

Vliv termicko-expanzní hydrolýzy na strukturu biomasy

Bc. Hynek Celar

Vedoucí práce: Ing. Lukáš Krátký, doc. Ing. Tomáš Jirout, Ph.D.

Abstrakt

Proces výroby bioplynu, který představuje perspektivní způsob zpracování biologicky rozložitelných odpadů, především zemědělských zbytků, se skládá z několika po sobě následujících fází – hydrolýza, acidogeneze, acetogeneze a metanogeneze. Pro zvýšení výnosnosti a větší optimalizaci celého postupu je rozhodující fáze hydrolýzy, tj. předúprava surového materiálu fyzikální či chemickou cestou. Tento příspěvek se zabývá metodou termické hydrolýzy s následnou expanzí, která v sobě kombinuje dvě klasické hydro-termické metody. V první části se příspěvek věnuje problematice výroby bioplynu, významu předúpravy, výčtu jednotlivých technologií se zaměřením na hydro-termické metody a jejich vlivu na strukturu materiálu. Druhá část rozebírá ověření vlivu expanze na distribuci částic a strukturu mikrokrystalické celulózy. Dále obsahuje popis experimentu zaměřeného na studii mikrostrukturálních změn v pšeničné slámě vlivem procesu předúpravy (teploty a doby zdržení). Na základě vyhodnocení výsledků jsou doporučeny procesní parametry pro zpracování pšeničné slámy.

Klíčová slova

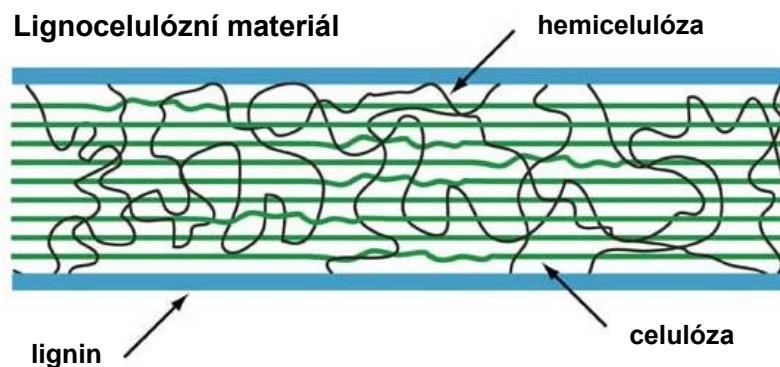
bioplyn, předúprava surovin, hydrolýza, mikrostruktura materiálu, expanze, LHW

1. Úvod

Proces výroby bioplynu je předmětem nejen mnoha odborných článků a experimentů, zabývajících se jeho optimalizací, ale i realizovanou technologií průmyslových aplikací, které v poslední době zaznamenávají velký rozvoj. Realizace tohoto procesu v praxi skýtá možnosti snížení využití konvenčních neobnovitelných zdrojů energie a vypořádání se s biologicky rozložitelnými odpady.

I toto poměrně nové odvětví již prošlo určitým vývojem, jehož důsledkem je posun od biopaliv první generace k biopalivům generace druhé. Tato biopaliva jsou vyráběna z biomasy, u které neexistuje její potravinářské využití [1]. Příkladem je zemědělský odpad jako je sláma, seno, kukuřičné a řepkové zbytky. Dále lze zpracovávat lesní biomasu a těžební zbytky či energetické rostliny a biologický odpad z domácností.

Potenciál využití plodin druhé generace je vysoký, ale komplikací je náročnost technologického procesu zpracování a následné výroby bioplynu. K dosažení větší výtěžnosti je nutné, aby výchozí materiál prošel procesem, při kterém dojde k narušení jeho lignocelulózní struktury, která je tvořena vlákny celulózy obklopené hemicelulózou a ligninem (obr.1). Tento krok lze realizovat mnoha způsoby zahrnující fyzikální i chemické postupy.



Obr. 1. Struktura lignocelulózního materiálu. [2]

Dalším krokem při výrobě bioplynu je enzymatická hydrolýza polysacharidických řetězců. Výsledkem působení enzymů na materiál je rozštěpení těchto řetězců na monosacharidy. Je získána glukóza z celulózy a směs cukrů z hemicelulózy, zahrnující pentózu (xylóza a arabinóza) a hexózu (glukóza, manóza a galaktóza). Poté již následuje samotná fermentace substrátu vzniklého předchozími procesy, při které jsou získané monosacharidy následně metanogenními bakteriemi přeměněny na metan, oxid uhličitý a vodu.

Předúprava biomasy je tedy první nezbytným krokem při výrobě bioplynu. Tato úprava suroviny má pozitivní vliv na následující enzymatickou hydrolýzu [3]. Fyzikální nebo chemická předúprava zvyšuje míru rozložitelnosti materiálu, a tím výtěžnost celého procesu. Rozrušení lignocelulózní struktury je dosaženo jak strukturními změnami v materiálu, tak i změnami ve složení. Dochází k částečnému či úplnému odstranění hemicelulózy a ligninu a zároveň rozbití vláknité struktury materiálu. Enzymy účastníci se následné hydrolýzy se tak snáze dostanou do kontaktu s celulózu, se kterou reagují, a dochází k enzymatickému štěpení polysacharidů. Mimo zvyšování účinků enzymatického působení zvětšením přístupnosti k celulóze je dalším cílem minimalizace ztrát cukrů. Je tedy nutné zvolit optimum mezi množstvím získaných cukrů a přístupností celulózy. Lignocelulózní struktura totiž podléhá při vyšších teplotách degradačním reakcím.

