

УДК 663.534

ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА СПОСОБІВ ДЕЛІГНІФІКАЦІЇ ЛІГНІНОЦЕЛЮЛОЗНОЇ БІОМАСИ ДЛЯ ВИРОБНИЦТВА БІОЕТАНОЛУ ДРУГОГО ПОКОЛІННЯ (ОГЛЯД)

*Данілова К. О., к.т.н., с.н.с.,
заст. завідувача відділу технології продуктів бродіння
<https://orcid.org/0000-0001-6204-9975>
Інститут продовольчих ресурсів НААН, Київ, Україна*

<https://doi.org/10.31073/foodresources2024-22-07>

Предмет. В останні роки у розвинених країнах світу зростає інтерес до використання альтернативних палив і хімічних продуктів з відновлюваної рослинної біомаси на фоні зменшення видобутку сирої нафти. Лігніноцелюозна біомаса – це найбільш доступне джерело відновлювальної сировини з орієнтовним щорічним обсягом у світі в кількості 1010 млн. тон. **Мета.** Проведення порівняльної оцінки існуючих способів делігніфікації лігніноцелюлозної сировини з визначенням їх переваг і недоліків для виробництва біоетанолу другого покоління. **Методи.** Проведено аналітичний огляд літератури та узагальнення отриманих даних за найбільш розповсюдженими способами делігніфікації рослинної біомаси. **Результати.** Делігніфікація здійснюється фізичними, хімічними і біологічними методами. Наведено порівняльну характеристику існуючих на даний час способів попередньої обробки лігніноцелюлозної сировини. Делігніфікація рослинної біомаси проводиться з метою руйнації хімічних зв'язків між молекулами целюлози, геміцелюлози і лігніну для вивільнення целюлози і подальшого її ферментативного гідролізу до зброджуваних цукрів. Найбільш розповсюдженим методом попередньої обробки сільськогосподарських відходів до цього часу є різні варіанти кислотного гідролізу, перспективним і екологічно чистим напрямом вважається метод парового вибуху. Для підвищення ефективності процесу делігніфікації рослинної сировини необхідно розглядати комбінування різних методів попередньої обробки. Це буде сприяти глибокому гідролізу лігніноцелюлозної біомаси з виділенням целюлози, геміцелюлози і лігніну в доступній для подальшого використання формі. **Сфера застосування результатів.** Одержані дані можуть бути використані для розробки ефективної схеми попередньої обробки лігніноцелюлозної сировини з метою вивільнення целюлози, її подальшого ферментативного гідролізу целюлолітичними ферментами для одержання біоетанолу другого покоління.

Ключові слова: лігніноцелюозна біомаса, біоетанол, делігніфікація, способи попередньої обробки, целюлоза

COMPARATIVE ASSESSMENT OF THE DELIGNIFICATION METHODS OF LIGNOCELLULOSE BIOMASS FOR THE SECOND GENERATION BIOETHANOL PRODUCTION (OVERVIEW)

*Kateryna Danilova, PhD (technics), Senior Researcher,
Deputy Head of Fermentation Products Technology Department
<https://orcid.org/0000-0001-6204-9975>
Institute of Food Resources of NAAS, Kyiv, Ukraine*

Subject. The developed countries of the world interest in the use of alternative fuels and chemical products from renewable plant biomass is growing against the background of a decrease in crude oil production. Lignocellulosic biomass is the most available source of renewable raw materials with an estimated annual volume of 1010 million tons in the world. **Purpose.** Conduct a comparative assessment of the existing delignification methods of lignocellulosic raw materials with the determination of their advantages and disadvantages for the production of second generation bioethanol. **Methods.** An analytical review of the literature and a generalization of the obtained data on the most common methods of delignification of plant biomass were carried out. **Results.** Delignification is carried out by physical, chemical and biological methods. The comparative characteristics of currently existing methods of preliminary processing of lignin-cellulosic raw materials are given. Delignification of plant biomass is carried out in order to destroy the chemical bonds between the molecules of cellulose, hemicellulose and lignin to release cellulose and its subsequent enzymatic hydrolysis to fermentable sugars. The most

widespread method of pretreatment of agricultural waste so far is various variants of acid hydrolysis, the steam explosion method is considered a promising and environmentally friendly direction. To increase the efficiency of the process of delignification of plant raw materials, it is necessary to consider combining different methods of pretreatment. This will improve to the deep hydrolysis of lignocellulosic biomass with the release of cellulose, hemicellulose and lignin in a form available for further use. **Scope of results.** The results will be used to develop an effective scheme for pre-treatment of lignin-cellulosic raw materials with the aim of releasing cellulose, its subsequent enzymatic hydrolysis by cellulolytic enzymes to obtain second generation bioethanol.

Key words: lignocellulosic biomass, bioethanol, delignification, pretreatment methods, cellulose

Постановка проблеми. В останні роки у розвинених країнах світу зростає інтерес до використання альтернативних палив і хімічних продуктів з відновлюваної рослинної біомаси на фоні зменшення видобутку сирої нафти [1]. Біопаливо цікаво саме через свою екологічність. Воно є відновлюваним джерелом вуглецю, який не виділяється в атмосферу і не призводить до глобального потепління. Біопаливо – один з найбільш реальних способів звільнити людство від залежності від традиційних викопних ресурсів. Біоетанол як біопаливо виробляють з цукро- і крохмалевмісної сировини, лігніноцелюлозної біомаси, отриманої з відходів сільськогосподарської сировини, такої як пшеничне лушпиння, рисова солома, кукурудзяні відходи, жом цукрової тростини.

США та Бразилія є двома провідними країнами з виробництва біоетанолу з зерна кукурудзи та цукрової тростини. В 2023 році понад 100 мільярдів літрів біоетанолу було вироблено зброджуванням вуглеводів з цукро- і крохмалевмісної сировини дріжджами. З цього обсягу приблизно 28% паливного етанолу було виготовлено з бразильського тростинного цукру і приблизно 53% – з глюкози, одержаної з крохмалю кукурудзи, в основному в США [2]. Однак виробництво біопалива з крохмалю та цукру суттєво порушує світову продовольчу безпеку людства, відбираючи частку від продовольчого ринку. Значне збільшення виробництва біоетанолу, зменшення його собівартості та підвищення конкурентної спроможності світова спільнота пов'язує з використанням нехарчової сировини, зокрема лігніноцелюлозної біомаси. Ця рослинна біомаса є найбільш доступним джерелом відновлювальної сировини з орієнтовним щорічним обсягом у світі в кількості 1010 млн. тон [3]. Використання такої біомаси робить сировинну базу для отримання паливного етанолу практично невичерпною.

