



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2019 00714

(22) Data de depozit: 07/11/2019

(41) Data publicării cererii:
29/05/2020 BOPI nr. 5/2020

(71) Solicitant:
• UNIVERSITATEA POLITEHNICA DIN
BUCUREȘTI, SPLAIUL INDEPENDENȚEI
NR.313, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:
• GAVRILĂ ADINA IONUȚA, STR. SIBIU,
NR.10, BL.OS1, SC.E, ET.2, AP.172,
BUCUREȘTI, B, RO;

• CĂLINESCU IOAN, STR.GHIRLANDEI
NR.38, BL.D 1, SC.C, PARTER, AP.21,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;
• VÎNĂTORU MIRCEA, ALEEA MOINEȘTI
NR. 3, BL. 18, SC. 1, AP. 3, SECTOR 6,
BUCUREȘTI, B, RO;
• VARTOLOMEI ANAMARIA,
BVD. AUREL VLAICU, NR.11, CONSTANȚA,
CT, RO;
• IGNAT NICOLETA DANIELA,
STR.AUREL BARANGA NR.124,
SAT VALEA VOIEVOZILOR, DB, RO

(54) **METODĂ DE PRETRATAMENT ALCALIN AL BIOMASEI
LIGNOCELULOZICE ÎN PREZENȚA ESTERILOR METILICI
AI ACIZILOR GRAȘI (FAME)**

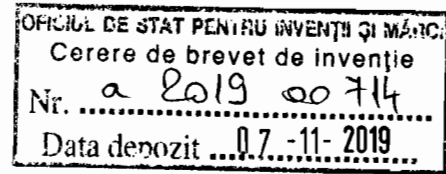
(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de pretratare alcalină a biomasei lignocelulozice, în prezența esterilor metilici ai acizilor grași, pentru obținerea de materiale care pot fi utilizate în industria de biocombustibili. Procedeu, conform invenției, constă în punerea în contact a biomasei lignocelulozice de tip rumeguș brut cu o soluție alcalină de NaOH 0,4...4% și esteri metilici ai acizilor grași (0,1...0,5% față de biomasă), la temperatura camerei, timp de 20 min, sub agitare,

urmată de filtrare și spălarea cu o soluție de surfactant uzual 0,1%, rezultând un material lignocelulozic din care s-au îndepărtat substanțele extractibile simultan cu delignifierea biomasei. Pretratarea determină obținerea unei concentrații ridicate de zaharuri în procesul de hidroliză enzimatică.

Revendicări: 1
Figuri: 1





DESCRIERE

METODĂ DE PRETRATAMENT ALCALIN AL BIOMASEI LIGNOCELULOZICE ÎN PREZENȚA ESTERILOR METILICI AI ACIZILOR GRAȘI (FAME)

Invenția se referă la o metodă simplificată de pretratament alcalin al biomasei lignocelulozice în prezența esterilor metilici ai acizilor grași (FAME). Prin aceasta metodă se realizează delignifierea materialului lignocelulozic simultan cu îndepărtarea cerurilor și a substanțelor extractibile care pot acționa ca inhibitori ai proceselor ulterioare de hidroliza a celulozei. Biomasa lignocelulozică astfel pretrată manifestă o disponibilitate ridicată la hidroliza enzimatică.

