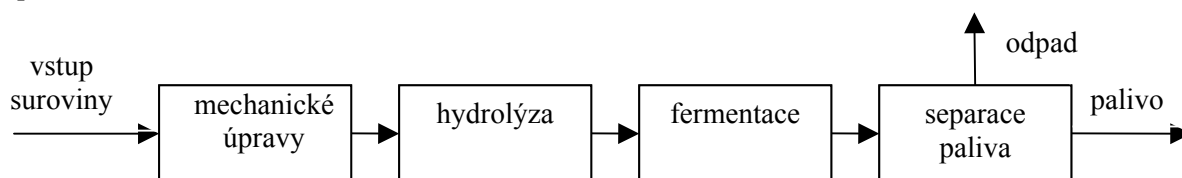


Enzymatická hydrolýza lignocelulózových plodin a odpadů pro výrobu biopaliv

Květoslava Kokrhelová, Doc. Ing. Tomáš Jirout, Ph.D.

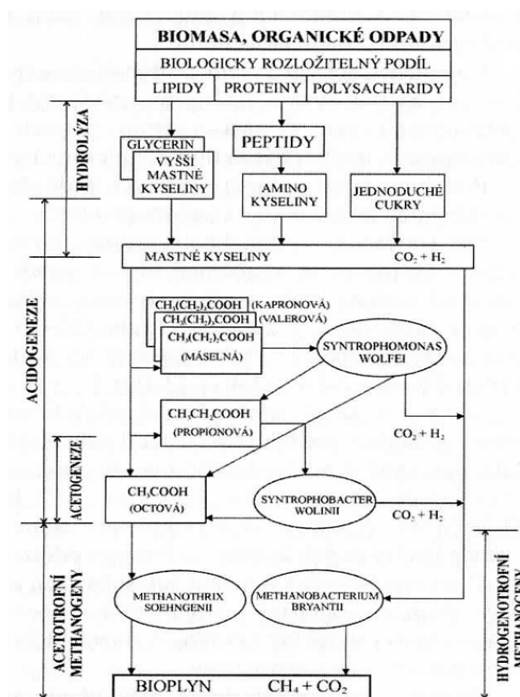
1. ÚVOD

Se stále rostoucím trendem alternativních zdrojů energie roste mj. i poptávka po biopalivech. Jejich výroba probíhá v několika na sebe navazujících procesech (viz obr. 1.1). V první fázi se musí provést mechanické úpravy suroviny (mletí, drcení apod.), aby byla dosažena lepší účinnost následné hydrolýzy, která se provádí z důvodů rozložení složitých cukrů na jednoduché, jež jsou dále zpracovatelné při fermentaci. Po ní následuje separace paliva, při níž se oddělí využitelný produkt od odpadu. Podrobnější postup je popsán v [1] a [2].



Obr. 1.1. Procesy pro výrobu biopaliv.

Zatímco výroba biopaliv z rostlin se škrobovým základem (např. kukuřice, pšenice) je již poměrně běžná a relativně jednoduchá, u látek s lignocelulózovým základem, které jsou do této chvíle nevyužívané (např. zbytky úrody a zemědělský odpad, dřevní štěpky, starý novinový papír), tomu tak není. Hydrolýza (zcukření) je zde mnohem obtížnější a nákladnější zejména proto, že je nutné se před dalším zpracováním zbavit ligninu a hemicelulózy. To se v dnešní době děje především fyzikálními, fyzikálně-chemickými, chemickými a biologickými postupy.



Obr. 1.2. Rozklad surovin při výrobě bioplynu.

Procesy, které je třeba provést, např. pro výrobu bioplynu jsou na obr. 1.2. Nás však zajímá pouze hydrolýza, která stojí na počátku celého cyklu.

Nejjednodušší způsob **fyzikální** předúpravy je **mechanické rozměňování**. Celulóza se z vnitřní struktury materiálu získává nejprve jeho lámáním, drcením a mletím, případně jejich kombinací. Velikost částic závisí na druhu zpracování a pohybuje se od 10-30 mm při lámání až po 0,2–2 mm u mletí. Tato operace je energeticky náročná a měla by vždy předcházet hydrolýze.

Další metoda - **pyrolýza** - probíhá při teplotách vyšších než 300°C, celulóza se rozpadá na plynné produkty a zbytkové uhlí. Pro lepší rozklad se přidává jako katalyzátor chlorid zinečnatý nebo uhličitán sodný. Rozklad je pomalejší než u ostatních postupů, avšak je méně nestálý a produkty jsou tvořeny při nižších teplotách.

Nejpoužívanějším **chemickým** postupem je **kyselé hydrolýza**. Při ní je však použití koncentrovaných kyselin jako H_2SO_4 (kyselina sírová) a HCl (kyselina chlorovodíková) nevhodné, zvláště pro jejich toxicitu, korozivnost. Proto se vyvinuly způsoby využití ředěných kyselin. V současnosti se využívají zejména dva typy procesů ředěných kyselin. Při nízkých teplotách (nižší než 160°C) pro vysoce-pevné materiály (10-40 % hmotnost substrátu/hmotnost reagující směsi) a při vysokých teplotách (vyšší než 160°C) pro nízko-pevné materiály (5-15 %). Kyselé hydrolýza je ovšem dražší než fyzikálně-chemické zpracování a před vlastní fermentací je nutné neutralizovat pH.

Dalším způsobem zpracování je **alkalická hydrolýza**, jejíž efekt závisí na obsahu ligninu v materiálu. Jedná se o zmýdlování mezimolekulových vazeb esterů. Alkalické zcukření přináší nejlepší výsledky u tvrdého dřeva (listnaté stromy), avšak u měkkého dřeva (jehličnany) s obsahem ligninu nižším než 26 % nebyl rozklad pozorován.

V případě odstranění ligninu pomocí **alkalických rozpouštědel** se k hydrolýze užívá směs organických rozpouštědel (metanol, etanol, aceton apod.) a anorganických kyselin jako katalyzátoru. Proces probíhá při vysokých teplotách (asi 185°C) a rozpouštědla se musí po ukončení procesu odstranit, aby mohly být produkty dále zpracovány.

K rozpadu ligninu a hemicelulózy se může použít i ozón. Od toho je odvozen i název – **ozónolýza**. Ten však sám o sobě nedokáže rozložit celulózu, proto je nutné spojit tuto metodu s enzymatickou hydrolýzou. Lze použít pro pšeničná stébla, topolové piliny, bavlněná vlákna, lisovanou třtinu, seno, oříšky a borovicové dřevo. Mezi výhody patří účinný rozklad ligninu, nedochází k produkci toxických zbytku, reakce probíhá za pokojové teploty a tlaku, ale vzhledem k potřebě velkého množství ozónu je proces nákladný.