Лігніноцелюлозна біомаса – це органічна сировина, з якої за температурній обробці без використання хімічних реагентів можна отримати як цінні хімічні продукти, так і напівфабрикати – чисті компоненти біомаси. Такий підхід до використання цієї сировини є дуже ефективним і екологічно привабливим. Целюлозовмісна сировина містить в своєму складі полісахарид целюлозу (23–50%), геміцелюлозу (12–29%) та ароматичний полімер лігнін (13–31%) (рис.1) [4].

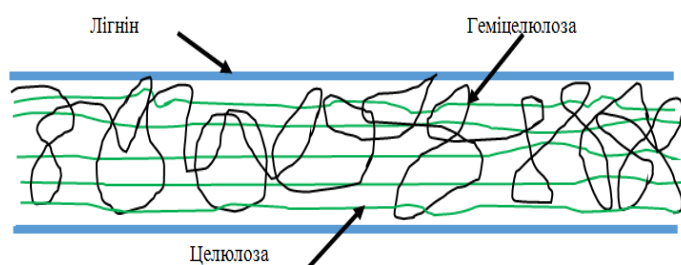


Рис. 1. Будова лігніно-целюлозної молекули

розташуванням молекул. Лігнін завдяки своїй будові значно ускладнює переробку лігніноцелюлозної біомаси. До складу лігніну входять фенілпропанові спирти, головним чином коніферилловий, синапіловий та кумарилловий спирти з гідроксильною, метоксильною і карбонільною функціональними групами.

Целюлоза є природним полісахаридом, макромолекули якого мають лінійну будову і характеризуються підвищеною скелетною жорсткістю. Макромолекули целюлози утворюють фібрили, що включають ділянки з упорядкованим (кристалічні області) та неупорядкованим (аморфні області)

Геміцелюлоза має вигляд лінійного і розгалуженого гетерогенного полімеру, що складається з п'яти різних цукрів- L-арабінози, D-галактози, D-глюкози, D-маннози і D-ксилози. Геміцелюлози відрізняються від целюлози за молекулярною будовою, коли більш короткі ланцюги відходять від основного ланцюга молекули. Завдяки цієї хімічної характеристики геміцелюлоза легше гідролізується, ніж целюлоза [5].

Лігніни зшивають целюлозу і геміцелюлозу, що робить структуру лігніноцелюлозної сировини більш міцною і твердою. Саме тому при переробці цієї сировини необхідна попередня обробка для видалення лігніну (делігніфікація), збільшення пористості волокон і посилення гідролізу в процесі переробки біомаси в біоетанол.

Мета роботи – проведення порівняльної оцінки існуючих способів делігніфікації лігніно-целюлозної сировини з визначенням їх переваг і недоліків.

Матеріали та методи. Проведено аналітичний огляд літератури та узагальнення отриманих даних за найбільш розповсюдженими способами делігніфікації рослинної біомаси.

Результати та обговорення. Делігніфікація здійснюється фізичними, хімічними і біологічними методами. В таблиці 1 наведено порівняльну характеристику існуючих на даний час способів попередньої обробки лігніноцелюлозної біомаси.

Фізична попередня обробка включає мікрохвильове опромінення, екструзію, піролізний спосіб та механічне подрібнення [6]. Ці методи спрямовані на зменшення розміру часток сировини, збільшення площі поверхні та індексу кристалічності біомаси, що сприяє руйнуванню лігнінових зв'язків в молекулі [7]. Фізичні методи попередньої обробки вимагають високого енергоспоживання та великої потужності установок, що робить цей процес дуже енергоємним і витратним. Підвищення ефективності та інтенсифікації процесів видалення лігніну забезпечується використанням СВЧ-енергії (мікрохвильового опромінення) [8] та поєднанням СВЧ- з ультразвуковою обробкою. При мікрохвильовому опроміненні здійснюється інтенсивне нагрівання лігніноцелюлозної біомаси, а застосування ультразвуку забезпечує диспергування продукту, що позитивно впливає на структуру і властивості целюлози.

Теплофізичні способи попередньої обробки – паровий вибух, пропарювання під високим тиском покращують поверхню контакту, зменшують ступінь полімеризації і кристалічність целюлози, частково руйнують лігнінову зшивку.

Одним із перспективних шляхів практичного використання целюлозовмісної сировини для одержання біоетанолу є теплофізичний спосіб або високотемпературна паровибухова обробка під тиском [9]. Паровий вибух як попередня обробка деревини був винайдений Мейсоном в 1925 році і швидко знайшов широке розповсюдження в інших галузях. За цим способом вихідна сировина обробляється під тиском, що створюється водяною парою за температури 170–250°C протягом нетривалого часу з наступним швидким скиданням тиску до атмосферного (ефект парового вибуху). В таких умовах відбувається гідроліз геміцелюлоз, волокнисті аморфні частини полімерних ланцюгів целюлози гідролізуються, залишаючи в незмінному стані кристалічні сегменти ланцюгів [10]. Після гідролізу ступінь деполімеризації целюлози знижується від 1000 од. для вихідної целюлози до 100-400 од. для целюлози, одержаної способом парового вибуху [25]. Швидка декомпресія матеріалу за такої обробки сприяє розділенню целюлози, геміцелюлоз і лігніну у вихідній сировині, що дає змогу більш ефективно здійснювати ферментативний гідроліз целюлози для одержання біоетанолу. Але при проведенні парового вибуху лігніноцелюлозної сировини відбувається розкладання ксилози до фурфуролу, при чому чим вищий тиск та більша тривалість, тим більше фурфуролу утворюється. Фурфурол є інгібітором процесу бродіння, який пригнічує розвиток дріжджів під час зброджування цукрів в біоетанол.

