

# NAUKI INŻYNIERSKIE I TECHNOLOGIE ENGINEERING SCIENCES AND TECHNOLOGIES

4(15)•2014



Wydawnictwo Uniwersytetu Ekonomicznego we Wrocławiu  
Wrocław 2014

Redaktor Wydawnictwa: Joanna Świrska-Korlub

Redaktor techniczny: Barbara Łopusiewicz

Korektor: Justyna Mroczkowska

Łamanie: Beata Mazur

Projekt okładki: Beata Dębska

Publikacja jest dostępna w Internecie na stronach:

[www.ibuk.pl](http://www.ibuk.pl), [www.ebscohost.com](http://www.ebscohost.com),

w Dolnośląskiej Bibliotece Cyfrowej [www.dbc.wroc.pl](http://www.dbc.wroc.pl),

AGRO <http://agro.icm.edu.pl>, <http://journals.indexcopernicus.com>,

The Central and Eastern European Online Library [www.ceeol.com](http://www.ceeol.com),

a także w adnotowanej bibliografii zagadnień ekonomicznych BazEkon

[http://kangur.uek.krakow.pl/bazy\\_ae/bazekon/nowy/index.php](http://kangur.uek.krakow.pl/bazy_ae/bazekon/nowy/index.php)

Informacje o naborze artykułów i zasadach recenzowania znajdują się na stronie internetowej Wydawnictwa

[www.wydawnictwo.ue.wroc.pl](http://www.wydawnictwo.ue.wroc.pl)

Kopiowanie i powielanie w jakiegokolwiek formie wymaga pisemnej zgody Wydawcy

© Copyright by Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu  
Wrocław 2014

**ISSN 2080-5985**

Wersja pierwotna: publikacja drukowana

Druk i oprawa:

EXPOL, P. Rybiński, J. Dąbek, sp.j.

ul. Brzeska 4, 87-800 Włocławek

## Spis treści

<b>Wstęp</b> .....	7
<b>Maria Baranowska, Władysław Chojnowski, Hanna Nowak:</b> Dezynfekcja w zakładach mleczarskich .....	9
<b>Marta Ciecierska:</b> Ocena poziomu świadomości konsumentów w zakresie migracji niepożądanych substancji chemicznych do żywności z opakowań i materiałów będących w kontakcie z żywnością .....	23
<b>Aleksandra Gołoś, Dariusz Piotrowski, Piotr Grzegory, Mariusz Wojnowski:</b> Wpływ temperatury na strukturę i barwę truskawek suszonych wybranymi metodami .....	31
<b>Natalia Kordala, Małgorzata Lewandowska, Artur Kleina, Karolina Świątek:</b> Ocena właściwości celulołitycznych <i>Cellulosimicrobium cellulans</i> do biokonwersji polisacharydów słomy rzepakowej .....	43
<b>Tomasz Lesiów, Kamila Orzechowska-Przybyła, Alina Niewelt:</b> Rola przeglądów zarządzania w doskonaleniu jakości i bezpieczeństwa żywności, obsługi klienta oraz systemu zarządzania jakością w dwóch wybranych przedsiębiorstwach przemysłu żywnościowego .....	56
<b>Alicja Mańka, Karolina Kosatka, Klaudia Dąbrowska, Renata Stańczyk, Małgorzata Krzywonos:</b> Finansowy i ekonomiczny aspekt prowadzenia własnej winnicy .....	76
<b>Andrzej Okruszek, Teresa Skrabka-Blotnicka:</b> Automatyczne linie uboju bydła i trzody chlewnej.....	84
<b>Agnieszka Pilarska:</b> Wykorzystanie fermentacji metanowej do zagospodarowania wybranych produktów odpadowych przemysłu spożywczego .....	100
<b>Karolina Świątek, Małgorzata Lewandowska, Andrzej Juszcuk, Natalia Kordala:</b> Otrzymywanie etanolu ze słomy rzepakowej w procesie symultanicznej hydrolizy i fermentacji w systemie półciąglym .....	112
<b>Maria Wachowska, Marek Adamczak:</b> Wpływ sposobu i czasu solenia oraz dojrzewania sera edamskiego na jego wybrane parametry jakościowe.....	126
<b>Tomasz Lesiów, Ewa Biazik, Andrzej Okruszek:</b> Sprawozdanie z VI Konferencji Naukowo-Technicznej z cyklu Nauka – Praktyce pt. „Zastosowanie nowatorskich rozwiązań technologicznych w przemyśle spożywczym” ...	137

## Summaries

<b>Maria Baranowska, Władysław Chojnowski, Hanna Nowak:</b> Disinfection in dairy plants .....	22
<b>Marta Ciecierska:</b> Evaluation of level of consumer awareness in migration of undesirable chemicals to food from food packaging and food contact materials.....	30
<b>Aleksandra Gołoś, Dariusz Piotrowski, Piotr Grzegory, Mariusz Wojnowski:</b> Influence of the temperature on the structure and color of strawberries dried by selected methods .....	42
<b>Natalia Kordala, Małgorzata Lewandowska, Artur Kleina, Karolina Świątek:</b> Evaluation of cellulolytic properties of microorganisms for bioconversion of food industry wastes .....	55
<b>Tomasz Lesiów, Kamila Orzechowska-Przybyła, Alina Niewelt:</b> The role of management reviews in the improvement of food quality and safety, customer service and quality management system in two selected enterprises of food industry .....	75
<b>Alicja Mańka, Karolina Kosatka, Klaudia Dąbrowska, Renata Stańczyk, Małgorzata Krzywonos:</b> Financial and economic aspect of running own vineyard .....	83
<b>Andrzej Okruszek, Teresa Skrabka-Blotnicka:</b> Automated commercial slaughter lines of pigs and cattle.....	99
<b>Agnieszka Pilarska:</b> The use of methane fermentation in the development of selected waste products of food industry.....	111
<b>Karolina Świątek, Małgorzata Lewandowska, Andrzej Juszcuk, Natalia Kordala:</b> Obtaining of ethanol from rape straw in the process of simultaneous hydrolysis and fermentation in fed-batch system.....	125
<b>Maria Wachowska, Marek Adamczak:</b> Influence of the brine composition and time of Edam cheese salting and ripening on its selected quality parameters.....	136

