

Metody wstępnego przygotowania biomasy lignocelulozowej do fermentacji metanowej

Katarzyna Bernat, Irena Wojnowska-Baryła, Sławomir Kasiński, Marcin Szatkowski*)

Słowa kluczowe: metody wstępnego przygotowania biomasy lignocelulozowej, celuloza, hemiceluloza, ligniny, fermentacja metanowa

Streszczenie

Rośliny uprawne, biomasa poźniwna, odpady z produkcji rolniczej, bogate w substancje lignocelulozowe, są obiecującym surowcem do produkcji biogazu. Ograniczona podatność masy lignocelulozowej na biodegradację wymaga działań zwiększających biodostępność. Stosowane są różne techniki wstępnej obróbki w tym metody: mechaniczne tj. mielenie i cięcie, chemiczne tj. działanie zasadami, kwasami oraz rozpuszczalnikami organicznymi, termiczne tj. działanie parą i gorącą wodą czy biologiczne tj. kiszenie czy inokulacja. W pracy przeprowadzono analizę metod wstępnego przygotowania biomasy lignocelulozowej do fermentacji metanowej oraz określono podatności substratu lignocelulozowego na trawienie.

Keywords: pretreatment methods of lignocellulosic materials, cellulose, hemicellulose, lignin, methane fermentation

Abstract

Crops, stubble biomass, waste from agricultural production, rich in lignocellulosic materials, are a promising feedstock for biogas production. Low biodegradation potential of lignocellulosic substrates requires treatment processes to enhance bioavailability. Various pretreatment methods are used: mechanical treatment i.e. grinding and cutting, chemical treatment with alkali, acids and organic solvents, thermal treatment i.e. steam or hot water and biological treatment i.e. pickling or inoculation. The present paper shows methods of pretreatment of lignocellulosic substrates to methane fermentation, moreover susceptibility of lignocellulosic substrate for digestion was determined.

Wstęp

Energetyka odnawialna, w tym także technologie energetycznego przetwarzania substratów organicznych, są uważane za jeden ze sposobów ograniczenia wyczerpywania oraz wzrostu cen paliw kopalnych. Za stosowaniem alternatywnych źródeł energii przemawia ich konkurencyjność ekonomiczna w stosunku do paliw konwencjonalnych, pozytywny wpływ na środowisko oraz ogólna dostępność.

Obecnie energia uzyskiwana z biomasy stanowi 14% światowego zużycia energii, przy czym w krajach rozwijających się udział ten jest większy i wynosi do 38% (Saxena i in. 2009). Według dyrektywy UE 2009/28/EC biomasa to ulegająca biodegradacji część odpadów lub pozostałości pochodzenia biologicznego z rolnictwa (łącznie z substancjami roślinnymi i zwierzęcymi), leśnictwa i związanych z nimi przemysłu, w tym rybołówstwa i akwakultury, a także ulegająca biodegradacji część odpadów przemysłowych i miejskich. Dyrektywa 2009/28/EC w swojej definicji odnosi się do odpadów lub pozostałości pochodzenia biologicznego z rolnictwa. Ze względu na obfitość występowania (220 miliardów ton/rok (Yoshida i in. 2009)) i niski koszt pozyskiwania jest to obiecujący zasób wykorzystywany do produkcji biopaliw w tym biogazu (Ladisch i in. 1983; Lechner, Papinutti 2006). Produkcja metanu z biomasy lignocelulozowej zachodzi w następujących fazach: wstępnego przygotowania, hydrolizy, produkcji metanu i ostatecznego zagospodarowania frakcji ciekłej i stałej po fermentacji. Wstępne przygotowanie substratu ma poprawić dostępność związków organicznych w fazie

hydrolizy, a tym samym efekty produkcji biogazu. Hydroliza lignocelulozowych substratów i konwersja produktów pośrednich do metanu zachodzi najczęściej w jednym reaktorze i jest prowadzona przez konsorcjum mikroorganizmów. Zaletą wykorzystania konsorcjum mikroorganizmów jest fakt, że prawie wszystkie produkty jak furfural i rozpuszczalne ligniny, jeśli nie występują w zbyt dużym stężeniu, mogą być wykorzystane do produkcji metanu (Benjamin i in. 1984; Fox i in. 2003). Wybór technologii i rozwiązań technicznych fermentacji metanowej, zależy od szeregu czynników, związanych z charakterem substratów i warunkami operacyjnymi procesu. Do najważniejszych należy zaliczyć:

- wilgotność bioodpadów: fermentacja sucha (>20% s.m.) i mokra (<20% s.m.),
- temperatura fermentacji: mezofilowa (34–37°C) i termofilowa (55–60°C),
- sposób przepływu substancji: okresowa lub ciągła,
- liczba stopni fermentacji: technologie jedno-, dwu-, lub wielostopniowe,
- sposób mieszania: mechaniczne, wtrysk gazu.

Istotnym parametrem, który określa czas dostępny do wzrostu mikroorganizmów i przemian substancji organicznych jest hydrauliczny czas zatrzymania (HRT). HRT zależy od substratu poddawanej stabilizacji beztlenowej. Szybkość rozkładu podstawowych składników opadów roślinnych w szeregu: celuloza < hemicelulozy < białka < tłuszcze < węglowodany. Ilość powstającego biogazu zależy również od obciążenia komory fermentacji ładunkiem związków organicznych (OLR). Fermentacja mokra w temperaturze 35°C wymaga średniego czasu zatrzymania 15–20 dni a OLR może wahać się od 4 do 6,5 kg s.m.o./m³·d, natomiast przy wyższej temperaturze wymagany czas fermentacji można skrócić do 8–12 dni a obciążenie komory zwiększyć do 8–12 kg s.m.o./m³·d (Jędrzak 2007).

Biomasa roślinna, ze względu na dużą zawartość substancji lignocelulozowych, wymaga wstępnego przygotowania w celu zwiększenia

*) Dr inż. **Katarzyna Bernat** – tel. 089 523 41 18, fax 089 523 41 31; prof. **Irena Wojnowska-Baryła** – tel. 089 523 41 30, fax 089 523 41 31; mgr inż. **Sławomir Kasiński** – tel. 089 523 41 64, fax 089 523 41 31 – Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Katedra Biotechnologii w Ochronie Środowiska, ul. Słoneczna 45 G, 10-709 Olsztyn

co powoduje, że biomasa jest mniej dostępna mikroorganizmom. Natomiast nie ma danych ekonomicznych aspektów traktowania biomasy parą.

Traktowanie surowca lignocelulozowego gorącą wodą

Traktowanie biomasy lignocelulozowej gorącą wodą prowadzi do rozpuszczenia głównie hemicelulozy, co zwiększa dostępność celulozy i ogranicza tworzenie się inhibitorów aktywności mikroorganizmów. Aby uniemożliwić powstawanie się inhibitorów odczyn powinien być utrzymywany w przedziale od 4,0 do 7,0 pH. W tym zakresie odczynu ograniczone jest tworzenie monosacharydów, ale również produktów degradacji, które mogą katalizować hydrolizę celulozy (Mosier i in. 2005).

Różnica w stosowaniu pary i gorącej wody wynika z ilości powstałych rozpuszczonych produktów. Traktowanie biomasy lignocelulozowej gorącą wodą powoduje, że ilość rozpuszczonych produktów jest większa, natomiast stężenie tych produktów jest niższe w porównaniu z biomasą traktowaną parą. Prawdopodobnie wynika to z większego wpływu wody niż pary na substancje lignocelulozowe. Współczynnik upłynnienia monomerów ksylanu jest wyższy, w warunkach traktowania biomasy gorącą wodą. W wyniku hydrolizy ksylan jest degradowany do ksylozy, furfuralu. Ponadto, ze względu na niższe stężenie ryzyko wpływu na degradację furfuralu a także kondensację lignin jest ograniczone.