Таблиця 1

Порівняльна характеристика способів делігніфікації целюлозовмісної сировини

Спосіб попередньої обробки	Механізм процесу	Переваги	Недоліки
1	2	3	4
Фізичні способи			
Механічний процес	Під дією механічного впливу зменшується розмір частинок і змінюється структура поверхні	Довговічність і надійність використовуваного обладнання, підходить для промислового застосування	Сильно енерговитратний процес разом із незначним ефектом по зміні структури целюлози. Для підвищення ефективності процесу необхідне встановлення додаткового обладнання
Екструзія	Лігніноцелюозна сировина під тиском проштовхується крізь отвори головної частини екструдера	Простий процес, низьке енерго-споживання, короткий час перебування, помірна температура і тиск.	Робота обладнання під тиском, що вимагає регулярної перевірки для забезпечення стабільної роботи екструдера, дуже трудомісткий процес, висока вартість обслуговування
Мікро-хвильове опромінення	Частота мікрохвильового опромінювання становить близько 0,3–300 ГГц. Відбувається руйнація молекул в лігніноцелюозній біомасі через поляризацію діелектрика в хімічних зв'язках	Короткий період нагріву, помірна температура, менше утворення інгібіторів	Наявність зон з більш високою температурою призводить до утворення сполук фурфуролу, що є інгібіторами процесу, в результаті розпаду вуглеводів
Теплофізичні способи			
Паровий вибух	Витримка сировини під тиском при температурі 170-200°C протягом 10-30 хвилин з наступним швидким скиданням тиску. Волокнисті аморфні частини полімерних ланцюгів целюлози гідролізуються, залишаючи в незміненому стані кристалічн.	Екологічно чистий процес. Швидка декомпресія сировини сприяє розділенню целюлози, геміцелюлози і лігніну, що дає можливість ефективно проводити подальший ферментативний гідроліз целюлози. Здійснення процесу без внесення додаткових каталізаторів	За високої температури відбувається утворення інгібіторів процесу сполук фурфуролу. Складність апаратурного оформлення і важкість контролю технологічних умов процесу
Хімічні способи			
Кислотний гідроліз	Гідроліз лігніно-целюлозної сировини при кип'ятінні в розчині кислоти, розчинення геміцелюлози та зміна модифікації структури лігніну, що покращує подальший ферментативний гідроліз целюлозної фракції	Руйнування лігніно-целюлозної матриці та аморфної структури целюлози.	Жорсткі умови процесу, висока температура реакції, кислотна корозія обладнання, необхідність нейтралізації кислоти
Лужний гідроліз	Руйнація зв'язків між целюлозою та лігніном і геміцелюлозою за допомогою лугів. Під дією лугу відбувається видалення уронової кислоти, яка заважає подальшому ферментативному гідролізу целюлози і геміцелюлози.	Видалення лігнінової фракції без значної руйнації вуглеводів. Низька температура і тиск, тобто більш м'які умови процесу. Хімічні реагенти після лужної обробки не є корозійними і не забруднюють оточуюче середовище	Тривалий час реакції, зниження кристалічності целюлози, можливість перетворення лугу на відповідну сіль, що погіршує процес

Продовження таблиці 1

1	2	3	4
Гідроліз за допомогою органічного розчинника	Перетворення кристалічної структури лігніно целюлозної біомаси в аморфну форму і деструкція хімічних зв'язків між молекулами лігніну і целюлози	Застосування нетоксичних, дешевих, екологічно чистих розчинників, які є похідними полімерної біомаси і можуть легко перероблятися. Процес здійснюється в присутності каталізаторів	Завдяки низькій температурі кипіння, розчинник легко випаровується з середовища.
Біологічні способи			
Оцукрення сировини мікроорганізмами	Бактерії і плісняві гриби виділяють целюлолітичний фермент, який руйнує зв'язки в лігніно-целюлозній біомасі з утворенням целюлози, геміцелюлози і лігніну	Низькі капіталовкладення. Невелике енергоспоживання, оскільки делігніфікація біомаси відбувається за температури не вище 32 °С. Ефективний і екологічно безпечний процес	Тривалий час делігніфікації целюлозовмісної біомаси, зазвичай 15-20 діб. Менший вміст розчинного гідролізату, коефіцієнт ефективності приблизно 37–40%. Сповільнена швидкість гідролізу сировини, зазвичай видаляється близько 30% лігніну

Хімічні способи обробки базуються на використанні хімічних речовин, які перетворюють кристалічну структуру лігніноцелюлозної біомаси в аморфну форму і сприяють деструкції хімічних зв'язків між целюлозою, геміцелюлозою та лігніном. Ці методи обробки залежать від природи і концентрації реагентів, температури і тривалості процесу. В основному застосовують кислотний гідроліз з використанням водних розчинів мінеральних кислот (соляної, сірчистої, азотної), лужний гідроліз за допомогою розчинів NaOH, KOH, аміаку і вапна, сульфіту і гідроксиду амонію [11]. Експериментальний аналіз показує, що найбільш ефективна обробка розчином гідроксиду натрію NaOH, що руйнує зв'язки між целюлозою та лігніном і геміцелюлозою, збільшує площу поверхні целюлози за мінімального індексу кристалічності та здійснюється за низькою температурою і тиском [12, 13]. Хімічні реагенти після лужної обробки не є корозійними і не забруднюють оточуюче середовище.

Кислотна попередня обробка сірчистою або соляною кислотами лігніноцелюлозної біомаси широко розповсюджена в світі. Використання висококонцентрованих кислот призводить до корозії обладнання і створює додаткову небезпеку внаслідок токсичності. Розведені розчини кислоти теж не дуже рекомендовано через утворення сполук фурфуролу під час процесу попередньої обробки. Фурфурол є інгібітором процесу бродіння, він пригнічує ріст мікроорганізмів під час ферментації. Деякі дослідження все ж показали, що кислотна попередня обробка з концентрацією кислого розчину менше 4,0 мас.% була ефективною [14]. В досліджах використовували розбавлений водний розчин сірчаної кислоти з концентраціями 2,0; 4,0 і 6,0 мас.% при 80, 60 і 120°C для попередньої обробки стебел кукурудзи перед ферментативним зброджуванням лігніноцелюлозної сировини до біоетанолу. Оптимальною була концентрація кислоти 2,0 мас.% при 120°C за 43 хвилини [14]. Вченими Сага, Ruiz, Oliva та ін. також запропоновано використовувати 1,0 мас.% водного розчину H₂SO₄ для попередньої обробки висушеного оливкового дерева при 170–210°C [14].

Спосіб хімічно активної екструзії передбачає здійснення кислотного гідролізу в екструдері за температури 80–200°C [15]. При цьому знижується тривалість процесу і зменшується кількість кислотного розчину, необхідного для гідролізу від гідромодуля 5:1 – 8:1 (кислотний гідроліз) до приблизно 1:1, що знижує кількість стічних вод.