**Karolina Świątek, Małgorzata Lewandowska,  
Andrzej Juszczuk, Natalia Kordala**

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

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

---

## **OTRZYMYWANIE ETANOLU ZE SŁOMY RZEPAKOWEJ W PROCESIE SYMULTANICZNEJ HYDROLIZY I FERMENTACJI W SYSTEMIE PÓLCIĄGŁYM**

---

**Streszczenie:** Przeprowadzono badania, których celem było określenie wpływu zastosowania półciągłego systemu hydrolizy i fermentacji polisacharydów zawartych w słomie rzepakowej na wydajność produkcji etanolu w systemie SSF. Słomę rzepakową po alkalicznej obróbce wstępnej poddano detoksykacji poprzez dwukrotne przepłukanie wodą. Po 24 i 48 h jednoczesnej hydrolizy i fermentacji do prób dodawano substrat poddany obróbce wstępnej i suszeniu, każdorazowo w ilości 25% początkowej zawartości substratu w zawieszynie. Porównawczo przeprowadzono symultaniczną hydrolizę i fermentację bez dodatkowego zasilania substratem (kontrolną). Efekty procesu fermentacji wyrażono ilością wytworzonego etanolu w medium pofermentacyjnym. W kontrolnym doświadczeniu hydrolizy i fermentacji uzyskano 1,60% (v/v) etanolu w medium. Natomiast w półciągłym systemie ilość uzyskanego alkoholu wynosiła 1,81% (v/v), co oznacza zwiększenie stężenia etanolu o 13%. Biorąc pod uwagę stężenie surowca w medium reakcyjnym, można stwierdzić, że zastosowana modyfikacja procesu symultanicznej hydrolizy i fermentacji nie wpłynęła na poprawę wydajności procesu biokonwersji.

**Słowa kluczowe:** lignoceluloza, słoma rzepakowa, hydroliza enzymatyczna, fermentacja etanolowa.

DOI: 10.15611/nit.2014.4.09

### **1. Wstęp**

W ostatnich latach obserwuje się wzrastające zainteresowanie problematyką energii odnawialnej. Wyczerpywanie się ropy naftowej, gazu ziemnego czy węgla kamiennego zachęca do poszukiwania alternatywnych źródeł paliw i energii. Spalanie paliw kopalnych przyczynia się do nagromadzenia ditlenku węgla w atmosferze, podczas gdy wykorzystanie paliw alternatywnych jest jednym ze sposobów ograniczenia tego zjawiska. Pozyskanie tanich, odnawialnych i przyjaznych środowisku źródeł

energii stało się integralną częścią strategii energetycznych w krajach rozwiniętych, a także rozwijających się [Gasparatos, Stromberg, Takeuchi 2011].

Jednym z podstawowych biopaliw pochodzenia rolniczego jest bioetanol. Do jego wytwarzania stosuje się surowce skrobiowe lub bogate w cukry (sacharozę i glukozę) [Leja, Lewandowicz 2009]. Jest to technologia wytwarzająca biopaliwa I generacji, czyli wykorzystująca do tego celu surowce stosowane do produkcji żywności. Produkcja tego typu wywołuje sprzeciw społeczny w związku z obawami nadmiernego wykorzystania roślin jadalnych do celów nieżywnościowych, co może prowadzić do zmniejszenia światowych zasobów żywności i wzrostu ich cen [Huang i in. 2012].

Alternatywą dla biopaliw I generacji są paliwa otrzymywane z surowców lignocelulozowych: makulatury, drewna odpadowego, kompostu, słomy (biopaliwa II generacji). Produkcja bioetanolu z materiałów lignocelulozowych może się przyczynić do wzrostu wydajności upraw. Dzięki temu możliwe będzie zmniejszenie ilości obszarów wykorzystywanych do uprawy surowców do celów paliwowych. Jest to związane ze znacznie większym plonem biomasy lignocelulozowej z hektara w porównaniu z plonem zbóż [Ruciński, Bałek, Kupczyk 2009].

W związku z rosnącym zainteresowaniem uprawą roślin oleistych, spowodowanym między innymi produkcją paliw ekologicznych, należy zwrócić szczególną uwagę na sposób zagospodarowania odpadów poprodukcyjnych [Kachel-Jakubowska i in. 2011]. Słoma rzepakowa jest produktem ubocznym podczas przetwórstwa rzepaku, tradycyjnie uprawianego w celu otrzymania oleju roślinnego spożywanego przez ludzi lub stanowiącego dodatek do pasz dla zwierząt. W ostatnich latach olej rzepakowy stosowany jest nie tylko do celów spożywczych, ale także do produkcji biodiesla. Według FAO w 2010 r. powierzchnia pól uprawnych rzepaku na świecie wynosiła ponad 3 mln km<sup>2</sup>, dlatego słoma rzepakowa może stanowić niewyczerpalny i tani surowiec do wydajnej produkcji biopaliw [Díaz i in. 2010; Mathew i in. 2011]. Jej zastosowanie do produkcji bioetanolu może być atrakcyjne również ze względu na stosunkowo dużą zawartość celulozy (42,39%) [Adapa, Tabil, Schoenau 2009].

Lignina, celuloza i hemiceluloza są głównymi składnikami surowców lignocelulozowych, a ich udział zależy od rodzaju rośliny i jej stopnia dojrzałości. Celuloza jest liniowym polimerem cząsteczek glukozy połączonych wiązaniami  $\alpha$ -1,4-glikozydowymi, a sąsiadujące łańcuchy celulozowe tworzą struktury krystaliczne, wysoce odporne na biodegradację poprzez wiązania wodorowe i siły Van der Waalsa. Hemiceluloza występuje w formie rozgałęzionych heteropolimerów, zawierając w swym składzie cukry sześć- i pięciowęglowe oraz kwas glukuronowy. Cząsteczki hemicelulozy łączą się z ligniną poprzez wiązania kowalencyjne i z celulozą poprzez niekowalencyjne interakcje. Lignina jest polimerem o złożonej budowie, zbudowanym głównie z jednostek aromatycznych, takich jak: alkohol kumarylowy, koniferylowy, synapinowy, tworzących nieregularną strukturę. Pełni ona funkcję „kleju” spajającego kompleks lignocelulozowy, nadając mu trwałość i oporność na degradację [Anderson, Akin 2008; Zhang 2008].

Produkcja bioetanolu z surowców lignocelulozowych obejmuje cztery główne etapy: obróbkę wstępną substratu, hydrolizę polisacharydów do cukrów prostych, fermentację heksoz i/lub pentoz do etanolu oraz wydzielenie etanolu z płynu pofermentacyjnego poprzez destylację [Kim, Dale 2004]. Celem obróbki wstępnej jest naruszenie struktury lignocelulozy, obniżenie stopnia krystalizacji celulozy oraz usunięcie hemicelulozy i ligniny. Efektem tego zabiegu jest zwiększenie powierzchni dostępu enzymów hydrolitycznych do substratu i tym samym ułatwienie procesu hydrolizy. Obróbka wstępna jest etapem decydującym o efektywności całego procesu biokonwersji lignocelulozy do etanolu. Hydroliza polisacharydów do cukrów prostych, w związku z bardzo złożoną budową lignocelulozy, jest najtrudniejszym etapem biokonwersji. Zastosowanie enzymów w tym etapie czyni go przyjaznym środowisku, a przez niektórych autorów uważane jest także za metodę najbardziej efektywną i perspektywiczną. Hydroliza enzymatyczna polega na rozkładzie celulozy i hemicelulozy za pomocą enzymów (celulaz i hemicelulaz) do cukrów prostych podlegających w kolejnym etapie fermentacji [Keshwani, Cheng 2009]. Szybkość i stopień hydrolizy enzymatycznej polisacharydów zależą od: metody obróbki wstępnej, stężenia substratu i jego dostępności dla enzymów, aktywności enzymów (dawki), a także warunków inżynierii środowiska (pH, temperatury, mieszania) [Balat 2011].

