

Výskumný ústav papiera a celulózy, a.s.
Pulp and Paper Research Institute
Dúbravská cesta 14, 841 04 Bratislava



VÝSKUMNÁ SPRÁVA

Názov projektu: Nová metóda predspracovania biomasy kryolýzou

Etapa 1: Analýza morfológie a chemického zloženia pórovitých substrátov

Názov správy: Predspracovanie dreva kryolýzou.

Autori správy: Ing. Štefan Boháček, PhD., Ing. Michal Halaj, PhD., Ing. Vladimír Kuňa, Ing. Jozef Balberčák, Ing. Monika Stankovská, PhD., Ing. Andrej Pažitný, Ing. Albert Russ

1. Číslo projektu: ITMS: 313011S735				
2. Prírastkové číslo: 3264		3. Podpis originálu riaditeľom sekcie		
4. Názov a adresa riešiteľského pracoviska: Výskumný ústav papiera a celulózy a.s., Dúbravská cesta 14, 841 04 Bratislava				
5. Vedúci riešiteľského pracoviska: Ing. Štefan Boháček, PhD. generálny riaditeľ a.s.		6. Riešiteľ projektu: Ing. Štefan Boháček, PhD.		
		7. Riešiteľ čiastkovej úlohy: Ing. Michal Halaj, PhD.		
		8. Druh úlohy: štátna		
9. Názov projektu: Nová metóda predspracovania biomasy kryolýzou				
10. Názov etapy: Etapa 1: Analýza morfológie a chemického zloženia pórovitých substrátov				
11. Autori správy: Ing. Štefan Boháček, PhD., Ing. Michal Halaj, PhD., Ing. Vladimír Kuňa, Ing. Jozef Balberčák, Ing. Monika Stankovská, PhD., Ing. Andrej Pažitný, Ing. Albert Russ				
12. Názov správy: Predspracovanie dreva kryolýzou.				13. Druh správy: Štúdia
14. Dátum ukončenia správy 12.2020	15. Číslo zväzku 1	16. Počet strán textu 24	17. Počet samostatných príloh: 0	18. Počet citovaných prameňov: 55
19. Počet výtlačkov správy 2	20. Dátum začiatku výskumu 01.2020	21. Dátum ukončenia 12.2023	22. Znak MDT	
			23. Stupeň utajenia: Prístupné	
24. Kľúčové slová:				

OBSAH

ÚVOD

Kapitola 1: Súčasný stav výskumu v oblasti predspracovania biomasy kryolýzou..... 4

Kapitola 2: Vedecká hypotéza 10

2.1. Vplyv tvorby ľadu na živé rastliny

2.2. Nukleácia a rast ľadových kryštálov

2.3. Vplyv rýchlosti zmrazovania na štruktúru ľadových kryštálov

2.4. Teploty zmrazovania, veľkosti kryštálov ľadu

Kapitola 3: Pohyb a viazanie vody v dreve 13

3.1. Čerstvé drevo a bod nasýtenia vlákien

3.2. Relatívna vlhkosť dreva

3.3. Viazaná a voľná voda v dreve

3.4. Pohyb voľnej vody v dreve

3.5. Teória kapilárneho vzliňania

3.6. Sorpcia vody pod bodom nasýtenia vlákien

Kapitola 4: Morfológia pórovitého substrátu dreva 18

4.1. Anatómia ihličnatého dreva

4.2. Anatómia listnatého dreva

4.3. Hustota dreva

4.4. Hustota bunkovej steny

4.5. Porozita dreva

Kapitola 5: Chemické zloženie pórovitého substrátu dreva 24

PREDSPRACOVANIE DREVA KRYOLÝZOU

Úvod

Predspracovanie zmrazovaním resp. cyklickým zmrazovaním a rozmrazovaním je jedna z metód predspracovania za účelom sprístupnenia lignocelulózovej štruktúry enzýmom. Metóda má potenciál na to, aby bola energeticky efektívnou. Kryštály ľadu na mikro a nano úrovni sa tvoria v lúmenoch vodou naimpregnovanej biomasy, pri zmene skupenstva zväčšujú svoj objem a ostrými hranami rastúcich kryštálikov narúšajú substrát. Pri pomalom zmrazovaní zmena skupenstva nastáva postupne z vonkajšej strany, pričom zamrznutý povrch sa stane tvrdým, krehkým a uzavretým a ďalšia zmena skupenstva vody na ľad vo vnútri lignocelulózových častíc spôsobuje želanú deštrukciu kryštalickej štruktúry celulózy.

Pri pomalom zmrazovaní sú kryštáliky ľadu väčšie ako pri rýchlom zmrazovaní. Metóda nazvaná "rýchle zmrazovanie" bola vytvorená pre zmrazovanie potravín. Keď zamrzne voda v potravinách, kryštály ľadu sa vytvoria v rozmedzí teplôt -1°C a -5°C . Ak sa rýchlo tento teplotný rozsah prekoná (ideálne do 30 minút), väčšina kryštálov nenarastie do príliš veľkých rozmerov a bunky sa neporušia.

Porušenie vnútornej štruktúry dreva je proces zložitejší, pretože v prírode rastliny majú obranné mechanizmy proti nízkym teplotám. Okrem toho sa v dreve nachádza okrem voľnej vody v lúmenoch aj nemrznúca voda, chemicky viazaná na polyméry dreva. To znamená, že pri kryolýze sa snažíme mraziť, čo najväčšie množstvo voľnej vody nachádzajúcej sa v lúmenoch a medzibunkových priestoroch. Penetrácii tejto vody však v neživom dreve bránia ďalšie obranné mechanizmy ešte z rastu stromu ako je napr. tylatácia a podobne.