Efektywność traktowania gorącą wodą biomasy lignocelulozowej zależy również od sposobu realizacji procesu. Yang, Wyman (2004) wykazali, że system przepływowy jest efektywniejszy i pozwala na usunięcie większej ilości hemicelulozy i lignin w porównaniu do systemu nieprzepływowego. Wg autorów wprowadzenie kwasów podczas przepływu gorącej wody przez biomasę lignocelulozową powoduje wyższą efektywność usuwania hemicelulozy oraz lignin, w porównaniu do systemu nieprzepływowego. Yang, Wyman (2004) obserwowali obniżenie się klasy lignin nierozpuszczalnych w kwasie. Zewnętrzne kwasy powodują, że ligniny zarówno rozpuszczają jak i kondensują się szybciej. Natomiast Jacobsen, Wyman (2002) oraz Liu, Wyman (2003) uważali, że zewnętrzne kwasy nie mają wpływu na efekt upłynnienia hemicelulozy i lignin podczas przepływu gorącej wody przez substrat lignocelulozowy.

Traktowanie biomasy lignocelulozowej kwasami i zasadami

Wstępne traktowanie biomasy lignocelulozowej, zarówno silnie stężonymi jak i rozcieńczonymi kwasami w temperaturze otoczenia, jest wykorzystywane do upłynnienia hemicelulozy i zwiększenia dostępności celulozy do fermentacji. Główną reakcją jest hydroliza hemicelulozy, ksylan jako glukan jest kwasoodporny. Upłynnienie hemicelulozy (oligomerów) jest połączone z reakcją hydrolizy do monomerów furfuralu i HMF oraz innych lotnych produktów w środowisku kwaśnym. Podczas działania kwasem ligniny szybko kondensują i wytracają się. Upłynnienie hemicelulozy i precypitacja upłynnionych lignin jest efektywniejsze podczas działania silnymi kwasami niż rozcieńczonymi. Xiao, Clarkson (1997) wykazali, że dodanie kwasu azotowego (V) ma znaczący efekt na upłynnienie lignin występujących w papierze gazetowym. Istnieje ryzyko tworzenia się lotnych produktów hydrolizy, co ograniczałoby ilość węgla dostępnego do fermentacji, chociaż lotne substancje mogą być również wykorzystywane do syntezy metanu. Kondensacja i precypitacja upłynnionych lignin ogranicza efektywne trawienie enzymatyczne. Mikroorganizmy mogą wykorzystywać upłynnione składniki lignin, ale istnieje ryzyko, że substancje te będą ograniczały aktywność mikroorganizmów. Gdy stosuje się kwas siarkowy lub azotowy (V) to podczas fermentacji należy oczekiwać ograniczenia produkcji metanu ze względu na redukcję siarczanów i azotanów do H_2S i N_2 .

Wstępne traktowanie biomasy lignocelulozowej zasadami prowadzi do uwodnienia i saponifikacji biomasy. Następuje pęcznienie

biomasy co pozwala na łatwą penetrację mikroorganizmom. Stosowanie stężonych zasad powoduje powstawanie niskocząsteczkowych związków, które są łatwo degradowane do CO_2 , ale obniża to ilość dostępnego węgla (Fengel, Wegner 1984). Ksylan może być selektywnie usunięty roztworem wodorotlenku potasu. Temperatura pokojowa upłynnienia chroni hemicelulozy przed oderwaniem się krótkich łańcuchów. Natomiast glukoniany i ksylany uwalniają monomery krótkołańcuchowe. Powstałe monomery hemicelulozy są łatwo degradowane do form lotnych np. furfuralu, co powoduje straty substratu do fermentacji (Bobleter 1994).

Problemem jest nasywanie biomasy zasadami. Stopień nasycenia zasadą wynosi 3 g NaOH/100 g s.m. Upłynnienie zasadą powoduje redystrybucję i kondensację lignin oraz modyfikację krystalicznej celulozy (Hendriks, Zeman 2009), co ogranicza pozytywne oddziaływanie zasad na lignocelulozę w tym na usuwanie lignin i pęcznienie celulozy. Pod wpływem zasad następuje zmiana struktury celulozy do formy bardziej stabilnej niż natywna celuloza. Traktowanie lignin zasadą o stężeniu 1 g/l powoduje inhibicję czasową metanogenezy (Gossett i in. 1982).