W procesach fermentacji pochodnych lignocelulozy bardzo istotną kwestią jest dobór strategii jej prowadzenia. Najlepiej poznanym jest system SHF (*Separate Hydrolysis and Fermentation*) – system z oddzielną hydrolizą i fermentacją. Hydroliza enzymatyczna i fermentacja przebiegają sekwencyjnie w dwóch różnych zbiornikach, co umożliwia zastosowanie optymalnych warunków dla każdego z etapów (odpowiednio: dla hydrolizy i fermentacji – 45-50°C i 30-35°C). Wadą tego systemu jest hamowanie aktywności enzymów – ksylanaz i celulaz – produktami reakcji (glukoza, ksyoza, celobioza). System sekwencyjny pozwala na wprowadzenie pośredniej operacji zateżnienia hydrolizatu, co podwyższa stężenie cukrów dostępnych do fermentacji. Może się to jednak wiązać z niekorzystnym zjawiskiem koncentrowania substancji towarzyszących cukrom fermentującym (np. oligosacharydów), które zwiększając ciśnienie osmotyczne środowiska, ograniczają aktywność fermentacyjną drożdży [Olofsson, Bertilsson, Lidén 2008].

Drugim sposobem prowadzenia procesu biokonwersji jest strategia SSF (*Simultaneous Saccharification and Fermentation*) – symultanicznej hydrolizy i fermentacji. W systemie tym hydroliza enzymatyczna i fermentacja odbywają się jednocześnie w tym samym zbiorniku reakcyjnym, co wymusza konieczność zastosowania kompromisowych parametrów korzystnych dla obu reakcji. Wiąże się to najczęściej z obniżeniem temperatury procesu, a tym samym – z rezygnacją z optimum działania enzymów katalitycznych. Cukry proste uwalniane podczas hydrolizy polimerów są natychmiast wykorzystywane przez mikroorganizmy w fermentacji etanolowej, tym samym nie występuje zjawisko hamowania aktywności celulaz produktami hydrolizy [Olofsson, Bertilsson, Lidén 2008]. Sprzyja to pełniejszemu wykorzystaniu dostępnych polisacharydów surowca. Powstający półprodukt – odfermentowana zawiesina – zawiera jednak nie więcej niż 2÷3% etanolu, co stanowi mało korzystny

efekt w procesach przemysłowych w związku z koniecznością ponoszenia wysokich kosztów destylacji. Aby przemysłowa produkcja etanolu z surowców lignocelulozowych była ekonomicznie opłacalna, stężenie etanolu w brzeczce fermentacyjnej musi być wyższe niż 4% (v/v). Dla większości typów materiałów lignocelulozowych wymaga to ustalenia stężenia suchej masy na poziomie około 15%, aby uzyskać wystarczająco wysoki poziom celulozy w medium reakcyjnym. Jednakże produkcja etanolu przy wysokiej koncentracji suchej masy powoduje powstanie wielu problemów (zwiększone stężenie inhibitorów, wysoka lepkość brzeczki) [Liu i in. 2010; Zhang i in. 2010]. Liczne doniesienia literaturowe wskazują na popieranie strategii SSF – rozważane są różne rozwiązania zmierzające do zwiększenia końcowej koncentracji alkoholu w podłożu – np. dodatkowe wielokrotne zasilanie substratem [Kim, Choi, Oh. 2013] lub specjalne rozwiązania konstrukcyjne bioreaktorów [Zhang i in. 2010].

Celem badań było określenie wpływu zastosowania półciąętego systemu hydrolizy i fermentacji polisacharydów zawartych w słomie rzepakowej na wydajność produkcji etanolu w systemie SSF. Aby uniknąć negatywnych skutków związanych z wysokim stężeniem początkowym suchej masy w medium reakcyjnym, zwiększając jednocześnie koncentrację substratu, postanowiono wprowadzić modyfikację do strategii symultanicznej. Zmiana polegała na wprowadzeniu do medium reakcyjnego dodatkowych porcji substratu po 24 i 48 h trwania procesu skojarzonej hydrolizy i fermentacji. Porównawczo przeprowadzono symultaniczną hydrolizę i fermentację bez dodatkowego zasilania substratem (kontrolną).

## 2. Materiały i metody

### 2.1. Słoma rzepakowa

Materiał doświadczalny stanowiła słoma rzepakowa (*Brassica napus* L. var. *napus*), pochodząca z Gospodarstwa Rolnego w Pacóltowie AUREPIO AGRA sp. z o.o., w postaci wysuszonej, o zawartości 95,1% suchej masy. Surowiec poddano procesowi mielenia (młyn tnący Retsch SM100, 2007 r., Niemcy), do poziomu rozdrobnienia 1-2 mm.

### 2.2. Analiza frakcji włókna

Określono udział poszczególnych frakcji włókna słomy rzepakowej, wykorzystując urządzenie Fibertec™ 1020: oznaczenie zawartości włókna neutralno-detergentowego (NDF) według Van Soesta [Van Soest, Robertson, Lewis 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.