Spojením fyzikálních a chemických postupů byly vyvinuty **fyzikálně-chemické** postupy. Nejpoužívanější metodou předúpravy lignocelulóзовých odpadů je v současné době rozklad celulózy **explozí vodní parou (autohydrolýza)**. Probíhá za vysokých teplot a tlaků, kdy se biomasa a přehřátá pára přivede na teplotu 160-260°C (tomu odpovídá tlak 0,69-4,83 MPa), následuje setrvání na teplotě a poté prudké snížení tlaku až na tlak atmosférický. Může probíhat za vysokých teplot a krátké době setrvání na teplotě (270°C, 1 min), nebo při nízkých teplotách a dlouhé výdrži (190°C, 10 min). Nedávné studie však naznačují, že je vhodnější druhá varianta, tedy nízká teplota a delší čas výdrže. Přidáním kyseliny sírové (H_2SO_4) nebo oxidu uhličitého (CO_2) je hydrolýza účinnější. Mezi faktory ovlivňující explozi páry patří délka zpracování, teplota, velikost a vlhkost obsahu. Výhodou této metody jsou nižší energetické nároky na rozdíl od mechanického rozměňování a nezatěžování životního prostředí oproti chemickým postupům. Nicméně je vysoká cena zařízení (vysokotlaký aparát) a během procesu mohou vzniknout inhibitory, které reakci brzdí.

Na podobném principu je založena i **exploze amoniaku (AFEX)**. Při této metodě je biomasa vystavena působení roztoku amoniaku (čpavku) při vysokých teplotách a tlacích po určitou dobu a poté se tlak rychle sníží. Obvykle proces probíhá při dávkování amoniaku

1-2 kg amoniaku/kg suché biomasy, teplotě 90°C a době výdrže 30 minut. Používá se pro velké množství lignocelulóзовých materiálů, např. stébla pšenice, ječmene, rýže, kukuřice a jiných obilovin, papír, konopí, lisovanou třtinu apod., avšak není vhodná pro materiály s vysokým obsahem ligninu. Po použití se musí amoniak recyklovat, aby nedošlo ke znečištění životního prostředí a snížily se náklady.

Posledním popisovaným chemickým postupem je **exploze CO₂**. Ta je založena na podobném principu jako exploze amoniaku, jen s použitím oxidu uhličitého CO₂. Výnosy jsou v porovnání s explozí páry nebo čpavku relativně nízké. Ovšem je levnější než exploze amoniaku a nedochází k tvorbě inhibitorů jako při explozi páry.

Speciální případ založený na **biologickém** rozkladu využívá mikroorganismy, zejména plísně a houby. Liší se použitím různě zabarvených plísní, kdy každá obsahuje jiný druh bakterií a je jinak účinná. Nejefektivnější se ukázala být bílá plíseň, která nejúčinněji rozkládá lignin. Biologické rozklady nepotřebují téměř žádnou energii a okolní prostředí zatěžují jen minimálně. Ovšem rychlost hydrolýzy je nejpomalejší ze všech procesů.

Tyto postupy jsou náročné nejen na vysoké investiční náklady (vysokotlaké aparáty z ušlechtilých materiálů), ale jsou zatíženy i značnými provozními náklady. V nedávné době se začal systematicky používat enzymatický rozklad lignocelulóзовých materiálů probíhající za atmosférického tlaku a teploty nepřesahující 60°C, který se jeví jako velice perspektivní. Např. náklady 180 USD/m³ jsou v porovnání s kyselou hydrolýzou 450 USD/m³ nesrovnatelně nižší a navíc nemusíme používat korozivzdorné materiály.

Podrobný popis výše uvedených postupů hydrolýzy surovin pro přípravu biopaliv je uveden v [1] a [3].

2. ENZYMATICKÁ HYDROLÝZA

Nejdůležitější pro uskutečnění enzymatické hydrolýzy jsou samotné enzymy. Ty se dají získat z bakterií nebo plísní, které produkují celulózu. Nalezení nejvhodnějších bakterií a plísní, které budou nejúčinněji rozkládat celulózu, náleží chemikům. Nám připadá nalezení nejvhodnějších podmínek procesu rozkladu.

Enzymatická hydrolýza se skládá ze tří kroků: adsorpce enzymů celulózy na povrch celulózy, biologický rozklad celulózy na fermentovatelné cukry a desorpce celulózy. Její účinnost závisí především na koncentraci substrátu, typu a koncentraci enzymů založených na celulóze a dalších podmínkách, při kterých reakce probíhá (teplota, pH). Zvýšením dávky celulózy se může zvýšit rychlost a obsah celulózy, ale zvýší se i cena. Ale výhodou je, že se může celulóza získaná z kalové vody opět použít pro další rozklad.

Při adsorpci celulózy na povrch celulózy však dochází ke zpomalování zcukření, a proto je potřeba tomuto nežádoucímu jevu zabránit. Jednou z metod, jak toho docílit je přidat do roztoku tenzidy, které změni vlastnosti povrchu celulózy a minimalizují nevratné vázání celulózy na celulózu. Další je tzv. SSF metoda. Je to proces založený na současně probíhajícím zcukření a fermentaci vzniklých cukrů. Děj probíhá při teplotě 38°C, což je kompromis mezi teplotou vhodnou pro hydrolýzu (45-50°C) a teplotou fermentace (30°C) a má následující výhody:

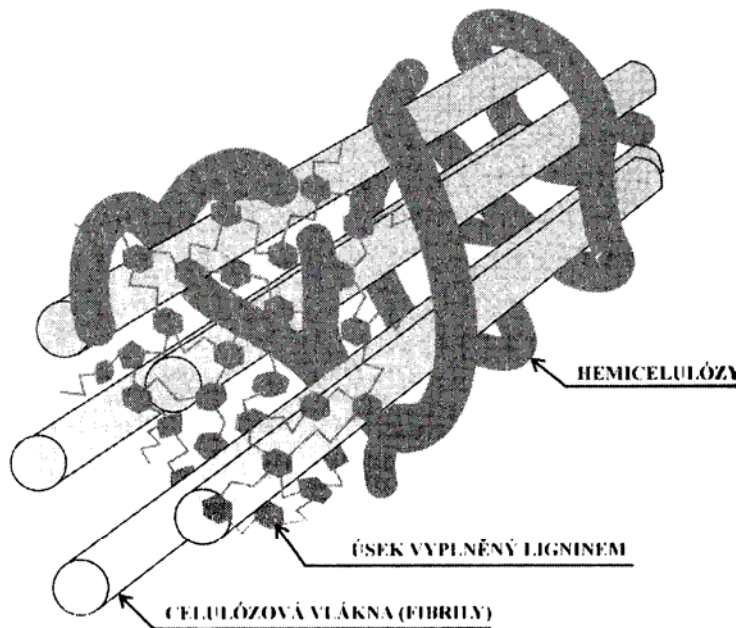
- nižší požadavky na enzymy
- vyšší produkce cukrů
- nižší požadavky na sterilní podmínky, protože glukóza je odstraněna ihned
- kratší čas
- vše lze provádět v jednom reaktoru