Pretratamentul biomasei lignocelulozice joacă un rol esențial în obținerea de materiale cu digestibilitate enzimatică acceptabilă și fermentabilitate ulterioară pentru producerea de etanol celulozic sau de alți biocombustibili cum ar fi butanolul derivat din biomasă. Pretratamentul este o etapă necesară pentru modificarea structurii lignocelulozei și îmbunătățirea accesului enzimelor în timpul hidrolizei enzimatică (**Alvira P, Tomas-Pejo E, Ballesteros M, Negro MJ „Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: a review”. *Bioresource Technology* (2010) 10: 4851–4861**). Metodele de pretratament pot fi de natură fizică (măcinare, iradiere cu ultrasunete sau microunde), chimică (tratare cu acizi sau baze, ozonoliză, lichide ionice) sau biologică (prin tratare cu fungi sau bacterii). O metodă eficientă de pretratament o reprezintă acțiunea soluțiilor alcaline. Tratamentul alcalin poate fi utilizat pentru îndepărtarea ligninei crescând astfel digestibilitatea celulozei. Comparativ cu pretratamentul acid și procesele hidrotermale, pretratamentul alcalin conduce la o mai mică solubilizare a hemicelulozelor, formarea în cantitate mai mică a compușilor inhibitori și are avantajul ca are loc la temperaturi mai scăzute. Reactivii alcalini degradează catenele laterale de tip ester și legăturile glicozidice care conduc la modificarea structurală a ligninei, umflarea celulozei, decristalizarea celulozei și solubilizarea hemicelulozei. Pentru hidroliza enzimatică este esențial să eliminăm lignina pentru a avea acces eficient la celuloza reducătoare (**Kumar AK, Sharma S „Recent updates on different methods of pretreatment of lignocellulosic feedstocks: a review” *Bioresource and Bioprocessing* (2017), 4(7): 1-19**).

Biomasa lignocelulozică este în principal formată din celuloză (38-50%), hemiceluloză (23-32%), lignină (15-25%), precum și cantități mici de extractibile. Extractibilele sau componentele

străine sunt acele substanțe care sunt îndepărtate din pereții celulelor lignocelulozice prin extracție cu solvenți neutri. Aceste materiale sunt substanțe extraparietale care sunt depuse după formarea peretelui celular și care nu sunt considerate componente esențiale ale peretelui celular (Soltes EJ, „Wood and Agricultural Residues, Research on Use for Feed, Fuels, and Chemicals”, Academic Press, 1983). Cele mai mari cantități se găsesc în lumenul celular, dar pot fi de asemenea prezente în matricea peretelui celular. Cantitățile de extractibile din țesuturi variază în funcție de speciile de plante, de familie și de țesuturi, iar componentele sunt extraordinar de diverse (Hillis WE „Occurrence of Extractives in Wood Tissues in Biosynthesis and Biodegradation of Wood Components”, Academic Press, 1985). Datorită acestei diversități, nu au existat proceduri generalizate de izolare și de determinare a compușilor individuali. Mai mulți cercetători au prezentat o discuție aprofundată privind clasificarea chimică, biosinteza, izolarea și cuantificarea extractibilelor (Sjostrom E „Wood Chemistry Fundamentals and Applications” 2nd ed. Academic Press, 1993, Lewin M and Goldstein I „Wood Structure and Composition” Marcel Dekker, Inc., 1991).

Substanțele extractibile din lemn sunt un grup eterogen de compuși care poate fi extras cu solvenți polari sau nepolari. Ele constau în principal din terpene, grăsimi, proteinele, cerurile, rășinile și compuși fenolici și deși sunt prezenți în cantități mici, sunt esențiale pentru prelucrarea ulterioară a biomasei (Thammasouk K, Tandjo D, Penner MH „Influence of Extractives on the Analysis of Herbaceous Biomass” *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (1997) 45(2): 437-443). Majoritatea inhibitorilor derivați de lignoceluloză se formează în timpul pretratamentului când substanțele extractibile, hemicelulozele și/sau lignina sunt solubilizate și degradate. În timpul pretratamentului alcalin substanțele extractibile se pot transforma în compuși fenolici sau extracte grase care pot precipita și acționează ca inhibitori în procesele ulterioare de zaharificare enzimatică (Jonsson LJ, Martin C „Pretreatment of lignocellulose: Formation of inhibitory by-products and strategies for minimizing their effects”. *Bioresource Technology* (2016) 199: 103-112). Pentru a evita formarea compușilor inhibitori, înainte de pretratamentul alcalin al biomasei lignocelulozice se îndepărtează materialele extractibile prin tratare la reflux, timp de 4-6 ore, cu diferiți solvenți (acetona, diclorometan, toluen, etanol) și tratare ulterioară cu apă fierbinte. Aceste metode scad eficiența economică a proceselor industriale, atât datorită consumului de solvenți cât și a consumului energetic din timpul tratamentului. În plus, procesele necesită echipamente suplimentare pentru realizarea acestor etape (Suna RC, Tomkinson J,