### 2.3. Wstępna obróbka słomy rzepakowej

Ze względu na skomplikowaną strukturę kompleksu lignocelulozowego wymagane jest zastosowanie wstępnej obróbki słomy rzepakowej. Celem tego zabiegu jest zwiększenie wydajności hydrolizy enzymatycznej polisacharydów zawartych w surowcu poprzez usunięcie ligniny, naruszenie struktury hemicelulozy oraz zwiększenie udziału frakcji celulozy amorficznej (bardziej podatnej na hydrolizę enzymatyczną). Słomę rzepakową poddano chemicznej obróbce wstępnej w warunkach: temperatura 120°C, czas: 1 h, dodatek NaOH 0,1 g · g<sup>-1</sup> s.s. słomy, stężenie s.s. substratu 10% (w/w). Materiał po obróbce poddano wirowaniu, stosując parametry: RCF: 4150 g, temperatura: 10°C, czas: 10 min. Uzyskany supernatant oddzielono, a frakcję stałą poddano detoksykacji w celu usunięcia związków generowanych w etapie wstępnej obróbki, będących inhibitorami procesu fermentacji. Zastosowano fizyczną metodę detoksykacji, polegającą na dwukrotnym przemyciu materiału za pomocą wody destylowanej, każdorazowo odwirowując przy zachowaniu wymienionych parametrów. Frakcja stała została następnie uzupełniona wodą do masy wyjściowej próby przed obróbką wstępną. Kwasowość czynną medium reakcyjnego ustalono na poziomie pH 5,00±0,05, za pomocą stężonego kwasu octowego. Tak przygotowane podłoże rozlewano po 200 cm<sup>3</sup> do kolb stożkowych o pojemności 500 cm<sup>3</sup>, po czym poddano pasteryzacji w temperaturze 90°C przez 20 minut i przeznaczono do hydrolizy enzymatycznej. Detoksykacja materiału po obróbce wstępnej spowodowała straty s.s. surowca na poziomie 29%, dlatego stężenie biomasy na początku hydrolizy wynosiło 7,1% s.s. W słomie rzepakowej, po procesie alkalicznej obróbki wstępnej i detoksykacji, oznaczono zmiany w zakresie udziału składników lignocelulozy (celulozy, hemicelulozy i ligniny) na podstawie analizy włókna w urządzeniu Fibertec™ 1020 (zgodnie z opisem w p. 2.2).

### 2.4. Mikroorganizmy

W badaniach zastosowano szczep drożdży *Saccharomyces cerevisiae* As4 o optymalnej temperaturze wzrostu 38-39°C, pochodzący z Zakładu Technologii Gorzelnictwa i Odnawialnych Źródeł Energii w Bydgoszczy. Do prowadzenia szczepu *S. cerevisiae* zastosowano stałe podłoże YPG, zawierające w 1 dm<sup>3</sup>: 10 g ekstraktu drożdżowego, 20 g glukozy, 20 g peptonu, 20 g agaru. Kwasowość podłoża ustalono na poziomie pH 5,10-5,30, za pomocą stężonego kwasu solnego. Podłoże rozlewano do probówek mikrobiologicznych (5 cm<sup>3</sup>) i sterylizowano przez 20 minut w temperaturze 121°C.

### 2.5. Przygotowanie inokulum

Do prowadzenia hodowli drożdży stosowano płynne podłoże YPG o składzie jak podano w p. 2.4, lecz bez dodatku agaru. Podłoże rozlewano po 100 cm<sup>3</sup> do kolb stożkowych o pojemności 300 cm<sup>3</sup>, a następnie sterylizowano przez 20 minut

w temperaturze 121°C. Do próbówki z hodowlą drożdży na skosie YPG wprowadzono 5 cm<sup>3</sup> jałowej wody destylowanej i dokonano zmywu. Otrzymaną zawiesinę połączono z płynnym podłożem YPG (100 cm<sup>3</sup>), po czym inkubowano w temperaturze 38°C przez 24 h, w wytrząsarce Innova 40 (New Brunswick Scientific, 2010 r., USA), stosując wytrząsanie 250 obr · min<sup>-1</sup>.

## 2.6. Doświadczenie SSF

Reakcję hydrolizy prowadzono w czasie 24 h, w temperaturze 42°C, w kolbach stożkowych o pojemności 500 cm<sup>3</sup>, zawierających 200 cm<sup>3</sup> medium reakcyjnego (przygotowanego według p. 2.3), z zastosowaniem wytrząsania 250 obr · min<sup>-1</sup> (inkubator Innova 40), przy użyciu ustalonej kompozycji trzech preparatów enzymatycznych: celulazy z *Trichoderma longibrachiatum* (SIGMA, nr kat. C9748) - 15 U · g<sup>-1</sup> s.s. słomy, ksylanazy z *Trichoderma longibrachiatum* (SIGMA, nr kat. X2629) - 15 FXU · g<sup>-1</sup> s.s. słomy oraz celobiaz (Novozyme 188, Novozymes, nr kat. SIGMA C6105) - 30 CBU · g<sup>-1</sup> s.s. słomy [Świątek i in. 2014]. Aktywność enzymów była wyrażana następująco: 1 U - ilość enzymu uwalniająca 1 μmol glukozy z celulozy w czasie 1 h (warunki reakcji: pH 5,0; temperatura 37°C, czas inkubacji 2 h), 1 FXU - ilość enzymu uwalniająca 1 μmol ksylozy z ksylanu w czasie 1 min (warunki reakcji: pH 4,5; temperatura 30°C), 1 CBU - ilość enzymu przekształcająca 1 μmol celobiozy do 2 μmoli glukozy w ciągu 1 min (warunki reakcji: pH 4,8; temperatura 50°C).

Po 24 h hydrolizy temperaturę obniżono do 38°C i do podłoża dodawano 10 cm<sup>3</sup> (5% v/v) inokulum drożdży *Saccharomyces cerevisiae* As4, po czym pobrano próbę w celu oznaczenia ilości dostępnych cukrów redukujących, przy użyciu metody z kwasem 3,5-dinitrosalicylowym (DNS) [Miller 1959]. Symultaniczną hydrolizę i fermentację prowadzono w warunkach beztlenowych, w temperaturze 38°C, w trzech powtórzeniach.

Po 24 i 48 h od momentu zainicjowania fermentacji do prób dodawano substrat poddany alkalicznej obróbce wstępnej (według parametrów opisanych w p. 2.3) i suszeniu w 60°C przez 48 h. Jednorazowa porcja substratu wynosiła 3,55 g s.s., co stanowiło 25% początkowej ilości surowca w zawieszynie. Od momentu zainicjowania fermentacji proces prowadzono przez 120 h (24 h dłużej niż równolegle prowadzoną próbę kontrolną bez dodatkowego zasilania substratem). Wydłużenie procesu zastosowano w celu uzyskania korzystnego stopnia biokonwersji ostatniej wprowadzonej porcji substratu. Wydajność hydrolizy (w) obliczano według następującego wzoru:

$$w = \frac{c \times 0,9}{63,3} \times 100 (\%),$$

gdzie:

$c$  - stężenie uwolnionych cukrów redukujących (g · dm<sup>-3</sup>),

0,9 - współczynnik przeliczeniowy cukrów prostych na polisacharydy,

63,3 - zawartość celulozy i hemicelulozy w materiale po obróbce (% s.s.).