K nevýhodám patří:

- rozdílné teploty hydrolýzy a fermentace
- zpomalení enzymů etanolem
- schopnost přežití mikroorganismů produkujících enzymy v etanolu

3. TEORETICKÝ ÚVOD DO SLOŽENÍ SUBSTRÁTU

Na lignocelulózové materiály je možno pohlížet jako na kompozitní materiály. Pro pochopení procesů probíhajících při výrobě biopaliv je třeba věnovat pozornost jejich složení. Struktura lignocelulózových materiálů (viz obr. 3.1) je složena zejména z celulóзовých vláken, tzv. fibril, což jsou ve vodě nerozpustné polysacharidy, které tvoří nosnou část celé rostliny. Fibrily jsou po celé délce obtačeny rozvětvenými řetězci hemicelulóz a zbytek rostliny vyplňuje lignin, který zde působí jako „lepidlo“ (pojivo), držící všechno pohromadě. Ukázka složení lignocelulózových materiálů testovaných v této práci je uvedeno v tab. 1.

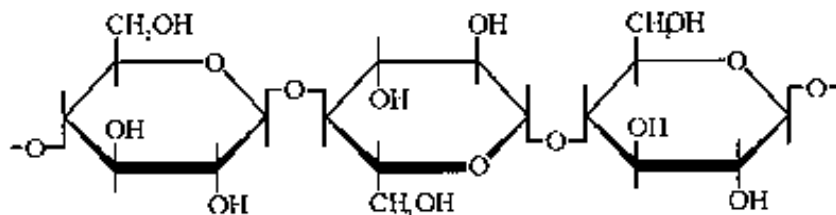


Obr. 3.1. Struktura lignocelulózových materiálů.

Tabulka 1. Složení lignocelulózových materiálů dle [1] a [3].

materiál	celulóza [% hm.]	hemicelulóza [% hm.]	lignin [% hm.]
seno	25-40	35-50	10-30
papír	85-99	0	0-15
novinový papír	40-55	25-40	18-30
měkké dřevo	45-50	25-35	25-30
konopná vlákna	60-72	11-19	2-5

Celulóza vytváří krystalické formy a její různě prostorově orientované řetězce se skládají průměrně z tisíce molekul glukózy (viz obr. 3.2). Základní cukernou složkou celulózy je D-glukóza. Při enzymatické hydrolýze odštěpují exoglukanázy konce řetězců celulózy a endoglukanázy rozbíjejí řetězce uprostřed. Vzniklá látka se nazývá celobióza a teprve jejím rozpadem pomocí enzymu β -glykosidázy vzniká glukóza.



Obr. 3.2. Molekuly glukózy tvořící celulóзовé řetězce.

Hemicelulózy jsou oproti celulóze složitější heteropolysacharidy, jsou amorfni a obsahují rozvětvené řetězce. Je podpůrnou, resp. prostorovou armaturou celého systému a současně i pojícím „cementem“. Podléhají však rychleji enzymatické hydrolýze než celulóza.

Lignin je aromatický prostorový heteropolymer fenolického typu se strukturou naprosto odlišnou od celulózy a hemicelulózy. Díky tomu je jeho struktura biologicky velmi obtížně rozložitelná a lignin je velmi odolný i proti biomethanizačním rozkladům. Ovšem pokud se nám podaří rozložit celulózu a hemicelulózu, lignin už nemá co držet pohromadě a sám se rozpadne.

4. EXPERIMENT

4.1 Popis experimentu

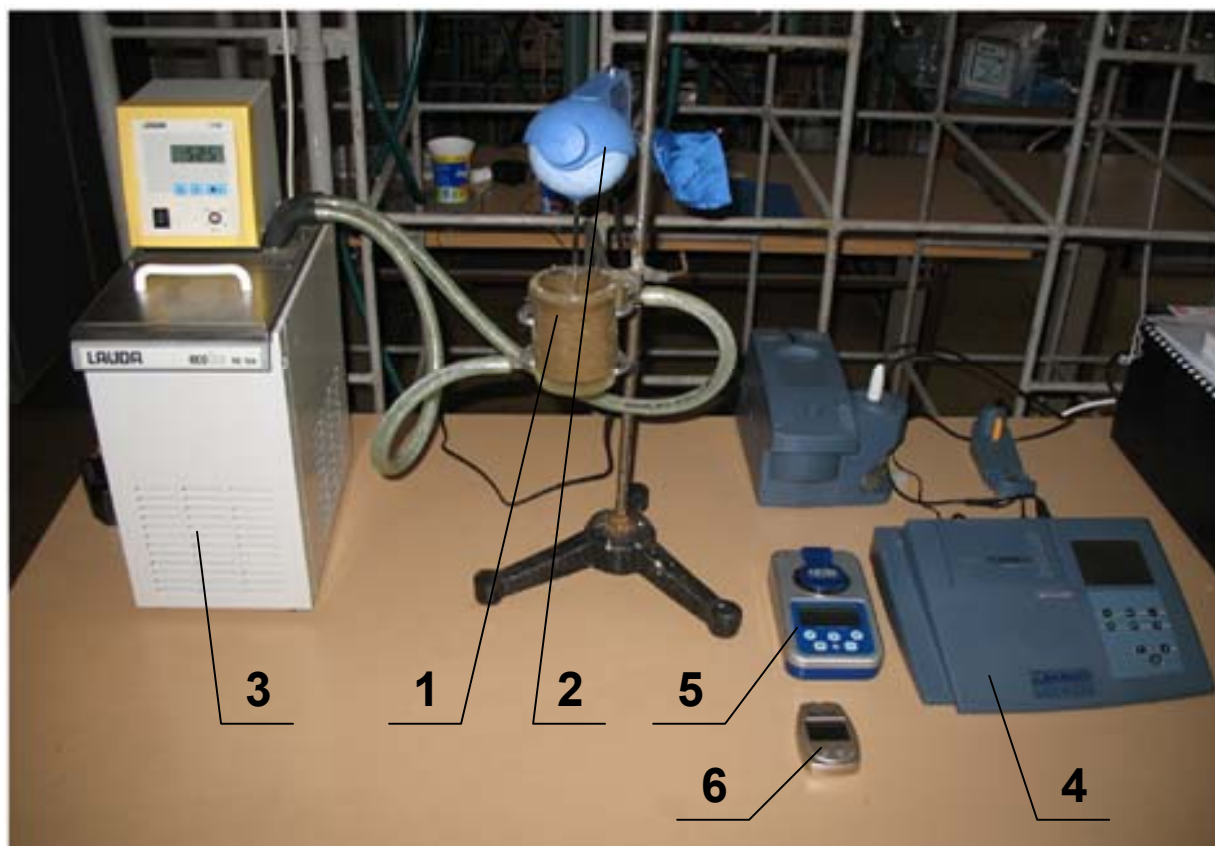
Při experimentech byl testován enzymatický rozklad čisté celulózy a různých biologických materiálů pomocí čtyř enzymatických směsí vytipovaných a dodaných spolupracující společností inoTEX s.r.o. Přehled použitých enzymů a podmínky, za kterých aktivně rozkládají suroviny, jsou uvedeny v tab. 2.