Existuje mnoho metod předúpravy surovin při výrobě biopaliv [4]. První skupinou jsou chemické způsoby, které jsou založeny na rozrušení materiálu působením chemikálií. Výsledkem těchto procesů je však tvorba toxických látek, inhibitorů hydrolýzy a korozního prostředí v aparátech. Tyto metody jsou obecně neúčinnější, ale jejich nevýhodou je finanční náročnost daná nutnou regenerací a recyklací použitých chemických prostředků. Příkladem může být kyselá hydrolýza (H_2SO_4 , HCl , HNO_3) nebo alkalická hydrolýza ($NaOH$, $Ca(OH)_2$).

Mezi fyzikální metody patří především mletí a extruze. Dochází při nich ke zmenšování velikosti částic, čímž se zvyšuje dostupný povrch působícím enzymům. Mletí se většinou používá jako předstupeň před dalším zpracováním.

Další skupinou jsou fyzikálně chemické způsoby zpracování, mezi které patří expanze vodní páry, čpavkových par (AFEX), CO_2 a metoda LHW (liquid hot water pretreatment). Všechny tyto metody jsou založeny na ohřevu biomasy s případnou následnou expanzí.

Speciální skupinou jsou biologické metody předúpravy, které využívají působení různých druhů plísní a hub.

2. Hydro-termické metody zpracování biomasy

Tento článek je především zaměřen na hydro-termické metody předúpravy, které zaujímají významné místo mezi ostatními způsoby [4]. Jsou zajímavé tím, že k jejich průběhu

není nutné použít další chemikálie, což umožňuje vyhnout se problémům spojeným se vznikem chemicky agresivního prostředí, řešení korozního vlivu na aparát a otázce recyklace chemikálií. Nedochozí při nich k přílišnému vzniku inhibitorů a pH vsádky se pohybuje v doporučených mezích bez nutného vnějšího zásahu. Dochází také k menší míře degradace rozpuštěných cukrů.

Významným zástupcem je metoda LHW (liquid hot water pretreatment), kdy je materiál ve vodě ohříván za zvýšeného tlaku po určitou dobu výdrže a poté následuje ochlazení vsádky [5]. Dalším příkladem je metoda parní expanze, kdy po prudkém a poměrně krátkém ohřevu materiálu sytou parou dochází k náhlému snížení tlaku expanzí. Nejdůležitějšími parametry obou procesů je dosažená maximální teplota a doba zdržení na této teplotě. Rozsah používaných teplot je od 170 °C do 230 °C a doba zdržení se pohybuje od nuly do desítek minut. Dalšími parametry jsou velikost částic materiálu, množství a koncentrace materiálu ve vsádce, případně její pH. Určitý význam může mít i promíchávání vsádky v nádobě.

Na Ústavu procesní a zpracovatelské techniky 12118 FS ČVUT jsou experimenty prováděny na zařízení, které pracuje v režimu kombinace obou výše zmíněných metod - termická hydrolýza s následnou expanzí. V případě tohoto způsobu předúpravy je principem penetrace vody do pórů materiálu, která při následné expanzi mění své skupenství na plynné, což je doprovázeno zvětšením objemu, a tím narušení materiálu.

2.1 Strukturní změny materiálu

Pozorovatelným výsledkem termicko-expanzí předúpravy jsou změny struktury rostlinného pletiva. Dochází také ke změnám chemického složení povrchu materiálu. Všechny tyto změny jsou považovány za objasnění experimentálně určeného zvýšení zisku cukrů a výtěžnosti enzymatické hydrolýzy a posléze i celého procesu výroby bioplynu.

Řada publikovaných článků a experimentů se zabývá právě pozorováním mikrostruktury předupraveného materiálu. Kristensen [6] potvrdil, že při procesu termické předúpravy LHW dochází k částečnému narušení nebo oddělení jednotlivých vláken pšeničné slámy. Získaný materiál je velmi nehomogenní. Při detailnějším pohledu potvrdil i pozorované změny na povrchu materiálu.

