวลาที่สั้น [7] และเหมาะสมกับวัตถุดิบที่มีปริมาณไม่มากนัก ส่วนการปรับสภาพด้วยไอน้ำมีความสมบูรณ์ในการนำองค์ประกอบจากพืชกลับมาใช้ประโยชน์ได้ดี มีค่าใช้จ่ายในการติดตั้งถูกลง [4-6]

ตารางที่ 2 พลังงานที่ใช้ในการปรับสภาพปริมาณเซลลูโลสในหญ้าเนเปียร์ที่ดีที่สุดที่สภาวะต่างๆ

สภาวะการปรับสภาพ	เวลา (min)	พลังงานที่ใช้ (Watts)	เซลลูโลส (%wt)	ปริมาณเซลลูโลสทั้งหมด (g)*	พลังงานที่ใช้ทั้งหมด (kJ/g)
ก่อนการปรับสภาพ	0	0	76.9 ± 0.2	N/A	0
หลังการปรับสภาพด้วยเพอร์ริกคลอไรด์ 1 โมลาร์	0	0	71.6 ± 0.4	N/A	0
หลังการปรับสภาพด้วยเพอร์ริกคลอไรด์ 2 โมลาร์	0	0	74.4 ± 1.2	N/A	0
หลังการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟ 600 วัตต์ 8 นาที ร่วมกับเพอร์ริกคลอไรด์ 1 โมลาร์	8	600	84.35 ± 0.8	4.2 ± 0.8	68.3 ± 0.8
หลังการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟ 600 วัตต์ 5 นาที ร่วมกับเพอร์ริกคลอไรด์ 2 โมลาร์	5	600	83.5 ± 0.9	4.1 ± 0.9	43.2 ± 0.9
หลังการปรับสภาพด้วยไอน้ำ 120 องศาเซลเซียส 20 นาที ร่วมกับเพอร์ริกคลอไรด์ 1 โมลาร์	20	2000	88.3 ± 0.6	26.49 ± 0.6	90.1 ± 0.6
หลังการปรับสภาพด้วยไอน้ำ 125 องศาเซลเซียส 40 นาที ร่วมกับเพอร์ริกคลอไรด์ 2 โมลาร์	40	2000	85.9 ± 0.7	25.77 ± 0.7	186.3 ± 0.7

*ปริมาณเซลลูโลสทั้งหมด (g) คัดจากน้ำหนักปริมาณหญ้าเนเปียร์ที่นำมาใช้ในการปรับสภาพของแต่ละวิธี

4. สรุป

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษารูปแบบการประกอบทางเคมีของหญ้าเนเปียร์หลังการปรับสภาพด้วยวิธีการอบไอน้ำและไมโครเวฟร่วมกับสารประกอบเกลือเฟอร์ริกคลอไรด์ โดยทำการแปรเปลี่ยนระยะเวลาและอุณหภูมิของการอบไอน้ำ และระดับความเข้มข้นของเฟอร์ริกคลอไรด์ รวมถึงระยะเวลาและกำลังวัตต์ของไมโครเวฟ พบว่า หญ้าเนเปียร์ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟร่วมกับสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ มีปริมาณลิกนินที่ถูกกำจัดออกแปรผันโดยตรงกับความเข้มข้นของสารละลาย แต่ไม่แปรผันตามกำลังวัตต์และเวลา เช่นเดียวกับการปรับสภาพด้วยการอบไอน้ำ โดยทั้งสองวิธีการมีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีและสัณฐานวิทยาของหญ้าเนเปียร์ โดยสามารถทำลายโครงสร้างของลิกนินได้อย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามทั้งสองวิธีนี้ให้ผลการทดลองในการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อพิจารณาในเรื่องของการใช้พลังงานและระยะเวลาในการปรับสภาพแล้วนั้น การปรับสภาพด้วยไมโครเวฟเป็นทางเลือกที่ดีกว่าเนื่องจากใช้ระยะเวลาที่สั้นกว่าวิธีการอบไอน้ำมาก จึงเป็นทางเลือกที่เหมาะสมในการปรับสภาพ

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ ที่ได้ให้การสนับสนุนในด้านต่างๆ วัสดุ อุปกรณ์ และคณาจารย์ทุกท่านที่ให้การช่วยเหลือ มีพันธุ์ และคุณอิทธิพันธ์ ขาวละมัย ที่ให้คำปรึกษา และให้การสนับสนุนวัสดุที่ใช้ในการทดลอง ทำให้งานวิจัยสำเร็จ ลุล่วงไปได้ด้วยดี

