

**Magdalena Świątek, Małgorzata Lewandowska,
Karolina Świątek, Włodzimierz Bednarski**

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

e-mail: magdalena.swiatek@uwm.edu.pl

WPŁYW PARAMETRÓW OBRÓBKİ CIŚNIENIOWEJ NA EFEKTYWNOŚĆ HYDROLIZY POLISACHARYDÓW SUROWCA LIGNOCELULOZOWEGO*

Streszczenie: Celem badań było określenie wpływu ciśnieniowo-alkalicznej obróbki wstępnej na skuteczność hydrolizy enzymatycznej polisacharydów wierzby wiciowej. Substrat w postaci zrębków lub rozdrobniony poddano wstępnemu traktowaniu w reaktorze ciśnieniowym: temperatura 200°C, z udziałem NaOH w dawkach 0,1 oraz 0,15 g · g⁻¹ s.s. wierzby lub w autoklawie (tylko substrat rozdrobniony), w warunkach: temperatura 121°C, czas 3 h, dodatek NaOH 0,1 g · g⁻¹ s.s. wierzby. Najkorzystniejsze efekty hydrolizy enzymatycznej polisacharydów uzyskano po wstępnym traktowaniu wierzby w postaci zmielonej (1-2 mm) w warunkach: dodatek NaOH 0,1 g · g⁻¹ s.s. wierzby, 121°C, 3 h, co skutkowało uwolnieniem 48,48 g cukrów redukujących · dm⁻³ hydrolizatu.

Słowa kluczowe: lignoceluloza, wierzba wiciowa, obróbka wstępna, hydroliza enzymatyczna.

1. Wstęp

Biomasa lignocelulozowa stanowi najbardziej obfite, odtwarzalne źródło zasobów, które mogą być wykorzystywane do produkcji bioetanolu [Stephenson i in. 2010]. Pozostałości produkcji rolniczej oraz odpady z przemysłu drzewnego są atrakcyjnym źródłem, jednakże w dalszej perspektywie ciekawszą alternatywą wydają się szybko rosnące rośliny energetyczne (np. *Salix*, proso różgowe) [Sassner in. 2008]. Technologia etanolu celulozowego (II generacji) wymaga szeregu działań dodatkowych, pozostających nadal w sferze badań. Ze względu na specyficzną strukturę lignocelulozy jej biokonwersja do etanolu powinna być poprzedzona wstępną obróbką, mającą na celu rozbitcie trwałego kompleksu, w tym: zmniejsz-

* Opisane badania były finansowane z budżetu Zadania Badawczego nr 4 pt. „Opracowanie zintegrowanych technologii wytwarzania paliw i energii z biomasy, odpadów rolniczych i innych” w ramach strategicznego programu badań naukowych i prac rozwojowych pt.: „Zaawansowane technologie pozyskiwania energii”, realizowanego ze środków NCBiR i ENERGA S.A.

szenie krystaliczności celulozy, zwiększenie powierzchni właściwej substratu, nie powodującą jednocześnie formowania inhibitorów hydrolizy i fermentacji. Właściwie dobrane parametry wstępnego przygotowania surowca decydują więc o efektywności hydrolizy enzymatycznej polisacharydów i fermentacji etanolowej uwolnionych cukrów.

Prowadzone obecnie doświadczenia w tym zakresie zmierzają do identyfikacji, oceny, rozwoju i zaprezentowania obiecujących technologii, które przede wszystkim sprzyjałyby poprawie wydajności procesu hydrolizy enzymatycznej polisacharydów przy obniżonych dawkach enzymów i w krótszym czasie. Ze względu na duże zróżnicowanie surowców lignocelulozowych pod względem właściwości fizykochemicznych, konieczny jest dobór skutecznej technologii obróbki wstępnej w zależności od rodzaju surowca. Proponowane metody w różnym stopniu wpływają na zwiększenie dostępności celulozy dla enzymów hydrolitycznych, powstawanie związków hamujących mikroorganizmy, energochłonność procesu mieszania oraz ilość powstających odpadów i ścieków, co decyduje o końcowej efektywności procesu biokonwersji surowców lignocelulozowych do etanolu [Alvira i in. 2010; Sims i in. 2010]. Wstępne traktowanie surowców lignocelulozowych alkalicznie pozwala na oddzielenie ligniny od polisacharydów (poprzez oddziaływanie na wiązania estrowe) oraz zwiększenie dostępności celulozy dla enzymów hydrolitycznych, ponadto wymaga zwykle łagodniejszych warunków (krótszego czasu, niższej temperatury i ciśnienia) w porównaniu z innymi metodami [Galbe, Zacchi 2012].

