

METODY WSTĘPNEJ OBRÓBKI BIOMASY LIGNOCELULOZOWEJ PRZEZNACZONEJ DO PRODUKCJI BIOGAZU

Marta Kupryś-Caruk

Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego,
Zakład Technologii Fermentacji, ul. Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa
marta.kuprys@ibprs.pl

Streszczenie

Coraz większą rolę w produkcji biogazu, a także innych biopaliw II generacji będzie miała biomasa lignocelulozowa, która nie stanowi produktów żywnościowych, czy paszowych. Jednakże wysoka zawartość trudno degradable polisaharydów strukturalnych (kompleks lignocelulozowy) obniża potencjał produkcji biogazu z tego typu roślin w porównaniu do innych roślin uprawnych np. kukurydzy. Odpowiednia obróbka wstępna kompleksu lignocelulozowego może przyczynić się do zwiększenia stopnia biodegradacji tych struktur, a tym samym do wzrostu wydajności produkcji biogazu i skrócenia czasu fermentacji. W pracy przedstawiono przegląd różnorodnych fizycznych, chemicznych oraz biologicznych metod obróbki wstępnej substratu. Poruszono również aspekty związane z technologią kiszenia biomasy przeznaczonej do produkcji biogazu.

Słowa kluczowe: biomasa lignocelulozowa, biogaz

METHODS OF LIGNOCELLULOSE BIOMASS PRE-TREATMENT INTENDED FOR BIOGAS PRODUCTION

Summary

Lignocellulosic biomass has an increasingly important role in biogas production and other second generation biofuels obtained from not food or feed products. However, the high content of hardly degradable structural polysaccharides (lignocellulosic complex) reduces the potential of biogas production from this type of plants compared to other crops such as maize. Proper pre-treatment of the lignocellulosic complex may contribute to an increase in the biodegradability of these structures, and thus to an increase in biogas production efficiency and shorter fermentation time. The paper presents an overview of various physical, chemical and biological methods of the biomass pre-treatment. The issues related to ensilage of biomass intended for biogas production were also discussed.

Key words: lignocellulosic biomass, biogas

WSTĘP

Pod nazwą biopaliwa kryją się wszystkie paliwa (stałe, ciekłe i gazowe) wyprodukowane z biomasy, czyli materii roślinnej i zwierzęcej ulegającej biodegradacji. Przedstawicielem biopaliw gazowych jest biogaz rolniczy otrzymywany w wyniku fermentacji metanowej biomasy pochodzącej głównie z przemysłu rolno-spożywczego. Fermentacja metanowa to czteroetapowy proces biochemiczny, w którym biorą udział liczne grupy bakterii. Pierwszym jego etapem jest hydroliza, podczas której względnie beztlenowe bakterie rozkładają wielkocząsteczkowe związki organiczne do związków o prostszej budowie. Wysoka zawartość trudno rozkładalnych polimerów wydłuża czas hydrolizy i tym samym wydłuża cały proces fermentacji metanowej [Jędrzak 2003].

Biopaliwa I generacji produkowane są z roślin uprawnych, takich jak kukurydza, rzepak, trzcina cukrowa, czy buraki cukrowe. Większość roślin uprawnych przeznaczanych do produkcji biogazu ze względu na wysoki potencjał biogazowy stanowi grupę tzw. surowców strategicznych i powszechniejsze ich użycie do produkcji energii może naruszyć bilans produkcji żywności [Gołaszewski 2011]. Z tego względu coraz większą rolę w produkcji biogazu, a także innych biopaliw II generacji będzie miała biomasa lignocelulozowa, która nie stanowi produktów żywnościowych czy paszowych. Zaliczamy do niej np. słomę czy rośliny charakteryzujące się wysoką zawartością celulozy, takie jak trawy wieloletnie (miskant olbrzymi, spartina preriowa, proso różgowate), możliwe do uprawy na glebach nie przeznaczonych do produkcji rolniczej [Lewandowski i Ryms 2013]. Wadą jednakże biomasy lignocelulozowej jest wysoka zawartość trudno degradowalnych polisacharydów strukturalnych (celuloza, hemiceluloza, lignina), co obniża potencjał produkcji biogazu z tego typu roślin w porównaniu np. do kukurydzy [Klimiuk i in. 2010]. Celuloza i hemiceluloza są źródłem łatwo fermentowanych cukrów prostych. Najbardziej energetyczna celuloza otoczona jest zarówno fragmentami hemicelulozy jak i ligniny, przez co jest trudno dostępna dla bakterii przeprowadzających fermentację metanową [Michalska i Ledakowicz 2012]. Odpowiednia obróbka wstępna kompleksu lignocelulozowego może przyczynić się do zwiększenia stopnia biodegradacji tych struktur, a tym samym do wzrostu wydajności produkcji biogazu i skrócenia czasu fermentacji [Mosier i in. 2005].