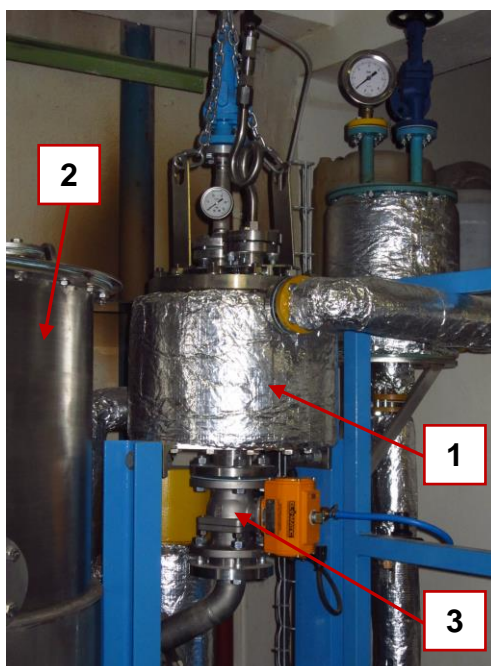
Otázkou zůstává posouzení vlivu předúpravy na mikrostrukturu vláken, stavbu buněk a celistvost buněčné stěny. Zde Kristensen [6] dochází k závěru, že termická předúprava nemá výrazný vliv na mikrostrukturu. Přesto naměřené hodnoty přisuzují hydro-termickým metodám velký vliv na enzymatickou rozrušitelnost slámy. Vysvětlením tedy musí být odstranění hemicelulózy či přeskupení ligninu. Kristensen [6] předpokládá, že přesunutí a usazení ligninu na vnějším povrchu odkrývá vnitřní povrch celulózy, a tím zvyšuje přístupnost enzymů k celulóze. Kristensen [6] také zmiňuje experiment, ve kterém byla pro předúpravu použita metoda parní expanze s předchozím působením SO₂ na materiál. Výsledné složení slámy je podobné jako při použití LHW předúpravy.

Zeng [7] provedl podobné zkoumání na materiálu, kterým byla kukuřičná siláž. Potvrdil, že předúprava rozrušuje materiál a spojuje to s výsledky analýzy změn složení vzorků. Dále popisuje proces enzymatické hydrolýzy, kdy enzymy napadají celulózu a převážně pronikají do vnitřního prostoru částic. Některé však narušují i samotný povrch, který se v procesu mění. Výsledkem jsou tedy změny ve vnitřní stavbě.

3. Popis a princip funkce zařízení

Experimentální aparát na termicko-expanzní hydrolýzu pracuje ve vsádkovém režimu a je tvořen dvěma hlavními částmi, kterými jsou hydrolyzér a expanzní nádoba [8]. Hydrolyzér je duplikátorová tlaková nádoba s objemem 8 litrů. Maximálními provozními

podmínkami je teplota 200 °C a tlak 1,6 MPa. Vsádka je nepřímo ohřívána olejem cirkulujícím v temperačním okruhu skrz pláš hydrolyzéru. Pro ohřev média je použita topná spirála s výkonem 12 kW. V expanzní nádobě je udržován atmosférický tlak a při procesu do ní expanduje zpracovávaný materiál. Chlazení nádrže a urychlení kondenzace páry je umožněno duplikátorovým pláštěm, kterým obíhá voda. Hydrolyzér a expanzní nádoba jsou vzájemně propojeny přes kulový kohout s pneumatickým pohonem, jehož rychlým otevřením dochází k expanzi vsádky. Teplota v hydrolyzérovi není měřena přímo z důvodu nehomogenního teplotního pole, ale je určována na základě rovnováhy vody a vodní páry na mezi sytosti.



Obr. 2. Detail laboratorní jednotky termicko-expanzní hydrolyzy (1-hydrolyzér, 2-expanzní nádoba, 3-kulový kohout s pneumatickým pohonem). [8]



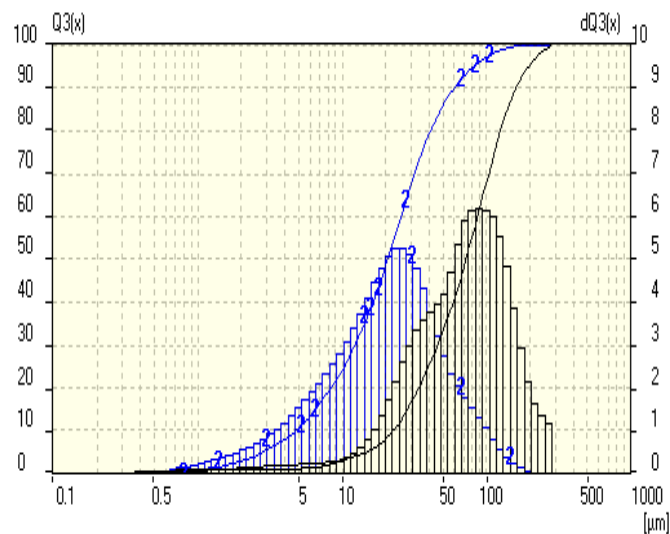
Obr. 3. Laboratorní jednotka termicko-expanzní hydrolyzy [8]

4. Experimenty

Cílem experimentů bylo vyhodnotit vliv termické expanze na strukturu pšeničné slámy. V první části experimentů byl ověřen vliv samotné expanze na strukturu modelového materiálu, kterým byla celulóza. V druhé části byl zkoumán vliv termicko-expanzní hydrolyzy na strukturu pšeničné slámy.