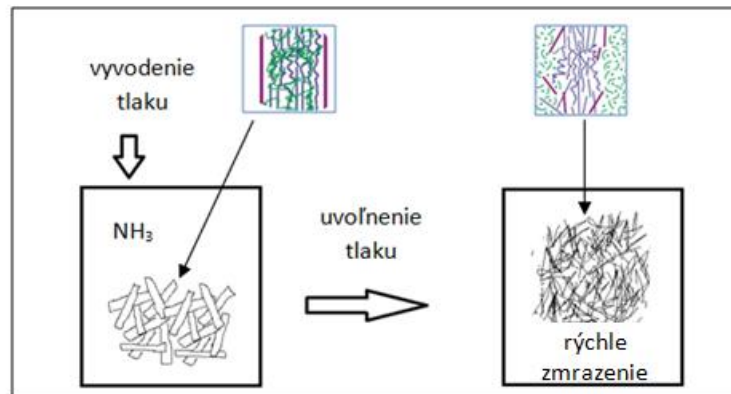
Proces kryolýzy je technologicky možné dosiahnuť pri rôznych teplotách pod bodom, kedy sa začínajú tvoriť kryštály ľadu. Tento bod nemusí byť práve 0°C , čiže bode zmeny skupenstva vody, ale aj nižší, závislý od vodnej zmesi obsiahnutej v dreve. Istú úlohu môže zohrať aj stav podchladenia (supercooling).

Kapitola 1: Súčasný stav výskumu v oblasti predspracovania biomasy kryolýzou

Výskumy v rámci predspracovania biomasy zmrazovaním existujú, ale ucelená teória stále chýba. Dale and Moreira (1982) vyvinuli novú metódu, ktorú nazvali „freeze-explosion“, na zvýšenie reaktivity celulózy. Celulózový materiál je impregnovaný kvapalinou, ktorá sa pri uvoľnení tlaku odparuje, čím sa zníži teplota okolia (obr.1). Enzymatickou hydrolýzou slamy sa dosiahla viac ako 90%-ná konverzia celulózy na glukózu, pričom sa použila táto technika s využitím tekutého amoniaku.

Chang et al. (2001) využil zmrazovanie ryžovej slamy na preukázanie zvýšenia jej prístupnosti- stráviteľnosti enzýmami zo 48% na 84%. Podľa výsledkov enzymatická hydrolýza nespracovanej ryžovej slamy s 150 U celulázou a 100 U xylanázou počas 48 hodín poskytla $226,77 \text{ g.kg}^{-1}$ a $93,84 \text{ g.kg}^{-1}$. Výťažky cukrov z predúpravy zmrazovaním za rovnakých podmienok však boli $417,27 \text{ g.kg}^{-1}$ a $138,77 \text{ g.kg}^{-1}$. V tomto výskume bol najvyšší výťažok glukózy získaný v množstve $371,91 \text{ g.kg}^{-1}$. Yang et al. (2009) skúmal potenciál

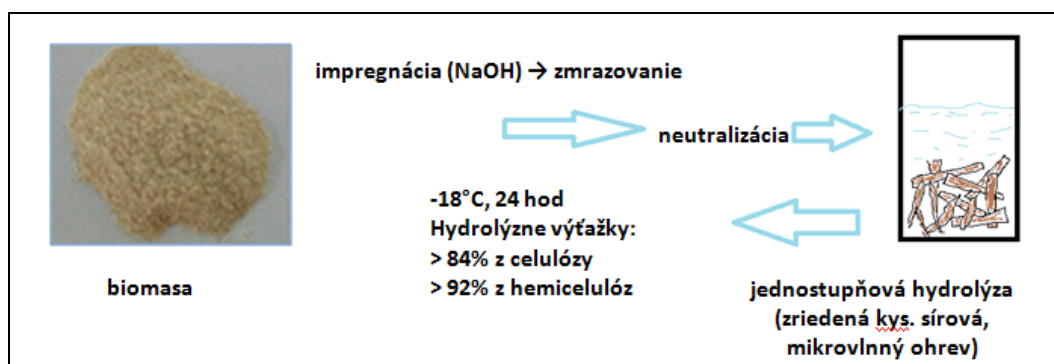
sušenia switchgrass (*Panicum virgatum*) pomocou zmrazovania. Switchgrass obsahuje 24.34–30.95% glukanu, 14.68–18.58% xylanu a 17.39–19.46% lignínu. Vzorky potom upravoval zriedenou kyselinou sírovou s koncentráciou 0.5, 1.0, or 1.5% počas 30, 45, or 60 min pri 121 °C a tlaku 15 psi. Fermentáciu uskutočnil pomocou kvasiniek *Saccharomyces cerevisiae* a dosiahol výťažok 0.083 g of etanolu/g pre odrodu St6-3F, čo predstavuje cca 60% teoretickej hodnoty.



Obr. 1: Predúprava biomasy tekutým amoniakom v reaktore pod tlakom. V súčasnosti je známa pod názvom AFEXTM (ammonia fiber expansion pretreatment) a uplatňuje sa teplota 60-100°C pod tlakom 17-20 ATM..