W niniejszym opracowaniu przedstawiono wyniki badań zmierzających do oceny przydatności metody ciśnieniowo-alkalicznej do obróbki wstępnej wierzby wiciowej (*Salix viminalis*). Głównym celem badań było zwiększenie podatności polisacharydów (celulozy i hemicelulozy) na proces hydrolizy enzymatycznej, generującej cukry proste, możliwe do wykorzystania przez drożdże w procesie fermentacji alkoholowej.

2. Materiały i metody

Materiał doświadczalny stanowiła wierzba wiciowa (*Salix viminalis*) pochodząca z upraw dedykowanych Zakładu Produkcyjno-Doświadczalnego „Bałcyny” Sp. z o.o., o zawartości 95,3% suchej masy. Surowiec rozdrobniono do poziomu 1-2 mm poprzez kilkustopniowe mielenie (młyn tnący Retsch SM 100). Określono udział poszczególnych frakcji włókna wierzby wiciowej, wykorzystując urządzenie Fibertec TM 2010: oznaczenie zawartości włókna neutralno-detergentowego (NDF) według Van Soesta [Van Soest i in. 1991], oznaczenie zawartości włókna kwaśno-detergentowego (ADF) oraz ligniny kwaśno-detergentowej (ADL) [PN_EN ISO 13906 2009]. Zawartość celulozy wyznaczono z różnicy udziałów frakcji ADF i ADL, natomiast zawartość hemicelulozy – z różnicy pomiędzy udziałem frakcji NDF i ADF.

Substrat w postaci zrębków lub rozdrobniony poddano wstępnemu traktowaniu w reaktorze ciśnieniowym konstrukcji własnej Instytutu Maszyn Przepływowych

w Gdańsku o pojemności roboczej 3 dm³, w warunkach: temperatura 200°C, ciśnienie 18 bar (bez przetrzymywania), według wariantów opisanych w tabeli 1. Ten sposób traktowania surowca porównano z obróbką wierzby w warunkach: temperatura 121°C, czas 3 h, dodatek NaOH 0,1 g · g⁻¹ s.s. wierzby (wariant 7).

Materiał po obróbce w temperaturze 200°C (warianty 1 ÷ 6) suszono (60°C/48 h) i ujednolicono pod względem wielkości cząstek, po czym sporządzono zawiesinę w wodzie, korygowano jej kwasowość do pH 5 za pomocą stężonego kwasu octowego i poddano hydrolizie enzymatycznej.

Tabela 1. Warianty ciśnieniowo-alkalicznej obróbki wstępnej

Warianty doświadczeń	Stopień rozdrobnienia substratu	Wsad do reaktora	Dodatek NaOH [g · g ⁻¹ s.s. wierzby]	Czas dogrzewania/schładzania [h]	Rozprężanie
1	zrębki	115 g substratu 400 g wody 15 g NaOH	0,15	1 / 3	nie
2	zrębki	115 g substratu 400 g wody 15 g NaOH	0,15	1 / 0,5	tak
3	zrębki	115 g substratu 400 g wody 10 g NaOH	0,10	1 / 3	nie
4	zrębki	115 g substratu 400 g wody 10 g NaOH	0,10	1 / 0,5	tak
5	1-2 mm	115 g substratu 400 g wody 15 g NaOH	0,10	1 / 3	nie
6	1-2 mm	115 g substratu 400 g wody 15 g NaOH	0,10	1 / 0,5	tak

Źródło: opracowanie własne.