Ще одним способом хімічної обробки лігніноцелюлозної біомаси є використання органічного розчинника, такого як етанол, гліцерин, ацетон, метанол тощо, який додається до біомаси в присутності каталізаторів за умови дотримання температури і

тиску. Каталізатори, що використовуються під час обробки органічним розчинником можуть бути сірчана кислота, гідроксид натрію або сульфат магнію [16]. H_2SO_4 вважається найефективнішим каталізатором для максимального виходу етанолу. Серед різноманітних органорозчинників перевагу надають гліцерину, оскільки це нетоксичний, легкодоступний розчинник з високою температурою кипіння до 290°C . Вчені Joy, Kumar, Gorthy та ін. досліджували метод попередньої обробки лігніноцелюлозної біомаси гліцерином з концентрацією 60% за температури 190°C протягом 60 хвилин, що призвело до підвищення доступності целюлози на 89% за рахунок видалення геміцелюлози і лігніну, що в кінцевому підсумку збільшує оцукрювання целюлози і продуктивність біоетанолу [17]. Оскільки ксилан і лігнін були видалені на стадії попередньої обробки гліцерином, то ферментація целюлози була більшою, ніж в контрольному досліді без обробки. Ці висновки підтвердили, що лігнін і ксилан створюють бар'єри для проникнення целюлазних ферментів [18].

Біологічні способи попередньої обробки целюлозовмісної сировини мають переваги перед іншими способами завдяки низькому енергоспоживанню, відсутності хімічних реагентів, завдяки чому утворюється менше забруднюючих речовин [19]. Для біологічної обробки застосовують різні білі, коричневі або червоні плісняві гриби, що виділяють целюлолітичний фермент, який руйнує зв'язок між целюлозою і лігніном, тим самим підвищується доступність целюлози до ферментативного гідролізу і зброджування, збільшується її пористість [20]. Для біологічної обробки лігніно-целюлозної сировини використовують різні мікроорганізми, такі як *Clostridium* sp., *Cellulomonas* sp., *Bacillus* sp., *Thermomonospora* sp., *Streptomyces* sp., *Phanerochaete chrysosporium*, *Trichoderma reesei*, *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger* та ін. [21]. Ці мікроорганізми виділяють целюлозозв'язуючі білки, які продукують ферменти ендоглюканазу і ксиланазу, які в свою чергу розкладають лігніно-целюлозну біомасу. Виробництво пліснявими грибами ферментів є дуже повільним процесом і вимагає значної кількості вуглеводів із спеціального живильного середовища. Саме тому використовують різні мікробні консорціуми, які здійснюють біологічну обробку лігніно-целюлозної сировини в спеціальних реакторах з дотриманням визначених умов процесу [22].

В цілому біологічна попередня обробка лігніноцелюлозної біомаси вважається екологічно чистою технологією, але є дуже тривалим і нестабільним процесом, оскільки вимагає прямої взаємодії між лігніно-целюлозною сировиною і ферментами, що продукують мікроорганізми під час свого розвитку.

Таким чином, попередня обробка лігніноцелюлозної біомаси з метою руйнації хімічних зв'язків між молекулами целюлози, геміцелюлози і лігніну для вивільнення целюлози і подальшого її ферментативного гідролізу до зброджуваних цукрів, важлива і необхідна стадія в процесі одержання біоетанолу. Для покращення ефекту розчинення і видалення лігніну перспективним є комбінація фізичних, хімічних та біологічних методів. Так, теплофізичні методи обробки, зокрема паровий вибух, сприяють покращенню структури рослинної біомаси, а подальша хімічна її обробка призводить до руйнації різних міжмолекулярних зв'язків, що присутні в структурі лігніноцелюлозної сировини [24, 25].

Екологічні (зелені) способи делігніфікації. Спосіб обробки називають екологічним або «зеленим», коли процес, розчинник або продукт здійснюють мінімальний вплив на оточуюче середовище протягом усього свого життєвого циклу [3]. Зазвичай до цих способів відноситься обробка лігніноцелюлозної біомаси з використанням екологічно чистих розчинників в умовах, що передбачають мінімальне утворення шкідливих відходів і скорочення викидів парникових газів. До екологічно чистих способів, що використовуються при попередній обробки лігніноцелюлозної біомаси, відносять застосування органічних розчинників (етанолу, ацетону, гліцерину), надкритичної рідини

(CO₂-екстракція), обробку ультразвуком, мікрохвильовим опроміненням, біологічну обробку ферментами [4].

Плазмена технологія як спосіб делігніфікації целюлозної біомаси також відноситься до екологічних методів. Перетворення поверхні рослинних волокон біомаси відбувається під дією іонізованого газу, що містить активні елементи, такі як вільні радикали та електрони [26]. Ravindran та інші [27] обробляли холодною плазмою з використанням повітря в якості плазменого газу, побічні продукти пивоваріння для оптимального ферментативного гідролізу при виробництві біоетанолу. Було одержано підвищення виходу редукованих цукрів в 2,14 рази після 36% делігніфікації біомаси. Вчені Miranda, Rabelo та інші застосували плазму діелектричного бар'єрного розряду (DBD) з безконтактними електродами для обробки жому цукрової тростини у водних розчинах Na₂CO₃ і NaOH [28]. Автори повідомили, що обробка плазмою за pH 12 протягом 2 годин призвела до максимальної розчинності лігніну (понад 50%) з виходами ксилози і глюкози 38,5% и 51,3% відповідно. Хоча спосіб плазменої обробки є екологічно чистим і перспективним, але його впровадження стримується високими енерговитратами на створення плазменого газу і підтримку процесу, що призводить до збільшення експлуатаційних витрат, застосування складного устаткування і можливе утворення реактивних часток, таких як вільні радикали, іони, що можуть призвести до розкладу компонентів лігніноцелюлозної біомаси.

Застосування ультразвуку для делігніфікації рослинної біомаси сприяє руйнації клітинної оболонки, зменшенню розмірів частинок. Ультразвук генерує акустичну кавітацію, що підвищує локальну температуру і тиск в клітинах та призводить до утворення високореактивних вільних радикалів, таких як OH⁻, H⁺ і H₂O₂, які в подальших процесах можуть пришвидшувати хімічні та ферментативні реакції [33, 34]. Попередня обробка лігніноцелюлозної біомаси ультразвуком потребує менше енергії і працює в м'яких умовах. Крім того, ультразвук можна налаштувати для вибіркового впливу на визначені компоненти біомаси. Але ультразвукове обладнання має високу вартість і вимагає спеціально підготовленого персоналу і складної інженерної підготовки при впровадженні.

Паровий вибух також вважається екологічно чистим способом делігніфікації рослинної біомаси, оскільки для його здійснення використовується водяна пара високого тиску і не відбувається ніяких шкідливих викидів в атмосферу. Якщо порівняти 2 відомих екологічно чистих способів попередньої обробки – паровий вибух і біологічну обробку, то результати показують, що вміст целюлози в обробленій парою біомасі становить 39,5%, в той час як після біологічної обробки вміст целюлози в біомасі – 37,6%. Але утворення лігніну при біологічній обробці вище, ніж після парового вибуху [23].