Tabulka 2. Přehled použitých enzymů.

Typ enzymu	Teploty [°C]	pH
APC	45 - 60	4,5 – 6
APN	40 - 60	6 – 8
APL	40 – 70	3,5 – 5,5
IN	40 - 60	6 - 8

Při vlastním měření bylo nutné nejprve určit, jaký typ a množství enzymů založených na celulóze je nejúčinnější. To bylo zjištěno hydrolýzou čisté celulózy, u které není výsledek ovlivněn žádnými dalšími faktory. Nejdříve byly stanoveny základní podmínky hydrolýzy (teplota, pH, koncentrace, dávkování a druh enzymů), pro které je zcukření nejúčinnější. Následně byly stanovovány nejvhodnější enzymy a jejich koncentrace i pro přírodní materiály a odpady, např. seno, konopí, karton a smrkové piliny.

Vlastní experimentální sledování procesu hydrolýzy probíhalo v míchaném **reaktoru s duplikátorym pláštěm** o objemu 120 ml, ve kterém byla udržována stálá teplota pomocí **termostatu** (Lauda ecoLine RE104). Měření koncentrace bylo prováděno pomocí **glukometru** (EasyGluco) a **refraktometru** (KRÜSS DR301-95), pH bylo měřeno na **pH metru** (inoLab pH730). Rozložení velikosti částic se zjišťovalo **laserovým analyzátozem velikosti částic** (FRITSCH analysette 22 COMPACT).



Obr. 4.1. Experimentální zařízení.

1 – míchaný reaktor s duplikátorovým pláštěm, 2 – míchací stanice, 3 – termostat, 4 – pH metr, 5 – refraktometr, 6 - glukometr

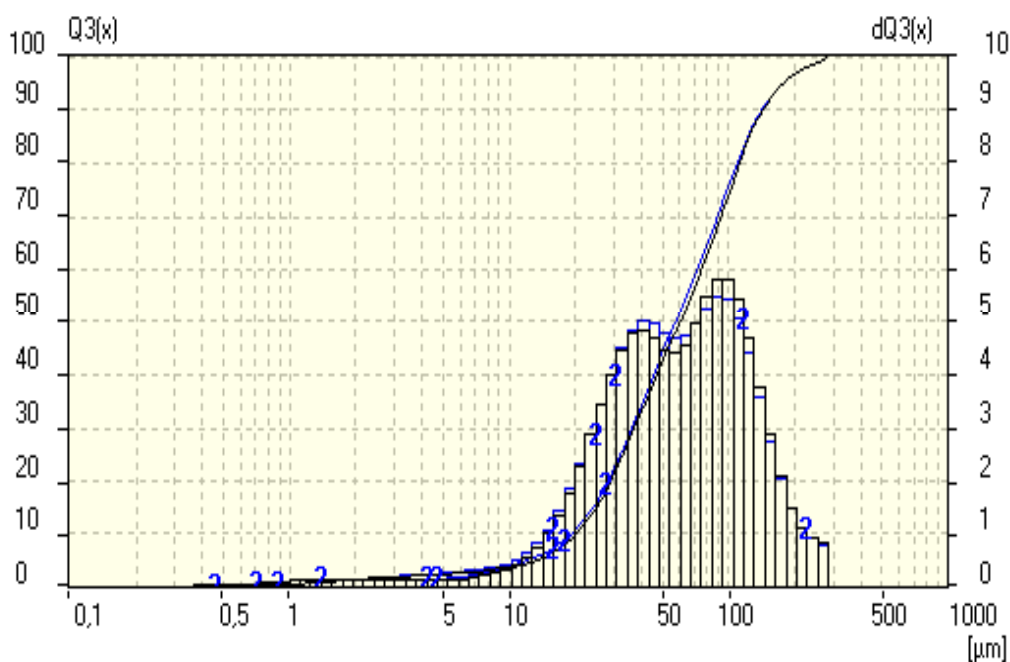
4.2 Hydrolýza čisté celulózy

V první fázi experimentů bylo stanoveno dávkování surovin i enzymů a podmínky, při kterých bude výtěžnost glukózy nejvyšší. Pro tento účel byla použita čistá mikrokrytalická celulóza jako substrát. Z úvodních experimentů se ukázalo jako optimální dávkování substrátu v rozsahu od 5 do 10 hmot. % z celkové vsádky, jejíž hmotnost byla 120 g. Dávkování enzymů bylo 5 hmot. % z dávkované sušiny. Při všech experimentech byla udržována konstantní teplota $T = 50\text{ }^{\circ}\text{C}$, která leží v intervalu doporučovaných teplot pro všechny enzymy a pH bylo vždy voleno tak, aby odpovídalo doporučeným hodnotám uvedeným v tab. 2.