Materiał po obróbce w temperaturze 121°C (wariant 7) i korekcie kwasowości środowiska do pH 5 bezpośrednio przeznaczono do procesu hydrolizy enzymatycznej. Stężenie substratu lignocelulozowego w zawiesinie ustalono na poziomie 10% (w/w), co umożliwiło mieszanie medium w czasie reakcji. Proces hydrolizy prowadzono w temperaturze 50°C w kolbach stożkowych o pojemności 500 cm³, zawierających 100 g medium reakcyjnego, z zastosowaniem wytrząsania (250 obr · min⁻¹; inkubator Innova 40, New Brunswick Scientific), przy użyciu ustalonej kompozycji trzech preparatów enzymatycznych: celulazy (z *Trichoderma longibrachiatum*) – 15 U · g⁻¹ s.s. wierzby, ksylanazy (z *Trichoderma longibrachiatum*) – 15 FXU · g⁻¹ s.s. wierzby oraz celobrazy (Novozyme 188) – 30 CBU · g⁻¹ s.s. wierzby. Ak-

tywność enzymów była wyrażana następująco: 1 U – ilość enzymu uwalniająca 1 μmol glukozy z celulozy w czasie 1 h (warunki reakcji: pH 5; temperatura 37°C, czas inkubacji 2 h), 1 FXU – ilość enzymu uwalniająca 1 μmol ksylozy z ksyłanu w czasie 1 min (warunki reakcji: pH 4,5; temperatura 30°C), 1 CBU – ilość enzymu przekształcająca 1 μmol celobiozy do 2 μmol glukozy w ciągu 1 minuty (warunki reakcji: pH 4,8; temperatura 50°C). Podczas hydrolizy zastosowano dodatek azydu sodu (0,1%) celem wyeliminowania potencjalnych zakażeń mikrobiologicznych. W czasie reakcji okresowo pobierano próbki do analizy. Efekty hydrolizy określano na podstawie ilości uwolnionych cukrów redukujących, oznaczonych przy użyciu metody z kwasem 3,5-dinitrosalicylowym [Miller 1959]. Porównawczo przeprowadzono hydrolizę materiału natywnego. Wydajność hydrolizy (w) obliczano według następującego wzoru:

$$w = \frac{c \times 0,9}{63,2} \times 100 [\%],$$

gdzie: c – stężenie uwolnionych cukrów redukujących [$\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$], 0,9 – współczynnik przeliczeniowy cukrów prostych na polisacharydy, 63,2 – zawartość celulozy i hemicelulozy w materiale natywnym [%].

3. Wyniki i dyskusja

Wierzba wiciowa charakteryzuje się stosunkowo wysoką zawartością celulozy – 50,7% w suchej masie substratu, w związku z tym jest ona atrakcyjnym źródłem glukozy, cukru łatwo ulegającego konwersji mikrobiologicznej do etanolu. Łączna zawartość polisacharydów (celulozy i hemicelulozy) stanowi około 63%, natomiast udział ligniny wynosi prawie 16%. Surowce drzewne zawierają znaczne ilości ligniny w stosunku do innych substratów lignocelulozowych (odpadów produkcji rolniczej, traw), która utrudnia proces hydrolizy enzymatycznej polisacharydów wierzby. Obróbka alkaliczna pozwala na rozbitcie kompleksu lignocelulozowego oraz rozdział ligniny od polisacharydów, umożliwiając efektywne przeprowadzenie hydrolizy enzymatycznej. Udział głównych frakcji lignocelulozy (celulozy, hemicelulozy, ligniny) w biomacie wierzby wiciowej natywnej oraz poddanej obróbce wstępnej w temperaturze 200°C, w różnych wariantach (dodatek NaOH, stopień rozdrobnienia substratu, rozprężanie/brak rozprężania) przedstawiono w tabeli 2. Otrzymane wyniki wskazują na istotny wpływ obróbki ciśnieniowo-alkalicznej na zmianę składu substratu. Efektem jej działania – zależnie od wariantu zastosowanych parametrów – było zmniejszenie zawartości celulozy o 4,2 ÷ 18,6% oraz niemal całkowite usunięcie hemicelulozy, której obecności nie stwierdzono w próbkach po obróbce według wariantów 1, 3, 5, 6. Zmiany udziału poszczególnych frakcji prawdopodobnie spowodowane są degradacją polimerów do cząsteczek o mniejszej masie, które nie są już identyfikowane jako frakcje celulozy, hemicelulozy lub też ligniny.