В таблиці 2 наведено порівняльну характеристику різних екологічно чистих способів делігніфікації целюлозної біомаси. Лігніноцелюлозна біомаса є перспективним відновлюваним ресурсом для виробництва біопалива, але її складна структура та стійкість до ферментативної деградації створюють проблеми для її ефективного використання.

Висновки. Виробництво біоетанолу другого покоління є найбільш перспективним джерелом видобутку енергії з відновлювальної рослинної сировини. Попередня обробка лігніноцелюлозної сировини є важливим і необхідним кроком для делігніфікації біомаси, тобто руйнації лігнінових зв'язків для забезпечення доступності целюлози та геміцелюлози в подальших процесах ферментативного гідролізу та зброджування з метою одержання біоетанолу. Найбільш розповсюдженим методом попередньої обробки сільськогосподарських відходів до цього часу є різні варіанти кислотного гідролізу. Перспективними і екологічно чистими напрямками вважаються методи парового вибуху та біологічної обробки мікроорганізмами та ферментами. Але кожний метод має свої недоліки і обмеження. Саме тому для підвищення ефективності процесу делігніфікації рослинної сировини необхідно розглядати комбінування різних методів попередньої

обробки. Це буде сприяти глибокому гідролізу лігніноцелюлозної біомаси з виділенням целюлози, геміцелюлози і лігніну в доступній для подальшого використання формі.

Таблиця 2

**Порівняльна характеристика екологічно чистих способів
попередньої обробки лігніноцелюлозної біомаси**

Спосіб обробки	Переваги	Недоліки	Посилання
1	2	3	4
Використання органічного розчинника	Утворення целюлози високої чистоти. Одержання лігніну і геміцелюлози як продуктів з потенційно доданою вартістю. Можливість відновлення і вторинного використання розчинника.	Складність процесу відновлення органічних розчинників. Обмежений вибір розчинників через їх токсичність та екологічну небезпеку утилізації відходів	[29], [30], [16], [17]
Надкритична екстракція	М'які умови попередньої обробки. Руйнація лігнінових зв'язків, високий вихід целюлози. Нетоксичність надкритичних рідин. Незначна кількість утворення інгібіторів ферментації.	Великі експлуатаційні витрати. Необхідність спеціального обладнання. Небезпечні умови виробництва – високий тиск і температура. Потреба в спеціально підготовленому персоналі, що має специфічні знання про властивості надкритичних рідин	[31]
Мікрохвильове опромінення	Висока швидкість і продуктивність процесу делігніфікації. Утворення целюлози з покращеними властивостями. Скорочення тривалості процесу мікрохвильового опромінення.	Потреба в спеціальному обладнанні. Низька селективність процесу обробки. Реакція проходить за високих температурах. Великі капітальні витрати і складність в обслуговуванні системи. Не може використовуватися для великих партій біомаси. Тривалий час для охолодження біомаси після процесу опромінення.	[32], [8]
Обробка ультразвуком	Сприяє руйнації лігнінових зв'язків біомаси, посилює дію хімічних речовин або ферментів. Прискорення швидкості реакції. Зниження витрати хімічних реагентів або ферментів в подальших процесах. М'які умови процесу. Низьке енергоспоживання	Низька ефективність передачі енергії у ємності, де відбувається процес обробки. Висока вартість обладнання.	[33], [34]
Плазмена обробка за допомогою низькотемпературної плазми	Не використовуються хімічні речовини. Універсальний, швидкий спосіб обробки. Покращена реакційна здатність біомаси	Проблеми контролю реактивних часток, що присутні в плазмі. Висока вартість обладнання. Великі енерговитрати на створення плазменого газу. Технічно складний процес.	[26], [27], [28], [35]
Паровий вибух	Не використовується ніяких хімічних речовин, окрім води. Допускається великі об'єми завантаження біомаси. Може оброблятися сировина з великим розміром частинок.	Утворення інгібіторів процесу ферментативного гідролізу і зброджування. Неповне видалення лігніну. Часткова руйнація геміцелюлози через «жорсткість» попередньої обробки (висока температура і тиск, тривалий час обробки). Потреба в кислотному каталізаторі при обробці біомаси з високим вмістом лігніну.	[36], [9], [10], [15], [25]

Продовження таблиці 2			
1	2	3	4
Біологічна попередня обробка з використанням мікроорганізмів	М'які умови обробки. Немає вимог до підвищеної температури або тиску. Низьке енергоспоживання. Дуже мала потреба в хімічних речовинах. Майже повна відсутність забруднення оточуючого середовища.	Повільна швидкість гідролізу. Тривалий час попередньої обробки. Проведення мікробного синтезу, який є трудомістким процесом. Риски мікробного забруднення. Для досягнення задовільного результату необхідна додаткова обробка біомаси	[37], [21], [22]
Ферментативна обробка	М'які умови обробки. Невелике утворення інгібіторів. Низьке енергоспоживання. Дуже мала потреба в хімічних речовинах. Може бути інтегрований в процеси біопереробки	Висока вартість ферментів. Необхідність дотримання оптимальних умов процесу. Ефективність обробки залежить від виду лігніноцелюлозної сировини.	[38], [19], [20]