Metody zwiększenia uzysku biogazu w instalacji biogazowej

W celu zwiększenia wydajności produkcji biogazu w danej instalacji-biogazowni rolniczej podejmowane są różnorodne działania, które polegają między innymi na poprawie kontaktu mikroflory z biomasą poddawaną fermentacji poprzez zastosowanie odpowiedniego

systemu mieszania masy fermentacyjnej [Karim i in. 2005], czy też prowadzeniu fermentacji metanowej przy użyciu immobilizowanych bakterii [Weiss i in. 2010, Yadvika i in. 2004]. Cel ten można osiągnąć również poprzez dobór odpowiednich substratów poddawanych kofermentacji [Gelegenis i in. 2007, Asam i in. 2011]; kontrolowanie stężenia amoniaku w czasie procesu [Nielsen i Angelidaki 2008]; poprawę rozkładu obornika, poprzez wydzielenie frakcji stałej [Møller i in. 2008, Asam i in. 2011], dodatek mikroelementów w celu zwiększenia aktywności mikroflory [Demirci i Demirer 2004], optymalizację stosunku inokulum do substratu [Lopes i in. 2004, Forster-Carneiro i in. 2008, Raposo i in. 2006], czy też poprzez manipulowanie podstawowymi parametrami procesu, takimi jak temperatura, czas retencji, stopień rozdrobnienia substratu [Yadvika i in. 2004]. Opracowywane są nowe systemy biodegradacji anaerobowej, których celem jest maksymalizacja produkcji biogazu dzięki zastosowaniu nowoczesnych rozwiązań w budowie zbiorników fermentacyjnych, systemu mieszania, zawracania części pofermentu do układu itp. [Ndegwa i in. 2008, Kaparaju i in. 2009].

Metody obróbki wstępnej substratu

Obróbka wstępna substratu to proces, który może przyczynić się w znacznym stopniu do zwiększenia wydajności produkcji biogazu z biomasy lignocelulozowej.

Do wstępnej obróbki biomasy przeznaczonej do produkcji różnego rodzaju biopaliw najczęściej wykorzystuje się metody chemiczne (hydroliza kwasowa, alkaliczna lub enzymatyczna, utlenianie, ozonowanie); metody fizyczne (termiczne, rozdrabnianie mechaniczne, metody z użyciem mikrofal i ultradźwięków, metoda Liquid Hot Water), a także metody biologiczne [Michalska i Ledakowicz 2012, Taherzadeh i Karimi 2008, Frigon i in. 2012, Jackowiak i in. 2011, Cesaro i in. 2014, Cesaro i Belgiorno 2014].

Hydroliza kwasowa jest jedną z najbardziej powszechnych metod chemicznej obróbki biomasy. Do tego celu najczęściej stosowany jest kwas siarkowy, rzadziej kwas solny w stężeniach od 0,5% do nawet 10% v/v. Proces hydrolizy kwasowej prowadzony jest w podwyższonych temperaturach (140-190°C) i przy podwyższonym ciśnieniu. W tym procesie tylko nieznaczna część ligniny ulega degradacji, a rozpuszczeniu ulega głównie hemiceluloza, nawet do 90%. Podczas procesu hydrolizy powstają także inhibitory procesu fermentacji metanowej: furfural i hydroksymetylofurfural [Hendriks i Zeeman 2009, Zhang i Shahbazi 2011].

Wyższy stopień degradacji ligniny uzyskuje się podczas hydrolizy zasadowej przy użyciu wodorotlenku sodu, potasu oraz wapnia, a także amoniaku w stężeniach od 0,5 do 5%

m/v [Kumar i in. 2009]. Podczas hydrolizy zasadowej degradacji ulega znaczna ilość hemicelulozy oraz zachodzą reakcje solwatacji i zmydlania, prowadzące do puchnięcia biomasy, co poprawia jej dostępność dla enzymów i mikroorganizmów [Hendriks i Zeeman 2009]. Zaletą tego rodzaju hydrolizy, w porównaniu do hydrolizy kwasowej, są niższe koszty eksploatacyjne i inwestycyjne technologii, ponieważ proces prowadzony jest w łagodniejszych warunkach i z wykorzystaniem mniej agresywnych reagentów [Mosier i in. 2005]. Delignifikacja prowadzi do powstania dużych ilości związków fenolowych, jednakże bakterie metanogenne są w stanie przystosować się do trudnych warunków i obecności inhibitorów, a hydroliza zasadowa skutkuje nawet 100% wzrostem produkcji metanu [Hendriks i Zeeman 2009].

W badaniach Gunaseelan [1995] porównywano uzysk metanu z *Parhenium* po poddaniu jej działaniu wysokiej temperatury (120°C przez 1 h), kwasu solnego w stężeniu 8% oraz wodorotlenku sodu w stężeniu 3%. Uzysk metanu z biomasy poddanej obróbce był wyższy o 45% w przypadku hydrolizy kwasowej i o 69% w przypadku hydrolizy zasadowej od uzysku metanu z biomasy nie poddawanej działaniu żadnych czynników dodatkowych. Traktowanie biomasy wysoką temperaturą nie miało wpływu na uzysk metanu.

Ziemiński i in. [2012] badali wpływ wstępnej hydrolizy pulpy buraczanej i łodyg chmielu przy zastosowaniu preparatów enzymatycznych o aktywności celulazy i pektynazy. Osiągnęli więcej biogazu (o odpowiednio 19% i 13%) z pulpy i łodyg chmielu w porównaniu do tych samych substratów nie poddanych obróbce wstępnej.