W materiale po obróbce wstępnej według wariantów 1 i 3, w których nie stosowano rozprężania, nie stwierdzono obecności hemicelulozy – głębszy stopień degradacji tej frakcji może być spowodowany dłuższym działaniem wysokiej temperatury i ciśnienia (zawartość reaktora pozostawiono do samoczynnego, powolnego ostygnięcia). W postępowaniu prowadzonym według wariantów 2 i 4, po doprowa-

Tabela 2. Wpływ sposobu przygotowania biomasy wierzby wiciowej na ilość dostępnych głównych frakcji lignocelulozy

Materiał		Celuloza	Hemiceluloza	Lignina
		[% s.s.]		
Wierzba natywna		50,72	12,47	15,92
Wierzba wiciowa poddana wstępnej obróbce w różnych wariantach				
1	Zrębki	41,35	nz*	15,68
1`**	0,15 g NaOH · g ⁻¹ s.s. 200°C/bez rozprężania	41,33	nz	14,04
2	Zrębki	42,26	1,37	15,93
2`	0,15 g NaOH · g ⁻¹ s.s. 200°C/rozprężanie	43,23	4,56	15,39
3	Zrębki	41,37	nz	15,62
3`	0,10 g NaOH · g ⁻¹ s.s. 200°C/bez rozprężania	43,27	nz	16,50
4	Zrębki	45,91	4,30	14,81
4`	0,10 g NaOH · g ⁻¹ s.s. 200°C/rozprężanie	46,55	4,63	15,35
5	Mielona wierzba 0,10 g NaOH · g ⁻¹ s.s. 200°C/bez rozprężania	32,15	nz	11,65
6	Mielona wierzba 0,10 g NaOH · g ⁻¹ s.s. 200°C/rozprężanie	36,72	nz	13,38

*nz – nie zidentyfikowano; **n i n` oznaczają dwa równoległe powtórzenia obróbki.

Źródło: opracowanie własne.

dzeniu zawartości reaktora do temperatury 200°C, przeprowadzono natychmiastowe rozprężanie. Zmniejszenie zawartości frakcji celulozowej w materiale po obróbce według wariantów 1 ÷ 4 mieściło się w zakresie 4,2 ÷ 9,4% i było zależne zarówno od procesu rozprężania – powodując większą stratę w materiale niepoddanym rozprężaniu, jak i od dodatku NaOH – większy spadek zawartości celulozy był spowodowany stosowaniem większej dawki wodorotlenku. Największe zmiany zawartości poszczególnych frakcji stwierdzono w próbkach wierzby po obróbce ciśnieniowo-alkalicznej według wariantów 5 i 6, w których stosowano substrat w formie zmielonej (cząstki o wielkości 1-2 mm), co dowodzi istotnej roli stopnia jego rozdrobnienia

na zmiany w obrębie kompleksu zachodzące w procesie wstępnego traktowania. Rozwinięcie powierzchni materiału umożliwia skuteczniejsze działanie obróbki ciśnieniowo-alkalicznej w obrębie struktury kompleksu i wskutek tego większy stopień depolimeryzacji polisacharydów i ligniny.