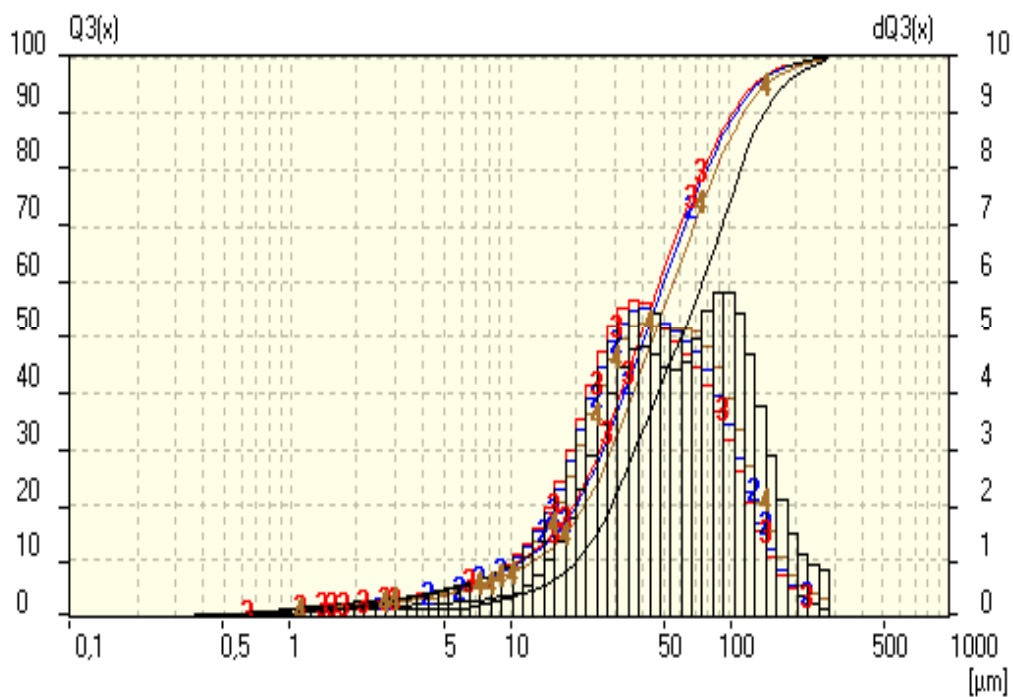
Při těchto úvodních experimentech byla sledována nejen koncentrace vzniklé glukózy refraktometrem a glukometrem, ale i změna distribuce velikosti částic pomocí laserového analyzátoru velikosti částic, což chemicky čistá mikrokrytalická celulóza díky svému přesně danému granulometrickému složení umožnila. Nejprve bylo nutné při měření distribuce velikosti částic vyloučit vliv rozbíjení částic mechanickým míchadlem, a proto první experiment proběhl bez přidání enzymu a byla sledována pouze změna velikosti částic. Z obr. 4.2 je zřejmé, že mechanické míchadlo částice celulózy nerozbíjí, a tudíž je možné tento vliv z dalších úvah eliminovat.

Rozpad celulózy na glukózu byl tedy systematicky dále stanovován nejen sledováním změny distribuce velikosti částic, což je pro jednotlivé enzymatické směsi ukázáno na obr. 4.3 až 4.6, ale i měřením koncentrace vzniklé glukózy refraktometrem i glukometrem. Časová závislost koncentrace vzniklé glukózy a konverze celulózy je znázorněna na obr. 4.6. Z naměřených dat je zřejmé, že sledovaný rozklad je možné popsat logaritmickou závislostí.

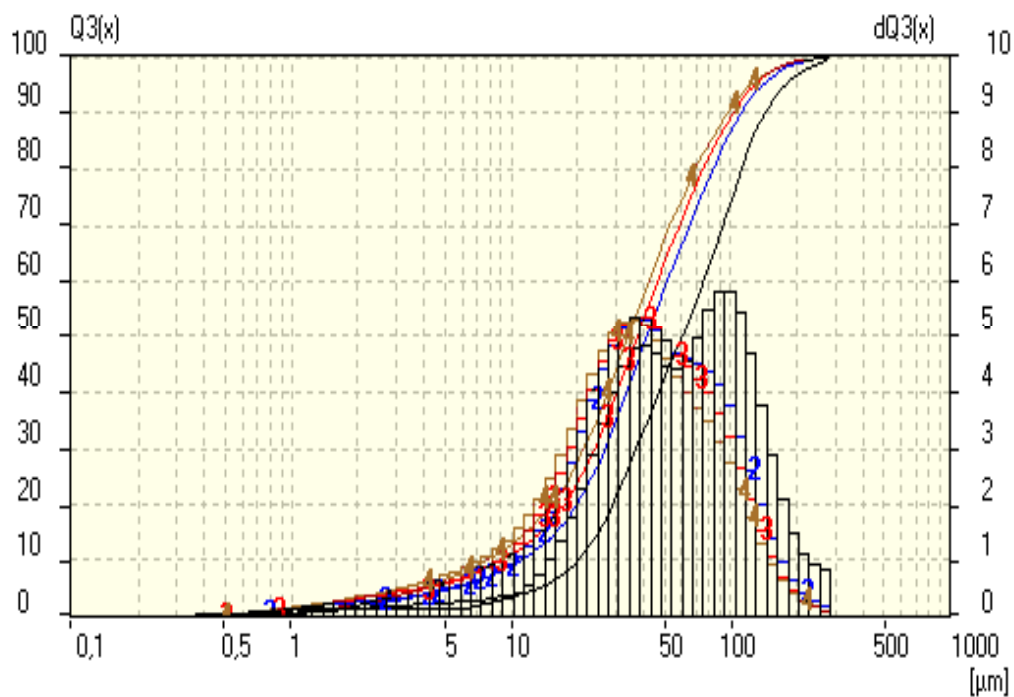
Z výše uvedených experimentů je zřejmé, že ze všech druhů testovaných enzymů (APC, APN, IN, APL) se ukázaly být při rozkladu čisté celulózy nejúčinnější enzymy kyselé povahy, tedy APC a APL.



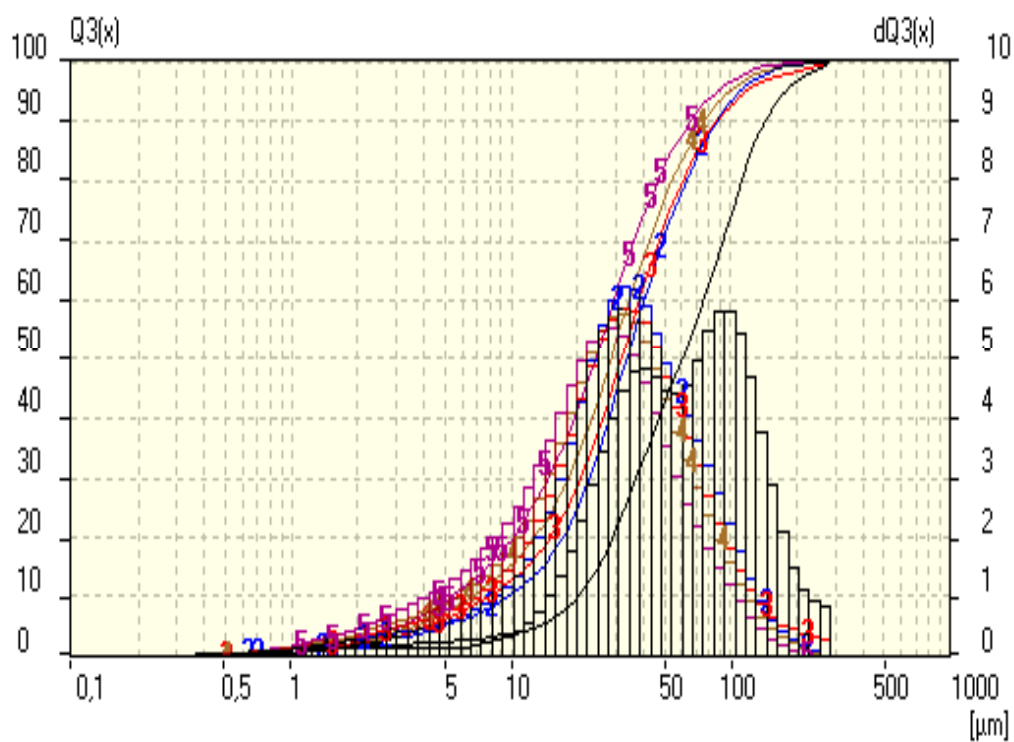
Obr. 4.2. Vliv míchání na velikost částic bez použití enzymu.
(černá - před mícháním, modrá - po 48 hodinách)