Dobre efekty daje zastosowanie kombinacji różnych metod obróbki wstępnej biomasy. Michalska i Ledakowicz [2012] badali wpływ hydrolizy kwasowej, zasadowej i utleniania odczynnikami Fentona w połączeniu z hydrolizą enzymatyczną (celulaza i celobiaza) na rozkład celulozy, czego miarą było stężenie glukozy w hydrolizatach. Najlepsze efekty uzyskano przy dwuetapowej obróbce celulozy z wykorzystaniem hydrolizy zasadowej i enzymatycznej. Rozkład hemicelulozy i ligniny w wyniku hydrolizy zasadowej zwiększył dostępność celulozy dla enzymów, czym tłumaczono wyższy uzysk metanu w porównaniu do pozostałych metod.

Do metod, które powodują znaczną dekrystalizację samej celulozy należy metoda AFEX (Ammonia Fiber Explosion), dla której nie ma jeszcze polskiej nazwy. Metoda ta polega na umieszczeniu biomasy w reaktorze kolumnowym i przepuszczeniu przez nią 5-15% roztworu amoniaku, w temperaturze 160 - 180 °C przez kilkanaście minut. Odmianą tej metody jest ARP (Ammonia Recycled Percolation), w której roztwór amoniaku jest odzyskiwany i zwracany do układu. Następuje wtedy znaczna delignifikacja oraz dekrystalizacja celulozy.

Krystaliczna struktura celulozy ulega przekształceniu do struktury amorficznej, bardziej podatnej na działanie enzymów celulolitycznych [Mosier i in. 2005]. Zwiększenie efektywności rozkładu celulozy poprzez jej wstępną depolimeryzację i dekrystalizację można również osiągnąć stosując mechaniczne rozdrobnienie biomasy (mielenie, kruszenie, frezowanie, tłuczenie), jednak rozdrobnienie biomasy do cząstek wielkości mniejszej niż 0,4 mm nie skutkuje już poprawą efektywności hydrolizy celulozy [Agbor i in. 2011, Palmowski i Muller 1999].

Biologiczne metody obróbki wstępnej biomasy związane są z wykorzystaniem mikroorganizmów, głównie grzybów, do rozkładu frakcji lignocelulozowej. Do rozkładu celulozy wykorzystywane są grzyby wywołujące brunatną zgniliznę, do rozkładu ligniny, a także celulozy stosuje się grzyby odpowiedzialne za tzw. miękką zgniliznę drewna [Agbor i in. 2011]. W pracy Hattaki [1994] do rozkładu ligniny drewna i słomy z pszenicy zastosowano różne grzyby wywołujące białą zgniliznę: *Phanerochaete chrysosporium*, *Phlebia radiata*, *Dichmitus squalens*, *Rigidosporus lignosus* i *Jungua separabilima*. Rozkład ligniny przez te grzyby był znaczny, ale długotrwały. Dopiero po kilku tygodniach osiągnięto wysoką efektywność rozkładu ligniny. Zhong i in. [2011] porównywali uzysk biogazu ze zmielonej słomy kukurydzy poddanej obróbce chemicznej (przy zastosowaniu NaOH) oraz biologicznej, po poddaniu jej wstępnej hydrolizie przez grzyby *Pleurotus florida*. Uzyskano istotnie wyższą produkcję biogazu ze słomy po traktowaniu czynnikiem chemicznym i biologicznym w porównaniu do materiału nie poddanego obróbce, przy czym zastosowanie NaOH znacznie poprawiło uzyskany efekt. Tak jak w przypadku rozkładu ligniny [Hattaki 1994] wstępna hydroliza (przez grzyby) biomasy ze słomy kukurydzianej trwała kilkadziesiąt dni, znacznie dłużej niż hydroliza z udziałem wodorotlenku sodu.

Biologiczne metody obróbki wstępnej biomasy lignocelulozowej mają tą zaletę, że są mało kosztowne, nie wymagają dodatkowych nakładów energii, nie wymagają stosowania chemikaliów, podwyższonej temperatury ani ciśnienia a także nie powodują powstawania inhibitorów fermentacji metanowej. Jednak mają duże ograniczenie w zastosowaniu przemysłowym, ponieważ stopień hydrolizy biomasy z udziałem mikroorganizmów jest znacznie mniejszy niż przy zastosowaniu metod chemicznych czy fizycznych oraz długotrwały [Cesaro i in. 2014].

Kiszenie jako metoda obróbki wstępnej substratu

Biomasa roślin energetycznych przeznaczonych do produkcji biogazu po zbiorze musi być odpowiednio zakonserwowana. Najpowszechniejszym, a jednocześnie wymagającym najmniejszych nakładów finansowych sposobem konserwacji roślin jest ich kiszenie. Ten

sposób konserwacji pozwala na zabezpieczenie ciągłości podaży substratu roślinnego do komory fermentacyjnej w okresie zimowym [Gołaszewski 2011].

