

## ABSTRACT

(*Sago hampas* or sago fibre derived from sago effluent was subjected to pre-treatment for production of fermentable sugars and further fermented to ethanol. Pre-treatment of sago fibre was important to increase fibre susceptibility toward enzymatic hydrolysis. In the study on pre-treatment, different pre-treatments were investigated; steaming, alkaline boiling followed by suspending in diluted acid (acid suspending) and alkaline boiling followed by boiling in diluted acid (acid boiling)). The study revealed that steaming pre-treatment gave high lignin reduction (49.2%) and significant cellulose convertibility ( $41.99 \pm 8.12\%$ ), suggesting that steaming as the best pre-treatment along with absence of chemical deployment which is crucial for further enzymatic hydrolysis. Studies on steaming optimization displayed the high cellulose recovery ( $39.63 \pm 9.23\%$ ), hydrolyzed reducing sugars ( $36.85 \pm 0.95$  g/L) and starch content ( $12.28 \pm 0.19$  g/L) achieved at fibre concentration of 7.5%, while boiling at 45 minutes exhibit comparable performance as steaming, which provide more economic solution. In the study on enzymatic hydrolysis, steamed sago fibre (~ 40% cellulose) was hydrolyzed using cellulase (NS50013) and  $\beta$ -glucosidase (NS50010, Novozyme) and the best concentration after 12 hours was demonstrated at 20% and 0.5% (v/w), respectively. Optimal parameters in enzymatic hydrolysis of sago fibre to fermentable sugars were investigated. In optimal pH determination, pH 4.5 depicted the highest reducing sugars yield ( $3.98 \pm 0.04$  g/L) with high saccharification percentage ( $19.63 \pm 0.2\%$ ) compared to pH 5 ( $18.78 \pm 0.51\%$ ), pH 5.5 ( $13.03 \pm 1.08\%$ ), pH 6 ( $5.77 \pm 1.3\%$ ) and pH 6.5 ( $0.36 \pm 0.44\%$ ). High reducing sugars yield ( $8.86 \pm 0.12$  g/L) obtained contributed to high saccharification ( $43.71 \pm 0.6\%$ ) as exhibited at hydrolysis temperature of 45°C compared with temperatures at 50°C, 55°C, 60°C, 65°C and

70°C. In the study on the different buffers for hydrolysis, distilled water used as buffer showed the best performance at high reducing sugars yield ( $10.96 \pm 0.46$  g/L) and percentage of saccharification ( $54.05 \pm 2.28\%$ ), comparable with well studied buffers, for example, sodium acetate and sodium citrate buffer, at  $52.19 \pm 3.66\%$  and  $55.90 \pm 4.91\%$ , respectively. For maximal hydrolysis, different sago fibre concentrations were studied. The saccharification increased with substrate concentrations until it reached 6% (w/v) and here the substrate concentrations showed lower saccharification and reducing sugars yield obtained, suggesting the highest yield can be obtained at 6% (w/v). Studies on the supplementation of enzyme complex (NS50012, Novozyme) revealed that further substrates (cellulose and cellobiose) inhibition were eliminated as evident by optimum saccharification ( $49.12 \pm 1.05\%$ ) obtained at enzyme concentration of 0.1% (w/v %). In the study on fermentability of SFS in different buffers (acetate buffer and distilled water) and different yeast strains (*Saccharomyces cerevisiae* CSI01 and commercial baker's yeast), comparable fermentation efficiency utilizing both buffers was achieved, for example, acetate buffer at 87.76% and distilled water at 87.31%. Commercial baker's yeast was chosen as the best fermenting microorganism due to the low cost and availability with high ethanol yield (45.26%) compared to *S. cerevisiae* CSI-01 (44.53%).

Key word; Sago fibre, pre-treatment, enzymatic hydrolysis, reducing sugars, ethanol fermentation