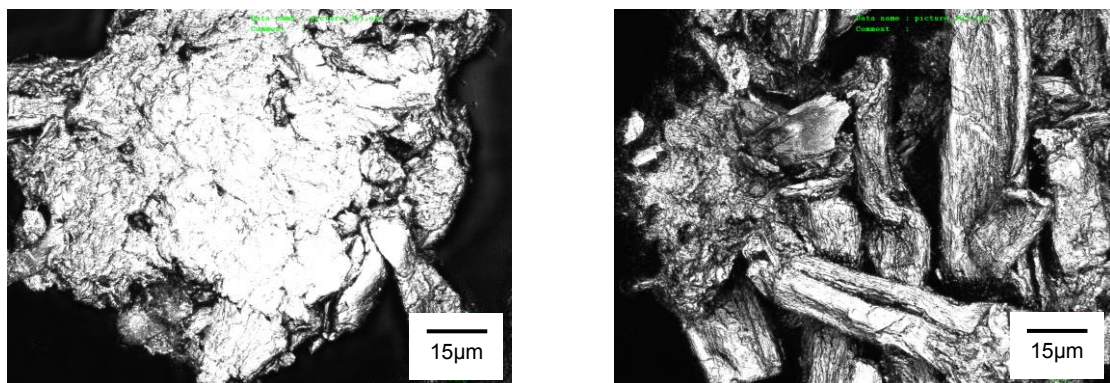
4.1 Ověření vlivu expanze

Mikrokrystalická celulóza byla podrobena zkoumání s cílem potvrdit vliv expanze na strukturu materiálu [9]. Bylo provedeno měření rozložení velikosti částic celulózy. Parametry předúpravy byly teplota 200 °C a doba zdržení na této teplotě 5 min. Celulóza byla zvolena z důvodu její teplotní stability až do teplot 230-260 °C. Na obr.4 je patrný rozdíl v distribuci velikosti částic před a po expanzi. Střední objemový průměr částic byl 87,433 μm před expanzí a 25,753 μm po předúpravě expanzí.



Obr. 4. Rozložení velikosti částic celulózy před expanzí (černá) a po provedení expanze (modrá).

Z obou vzorků byly na mikroskopu Olympus LEXT OSL 3000 získány mikroskopické snímky, které byly následně navzájem porovnány. Můžeme pozorovat viditelné změny ve struktuře celulózy. Jak je vidět na obr.5 u předupraveného vzorku došlo k výraznému narušení předchozí celistvé struktury. Vlákna, která původně tvořila kompaktní matici, jsou vlivem expanze navzájem částečně oddělena a celý povrch celulózy je značně rozrušen.



A) před expanzí

B) po expanzi

Obr. 5. Mikrostruktura celulózy (parametry předúpravy: 200 °C, 5 min).

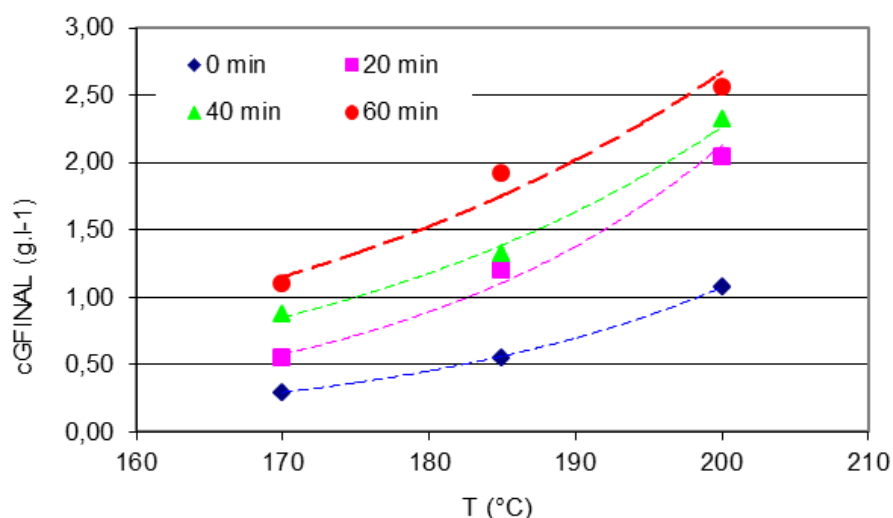
4.2 Vliv termicko-expanzní hydrolyzy na strukturu pšeničné slámy

Průběh experimentů byl následující. Hydrolyzátor je naplněn substrátem obsahující lignocelulózní materiál a vodu. Koncentrace materiálu v suspenzi je 5 % hm. a pšeničná sláma byla nesemletá, tzn. do hydrolyzátoru byla vložena v původním surovém stavu. Celý proces předúpravy začíná ohřevem vsádky na požadovanou teplotu v rozmezí 170 - 200°C. Po dosažení této teploty je odměřena doba výdrže na této teplotě v rozsahu 0 - 60 minut. Po jejím uplynutí následuje okamžité otevření kulového kohoutu a náhlá expanze vsádky do expanzní nádoby. Po kondenzaci vzniklé páry a vychladnutí celého aparátu včetně vsádky je materiál vyjmut z expanzní nádoby. Dále je odebrán vzorek pevné i kapalně fáze pro další rozbor.