Бібліографія

1. Thi Tuong An Tran, Thi Kim Phung Le, Thanh Phong Mai, Dinh Quan Nguyen. Bioethanol Production from Lignocellulosic Biomass. Alcohol Fuels – Current Technologies and Future Prospect. Edited by Yongseung Yun. 2019. 136 p. ISBN 978-1-78985-044-4. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.86437>
2. Renewable Fuels Association. Annual ethanol production (2023) <https://ethanolrfa.org/markets-and-statistics/annual-ethanol-production>.
3. Shukla, A., Kumar, D., Girdhar, M., Kumar, A., Goyal, A., Malik, T., Mohan, A. Strategies of pretreatment of feedstocks for optimized bioethanol production: distinct and integrated approaches. Biotechnology for Biofuels and Bioproducts. 2023. <https://doi.org/10.1186/s13068-023-02295-2>
4. Abolore, R.S., Jaiswal S., Amit K. Jaiswal A.K. (2024) Green and sustainable pretreatment methods for cellulose extraction from lignocellulosic biomass and its applications: A review. Carbohydrate Polymer Technologies and Applications, 7, 1–28. <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2023.100396>.
5. Sheehan J. The road to bioethanol: A strategic perspective of the US Department of Energy's national ethanol program. In: Himmel, M., Baker, J., Saddler, J, editors. Glycosyl Hydrolases for Biomass Conversion. Washington, D.C: American Chemical Society, 2001. 2–25.
6. Carrillo-Nieves, D., Rostro Alanis, M.J., de la Cruz, Q.R., Ruiz, H.A., Iqbal, HMN., Parra-Saldivar, R. Current status and future trends of bioethanol production from agro-industrial wastes in Mexico. Renew Sustain Energy Rev. 2019. 102, 63–74.
7. Da Silva, A.R.G., Errico, M., Rong, B.G. Systematic procedure and framework for synthesis and evaluation of bioethanol production processes from lignocellulosic biomass. Bioresour Technol Rep. 2018. 4, 29–39. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2018.08.015>.
8. Fan Guo-Zhi. Preparation of microcrystalline cellulose from rice straw under microwave irradiation. J. Appl. Polym. Sci., 2017. 22, 134.
9. Fernandes, M.C., Ferro, M.D., Paulino, A.F., Mendes, J.A., Gravitis, J., Evtuguin, D.V., et al. (2015) Enzymatic saccharification and bioethanol production from Cynara cardunculus pretreated by steam explosion. Bioresource Technology, 186, 309.
10. Kumar, R., Prakash, O. (2023) Experimental investigation on effect of season on the production of bioethanol from wheat-stalk (WS) using simultaneous saccharification and fermentation (SSF) method. Fuel, 3511 <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2023.128958>.
11. Kim, J.S., Lee, Y.Y., Kim, T.H. A review on alkaline pretreatment technology for bioconversion of lignocellulosic biomass. Bioresour Technol., 2016. 199, 42–48. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.085>.
12. Bali, G., Meng, X., Deneff, J.I., Sun, Q., Ragauskas, A.J. The effect of alkaline pretreatment methods on cellulose structure and accessibility. Chemsuschem. 2015. 8, 275–279.
13. Zhao, C., Zou, Z., Li, J., Jia, H., Liesche, J., Chen, S., et al. Efficient bioethanol production from sodium hydroxide pretreated corn stover and rice straw in the context of on-site cellulase production. Renew Energy, 2018. 118, 14–24. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2017.11.001>.
14. Lu, X.B., Zhang, Y.M., Yang, J., Liang, Y. Enzymatic hydrolysis of corn stover after pretreatment with dilute sulfuric acid. Chemical Engineering and Technology. 2007. 30, 938–944.
15. Cara, C., Ruiz, C., Oliva, J.M., Saez, F., Castro, E. Production of fuel ethanol from steam-explosion pretreated olive tree pruning. Bioresource Technology. 2008. 99, 1869–1876.

16. Production of microcrystalline cellulose by reactive extrusion: pat. US 6228213. №US09/154,376; publ. date 08.05.2001. <https://patents.google.com/patent/US6228213B1/en?q=6228213> (date of access: 03.03.2019).
17. Koo, B.W., Kim, H.Y., Park, N., Lee, S.M., Yeo, H., Choi, I.G. (2011) Organosolv pretreatment of *Liriodendron tulipifera* and simultaneous saccharification and fermentation for bioethanol production. *Biomass Bioenergy*. 2011. 35, 1833–1840. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.01.014>.
18. Joy, S.P., Kumar, A.A., Gorthy, S., Jaganathan, J., Kunappareddy, A., Gaddameedi, A. et al. (2021) Variations in structure and saccharification efficiency of biomass of different sorghum varieties subjected to aqueous ammonia and glycerol pretreatments. *Ind Crops Prod.*, 159. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.113072>.
19. Li, X., Zheng, Y. Lignin-enzyme interaction: Mechanism, mitigation approach, modeling, and research prospects. *Biotechnol Adv.* 2017. 35, 466–489. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.03.010>.
20. Naresh Kumar, M., Ravikumar, R., Thenmozhi, S., Kirupa Sankar, M. Development of natural cellulase inhibitor mediated intensified biological pretreatment technology using *Pleurotus florida* for maximum recovery of cellulose from paddy straw under solid state condition. *Bioresour Technol.* 2017. 244, 353–361. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.105>.
21. Sharma, H. K., Xu, C., Qin, W. Biological pretreatment of lignocellulosic biomass for biofuels and bioproducts: an overview. *Waste Biomass Valoriz.* 2019. 10, 235–251.
22. Xie, C., Gong, W., Yang, Q., Zhu, Z., Yan, L., Hu, Z., et al. White-rot fungi pretreatment combined with alkaline/oxidative pretreatment to improve enzymatic saccharification of industrial hemp. *Bioresour Technol.* 2017. 243, 188–195. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.077>.
23. Shen, F., Zhong, B., Wang, Y., Xia, X., Zhai, Z., Zhang, Q. Cellulolytic microflora pretreatment increases the efficiency of anaerobic co-digestion of rice straw and pig manure. *BioEnergy Research*. 2019. 12, 703–713.
24. Arora, A., Priya, S., Sharma, P., Sharma, S., Nain, L. Evaluating biological pretreatment as a feasible methodology for ethanol production from paddy straw. *Biocatal Agric Biotechnol.* 2016. 8, 66–72. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2016.08.006>.
25. Shukla, A., Kumar, D., Girdhar, M., Kumar, A., Goyal, A., Malik, T., Mohan, A. Strategies of pretreatment of feedstocks for optimized bioethanol production: distinct and integrated approaches. *Biotechnology for Biofuels and Bioproducts*. 2023. 16 (44). <https://doi.org/10.1186/s13068-023-02295-2>.
26. Pereira, G. N., Cesca, K., Vieira Cubas, & de Oliveira, D. Use of non-thermal plasma in lignocellulosic materials: A smart alternative. *Trends in Food Science & Technology*, 2021, 109, 365–373. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2021.01.047>.
27. Ravindran, R., Sarangapani, C., Jaiswal, S., Lu, P., Cullen, P. J., Bourke, P., & Jaiswal, A. K. Improving enzymatic hydrolysis of brewer spent grain with nonthermal plasma. *Bioresour Technol.* 2019, 282, 520–524. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2019.03.071>.
28. Miranda, F. S., Rabelo, S. C., Pradella, J. G. C., Carli, C. Di, Petraconi, G., Maciel, H. S., Pessoa, R. S., & Vieira, L. Plasma in-liquid using non-contact electrodes: A method of pretreatment to enhance the enzymatic hydrolysis of biomass. *Waste and Biomass Valorization*, 2020, 11(9), 4921–4931. doi.org/10.1007/S12649-019-00824-5/FIGURES/6.
29. Zhang, K., Pei, Z., & Wang, D. Organic solvent pretreatment of lignocellulosic biomass for biofuels and biochemicals: A review. *Bioresour Technol.* 2016, 199, 21–33. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2015.08.102>.
30. Scelsi, E., Angelini, A., & Pastore, C. Deep eutectic solvents for the valorisation of lignocellulosic biomasses towards fine chemicals, 2021, <https://doi.org/10.3390/biomass1010003>.
31. Escobar, E. L. N., da Silva, T. A., Pirich, C. L., Corazza, M. L., & Pereira Ramos, L. Supercritical fluids: A promising technique for biomass pretreatment and fractionation. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2020, 8, Article 524832. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00252>.
32. Zhu, L., Liang, K., Wang, M., Xing, T., Chen, C., & Wang, Q. Microwave-assisted formic acid/cold caustic extraction for separation of cellulose and hemicellulose from biomass. *BioResources*, 2023, 18(4), 6896–6912. <https://doi.org/10.15376/biores.18.4.6896-6912>.
33. Dinh Vu, N., Tran, H.T., Bui, N.D., Duc Vu, C., & Nguyen, H.V. Lignin and cellulose extraction from vietnam's rice straw using ultrasound-assisted alkaline treatment method., 2017, <https://doi.org/10.1155/2017/1063695>.
34. Subhedar, P. B., & Gogate, P. R. Use of ultrasound for pretreatment of biomass and subsequent hydrolysis and fermentation. *Biomass Fractionation Technologies for a Lignocellulosic Feedstock Based Biorefinery*, 2016, 127–149. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802323-5.00006-2>.
35. Olatunde, O. O., Shiekh, K. A., & Benjakul, S. Pros and cons of cold plasma technology as an alternative non-thermal processing technology in seafood industry. *Trends in Food Science & Technology*, 2021, 111, 617–627. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2021.03.026>.
36. Seidel, C. M., Brethauer, S., Gyenge, L., Rudolf Von Rohr, P., & Studer, M. H. Two-stage steam explosion pretreatment of softwood with 2-naphthol as carbocation scavenger. *Biotechnology for Biofuels*, 2019, 12(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/S13068-019-1373-3/TABLES/6>.