„Characterization of hemicelluloses obtained by classical and ultrasonically assisted extractions from wheat straw”, *Carbohydrate Polymers*, (2002) 50:263-271, Liu CF, Ren JL, Xu F, Liu JJ, Sun JX, Sun RC “Isolation and Characterization of Cellulose Obtained from Ultrasonic Irradiated Sugarcane Bagasse” *J. Agric. Food Chem.* (2006) 54: 5742-5748).

Scopul acestei invenții este acela de a simplifica procedeul de pretratament al biomasei lignocelulozice prin utilizarea de esteri metilici ai acizilor grași (FAME). Astfel îndepărtarea substanțelor extractibile și pretratamentul alcalin pentru delignifierea biomase are loc într-o singură etapă ceea ce conduce la eficientizarea metodei.

Materialul pretratată rezultat în urma delignifierii este supus hidrolizei enzimatică pentru transformarea în zaharuri. FAME are două roluri în pretratamentul alcalin, pe de o parte, are rol de solvent pentru aceste materiale extractibile și compușii rezultați în urma delignifierii materialului lignocelulozic, iar pe de alta parte poate reacționa parțial cu hidroxidul de sodiu și formează săpunuri (săruri de sodiu ale acizilor grași) care datorită proprietăților superficiale active pot emulsiona cerurile și substanțele extractibile.

Descrierea metodei de pretratament alcalin al biomasei lignocelulozice în prezența esterilor metilici ai acizilor grași (FAME)

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția este eficientizarea pretratamentului materialelor lignocelulozice printr-o metodă simplificată de pretratament alcalin al biomasei lignocelulozice în prezența esterilor metilici ai acizilor grași (FAME). Prin această metodă se realizează delignifierea materialului lignocelulozic simultan cu îndepărtarea cerurilor și a substanțelor extractibile care pot acționa ca inhibitori ai proceselor ulterioare de hidroliza a celulozei. Schema fluxului de operații a invenției “Metodă de pretratament a biomasei lignocelulozice cu ajutorul esterilor metilici ai acizilor grași (FAME)” este prezentată în figura 1.

Pretratamentul alcalin s-a realizat la temperatura camerei, în prezența unei cantități mici (0.1 - 0.5% față de volumul total de reacție) de esteri metilici ai acizilor grași (FAME), folosind soluții de hidroxid de sodiu de diferite concentrații (0.1 – 1N). Rolul esterilor este de solvent pentru materialele extractibile și de a reacționa în timpul procesului cu hidroxidul de sodiu cu formarea săpunului care să emulsioneze și să antreneze extractibilele din rumegușul brut. După pretratamentul alcalin, amestecul este supus filtrării, iar faza lichidă este supusă analizei spectrofotometrice pentru determinarea conținutului de lignină (Sluiter A, Hames B, Ruiz R,

Scarlata C, Sluiter J, Templeton D, Crocker D "Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass", *Laboratory Analytical Procedure (LAP), NREL, (2005)*. Rumeuşul separat prin filtrare este spălat cu o soluţie slabă de surfactant (0.1%) pentru îndepărtarea completă a esterilor netransformaţi în săpun, care pot acţiona ca inhibitori în procesul de hidroliză enzimatică, urmată de spălare cu apă distilată până la pH-neutru. Rumeuşul pretratat este supus hidrolizei enzimatică timp de 72 de ore în vederea obţinerii zaharurilor. Hidroliza enzimatică s-a realizat în soluţie tampon de acid citric – fosfat disodic (pH=5), utilizând ca biocatalizatori - celulele, sortimentul comercial Celluclast 1.5L.