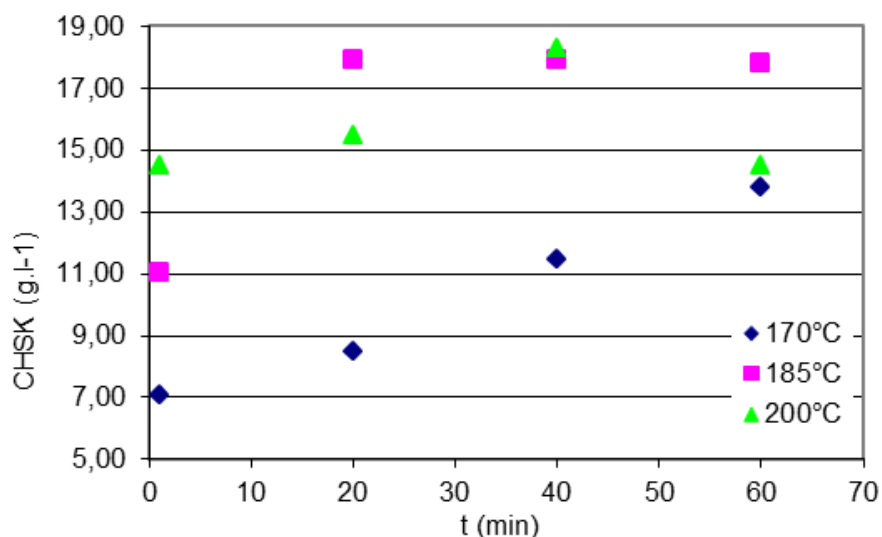
V kapalně fázi byly měřeny hodnoty koncentrace glukózy, CHSK a pH, zatímco tuhá fáze byla pouze vysušena a připravena k mikroskopii. Hodnoty pH byly měřeny pomocí pH metru Inolab pH730, koncentrace glukózy pomocí glukometru EasyGluco IGM-0002A a CHSK kapalně fáze bylo stanovováno pomocí dichromanové metody se spektrofotometrickou koncovkou prostřednictvím kyvetových testů Spectroquant [10]. Mikroskopické snímky a fotografie struktury slámy byly nasnímány konfokálním rastrovacím mikroskopem Olympus LEXT OSL 3000. Pro mikroskopické pozorování byly ze vzorků vybrány části o stejném rozměru a charakteru.

Vliv termicko-expanzní hydrolyzy na strukturu slámy byl vyhodnocován na základě pozorování mikrostruktury pro různé pracovní podmínky a ve vztahu s koncentrací glukózy, pH kapalně fáze (množství kyselin) a CHSK kapalně fáze (množství organického podílu).

Na obr.6 je vykreslena závislost koncentrace glukózy na parametrech předúpravy. Z grafu je patrná rostoucí tendence konečné koncentrace glukózy v kapalně fázi hydrolyzátoru s rostoucí teplotou a dobou výdrže. Tento jev přímo souvisí se změnami v lignocelulózní struktuře materiálu, jejichž výsledkem je uvolnění polysacharidů - hemicelulózy a celulózy. Za termického působení jsou následně transformovány a rozpuštěny v kapalně fázi mimo jiné ve formě monosacharidu - glukózy. Strukturální změny tak vedou ke zvýšení biodegradability biomasy. Z tohoto pohledu se jeví vyšší teplota a delší čas jako vhodné parametry s ohledem na výsledný zisk cukrů v kapalně fázi. Naměřené hodnoty CHSK kapalně fáze na obr.7 však potvrzují, že při teplotě zpracování a době výdrže vyšší než 185 °C a 40 min hodnota celkového obsahu organických látek v hydrolyzátoru klesá. Příčinou může být tvorba inhibitorů a následná degradace hydrolyzátoru. Toto tvrzení dokládají výsledky řady dalších experimentů [3,11].

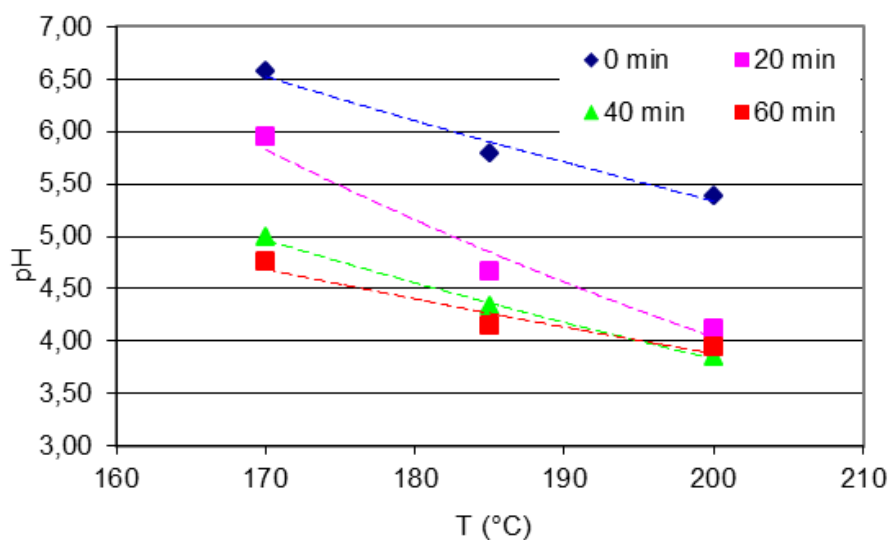


Obr. 6. Koncentrace glukózy v kapalně fázi hydrolyzátoru po provedení předúpravy (počáteční hodnota před zpracováním: $0,11 \pm 0,01 \text{ g.l}^{-1}$).