Kiszenie, czyli fermentacja mlekowa, polega na rozkładzie cukrów prostych do kwasu mlekowego przez bakterie fermentacji mlekowej. Dzięki obniżeniu pH następuje zahamowanie wzrostu mikroorganizmów wywołujących procesy gnilne, a poprzez odcięcie dostępu tlenu w biomacie roślinnej nie rozwijają się mikroorganizmy takie jak drożdże i pleśnie, odpowiedzialne za procesy tzw. „wtórnej fermentacji” [Szyszkowska i in. 2010]. Fermentacja mlekowa biomasy jest także wstępnym etapem kondycjonowania substratu [Gołaszewski 2011]. Z uwagi na to, że bakterie metanowe gorzej fermentują rośliny wysuszone niż rośliny o większej wilgotności, niewskazane jest stosowanie suszenia jako metody konserwacji biomasy przeznaczonej do produkcji biogazu [Podkówa i Podkówa 2010]. Niemniej jednak w badaniach kilku autorów nie wykazano istotnej różnicy w uzysku metanu z kiszonki ze świeżo zebranych traw w porównaniu do uzysku metanu z siana [Pakarinen i in. 2008, Melts i in. 2014].

Jakość kiszonek ma ogromne znaczenie dla procesu fermentacji metanowej. Zastosowanie kiszonek zepsutych, spleśniałych wpływa na obniżenie produkcji biogazu [Kalač 2011]. Według Podkówa i Podkówa [2010] z kiszonki złej jakości uzyskuje się około 13% mniej metanu, niż z kiszonki dobrej jakości. Zanieczyszczenie materiału roślinnego ziemią powoduje również ryzyko skażenia bakteriami z rodzaju *Clostridium*. Bakterie te fermentują węglowodany, w wyniku czego powstaje kwas masłowy oraz rozkładają białka do amin i amoniaku – inhibitorów procesu fermentacji metanowej. Skutkiem fermentacji masłowej są straty suchej masy kiszonki. W kiszonkach spleśniałych często występują mikotoksyny, metabolity wtórne grzybów pleśniowych, które także mają negatywny wpływ na aktywność bakterii metanogennych [Podkówa 2012 red].

Jakość kiszonek można poprawić poprzez zastosowanie tzw. dodatków kiszonkarskich (inokulantów), do których należą preparaty mikrobiologiczne, enzymatyczne lub mikrobiologiczno-enzymatyczne. Stosowanie inokulantów bakteryjnych do zakiszania różnych roślin na cele paszowe znane jest od dawna i powszechnie stosowane [Filya i in. 2000, Weinberg i in. 2002, Adesogan i in. 2003, Filya 2003a, Zielińska i in. 2006]. Dodatek preparatów zawierających bakterie fermentacji mlekowej przyczynia się do poprawy jakości zakiszane materiału roślinnego [Selwet 2011, Wróbel 2012]. W literaturze szeroko opisany został wpływ mikrobiologicznych inokulantów zawierających różne, hetero- i homofermentacyjne szczepy bakterii fermentacji mlekowej na zwiększenie kwasowości, obniżenie strat suchej masy, zwiększenie zawartości białka ogólnego, obniżenie zawartości

włókna surowego, ograniczenie rozpadu białka czy strat fermentacyjnych w kiszonkach z różnych roślin [Mikołajczak i Grabowicz 1998, Filya i in. 2000, Pyś 2002, Sucu i Filya 2006a, Sucu i Filya 2006b, Zielińska i in. 2006]. O popularności preparatów do kiszenia roślin paszowych świadczy ich ogromna różnorodność i dostępność na polskim rynku [Borowski i in. 2013]. Preparaty te zawierają różne szczepy bakterii z rodzaju: *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, które dzielą się na homofermentacyjne (wytwarzające głównie kwas mlekowy jako produkt fermentacji cukrów) oraz heterofermentacyjne (oprócz kwasu mlekowego, syntetyzują także inne lotne kwasy tłuszczowe jak octowy, propionowy, różne alkohole). Rolą bakterii zawartych w preparatach jest: właściwe ukierunkowanie procesu fermentacji mlekowej, hamowanie wzrostu niepożądanego mikroflory powodującej psucie kiszonek, poprawa tzw. stabilności tlenowej, a także wstępna hydroliza polisacharydów strukturalnych, co zwiększa strawność kiszonek roślin [Danner i in. 2003, Filya 2003b]. W wyniku heterofermentacji mlekowej w zakiszonym materiale wzrasta zawartość lotnych kwasów tłuszczowych, które są wykorzystywane w procesie fermentacji metanowej. Istotne znaczenie ma w tym przypadku kwas octowy, który pełni podwójną rolę. Niezdysocjowany jest naturalnym konserwantem, który wpływa na poprawę stabilności tlenowej kiszonek. W stężeniu 8 g·kg⁻¹ świeżej masy hamuje rozwój drożdży i pleśni (drobnoustroje te powodują tzw. „wtórną fermentację”, czego objawem jest wzrost temperatury w kiszonce) [Danner i in. 2003]. Ponadto kwas octowy jest bezpośrednim prekursorem metanu. Z badań wynika, że około 70% metanu w czasie metanogenezy powstaje z kwasu octowego [Jędrzak 2003; Schattauer i Weitland 2005]. W związku z tym sugeruje się, żeby sporządzając kiszonki z przeznaczeniem do produkcji biogazu tak ukierunkować zachodzące w nich przemiany biochemiczne, aby ograniczyć powstawanie kwasu mlekowego, zaś zwiększyć ilość kwasu octowego, propionowego i innych kwasów tłuszczowych [Podkówka i Podkówka 2010].