## 2.7. Analiza podłoża pofermentacyjnego

W odfermentowanym podłożu oznaczano kwasowość (pH) przy pomocy pH-metru laboratoryjnego typu HI 9025 oraz stężenie resztkowych cukrów redukujących przy użyciu metody z kwasem 3,5-dinitrosalicylowym. Następnie medium pofermentacyjne poddano procesowi destylacji z wykorzystaniem aparatu do destylacji z deflegmatorem, a w uzyskanych destylatach oznaczono zawartość alkoholu etylowego metodą piknometryczną [AOAC... 1990]. Obliczona gęstość została porównana z tabelą według Rauschera i Voigta, z której odczytana została zawartość alkoholu (% v/v). Efekty procesu fermentacji wyrażono ilością wytworzonego etanolu w medium pofermentacyjnym. W wywarze pozostałym po oddestylowaniu alkoholu oznaczono ekstrakt rzeczywisty za pomocą areometru (areometr Ballinga).

Wydajność etanolu ( $W_e$ ) oraz wydajność konwersji celulozy do etanolu ( $Y$ ) obliczano według następujących wzorów [Liu i in. 2010]:

$$W_e = \frac{C_e \times V}{M} \times 100 \quad (\%)$$

$$Y = \frac{C_e \times V \times 100}{M \times C \times 1,1 \times 0,51} \times 100 \quad (\%),$$

gdzie:

$C_e$  – stężenie etanolu ( $\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$ ),

$V$  – objętość próby ( $\text{dm}^3$ ),

$M$  – całkowita ilość substratu w próbce (g s.s.),

$C$  – stężenie celulozy w materiale (% s.s.),

1,1 – współczynnik przeliczeniowy celulozy na glukozę (z 1 g celulozy uzyskuje się 1,1 g glukozy),

0,51 – współczynnik przeliczeniowy glukozy do etanolu (z 1 g glukozy uzyskuje się 0,51 g etanolu).

## 3. Wyniki i dyskusja

Słoma rzepakowa stanowi odpadowy produkt produkcji rolniczej uzyskiwany przy uprawie rzepaku, cechuje ją niska zawartość wilgoci, co sprzyja jej długiemu przechowywaniu. Zastosowany substrat charakteryzuje się stosunkowo wysoką zawartością celulozy (49,2% s.s.), co czyni go atrakcyjnym źródłem glukozy, cukru łatwo ulegającego konwersji mikrobiologicznej do etanolu. Stopień rozdrobnienia surowca ma istotny wpływ na zmiany w obrębie kompleksu lignocelulozowego zachodzące podczas wstępnego traktowania [Pedersen, Meyer 2009].

Zastosowanie alkaliów do wstępnej obróbki substratu pozwala na rozbitcie kompleksu oraz oddzielenie ligniny od polisacharydów, co umożliwia efektywne przeprowadzenie hydrolizy enzymatycznej – drugiego etapu w procesie konwersji ligno-

celulozy do bioetanolu. Zabieg wstępnego traktowania substratu oraz przepłukiwania wodą po obróbce przyczynił się do strat masy surowca oraz zmian w zakresie udziału poszczególnych składników lignocelulozy (tab. 1).

**Tabela 1.** Zmiany w składzie słomy rzepakowej w wyniku alkalicznej obróbki wstępnej i zabiegu detoksykacji

**Table 1.** Changes in the composition of rape straw biomass as a result of alkaline pretreatment and detoxification

Material	Masa ogólna substratu (g)	Zawartość celulozy (% s.s.)	Zawartość hemicelulozy (% s.s.)	Zawartość ligniny (% s.s.)	Zawartość celulozy + hemicelulozy (% s.s.)
Słoma rzepakowa natywna	100,0	49,2	12,2	14,9	61,4
Słoma rzepakowa po obróbce i detoksykacji	70,1	51,2	12,1	15,5	63,3

Źródło: opracowanie własne.

Source: own elaboration.

Po zakończeniu procesu wstępnej obróbki lignocelulozy w wielu przypadkach niezbędne jest usunięcie czynników toksycznych, będących inhibitorami procesu fermentacji (słabe kwasy, pochodne furanu, mieszaniny fenolowe oraz sole nieorganiczne). Obecność inhibitorów obniża zarówno wydajność, jak i szybkość fermentacji, co skutkuje wydłużeniem czasu procesu [Cantarella i in. 2004]. W doświadczeniu zastosowano fizyczną metodę detoksykacji, polegającą na wstępnym odwirowaniu materiału po obróbce alkalicznej, a następnie dwukrotnym przemyciu wodą uzyskanego osadu. Przeprowadzenie tego zabiegu pozwoliło na częściowe usunięcie wodorotlenku sodu zastosowanego do wstępnego traktowania substratu, jak również innych związków toksycznych powstałych na etapie wstępnej obróbki.

Proces hydrolizy prowadzi, w wyniku rozpadu celulozy i hemicelulozy, do powstania cukrów prostych (glukozy i ksylozy), będących substratem w kolejnym etapie – fermentacji alkoholowej [Keshwani, Cheng 2009]. Hydrolizę wstępnie przygotowanej słomy rzepakowej prowadzono z udziałem kompozycji trzech preparatów enzymatycznych: celulazy z *T. longibrachiatum*, ksylanazy z *T. longibrachiatum* i  $\beta$ -glukozydazy (Novozyme 188). Zastosowanie, oprócz celulazy, preparatów ksylanazy i celobrazy pozwala na zwiększenie skuteczności hydrolizy polisacharydów zawartych w surowcu lignocelulozowym, przy jednoczesnym zmniejszeniu dawki celulazy [McIntosh, Vancov 2010]. Preparaty enzymatyczne otrzymywane z grzybów strzępkowych *Trichoderma longibrachiatum* umożliwiają uzyskanie wysokiego stopnia konwersji polisacharydów substratu lignocelulozowego do cukrów fermentujących [Świątek i in. 2012].

System jednoczesnej hydrolizy i fermentacji wymaga zastosowania kompromisu warunków temperaturowych korzystnych dla obu reakcji. W pierwszej dobie proce-

su hydrolizę prowadzono w temperaturze 42°C. Po 24 h procesu w hydrolizatach stwierdzono około 40 g · dm<sup>-3</sup> cukrów redukujących, co odpowiada wydajności hydrolizy polisacharydów substratu na poziomie około 57%. Podobny wynik uzyskali Lu i in. [2011], którzy poddali hydrolizie enzymatycznej (z zastosowaniem preparatów enzymatycznych firmy Novozymes) słomę rzepakową po mikrofalowej obróbce wstępnej wspomaganą rozcieńczonym kwasem siarkowym (53,5%).