După hidroliza enzimatică, amestecul de reacţie este încălzit la 100 °C pentru dezactivarea enzimei, răcit şi centrifugat pentru separarea reziduului solid. Faza lichidă a fost supusă analizei spectrofotometrice de determinare a zaharurilor reducătoare utilizând metoda spectrofotometrică prin tratare cu reactivul DNS (acidul 3,5-dinitrosalicilic) şi măsurarea absorbantei la lungimea de undă de 575 nm (Miller, G. L.. "Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar," *Anal. Chem. (1959), 31(3), 426-428* şi TAPPI (1979) *Official Test Methods and Provisional Test Methods. Technical Association of the Pulp and Paper Industries*).

În continuare sunt prezentate exemple de pretratament alcalin în prezenţa esterilor metilici ai acizilor graşi care ilustrează invenţia fără a o limita. În exemplele următoare se prezintă eficienţa metodei de pretratament în funcţie de modificarea parametrilor principali de reacţie, precum şi eficienţa acestei metode în procesele de hidroliză enzimatică a materialelor lignocelulozice pretratate.

Exemplul 1

Pentru studierea efectului adaosului de FAME asupra delignifierii rumeuşului şi ulterior asupra hidrolizei enzimatică a rumeuşului pretratat, primul exemplu se referă la o comparaţie între pretratamentul alcalin a diferitelor tipuri de rumeuş (rumeuş extras, rumeuş brut şi rumeuş brut cu FAME).

a) Etapa de pretratament alcalin

Materia primă este rumeuşul - de la fabricarea mobilei care conţine lemn de esenţa tare (foioase - fag) şi de esenţa moale (brad), măcinat la dimensiuni cuprinse între 0.315 şi 0.5 mm. Pentru pretratament s-au folosit două tipuri de rumeuş:

1) **Rumeguș extras** – rumegușul folosit a fost măcinat iar prin sitare s-a separat fracția cu dimensiuni cuprinse între 0.315 și 0.5 mm. Înainte de pretratamentul alcalin, materialul lignocelulozic a fost extras succesiv cu amestec toluen : etanol = 1 : 2 (timp de 6 ore) și apoi cu apă (timp de 2 ore) pentru îndepărtarea cerurilor și a materialelor extractibile care pot acționa ca inhibitori în procesul de hidroliză enzimatică.

2) **Rumeguș brut** – rumegușul folosit a fost măcinat la dimensiuni cuprinse între 0.315 și 0.5 mm și utilizat în pretratamentul alcalin fără alte extracții.

Hidroliza alcalină a 2g rumeguș (brut sau extras conform procedurii descrise mai sus) s-a realizat prin tratarea acestuia cu 200 mL soluție NaOH 1N, timp de 20 min, la temperatura de 25 °C, cu agitare la 600 rpm. Reziduul se separă și spală cu apa distilată până la pH neutru. În cazul tratamentului alcalin în prezența FAME, se mai introduce o etapă de spălare cu o soluție slabă de surfactant (0.1%) pentru îndepărtarea completă a esterilor netransformați în săpun, care pot acționa ca inhibitori în procesul de hidroliză enzimatică. La finalul pretratamentului alcalin au fost prelevate probe din soluție pentru determinarea spectrofotometrică la 320 nm a ligninei solubile. Condițiile de pretratament alcalin și cantitatea de lignină separată sunt prezentate în tabelul 1. Materialul lignocelulozic rezultat în urma pretratamentului este supus hidrolizei enzimatice.

Tabelul 1. Condițiile de operare și rezultatele obținute în urma pretratamentului alcalin

Nr. exp.	Material lignocelulozic	Condiții de pretratament alcalin: temperatura de 25 °C, raport rumeguș : soluție alcalină 1 : 100, timp de pretratament 20 min	Conținutul de lignină (mg/ g _{substrat})*
1	Rumeguș extras	Soluție NaOH 1 N,	10.75±0.34
2	Rumeguș brut	Soluție NaOH 1 N,	26.22±0.17
3	Rumeguș brut	Soluție NaOH 1 N și adaos de 0.3% FAME,	29.84±0.63