W badaniach Kupryś-Caruk i Zielińskiej [2013] oceniono efektywność działania bakteryjnego inokulantu zawierającego homo- i heterofermentacyjne szczepy bakterii fermentacji mlekowej, w procesie kiszenia traw wieloletnich: miskanta olbrzymiego, spartiny preriowej, prosa różgowatego i palczatki Gerarda, przeznaczonych do produkcji biogazu. Otrzymano kiszonki charakteryzujące się istotnie wyższą zawartością kwasu mlekowego i octowego w porównaniu z kiszonkami kontrolnymi. Dodatek preparatu korzystnie wpłynął na cechy organoleptyczne kiszonek, co świadczyło o ich dobrej jakości, a także spowodował ukierunkowanie procesu fermentacji, czego wyrazem było niższe pH kiszonek inokulowanych w porównaniu z kiszonkami kontrolnymi.

W osiągnięciu celu, jakim jest wzrost zawartości kwasu octowego w kiszonkach pomocne mogą okazać się preparaty mikrobiologiczne zawierające heterofermentacyjne szczepy bakterii mlekowych, takie jak: *Lactobacillus buchneri*. Bakterie te charakteryzują się zdolnością do rozkładu kwasu mlekowego do kwasu octowego i 1,2-propanodiolu [Oude-Elferink i in. 2001]. W kiszonkach sporządzonych z udziałem *Lactobacillus buchneri* stężenie kwasu octowego znacznie wzrasta [Danner i in. 2003]. Niemniej jednak niektórzy badacze uważają, że nie ma jednoznacznej korelacji między zawartością kwasu octowego w kiszonce a uzyskiem biogazu. Taka dodatnia korelacja występuje natomiast między sumą zawartości wszystkich lotnych kwasów tłuszczowych oraz efektywnością produkcji biogazu [Borowski i in. 2013]. Kiszzenie z jednej strony powoduje wzrost zawartości lotnych kwasów tłuszczowych w materiale roślinnym, ale z drugiej powoduje także straty w zawartości suchej masy.

Wpływ mikrobiologicznych dodatków kiszonkarskich na wydajność produkcji biogazu z kiszonek sporządzonych z ich udziałem nie jest jeszcze jednoznacznie wyjaśniony. Badano wpływ różnych, komercyjnych, mikrobiologicznych dodatków kiszonkarskich na jakość kiszonek i produkcję biogazu z traw wieloletnich – prosa różgowatego i palczatki Gerarda [Kupryś-Caruk 2017a]. Istotnie więcej biogazu otrzymano z tych kiszonek, w których dzięki zastosowaniu inokulantów bakteryjnych oznaczono mniejszą zawartość ligniny w stosunku do kiszonek kontrolnych.

W badaniach Pakarinena i in. [2008] dodatek inokulantów zawierających szczepy bakterii *Lactobacillus plantarum* oraz *Pediococcus acidilactici* przy sporządzaniu kiszonek z różnych traw, nie wpłynął istotnie na zwiększenie uzysku biogazu z tych kiszonek kierowanych do produkcji w trakcie ich kilkumiesięcznego przechowywania.

W badaniach Herrmann i in. [2011] zastosowano do kiszenia kukurydzy, sorga, żyta i pszenżyta dodatek różnych chemicznych i biologicznych inokulantów. Dodatek inokulantów bakteryjnych wykazał pozytywny efekt na uzysk metanu z kiszonek w porównaniu do kiszonek kontrolnych, wykonanych bez ich dodatku. Dalsze badania wykazały jednak, że kiszonki wykonane z udziałem bakterii charakteryzowały się mniejszą zawartością suchej masy. Ostatecznie stwierdzono więc, że dodatek inokulantów bakteryjnych nie wpłynął istotnie na wzrost uzysku metanu po uwzględnieniu strat suchej masy w wyniku kiszenia.

Preparaty bakteryjne mogą być również uzupełniane przez preparaty enzymatyczne o aktywnościach ksylanazy, celulazy, glukoamylazy, które rozkładają polisacharydy strukturalne. Obecność enzymów wspomaga aktywność bakterii mlekowych poprzez zwiększenie ilości cukrów rozpuszczalnych będących substratem do syntezy kwasu

mlekowego [Miecznikowski i in. 2000]. W badaniach Kupryś-Caruk [2017b] zastosowano preparat enzymatyczny o aktywności ksylanolitycznej do konserwacji biomasy miskanta olbrzymiego. W wyniku działania enzymu uzyskano zwiększoną zawartość kwasu octowego w kiszonce, co z kolei miało wpływ na przyspieszenie powstawania biogazu w procesie fermentacji metanowej, jednak nie miało wpływu na istotne zwiększenie całkowitego uzysku biogazu z biomasy miskanta w porównaniu do biomasy nie zakiszonej z udziałem enzymu.

Istnieją doniesienia o szczepie *Lactobacillus buchneri* PTA 6138, który syntetyzuje enzym ferulazę estrową i dzięki temu charakteryzuje się zdolnością do rozkładu ligniny [Nsereko i in. 2008]. Zastosowanie tego szczepu do kiszenia kukurydzy i trawy skutkowało zwiększeniem uzysku metanu z kiszonek o 8% w stosunku do kiszonek kontrolnych, wykonanych bez dodatku bakterii [Ruser i in. 2009].