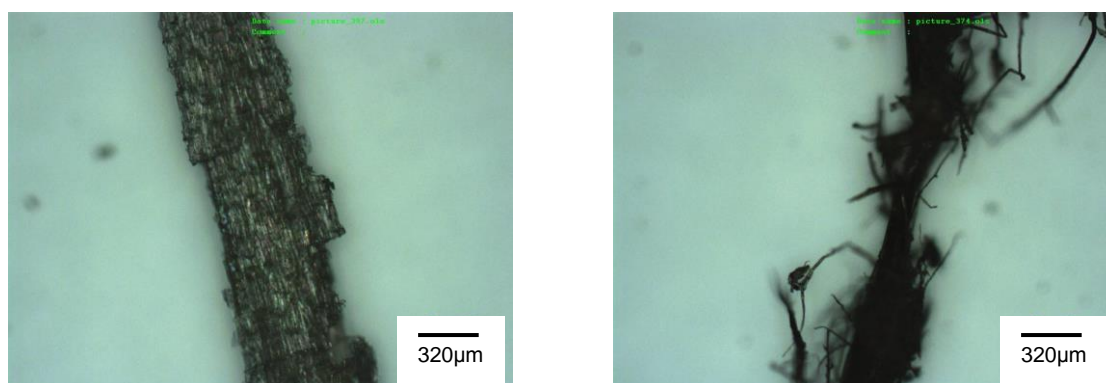
Obr. 7. CSHK hydrolyzátu (počáteční hodnota před zpracováním: $2,94 \pm 0,20 \text{ g.l}^{-1}$).

Na obr.8 je zobrazena závislost pH hydrolyzátu na parametrech zpracování. V grafu lze pozorovat klesající trend hodnoty pH kapalné fáze vsádky se zvyšující se teplotou předúpravy a dobou výdrže na zvolené teplotě. Pokles hodnoty pH je zapříčiněn vznikem organických kyselin v kapalné fázi vsádky [12]. Dle mnoha autorů je doporučené rozmezí hodnot pH 7-4 [5]. Při experimentu se hodnota pohybovala v tomto rozsahu, pouze v případě teploty 200 °C a určité doby výdrže byla hodnota pH na dolní hranici.



Obr. 8. Hodnota pH kapalné fáze hydrolyzátu po provedení předúpravy (počáteční hodnota před zpracováním: $6,93 \pm 0,06$).

Obr.9 dokládá změnu struktury pšeničné slámy v důsledku termicko-expanzní hydrolýzy. Na strukturu materiálu má tedy silný vliv kombinace doby výdrže a teploty zpracování, resp. s ní spjatá tlaková diference při expanzi.



A) před expanzí

B) po expanzi

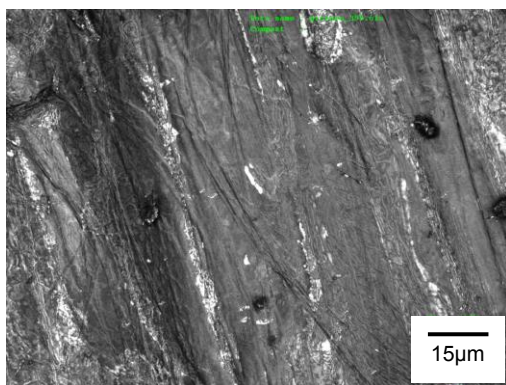
Obr. 9. Struktura pšeničné slámy (parametry předúpravy: 200 °C, 20 min).

Na obr.10 je pozorovaná mikrostruktura surové slámy před expanzí. Snímky v tab.1 zobrazují detailní strukturu po provedení expanze pro různou kombinaci parametrů předúpravy (teplota a doba výdrže na této teplotě). Můžeme na nich pozorovat několik důležitých poznatků.

S rostoucí teplotou vsádky (tlakem v nádobě) lze předpokládat, že bude docházet k většímu rozrušení jednotlivých vláken materiálu. Materiál bude porušený a celulóza více rozvlákněná. Tím se zvýší specifický povrch dostupný mikroorganismům působícím v dalších fázích. Toto tvrzení viditelně platí při porovnání vzorků předupravených při teplotě 170 °C a ostatních teplotách. Trend rozrušování materiálu s rostoucí teplotou dokládá i závislosti koncentrace glukózy (obr.6). Z hlediska struktury slámy nelze mezi teplotou 185 °C a 200 °C již pozorovat významné rozdíly. Zvýšení tlaku z 1,1 MPa na 1,6 MPa tedy nemá výrazný efekt.

Vzhledem k času je významný rozdíl mezi dobou výdrže 0 min a ostatními časy. Ze snímků i ze změn koncentrace glukózy, CHSK a hodnoty pH lze usoudit, že okamžitá expanze vsádky po dosažení požadované teploty má výrazně menší účinek než expanze materiálu, který je předupravován delší dobu. Hodnoty koncentrace glukózy a CHSK jsou nejnižší (obr.6, obr.7). Za krátkou dobu je materiál ještě málo nasáklý a rozvlákněný. Určitá doba zdržení na teplotě je tedy nutná pro efektivnější výsledek celého procesu. Naopak pro dobu výdrže 60 min se zdá, že vliv expanze na strukturu materiálu je menší než pro předchozí dva případy, tj. pro doby výdrže 20 a 40 min. V souladu s tímto tvrzením je i hodnota CHSK, která pro vyšší teploty a dobu výdrže 60 min klesá. Z hlediska struktury je materiál po dlouhé době zřejmě již příliš rozmočen a rozvlákněn, že nepodléhá tak výrazně následné expanzi. Pokles CHSK souvisí s již výše zmiňovanými procesy degradace hydrolyzátu.