Wang et al. (2013) skúmal pozitívny účinok zmrazovania a následného rozmrazovania pšeničnej slamy impregnovanej zriedenou kyselinou sírovou. Podmienky optimalizoval na 12 hodín pri -20°C a 1 hodinu pri teplote miestnosti (25°C). Po dvojnásobnom opakovaní a úprave s 2% hmotn. kyseliny sírovej počas 16 hodín pri 80°C, s 20 U/g celulázy, nastala konverzia 67% celulózy a hemicelulózy na glukózu a xylózu. Výťažok furfuralu klesol o 65% a čas kyslej hydrolýzy sa skrátil o 20%. Boháček et al. (2014) opísal novú metódu predspracovania opakovaným kontrolovaným zmrazovaním a rozmrazovaním za účelom otvorenia kryštalickej štruktúry celulózy a zväčšenia mernej povrchovej plochy vybraných druhov lignocelulóзовých materiálov pre sprístupnenie hydrolytickými enzýmami. Metóda využíva cyklické zmrazovanie a rozmrazovanie - ľadové kryštáliky, ktoré sa vytvoria počas zmrazovania rozrušia lignocelulóзовý komplex a vodíkové väzby a enzýmy budú mať lepší prístup k celulóze počas procesu enzymatickej hydrolýzy. Boháček et al. (2016) opísal metódu predspracovania kontrolovaným zmrazovaním kombinovaným s mechanickým predspracovaním za účelom zvýšiťmernú povrchovú plochu vybraných druhov lignocelulóзовých materiálov. Táto metóda využíva kombináciu účinku zmrazovania a mechanického predspracovania – kryštály ľadu, ktoré sa vytvoria počas zmrazovania narušia komplex lignínu a celulózy a taktiež už vytvorené vodíkové väzby. Následné drvenie/mletie zmrznutej biomasy znásobuje efekt narušených väzieb. Enzýmy majú potom lepší prístup k celulóze počas kontrolovanej enzymatickej hydrolýzy. Rooni et al. (2016) uskutočnil poľné testy na jačmennej slame v Estónsku. Porovnávanie uskutočnil na pomletej biomase, ktorá bola napustená vodou a zmrazovaná pri -18°C a potom sa nechala roztopiť pri teplote okolo 22°C. Zmrazovacie cykly sa opakovali niekoľkokrát. Najvyššiu účinnosť hydrolýzy

(19,42%) sa dosiahla v laboratórnych testoch, pri ktorých bola biomasa zmrazená a rozmrazená celkom štyrikrát. Najlepší výsledok z poľného testu bol 10,28%. Výťažky fermentácie sa pohybovali až do 88,80 g na kilogram biomasy. Smichi et al. (2016) vykonal testy na *Juncus maritimus*, ktorý obsahovali 41.5% celulózy a 31.3% hemicelulózy. Uskutočnil porovnanie predúpravy so zriedenou kyselinou a zmrazovaním-rozmrazovaním. Maximálnu koncentráciu glukózy (53.78 ± 3.24) g L⁻¹ za pomoci zmrazovania a rozmrazovania a enzymatickej sacharifikácie (55 °C, pH 5.0 a 48 h) sa dosiahli použitím CellicCTec2 Novozymes. Koncentráciu (49.14 ± 5.24) g L⁻¹ dosiahol kyslou hydrolyzou. Maximálny výťažok etanolu dosiahol fermentáciou pomocou *Saccharomyces cerevisiae* po kyslej hydrolyze (84.28 ± 5.11)% a (1.04 ± 0.10) g L⁻¹h⁻¹ po zmrazovaní a rozmrazovaní. Jeong et al. (2016) študoval efekt zmrazovania na mongolský dub (*Quercus mongolica*), ktorý bol upravený 1%-nou kyselinou sírovou. Študoval degradáciu hemicelulózy aj následnú enzymatickú hydrolyzu. Výsledky ukázali, že obsah redukujúcich cukrov sa mierne zvyšoval až do 120 minútového zmrazenia. Obsah xylózy bol najvyšší (18,22 g/ 100 g) pri špecifickom pomere tuhej látky k mraziacemu roztoku 5 : 3 (hmotn./obj.). Keď sa ako mraziaci roztok použila destilovaná voda, výťažok glukózy sa maximalizoval na 36,2% s mierou konverzie 87,92%. Su and Fang (2017) sa sústredili na dosiahnutie hydrolyzy odpadov z tropickej biomasy v jednom stupni (obr. 2), pričom uskutočnili zmrazovanie biomasy s 3% hmot. NaOH a následnú kyslú hydrolyzu pomocou zriedenej kyseliny sírovej v mikrovlnnej rúre. Výťažky cukrov z celulózy (glukózy) a hemicelulózy (xylózy, manózy a arabinózy) v predspracovanej bagase boli 84,0% a 92,7%, zvýšené o 273,4% a 59,3% v porovnaní s neošetrenými vzorkami. Najlepšie podmienky (140°C, 30 s, substrát/rozpušťač = 1/60 a 0.4 M H₂SO₄) aplikovali aj na šupky *Jatropha* a *Plukenetia*. Dosiahli výťažky glukózy a hemicelulózy 85,7% a 93,3% a 85,0% a 92,9%.



Obr. 2: Jedno stupňová kyslá hydrolyza za pomoci mikrovlnného ohrevu impregnovanej bagasy (3% hm. NaOH) predúpravenej zmrazovaním.

Deng et al. (2018) študovali účinok zmrazovania a rozmrazovania na anaeróbnú digesciu pri výrobe metánu z ryžovej slamy. Účinok (zvýšenie 88% - 117%) bol sledovaný pri teplotách (-4°C) a (-20°C) počas 24-48 h. Technický čas sa skrátil o 8 dní a maximálna produkcia metánu bola získaná za podmienok -20°C a 48 hodín. Echeverria et al. (2018) porovnával účinok acidifikácie a zmrazovania a ich kombinácie na zložky kukurice a na ich