Proces SSF inicjowano po 24 h hydrolizy poprzez dodanie inokulum drożdży do hydrolizatu, poprzedzając ten fakt obniżeniem temperatury z poziomu 42°C do temperatury optymalnej dla zastosowanego szczepu drożdży. Tego typu sposób prowadzenia biokonwersji polisacharydów lignocelulozy do etanolu wymaga doboru mikroorganizmów o właściwościach temperaturowych zbliżonych do temperatury hydrolizy enzymatycznej. Dlatego w doświadczeniu wykorzystano termofilny szczep drożdży *Saccharomyces cerevisiae* As4 (38-39°C), otrzymany w wyniku hybridyzacji płciowej i powszechnie wykorzystywany w polskim przemyśle gorzelniczym [Kłosowski, Czupryński, Wolska 2006]. Zastosowany szczep charakteryzuje się dużą trwałością i opornością na wysokie stężenia alkoholu (do 12%), a także na podwyższone ciśnienie osmotyczne tworzące się w wyniku podwyższonej ilości cukrów w podłożu. Wykazuje on również wysoką energię fermentacji – już po 24 h stwierdza się około 6,7% (v/v) alkoholu w zacierze o gęstości 15°Błg [Lewandowska, Piotrowicz-Cieślak 2008]. Zastosowanie szczepu *S. cerevisiae* As4 wymusiło obniżenie temperatury hydrolizy o 4°C, a nie o 12°C, jak miałyby to miejsce w przypadku wykorzystania szczepów *Saccharomyces cerevisiae*, stosowanych powszechnie w systemach sekwencyjnych, których optymalna temperatura wzrostu to najczęściej 30°C.

Po 24 i 48 h trwania procesu skojarzonej hydrolizy i fermentacji do medium reakcyjnego wprowadzono każdorazowo po 3,55 g s.s. (25% początkowej ilości substratu) słomy rzepakowej po alkalicznej obróbce, w postaci wysuszonej. Początkowe stężenie surowca w zawiesinie wynosiło 7,1% s.s., natomiast po dodaniu dwóch porcji słomy (w odstępie 24-godzinnym) zwiększyło się do poziomu 10,65% s.s. Oznacza to, że całkowita ilość substratu w próbie była o 50% większa w porównaniu z doświadczeniem kontrolnym (bez dodatkowego zasilania substratem). Symultaniczną hydrolizę i fermentację prowadzono przez 120 h od momentu zainicjowania fermentacji. Efekty doświadczeń jednoczesnej hydrolizy i fermentacji w systemie półciąglym oraz kontrolnej zestawiono w tab. 2.

W kontrolnym eksperymencie SSF końcowe stężenie alkoholu wynosiło 1,60% (v/v), natomiast w półciąglym doświadczeniu po procesie stwierdzono 1,81% (v/v) etanolu w medium pofermentacyjnym. Oznacza to zwiększenie stężenia etanolu jedynie o 13% w porównaniu z próbą kontrolną, co nie jest rezultatem adekwatnym do ilości materiału wprowadzonego do próby w półciąglym systemie. Biorąc pod uwagę całkowitą ilość substratu, można stwierdzić, że modyfikacja systemu jednoczesnej hydrolizy i fermentacji w niewielkim stopniu wpłynęła na poprawę wydajności procesu. Zwiększenie koncentracji substratu w podłożu podczas reakcji hydro-

**Tabela 2.** Charakterystyka hydrolizy i fermentacji etanolowej słomy rzepakowej z udziałem drożdży *S. cerevisiae* As4 w systemie SSF, w trybie okresowym i półciąglym

**Table 2.** Characteristics of hydrolysis and ethanol fermentation of rape straw with the use of *S. cerevisiae* As4 yeast in SSF system, using batch or fed-batch method

System hydrolizy i fermentacji	Stężenie cukrów redukujących (g · dm <sup>-3</sup> )			Wydajność hydrolizy po 24 h (%)	Po fermentacji	
	po 24 h hydrolizy	po dodaniu inoculum	po fermentacji		ekstrakt rzeczywisty (°Blg)	stężenie etanolu (% v/v)
SSF kontrolne	40,42	38,53	16,05	57,46	3,5	1,60
SSF półciągle	40,28	38,34	31,65	57,26	5,5	1,81

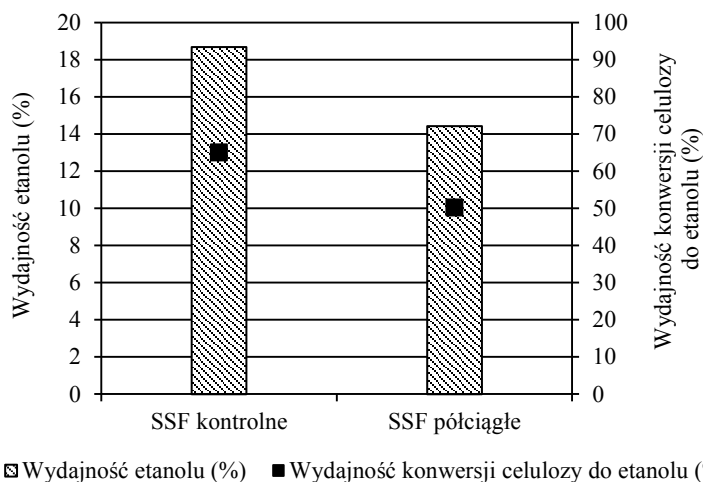
Źródło: opracowanie własne.

Source: own elaboration.

liza skutkuje obniżeniem stopnia konwersji polisacharydów do cukrów prostych [Kim, Choi, Oh 2013]. Jednakże oznaczona w podłożu ilość resztkowych cukrów prostych była dwukrotnie większa w doświadczeniu z dodatkowym zasilaniem (31,65 g · dm<sup>-3</sup>) aniżeli w próbie kontrolnej (16,05 g · dm<sup>-3</sup>). Na tej podstawie można wnioskować, że hydroliza enzymatyczna porcji substratu wprowadzonych w trakcie procesu półciąglęgo przebiegała ze zbliżoną wydajnością do eksperymentu kontrolnego. Wyznaczona wydajność etanolu względem masy substratu w próbie i stopień konwersji celulozy do etanolu osiągnęły poziom odpowiednio 14,4 i 50,2% w systemie półciąglym (rys. 1). Oznacza to, że około 50% całkowitej ilości celulozy znajdującej się w próbie przekształcono do etanolu. Wyniki uzyskane w wariancie półciąglym były mniej korzystne w porównaniu z rezultatami uzyskanymi w doświadczeniu kontrolnym (okresowym), w którym to wydajność etanolu i konwersja celulozy do etanolu wyniosły odpowiednio 18,7 i 65,0%. Czynnikiem decydującym o braku poprawy wydajności w zastosowanej metodzie mógł być zbyt duży dodatek surowca (łącznie 50% masy wyjściowej). Zmniejszenie ilości wprowadzanego etapu substratu lub podzielenie go na więcej dawek mogłoby wpłynąć na poprawę wydajności procesu.