## ABSTRAK

*Hampas sagu atau serat sagu diperolehi daripada efluen sagu telah dirawat untuk penghasilan gula terfermentasi dan selanjutnya difermentasi kepada etanol. Pra-rawatan amatlah penting dalam memudahkan tindakan hidrolisis enzimatik terhadap serat sagu. Dalam kajian pra-rawatan, pra-rawatan yang berbeza telah diselidiki; pengukusan, pendidihan beralkali diikuti rendaman di dalam asid cair dan pendidihan beralkali diikuti pendidihan lanjutan di dalam asid cair. Kajian menunjukkan kaedah pengukusan memberikan penurunan lignin yang tinggi (49.2%) dan kadar penukaran selulosa yang ketara ( $41.99 \pm 8.12\%$ ), mencadangkan pra-rawatan pengukusan sebagai pra-rawatan terbaik disamping ketiadaan penggunaan bahan kimia yang penting untuk hidrolisis enzimatik selanjutnya. Kajian dalam memaksimumkan pra-rawatan pengukusan menggambarkan perolehan selulosa ( $39.63 \pm 9.23\%$ ), gula penurun ( $36.85 \pm 0.95$  g/L) dan kandungan kanji ( $12.28 \pm 0.19$  g/L) yang tinggi dicapai menggunakan kepekatan serat pada 7.5%, manakala pendidihan pada 45 minit menunjukkan pencapaian yang serupa dengan kaedah pengukusan dan menyediakan penyelesaian yang ekonomi. Dalam kajian hidrolisis enzimatik, serat sagu yang dikukus (~40% selulosa) dihidrolisis menggunakan cellulase (NS50013) and  $\beta$ -glucosidase (NS50010, Novozyme) dan kepekatan enzim terbaik selepas 12 jam adalah 20% and 0.5% (v/w), masing-masingnya. Parameter-parameter optimum dalam hidrolisis enzimatik serat sagu telah dikaji. Dalam penentuan pH optimum, pH 4.5 menunjukkan perolehan gula penurun ( $3.98 \pm 0.04$  g/L) dan kadar sakarifikasi ( $19.63 \pm 0.2\%$ ) yang tinggi berbanding pH 5 ( $18.78 \pm 0.51\%$ ), pH 5.5 ( $13.03 \pm 1.08\%$ ), pH 6 ( $5.77 \pm 1.3\%$ ) dan pH 6.5 ( $0.36 \pm 0.44\%$ ). Perolehan gula penurun yang tinggi ( $8.86 \pm 0.12$  g/L) menyumbang kepada kadar sakarifikasi yang tinggi ( $43.71 \pm 0.6\%$ ) sepertimana yang*

dipamerkan dalam hidrolisis pada suhu 45°C berbanding pada suhu 50°C, 55°C, 60°C, 65°C and 70°C. Dalam kajian media berbeza untuk hidrolisis, air suling digunakan sebagai media mempamerkan pencapaian yang terbaik pada perolehan gula penurun ( $10.96 \pm 0.46$  g/L) dan peratusan sakarifikasi yang tinggi ( $54.05 \pm 2.28\%$ ), bersamaan dengan pencapaian media yang telah diselidiki secara terperinci, contohnya, media natrium asetat dan media natrium sitrat dengan peratusan pada  $52.19 \pm 3.66\%$  dan  $55.90 \pm 4.91\%$ , masing-masingnya. Untuk hidrolisis maksimum, kepekatan serat sagu yang berbeza telah diselidiki. Kadar sakarifikasi telah meningkat bersama peningkatan kepekatan substrat sehingga ianya mencapai kepekatan substrat pada 6% (w/v) di mana kepekatan substrat menunjukkan kadar sakarifikasi and perolehan gula penurun yang rendah. Ini mencadangkan perolehan yang tinggi dapat dicapai dengan kepekatan substrat pada 6% (w/v). Kajian penambahan kompleks enzim (NS50012, Novozyme) menunjukkan perencatan substrat (selulosa dan selobios) telah dihapuskan sepertimana dibuktikan oleh sakarifikasi optimum ( $49.12 \pm 1.05\%$ ) dicapai dengan kepekatan enzim pada 0.1% (w/v %). Keupayaan fermentasi gula hasilan serat sagu di dalam media (media asetat dan air suling) dan mikroorganisma (*Saccharomyces cerevisiae* CSI-01 and yis komersial) mempamerkan kecekapan fermentasi yang sama dengan menggunakan kedua-dua media telah dicapai, contohnya, media asetat pada 87.76% dan air suling pada 87.31%. Yis komersial telah dipilih sebagai agen fermentasi terbaik dengan kos yang murah dan senang didapati serta perolehan etanol yang tinggi (45.26%) berbanding *S. cerevisiae* CSI-01 (44.53%).

Kata kunci; Hampas sagu, pra-rawatan, hidrolisis enzimatik, gula penurun, fermentasi etanol