enzymatickú hydrolýzu. Kukurica, ktorá obsahovala celulózu (40.95%), hemicelulózy (38.94%) a nízky obsah lignínu (16.54%), bola mrazená pri -20°C počas 12 h s 0.25 M kyselinou sírovou, pH 2.0, a rozmrazovaná pri 121°C počas 20 min. Enzymatická hydrolýza $150 U_{\text{celuláza}}/\text{g}_{\text{substrát}}$ v 10 mL acetát pri 100 otáčky/min, 37°C a pH 5.48 počas 72 h. Najvyššie výťažky celulózy (64.12%) a lignínu (19.76%) a malé množstvo hemicelulóz (10.16%) bolo namerané pri kombinácii metód. Mikroskopické sledovanie pri vzorkách s kombinovaným predspracovaním, vykazuje rozdelenú a menej aglomerovanú štruktúru. Yuan et al. (2019) skúmal zvýšenie produkcie biometánu z kukuričných stoniek pomocou ich zmrazovania a rozmrazovania s predchádzajúcou úpravou amoniakom s koncentráciou (2%, 4% a 6%) pri obsahu vlhkosti (50% a 60%) a teplotách (-20°C and 20°C). Optimálne podmienky boli stanovené na -20°C , obsah vlhkosti 70% a koncentrácia amoniaku 2%. Výťažok bioetanolu sa zvýšil o 41.08% oproti neupraveným vzorkám. Najvyšší úbytok lignínu sa prejavil pri -20°C s 2%-nou koncentráciou amoniaku, čo predstavuje 63.36% z neupravenej vzorky. Li et al. (2019a) skúmal prirodzené zmrazovanie- rozmrazovanie kukuričných stoniek pre výrobu biometánu v anaeróbných podmienkach. Predúpravu zmrazovaním- rozmrazovaním uskutočnil pre obdobie (7, 14, 21 a 28 dni) a pomer sušina/voda (1:2, 1:4, 1:6, 1:8 a 1:10). Najlepšie výsledky dosiahol pri 21 dňoch a pomere 1: 6. Ten istý autor vo svojej ďalšej práci (Li et al. 2019b) skúmal predúpravu kombinovaného zmrazovania a rozmrazovania (-20°C and 20°C) s prídavkom amoniaku (NH_3). Zaujímal sa o mechanizmy štruktúrnej deštrukcii kukuričných stoniek. Teoretický výpočet ukázal, že poškodenie kryštalickej celulózy sa pripisuje vonkajším vodíkovým väzbám vytvoreným medzi vodou a celulózu alebo NH_3 a celulózu, čo viedlo k deštrukcii sietí vodíkových väzieb vo vnútri celulózy.

Sasaki et al. (2020) skúmali kryolýzu pšeničnej slamy (obsah celulózy 37.9%) a celulóзовého odpadu - bavlnených obrúskov (obsah celulózy 87.8%) vo vode a NaOH o koncentracii 1; 3 a 5% pri -30°C po dobu 24 h, rozmrazením vo vriacej vode a následnou hydrolýzou pri koncentráciách kyseliny sírovej 0.25 (iba pre pšeničnú slamu); 0.5; 1 a 2% pri 200°C počas 30 s; 1; 2 a 3 min pre obrúsky a od 10 s po 7 min pre slamu. Výsledky v tejto práci ukázali optimálne parametre pre obrúsky 3 % NaOH, a hydrolýzu v 2% kyseline sírovej pri 200°C po dobu 30 s. Kryolýza pri týchto podmienkach zvýšila výťažok glukózy z 31% na 44.4% pripadajúcich na obsah celulózy. V prípade pšeničnej slamy, najvyšší výťažok glukózy pripadajúci na obsah celulózy, sa získal pri mikrovlnnej hydrolýze v 3% NaOH, pri teplote 200°C , koncentracii kyseliny sírovej 2% počas 2 min sa kryolýzou zvýšil z 34 na 41.2%.

Zhu et al. (2020) skúmal predspracovanie topoľového dreva kryolýzou na separáciu hemicelulózy. Počet cyklov kryolýzy bol 1-6, rozsah teplôt od -4°C do -70°C po dobu 12 h a následne sa materiál rozmrazoval počas 12 h pri laboratórnej teplote. Následne sa vzorka hydrolyzovala horúcou vodou pri teplote 170°C počas 1 h v pomere dreva a vody 1 : 6. Pri optimálnych podmienkach v tejto práci, ktoré boli stanovené: teplota -20°C , počet cyklov 4 a následnou hydrolýzou sa zvýšil obsah hemicelulózy v materiáli o 32.25%. Mikroskopické pozorovanie preukázalo rozpad štruktúry materiálu. Chundawat et al. (2020) testovali AFEXTM na kukuričných stonkách. Po enzymatickej hydrolýze neupravených vzoriek boli obsahy glukózy a xylózy 21 a 10 g/L, úprava pomocou AFEXTM zvýšila obsah glukózy 6-7 násobne a xylózy 3-4 násobne.