W kolejnym etapie eksperymentu substrat natywny i wstępnie przygotowany poddano 72-godzinnej hydrolizie enzymatycznej przy użyciu preparatów: celulazy, ksylanazy i celobiazы. Przeprowadzone doświadczenia potwierdziły istotny wpływ procesu wstępnego traktowania substratu na wydajność hydrolizy enzymatycznej polisacharydów – zaobserwowano wzrost stężenia cukrów redukujących w hydrolizacie materiału natywnego z $15,98 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ do $40,18 \div 48,48 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ w hydrolizatach wierzby po wstępnej obróbce (tab. 3). Najkorzystniejsze rezultaty hydrolizy enzymatycznej uzyskano w doświadczeniu, w którym zastosowano substrat po obróbce w warunkach: temperatura 121°C , czas 3 h, dodatek NaOH $0,1 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ s.s. wierzby.

Tabela 3. Wpływ obróbki wstępnej biomasy wierzby wiciowej na ilość uwolnionych cukrów redukujących oraz wydajność procesu hydrolizy wielocukrów w czasie 72-godzinnej hydrolizy enzymatycznej

Substrat		Stężenie uwolnionych cukrów redukujących [$\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$]	Wydajność [%]
Wierzba mielona natywna		15,98	22,8
Poddany obróbce wstępnej w warunkach			
1	Zrębki $0,15 \text{ g NaOH} \cdot \text{g}^{-1}$ s.s. wierzby 200°C /bez rozprężania	42,44	60,4
2	Zrębki $0,15 \text{ g NaOH} \cdot \text{g}^{-1}$ s.s. wierzby 200°C /rozprężanie	46,14	65,7
3	Zrębki $0,10 \text{ g NaOH} \cdot \text{g}^{-1}$ s.s. wierzby 200°C /bez rozprężania	41,67	59,3
4	Zrębki $0,10 \text{ g NaOH} \cdot \text{g}^{-1}$ s.s. wierzby 200°C /rozprężanie	40,18	57,2
5	Mielona wierzba $0,10 \text{ g NaOH} \cdot \text{g}^{-1}$ s.s. wierzby 200°C /bez rozprężania	46,15	65,7
6	Mielona wierzba $0,10 \text{ g NaOH} \cdot \text{g}^{-1}$ s.s. wierzby 200°C /rozprężanie	45,47	64,8
7	Mielona wierzba $0,10 \text{ g NaOH} \cdot \text{g}^{-1}$ s.s. wierzby $121^\circ\text{C}/3 \text{ h}$	48,48	69,0

Źródło: opracowanie własne.

Parametry te zostały wybrane na podstawie wcześniejszych badań, w których ich zakres był następujący: czas $1 \div 3$ h, dodatek NaOH $0,1 \div 0,2$ g \cdot g⁻¹ s.s. wierzby, temperatura 121°C [Kaliszewska 2012]. Wydajność procesu, obliczona względem sumy zawartości celulozy i hemicelulozy w materiale natywnym, osiągnęła poziom 69% i była 3-krotnie wyższa od wydajności hydrolizy materiału natywnego.