37. Narayanaswamy, N., Dheeran, P., Verma, S., & Kumar, S. Biological pretreatment of lignocellulosic biomass for enzymatic saccharification. *Green Energy and Technology*, 2013, 115, 3–34. https://doi.org/10.1007/978-3-642-32735-3_1.

38. Liu, X., Jiang, Y., Qin, C., Yang, S., Song, X., Wang, S., et al. Enzyme-assisted mechanical grinding for cellulose nanofibers from bagasse: Energy consumption and nanofiber characteristics. *Cellulose*, 2018, 25(12), 7065–7078. <https://doi.org/10.1007/s10570-018-2071-1>.

References

1. Thi Tuong An Tran, Thi Kim Phung Le, Thanh Phong Mai, Dinh Quan Nguyen. (2019). Bioethanol Production from Lignocellulosic Biomass. *Alcohol Fuels – Current Technologies and Future Prospect*. Edited by Yongseung Yun. 136 p. ISBN 978-1-78985-044-4. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.86437>.

2. Renewable Fuels Association. Annual ethanol production (2023) <https://ethanolrfa.org/markets-and-statistics/annual-ethanol-production>.

3. Shukla, A., Kumar, D., Girdhar, M., Kumar, A., Goyal, A., Malik, T., Mohan, A. (2023). Strategies of pretreatment of feedstocks for optimized bioethanol production: distinct and integrated approaches. *Biotechnology for Biofuels and Bioproducts*. <https://doi.org/10.1186/s13068-023-02295-2>.

4. Abolore, R.S., Jaiswal S., Amit K. Jaiswal A.K. (2024) Green and sustainable pretreatment methods for cellulose extraction from lignocellulosic biomass and its applications: A review. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 7, 1–28. <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2023.100396>.

5. Sheehan J. (2001). The road to bioethanol: A strategic perspective of the US Department of Energy's national ethanol program. In: Himmel, M., Baker, J., Saddler, J, editors. *Glycosyl Hydrolases for Biomass Conversion*. Washington, D.C: American Chemical Society, 2–25.

6. Carrillo-Nieves, D., Rostro Alanis, M.J., de la Cruz, Q.R., Ruiz, H.A., Iqbal, HMN., Parra-Saldivar, R. (2019). Current status and future trends of bioethanol production from agro-industrial wastes in Mexico. *Renew Sustain Energy Rev.*102, 63–74.

7. Da Silva, A.R.G., Errico, M., Rong, B.G. (2018). Systematic procedure and framework for synthesis and evaluation of bioethanol production processes from lignocellulosic biomass. *Bioresour Technol Rep.* 4, 29–39. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2018.08.015>.

8. Fan Guo-Zhi (2017) Preparation of microcrystalline cellulose from rice straw under microwave irradiation. *J. Appl. Polym. Sci.*, 22, 134.

9. Fernandes, M.C., Ferro, M.D., Paulino, A.F., Mendes, J.A., Gravitis, J., Evtuguin, D.V., et al. (2015). Enzymatic saccharification and bioethanol production from *Cynara cardunculus* pretreated by steam explosion. *Bioresource Technology*, 186, 309.

10. Kumar, R., Prakash, O. (2023) .Experimental investigation on effect of season on the production of bioethanol from wheat-stalk (WS) using simultaneous saccharification and fermentation (SSF) method. *Fuel*, 3511 <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2023.128958>.

11. Kim, J. S., Lee, Y. Y., Kim, T. H. (2016). A review on alkaline pretreatment technology for bioconversion of lignocellulosic biomass. *Bioresour Technol.*, 199, 42–48. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.085>.

12. Bali, G., Meng, X., Deneff, J.I., Sun, Q., Ragauskas, A.J. (2015). The effect of alkaline pretreatment methods on cellulose structure and accessibility. *Chemsuschem*, 8, 275–279.

13. Zhao, C., Zou, Z., Li, J., Jia, H., Liesche, J., Chen, S., et al. (2018). Efficient bioethanol production from sodium hydroxide pretreated corn stover and rice straw in the context of on-site cellulase production. *Renew Energy*, 118, 14–24. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2017.11.001>.

14. Lu, X.B., Zhang, Y.M., Yang, J., Liang, Y. (2007). Enzymatic hydrolysis of corn stover after pretreatment with dilute sulfuric acid. *Chemical Engineering and Technology*. 30, 938–944.

15. Cara, C., Ruiz, C., Oliva, J.M., Saez, F., Castro, E. (2008). Production of fuel ethanol from steam-explosion pretreated olive tree pruning. *Bioresource Technology*, 99, 1869–1876.

16. Production of microcrystalline cellulose by reactive extrusion: pat. US 6228213. №US09/154,376; publ. date 08.05.2001. (date of access: 03.03.2019) <https://patents.google.com/patent/US6228213B1/en?q=6228213>.