Použitá literatúra

1. Boháček, S., Fišerová, M., Gigac, J., Pažitný, A., Russ, A., Letko, M., Mikulášik, R., Ihnát, V., 2014: "Metóda zvýšenia prístupnosti lignocelulóзовých materiálov voči hydrolytickým enzýmom počas výroby biopalív ", Výskumný ústav papiera a celulózy a.s., Bratislava. PA 50076-2014 (IPO SR, 12.12.2014).
2. Pažitný, A., Russ, A., Kuňa, V., Balberčák, J., Ihnát, V., Stankovská, M., Boháček, S., Gigac, J., Medo, P., Schwartz, J., 2016: "Metóda zvýšenia výťažku monosacharidov počas výroby biopalív z lignocelulóзовých materiálov ", Výskumný ústav papiera a celulózy, a.s., Bratislava. PA 50083 – 2016 (IPO SR, 06.12.2016).
3. Dale, B.E.; Moreira, M.J., 1982: Freeze-explosion technique for increasing cellulose hydrolysis. In: Journal Volume: 12; Conference: 4. symposium on biotechnology in energy production and conservation, Gatlinburg, TN, USA.
4. Deng, Y., Qiu, L., Yao, Y., Qin, M., 2018: A technology for strongly improving methane production from rice straw: freeze–thaw pretreatment. RSC Adv. (8): 22643-22651.
5. Echeverria, C., Bazan, G., Gonzalez, J.S., Lescano, L., Pagador, S., Linares, G., 2018: Pre-treatment by Acidification and Freezing on Corn cob Polymers and its Enzymatic Hydrolysis. Asian Journal of Scientific 11 (2): 222-231.
6. Chang, K.L., Thitikorn-amorn, J., Hsieh, J.F., Ou, B.M., Chen, S.H., Ratanakhanokchai, K., Huang, P.J., Chen, S.T., 2011: Enhanced enzymatic conversion with freeze pretreatment of rice straw. Biomass and Bioenergy 35(1): 90-95.
7. Chundawat, S. P., Pal, R.K., Zhao, C., Campbell, T., Teymouri, F., Videto, J., Nielson, C., Wieferrich, B., Sousa, L., Dale B.E., Balan, V., 2020: Ammonia fiber expansion (AFEX) pretreatment of lignocellulosic biomass. Journal of Visualized Experiments (158).
8. Jeong, H.S., Jang, S.K., Kim, H.Y., Yeo, H., Choi, J.W., Choiac, I.G., 2016: Effect of freeze storage on hemicellulose degradation and enzymatic hydrolysis by dilute-acid pretreatment of Mongolian oak. Fuel Volume 165: 145-151.
9. Li, J., Wachemo, A.Ch., Yuan, H., Zuo, X., Li, X., 2019a: Natural freezing-thawing pretreatment of corn stalk for enhancing anaerobic digestion performance. Bioresource Technology 288: 121518.
10. Li, J., Wachemo, A.Ch. Yu, G., Li, X., 2019b: Enhanced anaerobic digestion performance of corn stalk pretreated with freezing-thawing and ammonia: An experimental and theoretical study. Journal of Cleaner Production, Available online 2 November 2019, 119112.
11. Rooni, V., Raud, M., Kikas, T., 2017: The freezing pre-treatment of lignocellulosic material: A cheap alternative for Nordic countries. Energy 139: 1-7.
12. Sasaki, C., Sumitomo, Y., Odashima, K., Asada, C., Nakamura, Y., 2020: Microwave-Assisted Hydrolysis of Cellulose in Towel and Wheat Straw Using Freeze-Thawing with NaOH. Waste and Biomass Valorization 1-9.
13. Smichi, N., Messaoudi, Y., Moujahed, N., Gargouri, M., 2016: Ethanol production from halophyte *Juncus maritimus* using freezing and thawing biomass pretreatment. Renewable Energy 85: 1357-1361.

14. Su, T.C.H., Fang, Z., 2017: One-pot microwave-assisted hydrolysis of cellulose and hemicellulose in selected tropical plant wastes by NaOH-freeze pretreatment. *ACS Sustainable Chem. Eng.* 2017, 5, 6: 5166-5174.
15. Wang, X.M., Wang, L.J., Yu, M., Chen, H., 2013: Freeze-thaw and sulfuric acid pretreatment of wheat straw for fermentable sugar release. *Advanced Materials Research (724-725)* : 257-260.
16. Yang, Y., Sharma-Shivappa, R.R., Burns, J.C., Cheng, J., 2009: Saccharification and fermentation of dilute-acid-pretreated freeze-dried switchgrass. *Energy Fuels* 23, 11: 5626-5635.
17. Yuan, H., Lan, Y., Zhu, J., Wachemo, A.Ch., Li, X., Yu, L., 2019: Effect on anaerobic digestion performance of corn stover by freezing–thawing with ammonia pretreatment. *Chinese Journal of Chemical Engineering* 27(1): 200-207.
18. Zhu, H., Ma, Q., Sheng, J., & Yang, R., 2020: Freeze–thaw repetition as an auxiliary method to promote efficient separation of hemicellulose from poplar. *Green Chemistry* 22(3): 942-949.

Kapitola 2: Vedecká hypotéza

Je potrebné potvrdiť alebo vyvrátiť predbežne sformulovanú vedeckú hypotézu, že pri rýchlom a intenzívnom zmrazení biomasy dokonale impregnovanej vodou, najprv prebehne zmena stavu kvapalnej vody na ľad na povrchu častíc lignocelulózového materiálu, a tá má za následok utesnenie jednotlivých častíc a zvýšenie krehkosti častíc. Po následnom postupnom znížení teploty by sa mali vytvárať ostré nano- a mikrokryštáliky ľadu v lúmenoch buniek biomasy smerom dovnútra častíc pričom súčasne dochádza ku zväčšeniu objemu pri fázovej premene vody na ľad v lúmenoch buniek, čo spôsobuje narušenie kryštalickej štruktúry celulózy a zvyšuje jej prístupnosť v následných procesoch hydrolýzy.

Štruktúra lignocelulózy je hustá a obsahuje kryštalickú oblasť, čo sťažuje aby molekuly vody do nej prenikli. Objem vody v lignocelulózovej štruktúre sa však po vytvorení ľadu zväčšuje a kapacita zadržiavania vody sa zvyšuje s predlžovaním doby tuhnutia v určitom rozsahu, čo priaznivejšie vedie k zväčšeniu medzibunkového priestoru a zväčšeniu plochy pre atak mikroorganizmov (Chang et al. 2011). Počas procesu mrazenia je nižšia povrchová teplota v porovnaní s vnútornou časťou lignocelulózy (Chang et al. 2011). Keď teplota mrazu klesá, objem voľnej vody v povrchových póroch sa najskôr rozširuje a molekula vody v póroch musí prekonať pri pohybe viskóznou odolnosť, výsledné tlakové gradienty vody majú výrazné poškodiť lignocelulóзовú štruktúru (Chang et al. 2011). K adsorpcii molekuly vody dochádza iba v amorfnej oblasti celulózy. Viazaná voda vytvára vodíkové väzby s hydroxylovými skupinami v amorfnej oblasti celulózy. Vnútorný objem lignocelulózovej štruktúry sa zvýši v dôsledku zníženia súdržnosti, tuhé látky zmäknú a dôjde k napučaniu. Deštrukcia lignocelulózovej štruktúry nastáva v dôsledku expanzie objemu vody počas zmrazovania.