*Toate experimentele s-au realizat în triplicat iar valorile rezultate sunt prezentate împreună cu deviația standard

Din rezultatele prezentate în tabelul 1 se poate observa că deligniferea materialului lignocelulozic este mai bună în cazul pretratamentului alcalin în prezența esterilor metilici ai acizilor grași.

b) Etapa de hidroliza enzimatică

În procesul de hidroliză enzimatică materialul pretratată delignificat (din experimentele anterioare) este în continuare amestecat cu o soluție tampon formată din acid citric – Na₂HPO₄

pentru a asigura un pH=5 optim pentru enzime. Procesele de hidroliză enzimatică au fost efectuate în reactoare de 100 mL conținând un amestec de soluție de soluție tampon și rumeguș într-un raport de 1 : 25 (w/v solid/lichid). Peste acest amestec se adaugă enzima - Celluclast 1.5L într-un raport de 0.7 mL/g_{rumeguș}. Pentru a preveni contaminarea bacteriană se adaugă și 0.5% antibiotic. Apoi, reactorul a fost plasat într-un agitator orbital (120 rpm). Timpul de hidroliză este de 72 ore și temperatura de reacție de 50 °C. Pe parcursul reacției au fost prelevate probe de hidroliză la 24, 48, și 72 ore, care s-au trecut într-un vas cu apă fierbinte (pentru dezactivarea enzimei) și centrifugate la 3500 rpm timp de 10 minute. Supernatanții au fost stocați la frigider pentru analiza zaharurilor obținute. Cantitatea de zaharuri reducătoare obținute în urma hidrolizei sunt prezentate în tabelul 2.

Din rezultatele prezentate în tabelul 2 se poate observa că prin hidroliza enzimatică a rumegușului supus pretratamentului alcalin în prezența esterilor metilici ai acizilor grași s-a obținut o cantitate mai mare de zaharuri reducătoare (cea ce reprezintă aproximativ 30% din zaharurile totale din rumegușul studiat). Această creștere a cantității de zaharuri demonstrează că utilizarea FAME în pretratamentul alcalin al materialelor lignocelulozice a îndepărtat eficient o parte din lignină împreună cu materialele extractibile care pot fi inhibitori ai procesului de hidroliză enzimatică.

Tabelul 2. Condițiile de operare și rezultatele obținute în urma hidrolizei enzimaticice

Nr. exp.	Material lignocelulozic supus hidrolizei enzimaticice	Conținutul de zaharuri reducătoare (mg GE/ g _{substrat})*
1	Rumeguș extras pretratată alcalin	119.17±5.34
2	Rumeguș brut pretratată alcalin fără FAME	110.96±5.97
3	Rumeguș brut pretratată alcalin cu FAME	120.48±2.98

*Toate experimentele s-au realizat în triplicat iar valorile rezultate sunt prezentate împreună cu deviația standard

Exemplul 2

Pentru a pune în evidență eficiența adaosului de FAME în pretratamentul alcalin s-a urmărit influența variației conținutului de FAME atât asupra cantității de lignină separată în timpul pretratamentului alcalin cât și asupra cantității de zaharuri hidrolizate din rumegușul pretratată.

a) Etapa de pretratament alcalin

Procedura de pretratament alcalin în prezența FAME este aceeași cu cea descrisă în exemplul anterior, modificându-se cantitatea de FAME. În tabelul 3 sunt prezentate condițiile de pretratament alcalin și conținutul de lignină separat în urma pretratamentului. Materialul

lignocelulozic rezultat în urma pretratamentului alcalin în prezența diferitelor concentrații de FAME este supus hidrolizei enzimatice.