Utlenianie biomasy lignocelulozowej

Wynikiem działania nadtlenu wodoru na lignocelulozę jest usunięcie hemicelulozy, lignin oraz zwiększenie dostępności celulozy. Działanie utleniacza nie jest selektywne dlatego podczas utleniania może nastąpić utrata hemicelulozy i celulozy. Istnieje duże prawdopodobieństwo tworzenia się inhibitorów utleniania lignin i rozpuszczalnych substancji aromatycznych. Gould (1984) uzyskał usunięcie lignin z lignocelulozy działając nadtlakiem wodoru przy odczynie 11,5 pH. Spadek odczynu do 10,0 pH nie powodował upłynnienia lignin. Powyżej 12,5 pH nadtlenek wodoru nie zwiększał dostępności enzymatycznej biomasy lignocelulozowej. Zastosowanie 1% nadtlenu przy stosunku H_2O_2 do masy 0,25 pozwoliło usunąć ligniny. W temperaturze pokojowej ponad połowa lignin ulega upłynnieniu w ciągu 18–24 h (Gould 1984). Podczas utleniania ubywa ilość cukrów w wyniku nieselektywnego działania rodnika hydroksylowego. Upłynnione ligniny tworzą się i powodują powstanie inhibitorów.

Termiczne oddziaływanie na biomasę lignocelulozową w połączeniu z kwasem lub zasadą

W rozwiązaniu tym stosuje się parę/gorącą wodę oraz kwas. Lignoceluloza jest nasywana SO_2 lub kwasem siarkowym. Podczas działania pary SO_2 przechodzi do kwasu i zaczyna się katalityczne upłynnienie hemicelulozy. Inny proces to stopniowe usuwanie hemicelulozy i lignin, co powoduje przejście celulozy w formę krystaliczną. Niezależnie od rodzaju kwasu w połączeniu z działaniem termicznym obserwuje się usuwanie hemicelulozy i lignin. Gregg, Saddler (1996) w temperaturze 160°C i po dodaniu 0,5% kwasu siarkowego odnotowali wzrost furfuralu – inhibitora aktywności mikrobiologicznej.

Popularnym rozwiązaniem jest wstępne traktowanie biomasy parą, a następnie dodatek wodorotlenku wapnia (Chang i in. 2001). Proces prowadzi się w temperaturze 100–150°C, a dodatek wodorotlenku wapnia kształtuje się na poziomie 0,1 g $Ca(OH)_2$ /g substratu. Autorzy uzyskali wzrost biodostępności substratu lignocelulozowego, a tym samym ułatwioną hydrolizę substratu podczas fermentacji. Zgodnie z wynikami uzyskanymi przez Kaar, Holtzaple (2000) wstępne traktowanie wapnem przynosi lepsze efekty w przypadku biomasy o mniejszym udziale lignin.

Mokre utlenianie biomasy lignocelulozowej

Utlenianie mokre jest metodą utleniania chemicznego, wykorzystującą tlen jako utleniacz. Upłynnione cukry to polimery, w przeciwieństwie do monomerów powstających podczas działania pary lub traktowania lignocelulozy kwasem. Fenolowe monomery nie są

końcowym produktem, postępujące mokre utlenianie prowadzi do tworzenia kwasów karboksylowych. Podczas mokrego utleniania tworzą się niewielkie ilości furfuralu i HMF. Część hemicelulozy jest utleniana do dwutlenku węgla i wody (Klinke i in. 2002). Termiczne traktowanie biomasy lignocelulozowej oraz wprowadzanie zasady wapniowej nie zapewnia wystarczającego stopnia usunięcia ligninu, stąd dodatkowo stosuje się tlen (Chang i in. 2001).

Zastosowanie amoniaku i dwutlenku węgla jako reagentów wstępnego przygotowania biomasy lignocelulozowej

Kim, Lee (2005) wykazali, że przy stosunku amoniaku do masy lignocelulozowej 1:1 w temperaturze pokojowej czas upłynięcia wynosi od 10 do 60 dni. Wzrost temperatury do 120°C skraca czas do kilku minut. Upłynięcie biomasy lignocelulozowej dwutlenkiem węgla przebiega pod wysokim ciśnieniem, w temperaturze 200°C i trwa kilka minut. Rozprężająca się para powoduje zakwaszenie roztworu, a kwasy powodują hydrolizę hemicelulozy. Dwutlenek węgla stosowany jest jako roztwór nadkrytyczny w temperaturze 35°C i pod ciśnieniem 73 bary powoduje zwiększenie produkcji biogazu o 70% (Zheng i in. 1998).