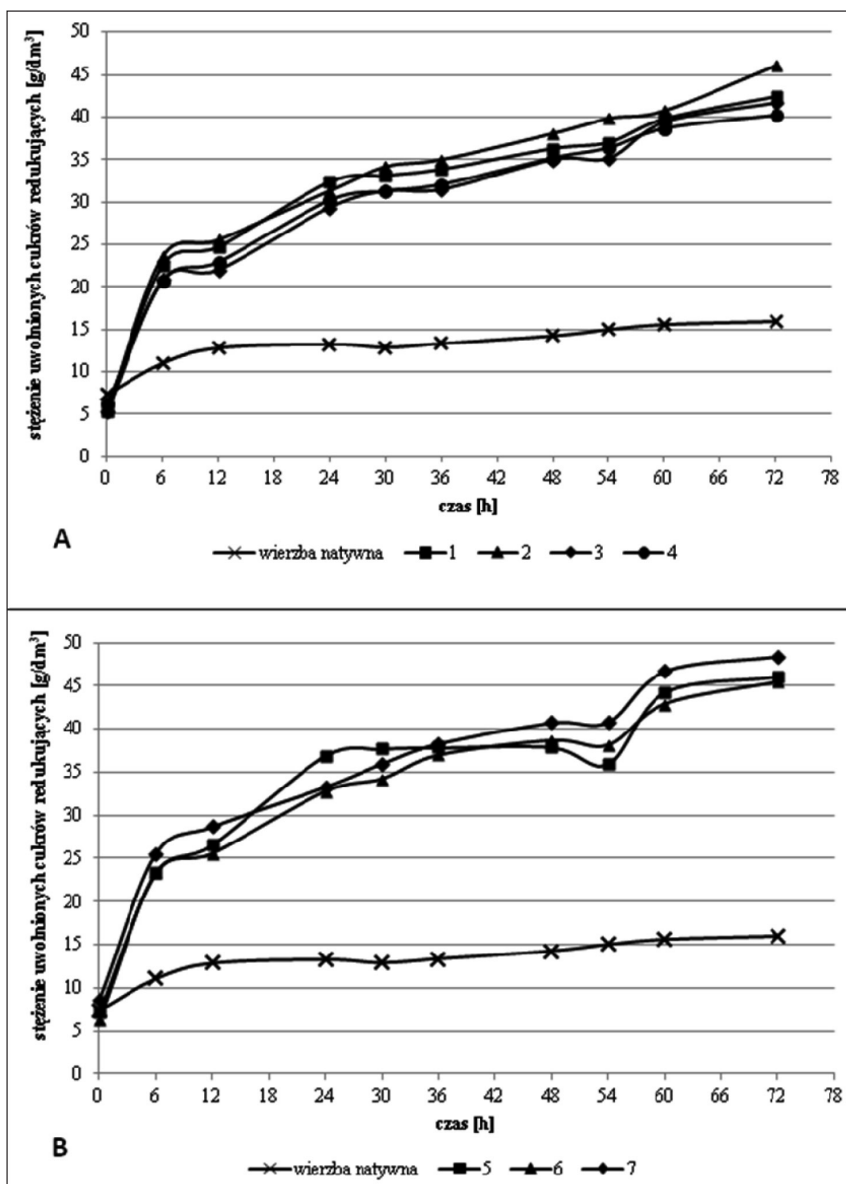
Przeprowadzenie procesu obróbki zrębków wierzby wiciowej w temperaturze 200°C, z różnym dodatkiem NaOH i zastosowaniem rozprężania lub nie, skutkowało uwolnieniem $40,18 \div 46,14$ g cukrów \cdot dm⁻³ hydrolizatu ($57 \div 66\%$ wydajności) – stanowiło więc wynik mniej korzystny. Hydroliza przebiegała najszybciej w pierwszych 6 godzinach procesu (stężenie uwolnionych cukrów redukujących ponad 20 g \cdot dm⁻³), po czym nastąpiło znaczne jej spowolnienie (rys. 1 A), co wynikać może z faktu, że w pierwszej kolejności rozkładane są polisacharydy najłatwiej dostępne dla enzymów, ponadto nie występuje zjawisko hamowania reakcji produktem końcowym (monosacharydy i oligosacharydy). W przeprowadzonych doświadczeniach odnotowano również korzystny wpływ większej dawki NaOH ($0,15$ g \cdot g⁻¹ s.s. wierzby) na efektywność hydrolizy enzymatycznej. Proces rozprężania spowodował uzyskanie korzystniejszej wydajności hydrolizy enzymatycznej przy zastosowaniu dawki NaOH $0,15$ g \cdot g⁻¹ s.s. wierzby, tj. $46,14$ g cukrów \cdot dm⁻³ (w porównaniu z wariantem bez rozprężania – $42,44$ g cukrów \cdot dm⁻³), jednakże zaobserwowano niezadowalającą powtarzalność skuteczności procesu w dwóch równoległych doświadczeniach (odpowiednio $37,46$ i $54,82$ g cukrów \cdot dm⁻³).