Tabelul 3. Condițiile de operare și rezultatele obținute în urma pretratamentului alcalin

Nr. exp.	Material lignocelulozic	Condiții de pretratament alcalin	Concentrație FAME (%)	Conținutul de lignină (mg/ g _{substrat})*
1	Rumeguș brut	Soluție NaOH 1 N, temperatura de 25 °C, raport rumeguș : soluție alcalină 1 : 100, timp de pretratament 20 min	0	26.22±0.17
2	Rumeguș brut		0.16	28.01±0.34
3	Rumeguș brut		0.3	29.84±0.63
4	Rumeguș brut		0.5	32.66±0.37

*Toate experimentele s-au realizat în triplicat iar valorile rezultate sunt prezentate împreună cu deviația standard

Din rezultatele prezentate în tabelul 3 se poate observa că delignificarea materialului lignocelulozic crește odată cu mărirea cantității de FAME adăugată la pretratamentul alcalin.

b) Etapa de hidroliza enzimatică

Hidroliza enzimatică a rumegușului pretrat alcalin folosind diferite concentrații de FAME s-a realizat în aceleași condiții ca în exemplul anterior. Condițiile de hidroliză și conținutul de zaharuri reducătoare obținut după 72 de ore de hidroliză enzimatică sunt prezentate în tabelul 4.

Tabelul 4. Condițiile de operare și rezultatele obținute în urma hidrolizei enzimatice

Nr. exp.	Rumeguș brut pretrat	Condiții de hidroliza enzimatică	Conținutul de zaharuri reducătoare (mg GE/ g _{substrat})*
1	Alcalin +0 % FAME	Enzima comercială – Celluclast 1.5L, în cantitate de 0.7 mL/ g _{rumeguș} , soluție tampon formată din acid citric și fosfat disodic pentru menținerea pH-ului la valoarea 5, temperatura de reacție 50 °C, raport rumeguș : soluție tampon = 1 : 25, viteza de agitare 120 rpm, timp de hidroliză enzimatică 72 de ore	110.96±5.97
2	Alcalin +0.16 % FAME		119.61±1.66
3	Alcalin +0.3 % FAME		120.48±2.98
4	Alcalin +0.5 % FAME		135.14±3.44

*Toate experimentele s-au realizat în triplicat iar valorile rezultate sunt prezentate împreună cu deviația standard

Din rezultatele prezentate în tabelul 4 se poate observa că prin hidroliza enzimatică a rumegușului supus pretratamentului alcalin în prezența esterilor metilici ai acizilor grași s-a

obținut o cantitate mai mare de zaharuri reducătoare odată cu creșterea cantității de FAME utilizate în pretratarea alcalin.

Exemplul 3

În acest exemplu se evidențiază eficiența adaosului de FAME în pretratarea alcalin atunci când se utilizează diferite concentrații de hidroxid de sodiu. S-a urmărit influența variației concentrației de NaOH atât asupra cantității de lignină separată în timpul pretratamentului alcalin cât și asupra cantității de zaharuri hidrolizate din rumegușul pretratat.

a) Etapa de pretratament alcalin

Procedura de pretratament alcalin în prezența FAME este aceeași cu cea descrisă în exemplul anterior, modificându-se concentrația soluției alcaline de NaOH (0.1, 0.5 și 1 N). În tabelul 5 sunt prezentate condițiile de pretratament alcalin și conținutul de lignină separat în urma pretratamentului. Materialul lignocelulozic rezultat în urma pretratamentului alcalin este supus hidrolizei enzimatică.

Tabelul 5. Condițiile de operare și rezultatele obținute în urma pretratamentului alcalin

Nr. exp.	Material lignocelulozic	Condiții de pretratament alcalin	Concentrație NaOH (N)	Conținutul de lignină (mg/ g _{substrat})*
1	Rumeguș brut	FAME 0.3%, temperatura de 25 °C, raport rumeguș : soluție alcalină 1 : 100, timp de pretratament 20 min	0.1	22.8±0.19
2	Rumeguș brut		0.5	24.16±0.28
3	Rumeguș brut		1	29.84±0.63

*Toate experimentele s-au realizat în triplicat iar valorile rezultate sunt prezentate împreună cu deviația standard

Din rezultatele prezentate în tabelul 5 se poate observa că delignificarea materialului lignocelulozic este mai bună odată cu creșterea concentrației de hidroxid de sodiu folosită pentru pretratamentul alcalin.

b) Etapa de hidroliza enzimatică

Hidroliza enzimatică a rumegușului pretratat alcalin folosind diferite concentrații de hidroxid de sodiu s-a realizat în aceleași condiții ca în exemplele anterioare. Condițiile de hidroliză și conținutul de zaharuri reducătoare obținut după 72 de ore de hidroliză enzimatică sunt prezentate în tabelul 6.