Działanie mikrobiologiczne jako wstępne przygotowanie biomasy lignocelulozowej

Całoroczna dostępność surowca lignocelulozowego do produkcji biogazu wymaga konserwacji. Jednym z zabiegów jest kiszenie, które obok suszenia jest najczęstszą formą utrwalania substratu. Kiszenie jest metodą opartą na zakwaszeniu biomasy kwasem mlekowym, produkowanym przez bakterie w procesie fermentacji, w celu szybkiego obniżenia odczynu kiszzonego surowca. Przy odpowiednim stężeniu kwasu mlekowego kiszonka nie psuje się, a utrzymując warunki beztlenowe można ją przechowywać. Jednocześnie zahamowany jest rozwój bakterii, grzybów powodujących rozpad białek lub wytwarzających inhibitory produkcji biogazu. Wydajność produkcji biogazu z masy organicznej rośnie, jeżeli poddać ją działaniu enzymów produkowanych przez wybrane szczepy bakterii lub pleśni, w tym mikroorganizmów z rodzaju *Actinomyces* produkujących enzymy rozkładające β-glukany tj. np. celulozę (endo- i egzoglukanazy oraz β-glukazany). Enzymy te tną (hydrolizują) na mniejsze fragmenty cząsteczki celulozy. Enzymatycznie pocięta celuloza zawiera cząsteczki, których biodostępność jest znacznie większa niż formy natywnej i dzięki temu produkcja biogazu jest szybsza i wydajniejsza. Podobne rezultaty obserwowano również po dodaniu do fermentora bakterii *Caldicellulosyruptor saccharilyticus*, które produkują nie tylko enzymy celulolityczne, ale również wodór, którego obecność jako substratu wpływa na wydajność produkcji biogazu (Bagi i in. 2007). Dodatek bakterii celulolitycznych do fermentora spowodował wzrost produkcji biogazu nawet o 60–70%.

Podsumowanie

Biodegradowalność biomasy lignocelulozowej jest ograniczona krystalicznością celulozy, dostępną powierzchnią do biodegradacji, zawartością ligninu. Obecność ligninu w biomasie lignocelulozowej, wykorzystywanej do fermentacji metanowej, sprawia, iż związki zawarte w surowcu są odporne na degradację chemiczną i biologiczną.

Zastosowanie metod obróbki wstępnej wpływa na zwiększenie stopnia upłynięcia substancji lignocelulozowych. W zależności od zastosowanego procesu przygotowania może następować stopniowe usuwanie hemicelulozy i ligninu, co powoduje przejście celulozy w formę krystaliczną oraz zwiększenie jej dostępności. Wstępne traktowanie biomasy lignocelulozowej prowadzi do uwodnienia i saponifikacji biomasy dzięki czemu następuje pęcznienie biomasy co ułatwia penetrację mikroorganizmom. Skraca się etap hydrolizy, a w konsekwencji hydrauliczny czas zatrzymania procesu stabilizacji

beztlenowej oraz można uzyskać zwiększenie efektywności produkcji biogazu.