Badania nad modyfikacją procesu symultanicznej hydrolizy i fermentacji prowadzili Liu i in. [2010], którzy jako substrat wykorzystali pozostałości kaczanów kukurydzy po obróbce kwasowej i alkalicznej. Zastosowana dwuetapowa metoda obróbki wstępnej miała na celu usunięcie frakcji hemicelulozy i ligniny, przez co zwiększył się udział celulozy w materiale (65,7%). System półciąglę polegał na wprowadzeniu dodatkowych porcji substratu (1,5 g) po 24, 48, 72, 96 i 120 h skojarzonej reakcji hydrolizy i fermentacji. Początkowe stężenie substratu w medium reakcyjnym wynosiło 9,9% (w/w), natomiast po dodaniu pięciu porcji surowca koncentracja biomasy zwiększyła się do poziomu 15% (w/w). Przeprowadzono również doświadczenie





**Rys. 1.** Porównanie wydajności etanolu otrzymanego w systemie SSF w trybie okresowym i półciągłym

**Fig. 1.** Comparison of the resulting ethanol yield in batch and fed-batch mode of SSF system

Źródło: opracowanie własne.

Source: own elaboration.

kontrolne bez dodatkowego zasilania. W wariancie półciągłym uzyskano 57,2 g etanolu w 1 dm<sup>3</sup> medium pofermentacyjnego, a wyznaczona wydajność etanolu i konwersja celulozy do etanolu osiągnęły poziom odpowiednio 26,1 i 85,2%. W trybie okresowym uzyskano nieco mniej korzystne rezultaty – końcowa zawartość etanolu wyniosła 34,4 g · dm<sup>-3</sup>, co odpowiada wydajności etanolu i konwersji celulozy do etanolu odpowiednio 25,2 oraz 82,5%.

Zhang i in. [2010] przeprowadzili doświadczenie, w którym zastosowano półciągły oraz ciągły proces produkcji etanolu, stosując symultaniczną strategię hydrolyzy i fermentacji. W ciągłym systemie SSF substrat poddano wstępnej obróbce z zastosowaniem trzech różnych metod: FA-AA (kwas mrówkowy i wodny roztwór amoniaku, *formic acid/aqueous ammonia pretreatment*), SAA (wodny roztwór amoniaku, *soaking in aqueous ammonia*) lub z użyciem rozcieńczonego kwasu siarkowego i wodorotlenku sodu (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-NaOH). Początkowe stężenie suchej substancji w medium reakcyjnym ustalono na dwóch poziomach: 7,5 oraz 19%. Eksperymenty rozpoczęto od prehydrolyzy trwającej 24 h w temperaturze 50°C. Następnie dodano inokulum drożdży *S. cerevisiae* i prowadzono proces skojarzony w temperaturze 37°C przez 96 h. W półciągłym trybie SSF zastosowano materiał po obróbce wstępnej z rozcieńczonym kwasem siarkowym i wodorotlenkiem sodu. Początkowa zawartość suchej substancji wynosiła 19%, zaś po 2, 4 lub 8 h trwania procesu dodano kolejne porcje substratu (6%), co ostatecznie dało stężenie biomasy równe 25%. Warunki fermentacji były takie same jak w trybie ciągłym. Chociaż wydajność kon-

wersji celulozy w czasie trybu półciąglęgo nieznacznie się obniżyła (do 80,1-82,3%), końcowe stężenie etanolu po 96 h procesu zwiększyło się do poziomu ponad  $80 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$  we wszystkich doświadczeniach. Nie stwierdzono wpływu czasu dodawania substratu na końcowe stężenie etanolu. Wśród trzech przeprowadzonych eksperymentów drugi był nieco lepszy niż pozostałe; uzyskano 84,7 g etanolu w  $1 \text{ dm}^3$  podłoża, co odpowiada 82,3-procentowej konwersji celulozy do etanolu. Wysoka zawartość suchej substancji w ciągłym procesie SSF spowodowała wzrost lepkości i nierównomierne rozproszczenie zawiesiny w reaktorze. Zastosowanie metody symultanicznej w trybie półciąglym może złagodzić ten problem techniczny przez dodanie świeżego podłoża tylko wtedy, gdy jego lepkość zmniejszy się po kilku godzinach reakcji [Zhang i in. 2010].

Kim i in. [Kim, Choi, Oh 2013] badali proces jednoczesnej hydrolizy i fermentacji w trybie półciąglym. Jako substrat wykorzystano trociny topoli po obróbce z zastosowaniem kwasu siarkowego. Przeprowadzono eksperyment z zastosowaniem systemu SSF w trzyetapowym trybie półciąglym. W początkowym etapie procesu zawartość frakcji stałej wynosiła 6% s.s. Ilość dodawanego surowca w następnych etapach (po 12 i 26 h trwania procesu) została obliczona w celu zachowania stężenia frakcji stałej na poziomie 6% s.s. Wydajność fermentacji po pierwszej, drugiej i trzeciej fazie procesu wynosiła odpowiednio 63,9% ( $16,5 \text{ g etanolu} \cdot \text{dm}^{-3}$ ), 78,4% ( $30,1 \text{ g etanolu} \cdot \text{dm}^{-3}$ ) i 81,7% ( $39,9 \text{ g etanolu} \cdot \text{dm}^{-3}$ ). Zastosowanie strategii SSF w trybie półciąglym wpłynęło znacząco na poprawę wydajności procesu biokonwersji.

#### 4. Podsumowanie

Wyniki przeprowadzonych doświadczeń wskazują na przydatność słomy rzepakowej po obróbce alkalicznej jako surowca w procesie biokonwersji do etanolu. Jednakże proponowana modyfikacja procesu symultanicznej hydrolizy i fermentacji, polegająca na wprowadzeniu do medium reakcyjnego dodatkowych porcji substratu po 24 i 48 h procesu skojarzonego nie wpłynęła istotnie na poprawę wydajności procesu. Przeprowadzenie procesu w trybie okresowym (doświadczenie kontrolne) pozwoliło uzyskać korzystniejsze rezultaty w porównaniu z proponowaną modyfikacją strategii SSF.

#### Literatura

- Adapa P., Tabil L., Schoenau G., 2009, *Compaction characteristics of barley, canola, oat and wheat straw*, Biosyst. Eng., no. 104 (3), s. 335-344.
- Anderson W.F., Akin D.E., 2008, *Structural and chemical properties of grass lignocelluloses related to conversion for biofuels*, J. Ind. Microbiol. Biotechnol., no. 35, s. 355-366.
- AOAC International, 1990, *Official methods of analysis of AOAC International*, 15. edycja, Association of Official Analytical Chemists International, Arlington, Virginia, 22201, USA.