2.1. Vplyv tvorby ľadu na živé rastliny

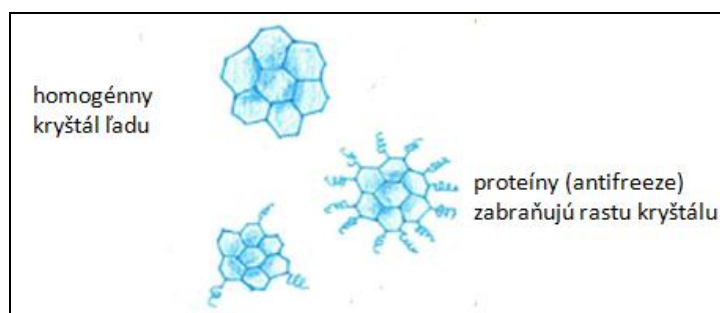
V prírode sú rastliny na nízkej teplote prispôsobené. Vedci rozoznávajú intracelulárny a extracelulárny účinok ľadu. **Intracelulárny ľad** predstavuje kryštály tvoriace sa vo vnútri bunky, ktorý vzniká pri silnom ochladení. Pri tvorbe intracelulárneho ľadu vznikajú hexagonálne kryštály. Spôsobené poškodenie je pre bunky fatálne. Spojeným nežiaducim účinkom je znižovanie rozpustnosti solí a zároveň zmena pH, čo ovplyvňuje rozpustnosť proteínov a náboj aminokyselín (Hojdová 2017). **Extracelulárny ľad** vzniká v medzibunkových priestoroch. Často vzniká pri pomalom ochladení a závisí od množstva osmoticky aktívnych látok, ktoré znižujú bod tuhnutia. Ak sú bunky vystavené postupnému pomalému ochladzovaniu, voda v extracelulárnom priestore zmrazne a na membráne sa vytvorí gradient vody. Voda z vnútra bunky začne prúdiť von. Tento proces má významný kryoprotekčný účinok, pretože sa znižuje množstvo dostupnej vody pre vytvorenie ľadu vo vnútri buniek. Tvorba extracelulárneho ľadu znižuje pravdepodobnosť vytvorenia kryštálov ľadu vo vnútri buniek (Hojdová 2017).

V prírode je dôležitý tzv. **supercooling** (podchladenie), pretože je to jeden z mechanizmov, pomocou ktorého živé rastliny a zvieratá zvládajú teploty pod nulou alebo minimalizujú poškodenie svojho tkaniva, ktoré môže spôsobiť tvorba ľadu. Pri supercooling

je kvapalina podchladená pod pôvodným bodom mrazu. Toto je metastabilný stav kvapaliny; kvapalina môže zostať v tomto stave veľmi dlho, kým nedôjde k nukleácii prvého kryštálu. Potom kryštály rastú a rýchlo sa šíria po celom objeme. Čistá voda (zbavená nečistôt, ako sú prachové častice, ktoré by fungovali ako nukleačné centrá) sa môže podchladiť na teplotu aj na teplotu -40°C . Häusler a kol. 2017 uskutočnili experiment pričom pre ultračistú vodu dosiahli ($T_{50} = -37,2^{\circ}\text{C}$) a ultračistú vodu s nukleačným centrom - peľ brezy (*Betula pendula*) ($T_{50} = -18^{\circ}\text{C}$) a peľ borievky (*Juniperus communis*) ($T_{50} = -22,7^{\circ}\text{C}$).

2.2. Nukleácia a rast ľadových kryštálov

Ľadové kryštály vznikajú z jadier kritickej veľkosti (**nukleačné centrá**), ktoré následne rastú. Nukleácia môže byť homogénna alebo heterogénna. Homogénna nukleácia sa vyskytuje iba v homogénnych kvapalinách bez častíc a nastáva v dôsledku náhodných výkyvov molekúl. Bunkové povrchy pôsobia ako miesta nukleácie a potom je nukleácia heterogénna. Pravdepodobnosť nukleácie v danom mieste sa zvyšuje, ak sa molekulárna štruktúra povrchu podobá ľadovej. Čistá voda zmrzne pri 0°C , ale vodné roztoky majú nižší bod tuhnutia. Počas ochladzovania vytvára ľad najskôr extracelulárna oblasť až potom začne intracelulárna oblasť meniť svoj stav, vďaka čomu je intracelulárna oblasť podchladená.



Obr. 3: Vodné roztoky polymérov obsiahnutých v dreve môžu znižovať bod mrazu vody v dreve. Viazaním sa na vznikajúce kryštály ľadu v lúmenoch dreva môžu spomaľovať/znemožňovať ich rast.

2.3. Vplyv rýchlosti zmrazovania na štruktúru ľadových kryštálov

Rýchlosť zamrzania sa definuje vo vzťahu k rýchlosti pohybu zamrznutia ľadovej vody. Rýchlosti zamrzania určujú typ, veľkosť a rozloženie tvorby ľadu. Pri veľmi vysokých rýchlostiach chladenia je možné úplne zabrániť tvorbe ľadu a namiesto toho dosiahnuť vitrifikáciu vedúcu k sklovitému stavu. Pomalé mrazenie produkuje menej väčších ľadových kryštálov, rýchle zmrazenie produkuje väčší počet menších kryštálov. Veľké ľadové kryštály a ľad zaplňa extracelulárny priestor a spôsobuje dehydratáciu buniek. Ľadové kryštály oddeľujú bunky od seba. Aj malé ľadové kryštály sa môžu časom zväčšiť procesom známym ako **rekryštalizácia** (Nesvadba 2008).