Ze względu na brak jasnego stanowiska badaczy w sprawie wpływu dodatków kiszonkarskich na efektywność produkcji biogazu, istnieje potrzeba prowadzenia dalszych badań w tym zakresie. Tematem wartym zainteresowania badaczy mogłoby być zastosowanie do kiszenia biomasy, szczepów bakterii fermentacji mlekowej efektywnie rozkładających polisacharydy strukturalne np. ksylan wchodzący w skład hemicelulozy. Bakterie mlekowe charakteryzują się bowiem bardzo różnorodną aktywnością metaboliczną, wykorzystują różne substraty jako źródła węgla, a ich aktywność metaboliczna może być modelowana przez warunki środowiskowe [Stecka 2008].

Niewątpliwie dodatek inokulantów do kiszenia, w postaci bakterii fermentacji mlekowej oraz/lub enzymów rozkładających węglowodany, wpływa znacząco na poprawę stabilności tlenowej kiszonek, hamuje wzrost niepożądaną mikroflory zapobiegając utracie cennych składników i poprzez to pośrednio przyczynia się do zwiększenia wydajności biogazu z kiszonek inokulowanych w porównaniu do kiszonek uzyskanych bez dodatków [Prochnov i in. 2009, Prochnov i in. 2012].

PODSUMOWANIE

Różnorodność opracowanych metod obróbki wstępnej biomasy przeznaczonej do produkcji biogazu daje szerokie możliwości ich zastosowania w zależności od rodzaju biomasy poddawanej fermentacji metanowej. Wybór odpowiedniej metody zależy jednak od możliwości ekonomicznych biogazowni, bowiem proces obróbki wstępnej biomasy zwiększa koszty produkcji biogazu.

PIŚMIENNICTWO

1. Adesogan A., Salawu M., Ross A., Davies D., Brooks A. (2003). Effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus fermentum*, *Leuconostoc mesenteroides* inoculants or chemical additive on the fermentation, aerobic stability and nutritive value of crimped wheat grains. *J. Dairy Sci.* 86 (5), 1789-1796
2. Agbor V., Cicek N., Sparling R., Berlin A., Levin D. (2011). Biomass pretreatment: Fundamentals toward application. *Biotechnol. Advances* 29, 675–685
3. Asam Z., Poulsen T., Nizami A., Rafique R., Kiely G., Murphy J. (2011). How can we improve biomethane production per unit of feedstock in biogas plants? *Appl. Energy* 88, 2013–2018
4. Borowski S., Dorszewski P., Kaszkowiak J., Dulcet E., Mikołajczak J. (2013). Application of the additives which increase the biogas production in the context of improvement of the biogas production process. *J. Res. Appl. Agricult. Eng.* 58 (2), 21-24
5. Cesaro A., Belgiorno V. (2014). Pretreatment methods to improve anaerobic biodegradability of organic municipal solid waste fractions. *Chem. Eng. J.* 240, 24–37
6. Cesaro A., Velten S., Belgiorno V., Kuchta K. (2014). Enhanced anaerobic digestion by ultrasonic pretreatment of organic residues for energy production. *J. Cleaner Prod.* 74, 119-124
7. Danner H., Holzer M., Mayrhuber E., Braun R. (2003). Acetic acid increases stability of silage under aerobic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 69(1), 562–567
8. Demirci G., Demirer G. (2004). Effect of initial COD concentration, nutrient addition, temperature and microbial acclimation on anaerobic treatability of broiler and cattle manure. *Bioresource Technol.* 93, 109-117
9. Filya I. (2003a). The effect of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* on the fermentation, aerobic stability and ruminal degradability of low dry matter corn and sorghum silages. *J Dairy Sci.* 86(11), 3575-3581
10. Filya I. (2003b). The effect of *Lactobacillus buchneri* with or without homofermentative lactic acid bacteria on the fermentation, aerobic stability and ruminal degradability of wheat, sorghum and maize silages. *J Appl Microbiol.* 95(5), 1080-1086
11. Filya I., Ashbell G., Hen Y., Weinberg G. (2000). The effect of bacterial inoculants on the fermentation and aerobic stability of whole crop wheat silage. *Anim. Feed Sci. Tech.* 88(1), 39-46