- Balat M., 2011, *Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review*, *Energ. Convers. Manage.*, no. 52, s. 858-875.
- Cantarella M., Cantarella L., Gallifuoco A., Spera A., Alfani F., 2004, *Comparison of different detoxification methods for steam-exploded poplar wood as a substrate for the bioproduction of ethanol in SHF and SSF*, *Process Biochem.*, no.39, s. 1533-1542.
- Díaz M.J., Cara C., Ruiz E., Romero I., Moya M., Castro E., 2010, *Hydrothermal pre-treatment of rapeseed straw*, *Bioresour. Technol.*, no. 101, s. 2428-2435.
- Gasparatos A., Stromberg P., Takeuchi K., 2011, *Biofuels, ecosystem services and human wellbeing: Putting biofuels in the ecosystem services narrative*, *Agr. Ecosyst. Environ.*, no. 142, s. 111-128.
- Huang J., Yang J., Msangi S., Rozelle S., Weersink A., 2012, *Biofuels and the poor: Global impact pathways of biofuels on agricultural markets*, "Food Policy", no. 37, s. 439-451.
- Kachel-Jakubowska M., Kraszkiewicz A., Szpryngiel M., Niedziółka I., 2011, *Możliwości wykorzystania odpadów poprodukcyjnych z rzepaku ozimego na cele energetyczne*, *Inż. Rol.*, nr 6, s. 61-68.
- Keshwani D.R., Cheng J.J., 2009, *Switchgrass for bioethanol and other value-added applications: a review*, *Bioresour. Technol.*, no. 100, s. 1515-1523.
- Kim S., Dale B.E., 2004, *Global potential bioethanol production from wasted crops and crop residues*, *Biomass Bioenerg.*, no. 26, s. 361-375.
- Kim T.H., Choi C.H., Oh K.K., 2013, *Bioconversion of sawdust into ethanol using dilute sulfuric acid-assisted continuous twin screw-driven reactor pretreatment and fed-batch simultaneous saccharification and fermentation*, *Bioresour. Technol.*, no. 130, s. 306-313.
- Kłosowski G., Czupryński B., Wolska M., 2006, *Characteristics of alcoholic fermentation with the application of *Saccharomyces cerevisiae* Yeasts: As-4 strain and I-7-43 fusant with amylolytic properties*, *J. Food Eng.*, no. 76, s. 500-505.
- Leja K., Lewandowicz G., 2009, *Biopaliwo z biomasy lignocelulozowej*, „*Ekonatura*”, nr 11, s. 20-21.
- Lewandowska M., Piotrowicz-Cieślak A., 2008, *Ocena zdolności drożdży *Saccharomyces cerevisiae* do fermentacji monosacharydów pochodnych laktozy*, *Acta Sci. Pol. Biotechnologia*, nr 7, s. 3-16.
- Liu K., Lin X., Yue J., Li X., Fang X., Zhu M., Lin J., Qua J., Xiao L., 2010, *High concentration ethanol production from corncob residues by fed-batch strategy*, *Bioresour. Technol.*, no. 101, s. 4952-4958.
- Lu X., Xi B., Zhang Y., Angelidaki I., 2011, *Microwave pretreatment of rape straw for bioethanol production: Focus on energy efficiency*, *Bioresour. Technol.*, no. 102, s. 7937-7940.
- Mathew A.K., Chaney K., Crook M., Humphries A.C., 2011, *Alkaline pre-treatment of oilseed rape straw for bioethanol production: evaluation of glucose yield and pre-treatment energy consumption*, *Bioresour. Technol.*, no. 102, s. 6547-6553.
- McIntosh S., Vancov T., 2010, *Enhanced enzyme saccharification of *Sorghum bicolor* straw using dilute alkali pretreatment*, *Bioresour. Technol.*, no. 101, s. 6718-6727.
- Miller G.L., 1959, *Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar*, *Anal. Chem.*, no. 31 (3), s. 426-428.
- Olofsson K., Bertilsson M., Lidén G., 2008, *A short review on SSF – an interesting process option for ethanol production from lignocellulosic feedstocks*, *Biotechnol. Biofuels*, no. 1 (7), s. 1-14.
- Pedersen M., Meyer A.S., 2009, *Influence of substrate particle size and wet oxidation on physical surface structures and enzymatic hydrolysis of wheat straw*, *Biotechnol. Progr.*, no. 25, s. 399-408.
- PN-EN ISO 13906:2009, *Pasze, Oznaczanie zawartości włókna kwaśnodetergentowego (ADF) i ligniny kwaśnodetergentowej (ADL)*.
- Ruciński D., Bałek J., Kupczyk A., 2009, *Korzyści z zastąpienia biopaliw I generacji biopaliwami II generacji*, *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, nr 543, s. 267-274.
- Świątek K., Lewandowska M., Świątek M., Bednarski W., 2012, *Doskonalenie warunków hydrolizy enzymatycznej polisacharydów zawartych w słomie rzepakowej*, *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, nr 570, s. 107-116.

- Świątek K., Lewandowska M., Świątek M., Bednarski W., Brzozowski B., 2014, *The improvement of enzymatic hydrolysis efficiency of rape straw and Miscanthus giganteus polysaccharides*, Biore-sour. Technol., no. 151, s. 323-331.
- Van Soest P.J., Robertson J.B., Lewis B.A., 1991, *Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition*, J. Dairy Sci., nr 74, s. 3583-3597.
- Zhang Y.-H.P., 2008, *Reviving the carbohydrate economy via multi-product lignocellulose biorefiner-ies*, J. Ind. Microbiol. Biotechnol., no. 35, s. 367-375.
- Zhang M., Wang F., Su R., Qi W., He Z., 2010, *Ethanol production from high dry matter corncob using fed-batch simultaneous saccharification and fermentation after combined pretreatment*, Bioresour. Technol., no. 101, s. 4959-4964.

### **OBTAINING OF ETHANOL FROM RAPE STRAW IN THE PROCESS OF SIMULTANEOUS HYDROLYSIS AND FERMENTATION IN FED-BATCH SYSTEM**

**Summary:** The research was carried out with the aim to determine the impact of the application of the fed-batch system of simultaneous saccharification and fermentation of polysaccharides contained in rape straw on the production of ethanol in SSF system. Rape straw after alkaline pretreatment was subjected to detoxification by double rinsing with water. After 24 and 48 hours of simultaneous hydrolysis and fermentation, pretreated and dried substrate was added to the samples, each in an amount of 25% of the initial amount of substrate in the slurry. Comparatively simultaneous hydrolysis and fermentation without additional supply of substrate was carried out. The effects of the fermentation were expressed as the amount of ethanol produced in a fermentation medium. In the control experiment of hydrolysis and fermentation 1.60% (v/v) of ethanol was obtained. However, in the fed-batch system, ethanol concentration was 1.81% (v/v), which represented an increase in ethanol concentration of 13%.

**Keywords:** lignocellulose, rape straw, enzymatic hydrolysis, ethanol fermentation.