Materiały przygotowane w ramach realizacji badań NCBiR, Program strategiczny – zaawansowane technologie pozyskiwania energii, Zadanie 4: Opracowanie zintegrowanych technologii wytwarzania paliw i energii z biomasy, odpadów rolniczych i innych”.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Alizadeh H., Teymouri F., Gilbert T.I., Dale B.E. 2005. Pretreatment of switchgrass by ammonia fiber explosion (AFEX). *Appl. Biochem. Biotechnol.* 121–124: 1133–1141.
- [2] Bagi Z., Ács N., Bálint B., Horváth, L., Dobó K., Perei K. R., Rákhely G., Kornél K. L. 2007. Biotechnological intensification of biogas production. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 76: 473–482.
- [3] Benjamin M.M., Woods S.L., Ferguson J.F. 1984. Anaerobic toxicity and biodegradability of pulp mill waste constituents. *Water Res.* 18 (5): 601–607.
- [4] Bobleter O. 1994. Hydrothermal degradation of polymers derived from plants. *Prog. Polym. Sci.* 19: 797–841.
- [5] Brownell H.H., Yu E.K.C., Saddler J.N. 1986. Steam-explosion pretreatment of wood: effect of chip size, acid, moisture content and pressure drop. *Biotechnol. Bioeng.* 28: 792–801.
- [6] Chang V.S., Nagwani M., Kim C., Holtzaple T. 2001. Oxidative lime pretreatment of high-lignin biomass. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 94: 1–28.
- [7] Dehkoda A. 2008. Concentrating lignocellulosic hydrolysate by evaporation and its fermentation by repeated fedbatch using flocculating *Saccharomyces cerevisiae*. Master thesis, Industrial Biotechnology Boras University and SEKAB E-Technology, Sweden.
- [8] Delgenés J.P., Penaud V., Moletta R. 2002. Pretreatments for the enhancement of anaerobic digestion of solid wastes Chapter 8. In: *Biomethanization of the Organic Fraction of Municipal Solid Wastes*. IWA Publishing, pp. 201–228.
- [9] Fengel D., Wegener G. 1984. *Wood: Chemistry, Ultrastructure, Reactions*. De Gruyter, Berlin.
- [10] Fox M.H., Noike T., Ohki T. 2003. Alkaline subcritical-water treatment and alkaline heat treatment for the increase in biodegradability of newsprint waste. *Water Sci. Technol.* 48 (4): 77–84.
- [11] Frigon J.C., Mehta P., Guiot S.R. 2011. Impact of mechanical, chemical and enzymatic pre-treatments on the methane yield from the anaerobic digestion of switchgrass. *Biomass Bioenerg.* 21: 1–11.
- [12] Gossett J.M., Stuckey D.C., Owen W.F., Mccarty P.L. 1982. Heat treatment and anaerobic digestion of refuse. *J. Environ. Eng. Div.* 108: 437–454.
- [13] Gould J.M. 1984. Alkaline peroxide delignification of agricultural residues to enhance enzymatic saccharification. *Biotechnol. Bioeng.* 26: 46–52.
- [14] Gray M.C., Converse A.O., Wyman C.E. 2003. Sugar monomer and oligomer solubility. Data and predictions for application to biomass hydrolysis. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 105–108: 179–193.
- [15] Gregg D., Saddler J.N. 1996. A techno-economic assessment of the pretreatment and fractionation steps of a biomass-to-ethanol process. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 1: 711–727.
- [16] Grous W.R., Converse A.O., Grethlein H.E. 1986. Effect of steam explosion pretreatment on pore size and enzymatic hydrolysis of poplar. *Enzyme Microbiol. Technol.* 8: 274–280.
- [17] Hendriks A.T.W.M., Zeeman G. 2009. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass *Bioresour. Technol.* 100: 10–18.
- [18] Jacobsen, S.E., Wyman, C.E. 2002. Xylose monomer and oligomer yields for uncatalyzed hydrolysis of sugarcane bagasse hemicellulose at varying solids concentration. *Ind. Eng. Chem. Res.* 41: 1454–1461.
- [18] Jędrzak A. 2007. *Biologiczne Przetwarzanie odpadów* Wydawnictwo Naukowe PWN.
- [19] Jin Y., Hu Z., Wen Z. 2009. Enhancing anaerobic digestibility and phosphorus recovery of dairy manure through microwave-based thermochemical pretreatment. *Water Res.* 43: 3493–3502.
- [20] Kaar, W.E., Holtzaple, M.T., 2000. Using lime pretreatment to facilitate the enzymatic hydrolysis of corn stover. *Biomass Bioenergy* 18 (3): 189–199.
- [21] Kim T.H., Lee Y.Y., 2005. Pretreatment of corn stover by soaking in aqueous ammonia. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 121–124: 1119–1132.
- [22] Klinke H.B., Ahring B.K., Schmidt A.S., Thomsen A.B., 2002. Characterization of degradation products from alkaline wet oxidation of wheat straw. *Bioresour. Technol.* 82 (1): 15–26.
- [23] Ladisch M.R., Lin K.M., Voloch M., Tsao G.T. 1983. Process considerations in the enzymatic hydrolysis of biomass. *Enzyme and Microbial Technology* 5: 82–102.