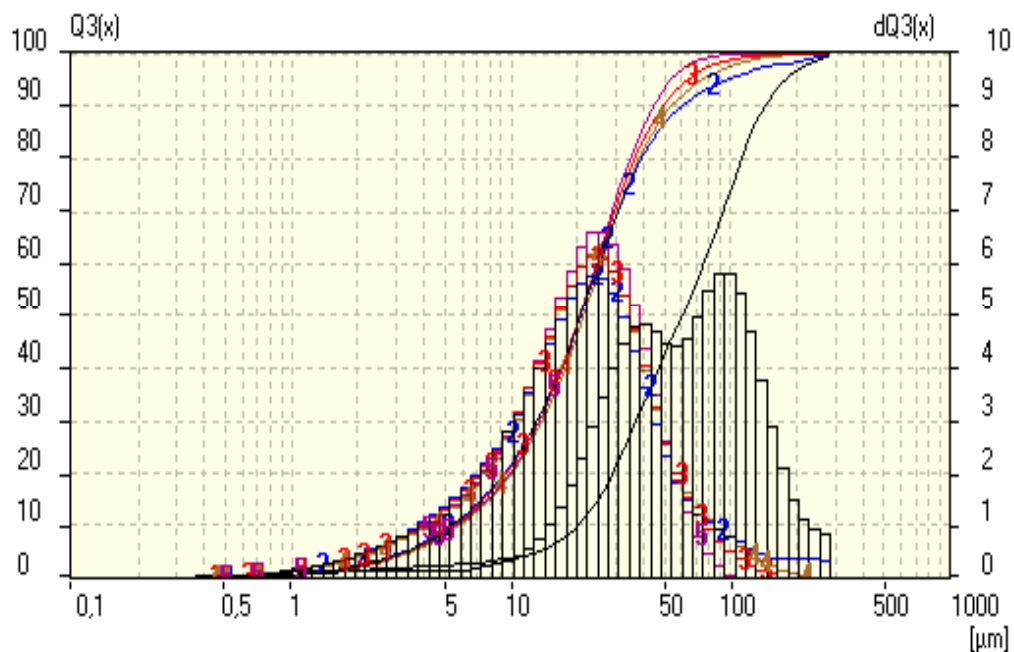
Obr. 4.3. Enzym APN – distribuce velikosti částic.
(černá – 0 hodin, modrá (2) - 24 hodin, červená (3) - 48 hodin, hnědá (4) – 72 hodin)



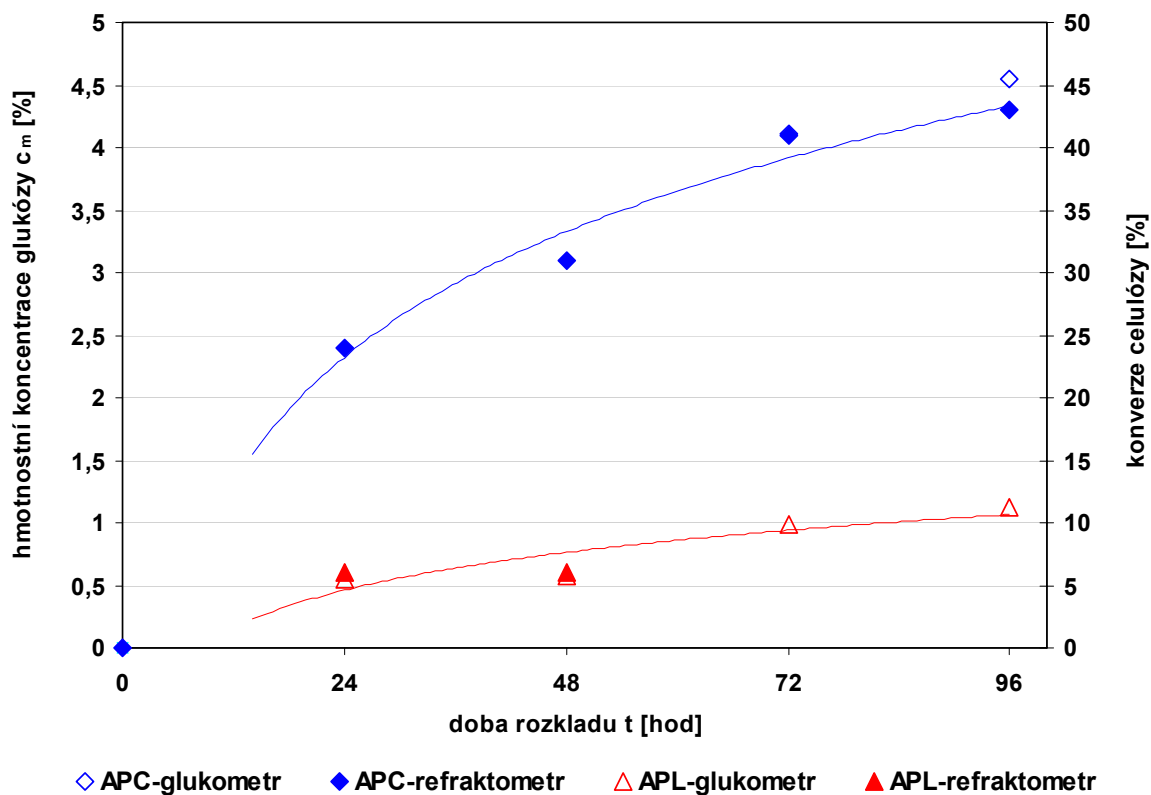
Obr. 4.4. Enzym IN – distribuce velikosti částic.
(černá – 0 hodin, modrá (2) - 24 hodin, červená (3) - 48 hodin, hnědá (4) – 72 hodin)