6. เอกสารอ้างอิง

1. Rengsirikul, K., Ishii, Y., Kangvansaichol, K., Sripichitt, P., Punsuvon, V., Vaithanomsat, P., Nakamane, G. and Tudsri, S., 2013, "Biomass Yield, Chemical Composition and Potential Ethanol Yields of 8 Cultivars of Napiergrass (*Pennisetum purpureum* Schumach.) Harvested 3-Monthly in Central Thailand," *Journal of Sustainable Bioenergy Systems*, 3, pp. 107-112.
2. Rocha-Meneses, L., Otor, F.O., Bonturi, N., Orupöld, K. and Kikas, T., 2020, "Bioenergy Yields from Sequential Bioethanol and Biomethane Production: An Optimized Process Flow," *Sustainability*, 12 (1), pp. 272-291.
3. Moodley, P. and Gueguim Kana, E.B., 2017, "Development of a Steam or Microwave-assisted Sequential Salt-alkali Pretreatment for Lignocellulosic Waste: Effect on Delignification and Enzymatic Hydrolysis," *Energy Conversion and Management*, 148, pp. 801-808.
4. Phitsuwan, P., Sakka, K. and Ratanakhanokchai, K., 2016, "Structural Changes and Enzymatic Response of Napier Grass (*Pennisetum purpureum*) Stem Induced by Alkaline Pretreatment," *Bioresource Technology*, 218, pp. 247-256.
5. Hosseini Koupaie, E., Dahadha, S., Bazyar Lakeh, A.A., Azizi, A. and Elbeshbishy, E., 2019, "Enzymatic Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Enhanced Biomethane Production-A Review," *Journal of Environmental Management*, 233, pp. 774-784.
6. Sindhu, R., Binod, P. and Pandey, A., 2016, "Biological Pretreatment of Lignocellulosic Biomass – An overview," *Bioresource Technology*, 199, pp. 76-82.
7. Cheng, J., Su, H., Zhou, J., Song, W. and Cen, K., 2011, "Microwave-assisted Alkali Pretreatment of Rice Straw to Promote Enzymatic Hydrolysis and Hydrogen Production in Dark- and Photo-fermentation," *International Journal of Hydrogen Energy*, 36 (3), pp. 2093-2101.
8. Diaz, A.B., Moretti, M.M.S., Bezerra-Bussoli, C., Carreira Nunes, C.D.C., Blandino, A., da Silva, R. and Gomes, E., 2015, "Evaluation of Microwave-Assisted Pretreatment of Lignocellulosic Biomass Immersed in Alkaline Glycerol for Fermentable Sugars Production," *Bioresource Technology*, 185, pp. 316-323.
9. Moodley, P. and Kana, E.B.G., 2017, "Microwave-assisted Inorganic Salt Pretreatment of Sugarcane Leaf Waste: Effect on Physicochemical Structure and

- Enzymatic Saccharification," *Bioresource Technology*, 235, pp. 35-42.
10. Chen, L., Chen, R. and Fu, S., 2015, "FeCl₃ Pretreatment of Three Lignocellulosic Biomass for Ethanol Production," *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 3 (8), pp. 1794-1800.
 11. Kang, K.E., Park, D.-H. and Jeong, G.-T., 2013, "Effects of Inorganic Salts on Pretreatment of Miscanthus Straw," *Bioresource Technology*, 132, pp. 160-165.
 12. Anonymous, 1999, Technical Association of the Pulp and Paper Industry: Sampling and Preparing Wood for Analysis Technical Association of the Pulp and Paper Industry, TAPPI Standard T203 om-88, Atlanta, USA.
 13. Anonymous, 2002, Technical Association of the Pulp and Paper Industry: Sampling and Preparing Wood for analysis Technical Association of the Pulp and Paper Industry, TAPPI Standard T222 om-02, Atlanta, USA.
 14. Minmunin, J., Limpitipanich, P. and Promwongkwa, A., 2015, "Delignification of Elephant Grass for Production of Cellulosic Intermediate," *Energy Procedia*, 79, pp. 220-225.
 15. Binod, P., Sindhu, R., Singhanian, R.R., Vikram, S., Devi, L., Nagalakshmi, S., Kurien, N., Sukumaran, R.K. and Pandey, A., 2010, "Bioethanol Production from Rice Straw: An overview," *Bioresource Technology*, 101 (13), pp. 4767-4774.
 16. Eliana, C., Jorge, R., Juan, P. and Luis, R., 2014, "Effects of the Pretreatment Method on Enzymatic Hydrolysis and Ethanol Fermentability of the Cellulosic Fraction from Elephant Grass," *Fuel*, 118, pp. 41-47.
 17. Mohammed, I.Y., Abakr, Y.A., Kazi, F.K., Yusup, S., Alshareef, I. and Chin, S.A., 2015, "Comprehensive Characterization of Napier Grass as a Feedstock for Thermochemical Conversion," *Energies*, 8 (5), pp. 3403-3417.
 18. He, C.-R., Kuo, Y.-Y. and Li, S.-Y., 2017, "Lignocellulosic Butanol Production from Napier Grass Using Semi-Simultaneous Saccharification Fermentation," *Bioresource Technology*, 231, pp. 101-108.
 19. Kumar, P., Barrett, D.M., Delwiche, M.J. and Stroeve, P., 2009, "Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production," *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 48 (8), pp. 3713-3729.
 20. Norgren, M., Edlund, H., Wågberg, L., Lindström, B. and Annergren, G., 2001, "Aggregation of Kraft Lignin Derivatives under Conditions Relevant to the Process, Part I: Phase Behaviour," *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 194 (1), pp. 85-96.
 21. Kamireddy, S.R., Li, J., Tucker, M., Degenstein, J. and Ji, Y., 2013, "Effects and Mechanism of Metal Chloride Salts on Pretreatment and Enzymatic Digestibility of Corn Stover," *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 52 (5), pp. 1775-1782.
 22. Mamman, A.S., Lee, J.-M., Kim, Y.-C., Hwang, I.T., Park, N.-J., Hwang, Y.K., Chang J.-S. and Hwang, J.-S., 2008, "Furfural: Hemicellulose/xyloseederived biochemical," *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 2 (5), pp. 438-454.
 23. Pang, F., Xue, S., Yu, S., Zhang, C., Bing Li, B. and Kang, Y., 2012, "Effects of Microwave Power and Microwave Irradiation Time on Pretreatment Efficiency and Characteristics of Corn Stover Using Combination of Steam Explosion and Microwave Irradiation (SE-MI) pretreatment," *Bioresource Technology*, 118, pp. 111-119.
 24. Kurian, J.K., Garipey, Y., Orsat, V. and Raghavan, G.S.V., 2015, "Comparison of Steam-assisted Versus Microwave-assisted Treatments for the Fractionation of Sweet Sorghum Bagasse," *Bioresources and Bioprocessing*, 2 (1), p. 30.