Obróbka ciśnieniowo-alkaliczna wierzby w postaci zmielonej (cząstki o wielkości $1-2$ mm, $0,15$ g NaOH \cdot g⁻¹ s.s.) spowodowała podobne rezultaty hydrolizy, przy czym nie odnotowano w tych warunkach wpływu procesu rozprężania, uzyskując: $46,15$ (proces bez rozprężania) i $45,47$ (proces z rozprężaniem) g monosacharydów \cdot dm⁻³. Korzystne stężenie cukrów redukujących około 25 g \cdot dm⁻³ osiągnięto już po 12 godzinach procesu hydrolizy, po czym nastąpiło spowolnienie reakcji enzymatycznej (rys. 1 B).

Proces wstępnego traktowania biomasy świerku w środowisku alkalicznym i niskiej temperaturze przeprowadzili Zhao i in. [2008]. Po obróbce w warunkach: stężenie NaOH 3%, mocznika 12%, temperatura -15°C , czas 24 h, a następnie 7-dniowej hydrolizie enzymatycznej uzyskano wydajność uwalniania glukozy na poziomie 60%. Proces hydrolizy przebiegał najszybciej w ciągu pierwszych 2 dni, po upływie których osiągnięto ponad 50% wydajności [Zhao i in. 2008].

Metody obróbki alkalicznej są z powodzeniem stosowane do wstępnego przygotowania pozostałości produkcji rolniczej – słomy sorgo, słomy ryżowej, łodyg trzciny cukrowej [McIntosh, Vancov 2010; Wu i in. 2011; Zhu i in. 2005].

Wysoką wydajność hydrolizy enzymatycznej polisacharydów wierzby można uzyskać, poddając substrat impregnacji w 0,5% roztworze kwasu siarkowego (około 90 min), a następnie działaniu pary wodnej pod wysokim ciśnieniem i w wysokiej temperaturze (200°C) w czasie 4 lub 8 minut. Przeprowadzenie sekwencyjnej 96-godzinnej hydrolizy enzymatycznej z udziałem preparatu celulazy (Celluclast 1.5 L) pozwoliło na uzyskanie $55,6$ g glukozy i ksylozy ze 100 g materiału natywnego,



Rys. 1. Ilość cukrów redukujących w czasie hydrolizy enzymatycznej w zależności od sposobu przygotowania biomasy wierzby wiciowej

Źródło: opracowanie własne.

co stanowiło 88% wartości teoretycznej (w stosunku do polisacharydów zawartych w materiale natywnym). Proces obróbki wstępnej spowodował jednakże formowanie inhibitorów procesu fermentacji, np. furfuralu i hydroksymetylofurfuralu – stężenie

we frakcji płynnej po obróbce wynosiło odpowiednio 1,1 i 0,1 g · dm⁻³ (czas obróbki 4 min) oraz 1,8 i 0,4 g · dm⁻³ (czas obróbki 8 min) [Sassner i in. 2008].

4. Podsumowanie

Wyniki przeprowadzonych doświadczeń wskazują na przydatność zabiegów obróbki ciśnieniowo-alkalicznej do wstępnego przygotowania surowców lignocelulozowych. Ich skuteczność w znacznym stopniu uzależniona jest od poziomu rozdrobnienia surowca, ponadto istotną rolę odgrywa właściwy dobór czasu i temperatury, co decyduje o rodzaju przemian zachodzących w kompleksie lignocelulozowym. Zabieg rozprężania nie ma dużego wpływu na końcowy efekt hydrolizy tak traktowanego materiału. Biorąc pod uwagę zbliżone rezultaty hydrolizy enzymatycznej polisacharydów wierzby wstępnie traktowanej w temperaturze 121°C i 200°C, należy porównać koszty każdej metody, które zadecydują o końcowej efektywności ekonomicznej procesu otrzymywania etanolu z surowców lignocelulozowych.