- [24] Laser M., Schulman D., Allen S.G., Lichwa J., Antal Jr.M.J., Lynd I.R. 2002. A comparison of liquid hot water and steam pretreatments of sugar cane bagasse for bioconversion to ethanol. *Bioresour. Technol.* 81: 33–44.
- [25] Lawther J.M., Sun R., Banks W.B. 1996. Effect of steam treatment on the chemical composition of wheat straw. *Holzforschung* 50: 365–371.
- [26] Lechner B.E., Papinutti V.L. 2006. Production of lignocellulosic enzymes during growth and fruiting of the edible fungus *Lentinus tigrinus* on wheat straw. *Process Biochemistry* 4: 5945–988.
- [27] Lee D., Owens V.N., Boe A., Jeranyama P. 2007. Composition of herbaceous biomass feedstocks. South Dakota State University Publication.
- [28] Li J., Henriksson G., Gellerstedt G. 2005. Carbohydrate reactions during high temperature steam treatment of Aspen wood. *Appl. Biochem. Bioeng.* 125: 175–188.
- [29] Liu C., Wyman C.E. 2003. The effect of flow rate of compressed hot water on xylan, lignin and total mass removal from corn stover. *Ind. Eng. Chem. Res.* 42: 5409–5416.
- [30] Mosier N., Hendrickson R., Ho, N., Sedlak M., Ladisch M.R. 2005. Optimization of pH controlled liquid hot water pretreatment of corn stover. *Bioresour. Technol.* 96: 1986–1993.
- [30] Negro M.J., Manzanares P., Oliva J.M., Ballesteros I., Ballesteros M. 2003. Changes in various physical chemical parameters of *Pinus Pinaster* wood after steam explosion pretreatment. *Biomass Bioenergy* 2: 301–308.
- [31] Ramos L.P. 2003. The chemistry involved in the steam treatment of lignocellulosic materials. *Quim. Nova.* 26 (6): 863–871.
- [32] Rogalinski T., Ingram T., Brunner G. 2008. Hydrolysis of lignocellulosic biomass in water under elevated temperatures and pressures. *J. Supercrit. Fluid.* 47: 54–63.
- [33] Saxena R, Adhikari D, Goyal H. 2009. Biomass-based energy fuel through biochemical routes: a review. *Renew Sust Energy Rev.* 13: 167–78.
- [34] Taherzadeh M.J., Karimi K. 2007. Enzymatic-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: a review. *BioResources.* 2: 707–738.
- [35] Weil J.R., Sarikaya A., Rau S.L., Goebz J., Lasisch C.M., Brwer M., Hendrickson R., Tadisich M.R. 1998. Pretreatment of corn fiber by pressure cooking in water. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 73: 1–17.
- [36] Xiao W., Clarkson W.W. 1997. Acid solubilization of lignin and bioconversion of treated newsprint to methane. *Biodegradation* 8: 61–66.
- [37] Yaman S. 2004. Pyrolysis of biomass to produce fuels and chemical feedstocks. *Energy Convers. Manage.* 45: 651–671.
- [38] Yang B., Wyman C.E. 2004. Effect of xylan and lignin removal by batch and flow through pretreatment on the enzymatic digestibility of Corn Stover Cellulose. *Biotechnol. Bioeng.* 86 (1): 88–95.
- [39] Yoshida H., Tokumoto H., Ishii K., Ishii R. 2009. Efficient, high-speed methane fermentation for sewage sludge using subcritical water hydrolysis as pretreatment. *Bioresour. Technol.* 100: 2933–2939.
- [40] Zheng Y., Lin H.M., Tsao G.T. 1998. Pretreatment for cellulose hydrolysis by carbon dioxide explosion. *Biotechnol. Progr.* 14: 890–896.