V oblasti kinetiky zmrazovania je najďalej lekárska veda zaoberajúca sa zmrazovaním živých buniek a ich uskladnením pri -80°C alebo -196°C , pričom na tento úkol existujú presné protokoly. Za pomalé zmrazovanie sa považuje rýchlosť ($1^{\circ}\text{C}/\text{min}$) a rozmrazovanie sa prevádza do 2 min. Pre rýchlosť zmrazovania $3,8^{\circ}\text{C}/\text{min}$ je približný rast ľadu rýchlosťou $30\ \mu\text{m}/\text{s}$ (Bahari et kol. 2018).

2.4. Teploty zmrazovania, veľkosti kryštálov ľadu

Bežný konvenčný výmenník tepla (mraznička) vytvára mráz pri -20°C (max. -30°C až -40°C), suchý ľad (pevná forma oxidu uhličitého) prechádza z pevného skupenstva na plynné (sublimuje) pri teplote -78.5°C . Oveľa nižšie teploty je možné dosiahnuť ponorením do chladiacej zmesi alebo kryogénnej kvapaliny, ako je tekutý dusík pri -196°C . Aj z tohto pohľadu je možné rozdeliť výskum kryolýzy dreva na tri kategórie:

- (a) mrazenie do -20°C , vrátane cyklického zmrazovania a rozmrazovania (freeze-thaw)
- (b) hlboké mrazenie pri -80°C (deep freezing)
- (c) kryolycké mrazenie pri -196°C , resp. konzervovanie (cryolysis).

Ekvivalentný priemer ľadových kryštálov potom prestavuje hodnoty okolo $12,6\ \mu\text{m}$, $3,6\ \mu\text{m}$ a $1,2\ \mu\text{m}$ (Nesvadba 2008).

Použitá literatúra

1. Chang, K.L., Thitikorn-amorn, J., Hsieh, J.F., Ou, B.M., Chen, S.H., Ratanakhanokchai, K., Huang, P.J., Chen, S.T., 2011: Enhanced enzymatic conversion with freeze pretreatment of rice straw. *Biomass and Bioenergy* 35(1): 90-95.
2. Hojdová, A., 2017: Mechanisms of resistance to low and freezing temperature stress in polar autotrophs. Masaryk University, Brno, 48 p.
3. Nesvadba, P., 2008: Thermal properties and ice crystal development in frozen foods. Chapter 1. In: Judith A. Evans (ed.): *Frozen Food Science and Technology*. Blackwell Publishing Ltd
4. Bahari, L., Bein, A., Yashunsky, V., Braslavsky, I., 2018: Directional freezing for the cryopreservation of adherent mammalian cells on a substrate. *PLoS ONE* 13(2): e0192265.
5. Häusler, T., Witek, L., Felgitsch, L., Hitzenberger, R., Grothe, H., 2017: Heterogeneous freezing of super cooled water droplets in micrometre range- freezing on a chip. *Atmospheric Chemistry and Physics*, published online, 19 p.

Kapitola 3: Pohyb a viazanie vody v dreve

3.1. Čerstvé drevo a bod nasýtenia vlákien

Pri čerstvom dreve, narezanom a nikdy nesušenom, sú bunkové steny nasýtené vodou a navyše sa voda nachádza ako tekutina, zmes kvapalina- para alebo para v bunkových lúmenoch. Stav vlhkosti čerstvého dreva nie je konštantný; líši sa medzi druhmi stromov, v rámci stromu, napríklad beli alebo jadre, medzi ročnými obdobiami a prípadne aj podľa dennej doby. Namerané vlhkosti čerstvého dreva topoľov sa pohybujú pre *Populus x euroamericana* 59,19% (Lieskovský 2015), rýchlorastúce mladé (5 až 12 ročné) vrbí a topole 52% a agáty 37% (Banski a Dzurenda 2014).

Sušením sa zníži obsah vlhkosti v čerstvom dreve a ak sa bude pokračovať, bunkové steny dosiahnu nenasýtené stavy. Obsah vlhkosti v bode prechodu z nasýteného do nenasýteného stavu je definovaný ako **bod nasýtenia vlákien**. Ale keďže od vlhkosti 30% do 40% nie sú ovplyvnené fyzikálne vlastnosti bunkovej steny v takej miere ako pri prvých 30% tento bod sa skôr považuje ako postupný prechod zo situácie, keď nové molekuly vody vstupujúce do bunkovej steny vedú k rozbitiu intra- a intermolekulárných H-väzieb v polyméroch dreva (Engelund et al. 2013).

3.2. Relatívna vlhkosť dreva

Relatívna vlhkosť dreva je definovaná ako podiel hmotnosti vody nachádzajúcej sa vo vzorke dreva k hmotnosti vlhkej vzorky dreva. Sušenie vzoriek sa vykonáva v sušiarňi pri teplote $103 \pm 2^\circ\text{C}$ do konštantnej hmotnosti. Stanovenie relatívnej vlhkosti vyjadruje vzťah:

$$W_r = \frac{m_w - m_o}{m_w} \cdot 100 [\%] \quad (1)$$

m_w – hmotnosť vlhkej vzorky [g]

m_o – hmotnosť vzorky po vysušení [g]

3.3. Viazaná a voľná voda v dreve

Vodu v dreve vystihujú dva stavy: voľná a nemrznúca viazaná voda. Predpokladá sa, že všetky viazané molekuly vody sú viazané priamo na jedno alebo dve sorpčné miesta, hlavne na hydroxylové skupiny. **Zmrazená viazaná voda teda v dreve neexistuje.** Výsledky Zelinka a kol. (2012) nastroľujú otázku, ako správne interpretovať pokles teploty bodu mrazu vody v dreve (pod 0°C). Je dobre známe, že rozpustené cukry spôsobujú mierny pokles bodu mrazu voľnej vody. Voda nachádzajúca sa na stenách dutín zamrzá pri nižších teplotách ako voda v strede dutín (Hansen et al. 2005). Existuje aj vyššie spomínaný silný účinok spojenia (Berthold et al. 1996, Zelinka et al. 2012) a pravdepodobne tiež účinok vody „usporiadanej“ blízko polymérnych povrchov bunkových stien (Matthews et al. 2006).