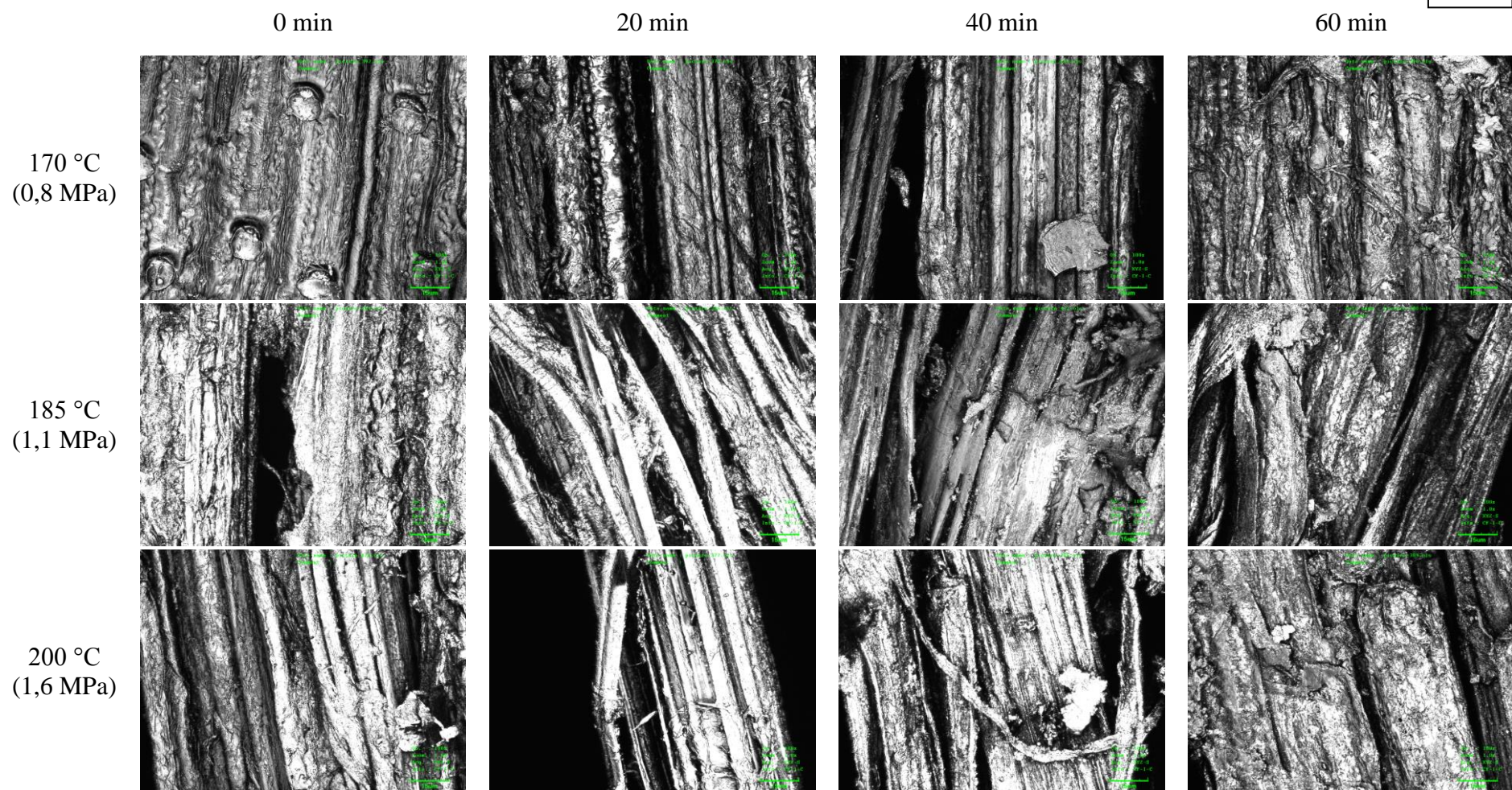
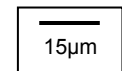
V průběhu předúpravy dochází také ke změnám struktury a složení, které se projevují na samotném povrchu. Můžeme porovnat vzhled povrchu výchozího materiálu a slámy po předúpravě při různých teplotách pro dobu zdržení 0 min. S rostoucí teplotou dochází k výraznějšímu narušení souvislosti povrchu.



Obr. 10. Struktura pšeničné slámy před provedením předúpravy.

Pozorování je ztíženo velkou nehomogenitou předupraveného materiálu. Z makroskopického pohledu na materiál lze jednoznačně potvrdit růst míry rozrušení materiálu na menší vlákna s „drsnějšími“ podmínkami (růst teploty a doby výdrže na teplotě). Mikroskopický pohled však nemusí být takto jednoznačný, protože jednotlivé části předupraveného materiálu a i jednotlivá vlákna se od sebe liší mírou ovlivnění procesem předúpravy. Pro lepší posouzení je nutný výběr vhodných vláken nebo statistické posouzení při opakovaném pozorování.