Tabelul 6. Condițiile de operare și rezultatele obținute în urma hidrolizei enzimaticice

Nr. exp.	Rumeguș brut pretrat	Condiții de hidroliza enzimatică	Conținutul de zaharuri reducătoare (mg GE/ g _{substrat})*
1	Alcalin + FAME (Sol. NaOH 0.1N)	Enzima comercială – Celluclast 1.5L, în cantitate de 0.7 mL/ g _{rumeguș} , soluție tampon formată din acid citric și fosfat disodic pentru menținerea pH-ului la valoarea 5, temperatura de reacție 50 °C, raport rumeguș : soluție tampon = 1 : 25, viteza de agitare 120 rpm, timp de hidroliză enzimatică 72 de ore	50.89±5.97
2	Alcalin + FAME (Sol. NaOH 0.5N)		95.60±1.66
3	Alcalin + FAME (Sol. NaOH 1N)		120.48±2.98

*Toate experimentele s-au realizat în triplicat iar valorile rezultate sunt prezentate împreună cu deviația standard

Din rezultatele prezentate în tabelul 6 se poate observa că prin hidroliza enzimatică a rumegușului supus pretratamentului alcalin în prezența FAME s-a obținut o cantitate mai mare de zaharuri reducătoare pentru rumegușul pretrata cu soluții alcaline mai concentrate.

BIBLIOGRAFIE

Alvira P, Tomas-Pejo E, Ballesteros M, Negro MJ „Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: a review”. *Bioresource Technology* (2010) 10: 4851–4861

Hillis WE „Occurrence of Extractives in Wood Tissues in Biosynthesis and Biodegradation of Wood Components”, Academic Press, 1985.

Jonsson LJ, Martin C „Pretreatment of lignocellulose: Formation of inhibitory by-products and strategies for minimizing their effects”. *Bioresource Technology* (2016) 199: 103–112

Kumar AK, Sharma S „Recent updates on different methods of pretreatment of lignocellulosic feedstocks: a review” *Bioresource and Bioprocessing* (2017), 4(7): 1-19

Liu CF, Ren JL, Xu F, Liu JJ, Sun JX, Sun RC “Isolation and Characterization of Cellulose Obtained from Ultrasonic Irradiated Sugarcane Bagasse” *J. Agric. Food Chem.* (2006) 54: 5742-5748.

Miller, G. L.. “Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar,” *Anal. Chem.* (1959), 31(3), 426-428 și TAPPI (1979) Official Test Methods and Provisional Test Methods. Technical Association of the Pulp and Paper Industries

Sjostrom E „Wood Chemistry Fundamentals and Applications” 2nd ed. Academic Press, 1993, Lewin M and Goldstein I „Wood Structure and Composition” Marcel Dekker, Inc., 1991

Sluiter A, Hames B, Ruiz R, Scarlata C, Sluiter J, Templeton D, Crocker D “Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass”, Laboratory Analytical Procedure (LAP), *NREL*, (2005)

Soltes EJ, „Wood and Agricultural Residues, Research on Use for Feed, Fuels, and Chemicals”, Academic Press, 1983

Suna RC, Tomkinson J, „Characterization of hemicelluloses obtained by classical and ultrasonically assisted extractions from wheat straw”, *Carbohydrate Polymers*, (2002) 50:263-271

Thammasouk K, Tandjo D, Penner MH „Influence of Extractives on the Analysis of Herbaceous Biomass” *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (1997) 45(2): 437-443

REVENDICARE

Metodă de pretratament alcalin a biomasei lignocelulozice, **caracterizată prin aceea că** simplifică procedeul de pretratament al biomasei lignocelulozice prin utilizarea de esteri metilici ai acizilor grași (FAME) care asigură îndepărtarea substanțelor extractibile în timpul pretratamentului alcalin pentru delignifierea biomasei lignocelulozice și elimină astfel etapa de extracție cu solvent și spălare cu apă utilizată în tratamentul convențional.