12. Forster-Carneiro T., Perez M., Romero L. (2008). Influence of total solid and inoculum contents on performance of anaerobic reactors treating food waste. *Bioresource Technol.* 99, 6994–7002
13. Frigon J-C., Mehta P., Guiot S. (2012). Impact of mechanical, chemical and enzymatic pre-treatments on the methane yield from the anaerobic digestion of switchgrass. *Biomass and Bioenergy* 36, 1-11.
14. Gelegenis J., Georgakakis D., Angelidaki I., Mavris Y. (2007). Optimization of biogas production by co-digesting whey with diluted poultry manure. *Renewable Energy* 32 (13), 2147-2160
15. Gołaszewski J. (2011). Wykorzystanie substratów pochodzenia rolniczego w biogazowniach w Polsce. *Post. Nauk Rol.* 2, 69-94
16. Gunaseelan V. (1995). Effect of Inoculum/substrate ratio and pretreatments on methane yield from *Parthenium*. *Biomass and Bioenergy*, 8, 39-44
17. Hatakka A. (1994). Lignin-modifying enzymes from selected white-rot fungi: production and role from in lignin degradation. *FEMS Microbiol Rev.* 13, 125–35
18. Hendriks A., Zeeman G. (2009). Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technol.*, 100, 10-18
19. Herrmann C., Heiermann M., Idler C. (2011). Effects of ensiling, silage additives and storage period on methane formation of biogas crops. *Bioresource Technol.*, 102, 5153-5161.
20. Jackowiak D., Frigon J., Ribeiro T., Pauss A., Guiot S. (2011). Enhancing solubilisation and methane production kinetic of switchgrass by microwave pretreatment. *Bioresource Technol.*, 102, 3535–3540.
21. Jędrzszak A. (2003). *Biologiczne przetwarzanie odpadów*. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN
22. Kalač P. (2011). The required characteristics of ensiled crops used as a feedstock for biogas production: a review., *J. Agrobiol.*, 28, 85-96
23. Kaparaju P., Ellegaard L., Angelidaki I. (2009). Optimisation of biogas production from manure through serial digestion – Lab-scale and pilot-scale studies. *Bioresource Technology*, 100, 701-709
24. Karim K., Hoffmann R., Klassonb K., Al-Dahhan M. (2005). Anaerobic digestion of animal waste. Effect of mode mixing. *Water Res.*, 9(3), 175-188

25. Klimiuk E., Pokój T., Budzyński W., Dubis B. (2010). Theoretical and observed biogas production from plant biomass of different fibre contents. *Bioresource Technol.*, 101, 9527–9535
26. Kumar P., Barret D., Delwiche M., Stroeve P. (2009). Methods for pretreatment of lignocellulosis biomass for efficient hydrolysis and biofuel production., *Ind. Eng. Chem. Res.*, 48, 3713-3729
27. Kupryś-Caruk M., Zielińska K. (2013). Wpływ preparatu Lactosil na jakość kiszzonek z wieloletnich traw energetycznych przeznaczonych do produkcji biogazu. *Post. Nauki Technol. Przem. Ro.-Spoż.*, 68(3), 59-68
28. Kupryś-Caruk M. (2017a). The effect of microbial silage additives on biogas production from perennial energy grasses. *J. Res. Appl. Agricult. Eng.*, 62(2), 68-71
29. Kupryś-Caruk M. (2017b). Wpływ preparatu enzymatycznego na kinetykę produkcji biogazu z miskanta olbrzymiego (*Miscanthus x giganteus* J.M. Greef & M. Deuter), *Inżynieria i Aparatura Chemiczna*, 56(2), 41-42
30. Lewandowski W., Ryms M. (2013). *Biopaliwa. Proekologiczne odnawialne źródła energii*. Warszawa: WNT
31. Lopes W., Leite V., Prasad S. (2004). Influence of inoculum on performance of anaerobic reactors for treating municipal solid waste. *Bioresource Technol.* 94, 261-266
32. Melts I., Normak A., Nurk L., Heinsoo K. (2014). Chemical characteristics of biomass from nature conservation management for methane production. *Bioresource Technol.* 167, 226-231
33. Michalska K., Ledakowicz S. (2012). Degradacja struktur lignocelulozowych oraz produktów ich hydrolizy. *Inżynieria i Aparatura Chemiczna* 51 (4), 157-159
34. Miecznikowski A., Zielińska K., Suterska A. (2000). Poprawa jakości kiszzonek z traw i roślin motylkowatych poprzez zastosowanie biopreparatu Lactacel-L. W: *Nowoczesne metody produkcji pasz na użytkach zielonych i ocena ich wartości pokarmowej*. Praca zbiorowa pod red. H. Jankowska-Huflejt, J. Zastawny. Falenty: Wydawnictwo IMUZ, 182-188
35. Mikołajczak J., Grabowicz M. (1998). Aktualne zagadnienia stosowania dodatków do zakiszczania pasz. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 462, 285-296
36. Møller H., Nielsen A., Nakakubo R., Olsen H. (2008). Process performance of biogas digesters incorporating pre-separated manure. *Livestock Sci.*, 112, 217-223