Obr. 4.5. Enzym APL – distribuce velikosti částic.
(černá – 0 hodin, modrá (2) - 24 hodin, červená (3) - 48 hodin, hnědá (4) – 72 hodin, fialová (5) – 95 hodin)



Obr. 4.6. Enzym APC – distribuce velikosti částic.
(černá – 0 hodin, modrá (2) – 24 hodin, červená (3) – 48 hodin, hnědá (4) – 72 hodin, fialová (5) – 95 hodin)



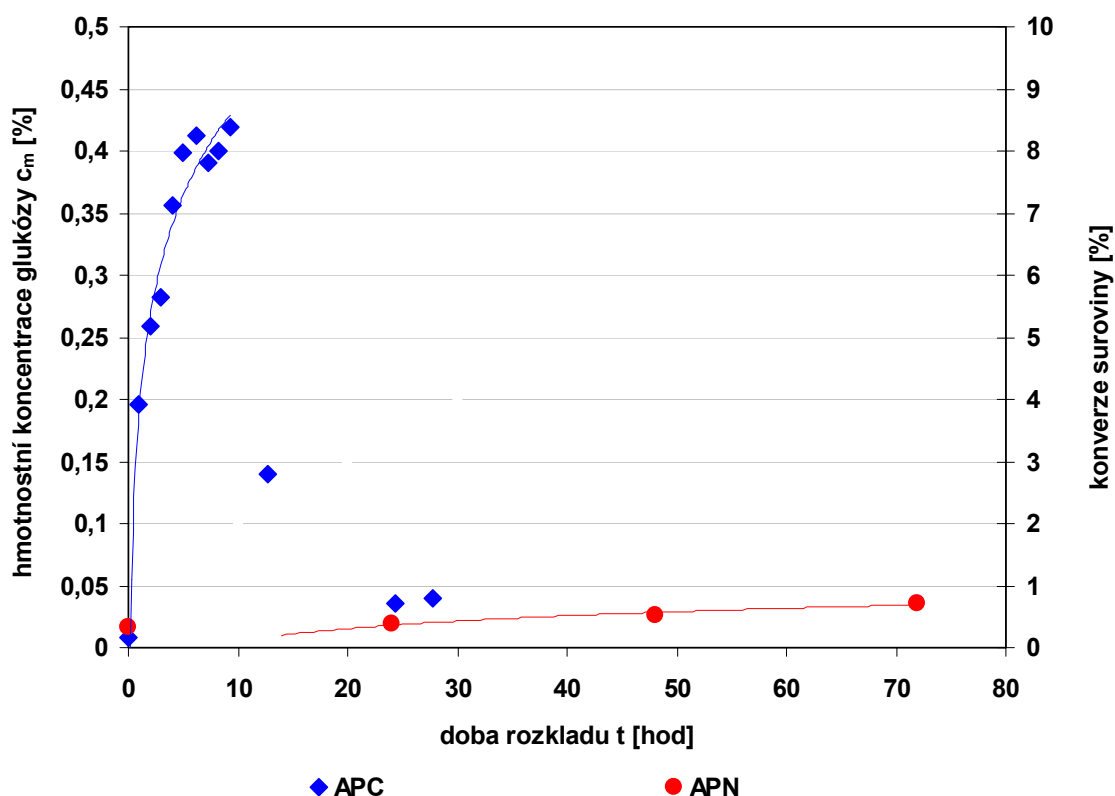
Obr. 4.7. Závislost hmotnostní koncentrace glukózy a konverze celulózy na době rozkladu
(při $T=50^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=5$).

4.3 Hydrolýza přírodních materiálů

Před vlastní hydrolýzou přírodních materiálů je bylo nutné deintegrovat – namlet, aby docházelo k rychlejšímu rozkladu a bylo možné je v laboratorním reaktoru míchat. Nejprve byly pro enzymatický rozklad sena testovány dva typy enzymů, které ve své skupině byly na základě předchozích experimentů shledány jako nejúčinnější, tj. neutrální enzym APN a kyselý APC. Na rozdíl od rozkladu čisté celulózy byla koncentrace všech přírodních látek 5 hmot. % při zachování ostatních podmínek. Z experimentů se ukázalo, že mnohem účinnější je kyselý enzym APC (viz obr. 4.8), a proto pro rozklad ostatních přírodních látek byl užíván již tento kyselý enzym.

Seno

První měření neproběhlo zcela podle očekávání, protože zatímco první den koncentrace glukózy stoupala (během 5-ti hodin na 304 mg/dl), následující den již byla jen 59 mg/dl a stále klesala. Ovšem s tím se dostavilo i snížení pH a ukázalo se, že produkty hydrolýzy se dále rozkládají na kyseliny pomocí mikroorganismů, které se ve volně skladovaném seně vyskytují. Tyto mikroorganismy se probudily k činnosti v okamžiku, kdy měli dostatek potravy (glukózy) a započaly fermentační procesy, které probíhají např. i při následné výrobě bioplynu (viz obr. 1.2). Proto bylo provedeno ještě jedno opakované měření s odběrem hodnot přibližně po jedné hodině, aby se ukázalo, po jaké době se aktivují tyto mikroorganismy. Z výsledků měření znázorněných na obr. 4.8 vyplývá, že k tomu dochází cca po 10-ti hodinách.



Obr. 4.8. Srovnání rozkladu sena kyselým APC a neutrálním enzymem APN ($T=50^{\circ}\text{C}$).