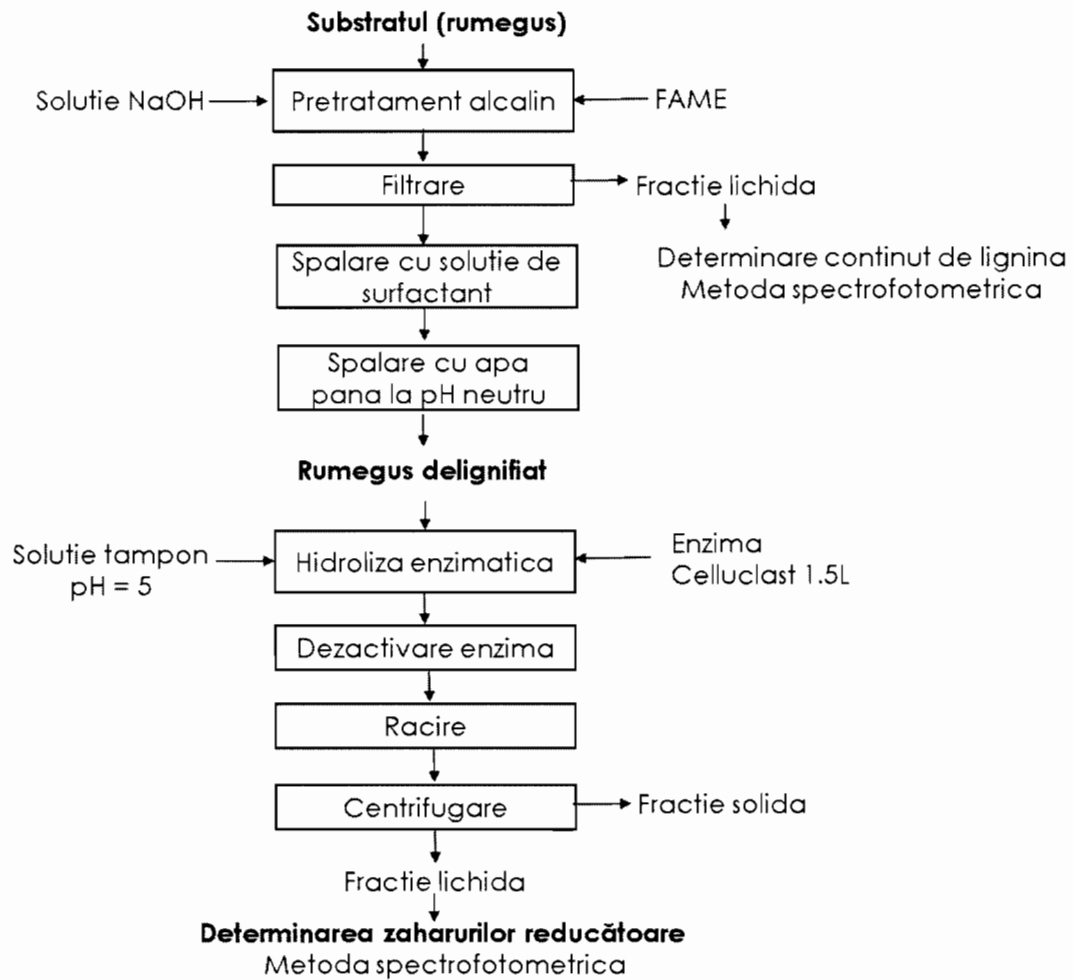


Figura 1. Schema fluxului de operații a invenției “Metodă de pretratament alcalin al biomasei lignocelulozice în prezența esterilor metilici ai acizilor grași (FAME)”