37. Mosier N., Wyman Ch., Dale B., Elander R., Lee Y., Holtzaple M., Ladisch M. (2005). Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technol.*, 96, 673-686
38. Ndegwa P., Hamilton D., Lalman J., Cumba H. (2008). Effects of cycle-frequency and temperature on the performance of anaerobic sequencing batch reactors (ASBRs) treating swine waste. *Bioresource Technol.*, 99, 1972-1980
39. Nielsen H., Angelidaki I. (2008). Strategies for optimizing recovery of the biogas process following ammonia inhibition. *Bioresource Technol.*, 99(17), 7995-8001
40. Nsereko V., Smiley B., Rutherford W., Spielbauer A., Forrester K., Hettinger G., Harman E., Harman B. (2008). Influence of inoculating forage with lactic acid bacterial strains that produce ferulate esterase on ensilage and ruminal degradation of fiber. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 145, 12-13
41. Oude Elferink S., Krooneman J., Gottschal J., Spoelstra S., Faber F., Driehuis F. (2001). Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2-propanediol by *Lactobacillus buchneri*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 67(1), 125-132
42. Pakarinen O, Lehtomäki A, Rissanen S, Rintala J. (2008). Storing energy crops for methane production: effects of solids content and biological additive. *Bioresource Technol.*, 99(15), 7074-82
43. Palmowski L, Muller J. (1999). Influence of the size reduction of organic waste on their anaerobic digestion. International Symposium on anaerobic digestion of solid waste. Barcelona, 15-17 czerwiec, 137-44
44. Podkówka W. (red) (2012). Biogaz rolniczy odnawialne źródło energii. Teoria i praktyczne zastosowanie. Praca zbiorowa. Warszawa: Powszechnie Wydawnictwo Rolnicze i Leśne
45. Podkówka Z., Podkówka W. (2010). Substraty dla biogazowni rolniczych. Warszawa: Redakcja Agro Serwis
46. Prochnov A., Heiermann M., Plochl M. (2012). Permanent grassland for Bioenergy: factors management and conversion efficiency. Proceedings of the 17th Symposium of the European Grassland federation, Akureyri, Iceland, 23-26 czerwiec, 515-519
47. Prochnov A., Heiermann M., Plochl M., Linke B., Idler C., Amon T., Hobbs P. (2009). Bioenergy from permanent grassland – A review: 1. Biogas. *Bioresource Technol.*, 100, 4931-4944

48. Pyś J. (2002). Wpływ dodatku inokulantu bakteryjnego, kwasu mlekowego oraz glukozy na jakość i skład chemiczny kiszzonek z koniczyny czerwonej. *Acta Agr. Silv., Zoot.* XXXIX-XL, 17-27
49. Raposo F., Banks C., Siegert I., Heaven S., Borja R. (2006). Influence of inoculum to substrate ratio on the biochemical methane potential of maize in batch tests. *Process Biochem.*, 41, 1444–1450
50. Ruser B., Pahlow G., Kräft A., Rutherford W. (2009). Improved biogas production from silage treated with an esterase producing inokulant. *Proc. of XVth Int. Silage Conf.*, Madison, Wisconsin, USA, 455-456
51. Schattauer A., Weiland P. (2005). Podstawy w zakresie wiedzy o fermentacji beztlenowej. W: *Biogaz-Produkcja i Wykorzystanie*, Lipsko: Institut für Energetik und Umwelt gGmbH
52. Selwet M. (2011). The effect of bacterial silage inoculant on the fermentation, cell wall contents and aerobic stability of maize silage. *Acta Sci. Zootech.*, 10(3), 83-92
53. Stecka K. (2008). Modelowanie aktywności metabolicznej bakterii fermentacji mlekowej poprzez zmiany warunków środowiskowych. Warszawa: Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego
54. Sucu E., Filya I. (2006a). Effects of homofermentative lactic acid bacterial inoculants on the fermentation and aerobic stability characteristics of low dry matter corn silage. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 30(1), 83-88
55. Sucu E., Filya I. (2006b). The effect of bacterial inoculants on the fermentation, aerobic stability and rumen degradability characteristics of wheat silages. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 30(2), 187-193
56. Szyszkowska A., Krzewiecki S., Sobczyk I. (2010). Czynniki wpływające na intensywność wtórnej fermentacji w kiszzonek oraz wpływ skarmiania niestabilnych tlenowo kiszzonek na ryzyko wstąpienia jednostek chorobowych u krów mlecznych. *Zesz. Nauk. UP Wroc., Biol. Hod. Zwierz.*, LX 577, 205-216
57. Taherzadeh M., Karimi K. (2008). Pre-treatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production. A review. *Int. J. Mol. Sci.*, 9, 1621-1651
- Weinberg Z., Ashbell G., Hen Y., Azrieli A., Szakacs G., Filya I. (2002). Ensiling whole-crop wheat and corn in large containers with *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus buchneri*. *J. Ind Microbiol. Biotechnol.*, 28 (1), 7-11

58. Weiss S., Tauber M., Somitsch W., Meincke R., Muller H., Berg G., Guebitz G. (2010). Enhancement of biogas production by addition of hemicellulolytic bacteria immobilized on activated zeolite. *Water Res.*, 44, 1970-1980
59. Wróbel B. (2012). Evaluation of biological additives effectiveness in ensilage process of meadow sward. *J. Res. Appl. Agricult. Eng.*, 57(4), 193-198
60. Yadavika , Santosh, Sreekrishnan T., Kohli S., Rana V. (2004). Enhancement of biogas production from solid substrates using different techniques – a review. *Bioresource Technol.*, 95, 1-10
61. Zhang B., Shahbazi A. (2011). Recent developments in pretreatment technologies for production of lignocellulosic biofuels. *J. Pet. Environ. Biotechnol.*, 2(2), 1
62. Zhong W., Zhang Z., Ciao W., Fu P., Liu M. (2011). Comparison of chemical and biological pretreatment of corn straw for biogas production by anaerobic digestion. *Renewable Energy*, 36, 1875-1879
63. Zielińska K., Stecka K., Suterska A., Miecznikowski A. (2006). Ekologiczna metoda kiszenia pasz objętościowych. *J. Res. Appl. Eng.*, 57(4), 199-204
64. Ziemiński K., Romanowska I., Kowalska M. (2012). Enzymatic pretreatment of lignocellulosic wastes to improve biogas production. *Waste Management*, 32, 1131–1137