Karton

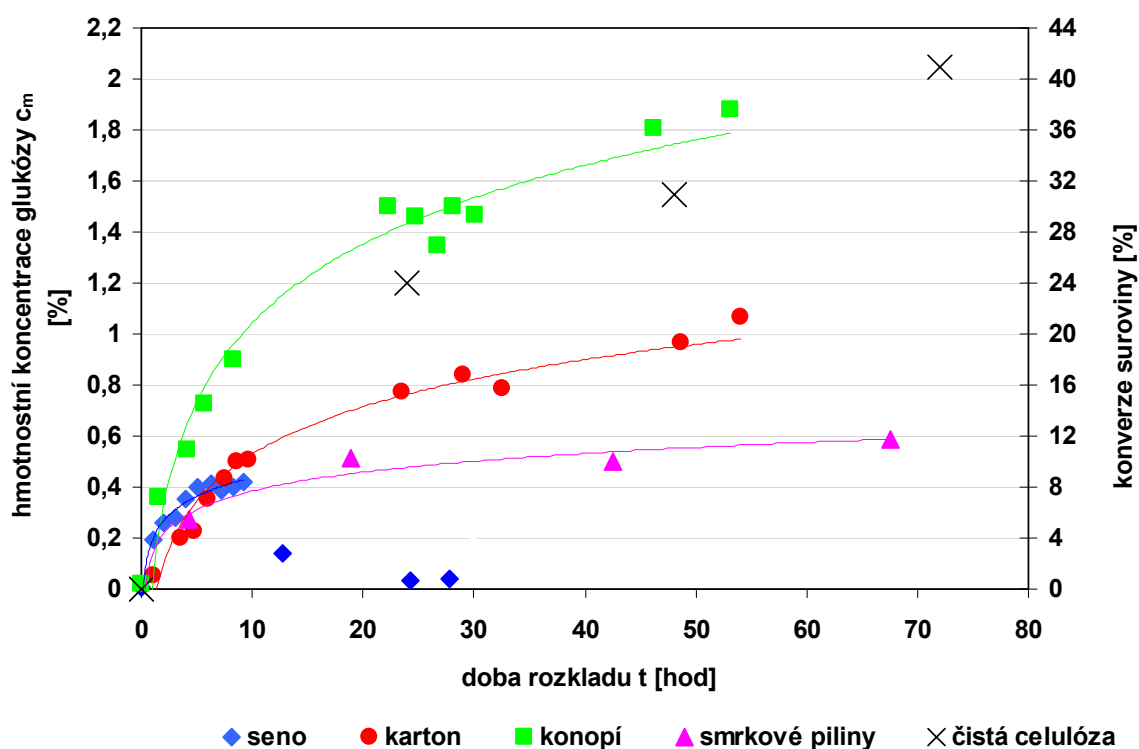
Vzhledem k velkému množství papírových odpadů bylo dalším cílem této práce zjistit, zda by mělo smysl využít tento odpad pro výrobu biopaliv s použitím enzymatické hydrolýzy. V průběhu experimentů byl sledován enzymatický rozklad namletého nebarveného kartonu. Vzhledem k tomu, že karton prošel při své výrobě řadou chemických procesů lze tedy předpokládat, že již nebude obsahovat žádné mikroorganismy vyvolávající následnou samovolnou fermentaci.

Konopí

Další využitou surovinou bylo nerosené konopí, které se vyskytuje i jako textilní odpad. To již také prošlo mechanickou předúpravou, při které byla surovina zbavena velkého množství dřevoviny, a tudíž i ligninu.

Smrkové piliny

Prozatím posledním testovaným materiálem byly jemné smrkové piliny, které byly zvoleny jako zástupce přírodního materiálu s velkým obsahem ligninu. Piliny nebyly před vlastním experimentem nijak chemicky ani fyzikálně upraveny, tzn. byla zachována struktura přírodní látky, stejně jako u sena.



Obr. 4.9. Srovnání rozkladu přírodních materiálů enzymem APC ($T=50^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=5$).

Časový vývoj glukózy vzniklé enzymatickým rozkladem čisté celulózy a přírodních materiálů znázorněn na obr. 4.9. Z tohoto porovnání je zřejmé, že nejlepší výtěžnosti bylo dosaženo enzymatickým rozkladem konopí. Tato výtěžnost je prakticky shodná s množstvím glukózy vzniklé rozkladem čisté celulózy, což lze vysvětlit právě tím, že při mechanické předúpravě konopí bylo již z materiálu odstraněno podstatné množství ligninu, tzn. v testovaném konopném materiálu převažovala prakticky pouze vlákna s velkým podílem celulózy (viz tab. 1). Naopak nejmenší výtěžnost, která byla oproti konopí či čisté celulóze pouze třetinová, byla pozorována při enzymatickém rozkladu smrkových pilin, což lze

vysvětlit již zmíněným velkým podílem ligninu, který obaluje celulózová vlákna a tím komplikuje přístup enzymů k celulóze. Výtěžnost rozkladu dřevních odpadů lze zvýšit zařazením předoperace narušující nebo dokonce odstraňující z materiálové struktury lignin. Toho lze dosáhnout například kyselými nebo alkalickými metodami, které však značně zatěžují životní prostředí. Z tohoto důvodu se jeví jako výhodnější dřevní odpad používat v energetice spíše k přímému spalování. Seno i karton vykazovaly prakticky stejnou výtěžnost, která je pro technologie výroby biopaliv dostatečná.

5. ZÁVĚR

Z výsledků výzkumu je zřejmé, že využití lignocelulózových materiálů pro enzymatickou hydrolýzu je nejen možné, ale i výhodné. Bylo testováno různé složení enzymatických směsí dodaných spolupracující společností inoTEX s.r.o. V průběhu experimentů byly testovány neutrální a kyselé enzymatické směsi pro rozklad čisté celulózy i přírodních materiálů.

- Z experimentů je zřejmé, že ze všech druhů testovaných enzymů se ukázaly být při rozkladu čisté celulózy i přírodních materiálů na glukózu nejúčinnější enzymy kyselé povahy. Nevýhodou použití těchto kyselých enzymů je nutnost po hydrolýze provést neutralizaci či úpravu pH substrátu tak, aby vyhovovala fermentačním mikroorganismům.
- Z přírodních materiálů bylo nejlepší výtěžnosti dosaženo enzymatickým rozkladem konopí. Tato výtěžnost je prakticky shodná s množstvím glukózy vzniklé rozkladem čisté celulózy, což lze vysvětlit právě tím, že při mechanické předúpravě konopí bylo již z materiálu odstraněno podstatné množství ligninu, tzn. v testovaném konopném materiálu převažovala prakticky pouze vlákna s velkým podílem celulózy.
- Nejmenší výtěžnost, která byla oproti konopí či čisté celulóze pouze třetinová, byla pozorována při enzymatickém rozkladu smrkových pilin, což lze vysvětlit již zmíněným velkým podílem ligninu, který obaluje celulózová vlákna a tím komplikuje přístup enzymů k celulóze. Výtěžnost rozkladu dřevních odpadů lze zvýšit zařazením předoperace narušující nebo dokonce odstraňující z materiálové struktury lignin. Toho lze dosáhnout například kyselými nebo alkalickými metodami, které však značně zatěžují životní prostředí. Z tohoto důvodu se jeví jako výhodnější dřevní odpad používat v energetice spíše ke přímému spalování.
- Seno i karton vykazovaly prakticky stejnou výtěžnost, která je pro technologie výroby biopaliv dostatečná.

Seznam použité literatury

- [1] Straka, F. a kol.: *Bioplyn*. Praha: GAS s.r.o., 2006, 706 s.
- [2] Olson, L. a kol.: *Biofuels*. Německo, Heidelberg: Springer-Verlag, 2007, 372 s.
- [3] Sun, Y., Cheng, J.: *Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production..* Bioresource Technology., 2002, roč. 83, s. 1-11.