17. Koo, B. W., Kim, H. Y., Park, N., Lee, S. M., Yeo, H., Choi, I. G. (2011). Organosolv pretreatment of *Liriodendron tulipifera* and simultaneous saccharification and fermentation for bioethanol production. *Biomass Bioenergy*, 35, 1833–1840. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.01.014>.

18. Joy, S.P., Kumar, A.A., Gorthy, S., Jaganathan, J., Kunappareddy, A., Gaddameedi, A. et al. (2021). Variations in structure and saccharification efficiency of biomass of different sorghum varieties subjected to aqueous ammonia and glycerol pretreatments. *Ind Crops Prod.* 159. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.113072>.

19. Li, X., Zheng, Y. (2017). Lignin-enzyme interaction: Mechanism, mitigation approach, modeling, and research prospects. *Biotechnol Adv.* 35, 466–489. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.03.010>.

20. Naresh Kumar, M., Ravikumar, R., Thenmozhi, S., Kirupa Sankar, M. (2017). Development of natural cellulase inhibitor mediated intensified biological pretreatment technology using *Pleurotus florida*

for maximum recovery of cellulose from paddy straw under solid state condition. *Bioresour Technol.*, 244, 353–361. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.105>.

21. Sharma, H.K., Xu, C., Qin, W. (2019) Biological pretreatment of lignocellulosic biomass for biofuels and bioproducts: an overview. *Waste Biomass Valoriz.*, 10, 235–251.

22. Xie, C., Gong, W., Yang, Q., Zhu, Z., Yan, L., Hu, Z., et al. (2017). White-rot fungi pretreatment combined with alkaline/oxidative pretreatment to improve enzymatic saccharification of industrial hemp. *Bioresour Technol.* 243,188–195. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.077>.

23. Shen, F., Zhong, B., Wang, Y., Xia, X., Zhai, Z., Zhang, Q. (2019). Cellulolytic microflora pretreatment increases the efficiency of anaerobic co-digestion of rice straw and pig manure. *BioEnergy Research.*, 12, 703–713.

24. Arora, A., Priya, S., Sharma, P., Sharma, S., Nain, L. (2016). Evaluating biological pretreatment as a feasible methodology for ethanol production from paddy straw. *Biocatal Agric Biotechnol.*, 8, 66–72. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2016.08.006>.

25. Shukla, A., Kumar, D., Girdhar, M., Kumar, A., Goyal, A., Malik, T., Mohan, A. (2023). Strategies of pretreatment of feedstocks for optimized bioethanol production: distinct and integrated approaches. *Biotechnology for Biofuels and Bioproducts*, 16 (44). <https://doi.org/10.1186/s13068-023-02295-2>.

26. Pereira, G. N., Cesca, K., Vieira Cubas, & de Oliveira, D. (2021). Use of non-thermal plasma in lignocellulosic materials: A smart alternative. *Trends in Food Science & Technology*, 109, 365–373. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2021.01.047>.

27. Ravindran, R., Sarangapani, C., Jaiswal, S., Lu, P., Cullen, P. J., Bourke, P., & Jaiswal, A. K. (2019). Improving enzymatic hydrolysis of brewer spent grain with nonthermal plasma. *Bioresource Technology*, 282, 520–524. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2019.03.071>.

28. Miranda, F. S., Rabelo, S. C., Pradella, J. G. C., Carli, C. Di, Petraconi, G., Maciel, H. S., Pessoa, R. S., Vieira, L. (2020). Plasma in-liquid using non-contact electrodes: A method of pretreatment to enhance the enzymatic hydrolysis of biomass. *Waste and Biomass Valorization*, 11(9), 4921–4931. [doi.10.1007/S12649-019-00824-5/FIGURES/6](https://doi.org/10.1007/S12649-019-00824-5/FIGURES/6).

29. Zhang, K., Pei, Z., & Wang, D. (2016). Organic solvent pretreatment of lignocellulosic biomass for biofuels and biochemicals: A review. *Bioresource Technology*, 199, 21–33. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2015.08.102>.

30. Scelsi, E., Angelini, A., & Pastore, C. (2021). Deep eutectic solvents for the valorisation of lignocellulosic biomasses towards fine chemicals. <https://doi.org/10.3390/biomass1010003>.

31. Escobar, E. L. N., da Silva, T. A., Pirich, C. L., Corazza, M. L., & Pereira Ramos, L. (2020). Supercritical fluids: A promising technique for biomass pretreatment and fractionation. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, Article 524832. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00252>

32. Zhu, L., Liang, K., Wang, M., Xing, T., Chen, C., & Wang, Q. (2023). Microwave-assisted formic acid/cold caustic extraction for separation of cellulose and hemicellulose from biomass. *BioResources*, 18(4), 6896–6912. <https://doi.org/10.15376/biores.18.4.6896-6912>

33. Dinh Vu, N., Tran, H.T., Bui, N.D., Duc Vu, C., Nguyen, H.V. (2017). Lignin and cellulose extraction from vietnam's rice straw using ultrasound-assisted alkaline treatment method. <https://doi.org/10.1155/2017/1063695>.

34. Subhedar, P. B., & Gogate, P. R. (2016). Use of ultrasound for pretreatment of biomass and subsequent hydrolysis and fermentation. *Biomass Fractionation Technologies for a Lignocellulosic Feedstock Based Biorefinery* (pp. 127–149). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802323-5.00006-2>.

35. Olatunde, O. O., Shiekh, K. A., & Benjakul, S. (2021). Pros and cons of cold plasma technology as an alternative non-thermal processing technology in seafood industry. *Trends in Food Science & Technology*, 111, 617–627. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2021.03.026>.

36. Seidel, C. M., Brethauer, S., Gyenge, L., Rudolf Von Rohr, P., & Studer, M. H. (2019). Two-stage steam explosion pretreatment of softwood with 2-naphthol as carbocation scavenger. *Biotechnology for Biofuels*, 12(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/S13068-019-1373-3/TABLES/6>.

37. Narayanaswamy, N., Dheeran, P., Verma, S., & Kumar, S. (2013). Biological pretreatment of lignocellulosic biomass for enzymatic saccharification. *Green Energy and Technology*, 115, 3–34. https://doi.org/10.1007/978-3-642-32735-3_1.

38. Liu, X., Jiang, Y., Qin, C., Yang, S., Song, X., Wang, S., et al. (2018). Enzyme-assisted mechanical grinding for cellulose nanofibers from bagasse: Energy consumption and nanofiber characteristics. *Cellulose*, 25(12), 7065–7078. <https://doi.org/10.1007/s10570-018-2071-1>.