Tab. 1. *Struktura pšeničné slámy po expanzi při různých kombinacích dosažené teploty a výdrže na této teplotě při předúpravě.*



5. Závěr

Hlavním cílem provedeného experimentu bylo prokázat vliv expanze na předupravovaný materiál a také poukázat na význam kombinace dvou standardních hydrotermických metod do jednoho postupu. Změnu struktury a celkový přínos předúpravy dokládají mnozí autoři, ale zaměřují se výhradně na metodu LWH či parní expanzi.

- Byly pozorovány dopady expanze na distribuci velikosti částic a strukturu mikrokrystalické celulózy, která je součástí lignocelulózní struktury zpracovávaných materiálů.
- Provedený experiment s pšeničnou slámou potvrdil vliv předúpravy a expanze na strukturu materiálu a navíc umožnil více analyzovat vliv obou procesních parametrů - teploty a doby výdrže.
- Pro dostatečné narušení povrchu materiálu a desintegraci struktury se jeví jako vhodná teplota 185 °C.
- S ohledem na míru rozrušení slámy vlivem expanze se jeví doba výdrže 20 až 40 min jako optimální.
- Tyto výsledky jsou ve shodě s publikovanými doporučeními dalších odborných článků [3,13,14]. Jako dostatečnou dobu výdrže uvádí i 10 min.

Poděkování

Tato práce byla podpořena grantem Studentské grantové soutěže ČVUT č. SGS13/065.

Poděkování Ing. Františkovi Tatičkovi za poskytnutí a pomoc při práci s mikroskopem Olympus LEXT OSL 3000.

Seznam symbolů

cGFINAL	konečná koncentrace glukózy	[g.l ⁻¹]
CHSK	chemická spotřeba kyslíku kapalně fáze hydrolyzátu	[g.l ⁻¹]
T	teplota zpracování	[°C]
t	doba výdrže	[min]

Seznam použité literatury

- [1] *Co jsou to biopaliva první a druhé generace? Jaký je mezi nimi rozdíl?* [online]. Ekoporadenský portál Ministerstva životního prostředí. <<http://www.ekoporadny.cz/faq/co-jsou-to-biopaliva-prvni-a-druhe-generace-jaky-je-mezi-nimi-rozdil.htm>> [14.3.2013].
- [2] Badua, M.A.: *The Challenge for Lignocellulosic Ethanol* [online]. Alternative Renewable Energy Philippines, 2011. <<http://alternativerenewableenergyphilippines.blogspot.cz/2011/08/challenge-for-lignocellulosic-ethanol.html>> [9.6.2012].
- [3] Pérez, J.A., Ballesteros, I., Ballesteros, M., Sáez, F., Negro, M.J., Manzanares, P.: *Optimizing Liquid Hot Water pretreatment conditions to enhance sugar recovery from wheat straw for fuel-ethanol production*. Fuel 87, 2008, str.3640-3647.
- [4] Krátký, L.: *Zařízení pro předúpravu surovin při výrobě biopaliv* [online]. <<http://chps.fsid.cvut.cz/pt2010/pdf/KratkyLukas.pdf>> [14.3.2013].
- [5] Celar, H.: *Zařízení pro předúpravu surovin při výrobě biopaliv*. Bakalářská práce, ČVUT v Praze, 2012.

- [6] Kristensen, J.B., Thygesen, L.G., Felby, C., Jørgensen, H., Elder, T.: *Cell-wall structural changes in wheat straw pretreated for bioethanol production*. *Biotechnology for Biofuels* 1, 2008.
- [7] Zeng, M., Mosier, N.S., Huang, C.-P., Sherman, D.M., Ladisch, M.R.: *Microscopic Examination of Changes of Plant Cell Structure in Corn Stover Due to Hot Water Pretreatment and Enzymatic Hydrolysis*. *Biotechnology and Bioengineering* 97, 2007, str.265-278.
- [8] Krátký, L.: *Laboratorní zařízení pro výrobu biopaliv*. Sborník konference studentské tvůrčí činnosti STČ 2010, ČVUT v Praze, 2010.
- [9] Krátký, L., Jirout, T.: *The effect of thermal-expansionary hydrolysis on wheat straw treatment*. *Inżynieria i Aparatura Chemiczna* 51, Nr 4, 2012, str.143-144.
- [10] Dundáčková, L.: *Stanovení výtěžnosti bioplynu v laboratorním měřítku*. Diplomová práce, ČVUT v Praze, 2012.
- [11] Díaz, M.J., Cara, C., Ruiz, E., Pérez-Bonilla, M., Castro, E.: *Hydrothermal pretreatment and enzymatic hydrolysis of sunflower stalks*. *Fuel* 90, 2011, str.3225-3229.
- [12] Krátký, L.: *Termicko-expanzní hydrolyza pšeničné slámy* [online]. <<http://chps.fsid.cvut.cz/pt/2012/pdf/2508.pdf>> [21.3.2013].
- [13] Ballesteros, I., Negro, M.J., Oliva, J.M., Cabañas, A., Manzanares, P., Ballesteros, M.: *Ethanol Production From Steam-Explosion Pretreated Wheat Straw*. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 129-132, 2006, str.496-508.
- [14] Linde, M., Jakobsson, E.-L., Galbe, M., Zacchi, G.: *Steam pretreatment of dilute H₂SO₄-impregnated wheat straw and SSF with low yeast and enzyme loadings for bioethanol production*. *Biomass and Bioenergy* 32, 2008, str.326-332.