Literatura

- Alvira P., Tomás-Pejó E., Ballesteros M., Negro M.J., *Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review*, *Bioresource Technology* 2010, 101, s. 4851-4861.
- Galbe M., Zacchi G., *Pretreatment: The key to efficient utilization of lignocellulosic materials*, *Biomass and Bioenergy* 2012, doi:10.1016/j.biombioe.2012.03.026.
- Kaliszewska K., *Wstępna obróbka alkaliczna lignocelulozy a wydajność hydrolizy enzymatycznej*. Praca magisterska, UWM w Olsztynie, 2012.
- McIntosh S., Vancov T., *Enhanced enzyme saccharification of Sorghum bicolor straw using dilute alkali pretreatment*, *Bioresource Technology* 2010, 101, s. 6718-6727.
- Miller G.L., *Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar*, *Analytical Chemistry* 1959, 31 (3), s. 426-428.
- Polska Norma PN_EN ISO 13906, 2009. Pasze. Oznaczanie zawartości włókna kwaśnodetergentowego (ADF) i ligniny kwaśnodetergentowej (ADL).
- Sassner P., Galbe M., Zacchi G., *Techno-economic evaluation of bioethanol production from three different lignocellulosic materials*, *Biomass and Bioenergy* 2008, 32, s. 422-430.
- Sassner P., Mårtensson C.-G., Galbe M., Zacchi G., *Steam pretreatment of H₂SO₄-impregnated Salix for the production of bioethanol*, *Bioresource Technology* 2008, 99, s. 137-145.
- Sims R.E.H., Mabee W., Saddler J.N., Taylor M., *An overview of second generation biofuel technologies*, *Bioresource Technology* 2010, 101, s. 1570-1580.
- Stephenson A.L., Dupree P., Scott S.A., Dennis J.S., *The environmental and economic sustainability of potential bioethanol from willow in the UK*, *Bioresource Technology* 2010, 101, s. 9612-9623.
- Van Soest P.J., Robertson J.B., Lewis B.A., *Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition*, *Journal of Dairy Science* 1991, 74, s. 3583-3597.
- Wu L., Li Y., Arakane M., Ike M., Wada M., Terajima Y., Ishikawa S., Tokuyasu K., *Efficient conversion of sugarcane stalks into ethanol employing low temperature alkali pretreatment method*, *Bioresource Technology* 2011, 102, s. 11183-11188.

- Zhao Y., Wang Y., Zhu J.Y., Ragauskas A., Deng Y., *Enhanced enzymatic hydrolysis of spruce by alkaline pretreatment at low temperature*, Biotechnology and Bioengineering 2008, Vol. 99, No. 6, s. 1320-1328.
- Zhu S., Wu Y., Yu Z., Liao J., Zhang Y., *Pretreatment by microwave/alkali of rice straw and its enzymic hydrolysis*, Process Biochemistry 2005, 40, s. 3082-3086.

THE EFFECT OF PARAMETERS OF PRESSURE TREATMENT ON THE EFFECTIVENESS OF HYDROLYSIS OF LIGNOCELLULOSIC SUBSTRATE POLYSACCHARIDES

Summary: Research evaluating the impact of pressure – alkaline pretreatment of *Salix viminalis* on the effectiveness of enzymatic hydrolysis of polysaccharides was carried out. The substrate in the form of chips or ground was pretreated in high-pressure reactor: temperature 200°C, addition of NaOH 0,1 and 0,15 g · g⁻¹ d.m. of substrate, or in autoclave (only ground substrate): temperature 121°C, time 3h, addition of NaOH 0,1 g · g⁻¹ d.m. of substrate. The best results of enzymatic hydrolysis of polysaccharides were obtained when ground biomass of *Salix viminalis* (1-2 mm) was pretreated under conditions: addition of NaOH 0,1 g · g⁻¹ d.m. of substrate, temperature 121°C, time 3 h, which allowed to obtain 48,48 g sugars · dm⁻³ hydrolysate.

Keywords: lignocellulose, *Salix viminalis*, pretreatment, enzymatic hydrolysis.