Ak sa pristupuje k otázkam stavu vody v dreve skôr z chemickej ako z fyzikálnej stránky, potom sú hydroxylové skupiny drevených polymérov hlavnou chemickou zložkou z hľadiska

prilákania molekúl vody. Tieto hydroxylové skupiny schopné vytvárať vodíkové väzby s molekulami vody sa nazývajú **sorpčné miesta** spolu s ďalšími polárnymi chemickými skupinami priťahujúcimi vodu (Berthold et al. 1996). **Najviac miest sorpcie sa nachádza v hemicelulózach**, po ktorých nasleduje celulóza a lignín (Christensen a Kelsey 1959). Celulóza je agregovaná do drevených mikrofibríl a dve tretiny hydroxylových skupín sú viazané medzi a v celulózových reťazcoch tvoriacich mikrofibríl. Tieto hydroxylové skupiny sú neprístupné, zatiaľ čo hydroxylové skupiny na povrchu mikrofibrily sú možnými sorpčnými miestami. Množstvo sorpčných miest v dreve sa dá odhadnúť z molekulovej hmotnosti drevených zložiek a počtu sorpčných miest, ktoré obsahujú. Pretože hydroxylové skupiny sú primárnymi sorpčnými miestami, ich koncentrácia sa môže použiť ako odhad množstva sorpčných miest prítomných v rôznych drevených polyméroch, ako je uvedené v Tab. 1.

Tab. 1: Koncentrácia hydroxylových skupín v polyméroch dreva.

Polymér dreva	Vzorec	Molekulárna hmotnosť (g/mol)	OH- skupiny	OH koncentrácia (mmol/g)
celulóza	$C_{12}O_{10}H_{20}$	324	6	18,5 ^a
xylán	$C_{33}O_{24}H_{52}$	833	12	14,4
glukomanán	$C_{30}O_{24}H_{44}R_6^b$	795-1049	9-15	8,6-18,8
lignín	$C_{160}O_{58}H_{178}$	3029	24	7,9
lignín	$C_{278}O_{96}H_{300}$	5177	39	7,5
lignín	$C_{301}O_{110}H_{335}$	5713	45	7,9

^{a)} iba 33% Oh skupín celulózy je prístupných vode.

^{b)} R = CH₃CO alebo H.

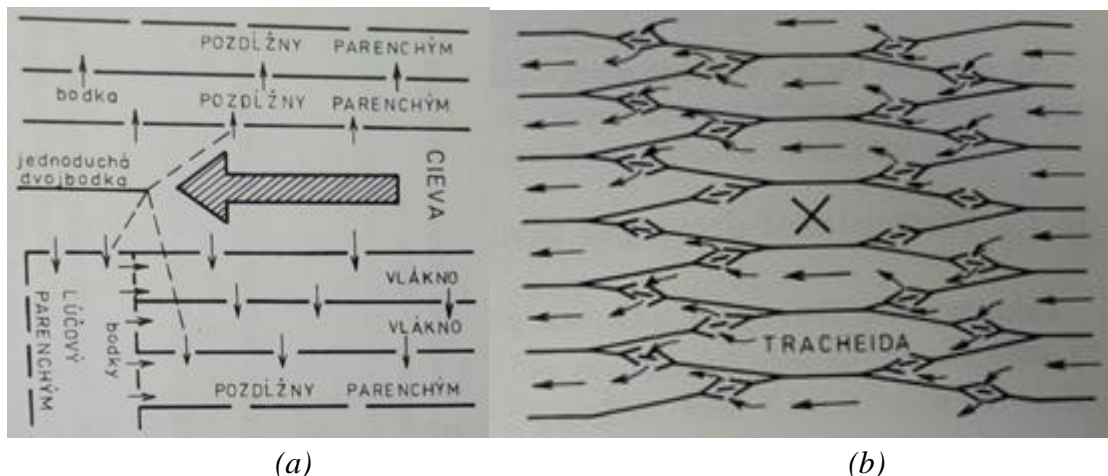
V stave nasýtenia vlákien pri relatívnej vlhkosti 40% to zodpovedá priemerne 2,6 molekulám vody na hydroxylovú skupinu. Odhady priemerného počtu molekúl vody na miesto sorpcie (Berthold et al. 1996) naznačujú, že na každé miesto sorpcie sa zvyčajne viažu iba 1–2 molekuly vody. Pri nízkom obsahu vlhkosti sa predpokladá, že molekuly vody sa môžu naviazať na dve susedné hydroxylové skupiny súčasne (Joly et al. 1996). Ako bolo uvedené vyššie, v kryštáloch celulózy nie je prítomná voda, takže ak sú molekuly vody viazané na dve sorpčné miesta na celulóze, musí sa to uskutočniť na prístupných povrchoch agregátov celulózy alebo medzi susednými agregátmi.

3.4. Pohyb voľnej vody v dreve

Rozoznávame dva základné druhy pohybu voľnej vody v dreve: kapilárne vzlínanie a hydrodynamický pohyb vyvolaný gradientom vonkajšieho tlaku. Vlastnosť dreva, ktorá umožňuje pohyb kvapalín, nazývame **priepustnosťou**. Hydrodynamický pohyb tekutín cez drevo je dôležitý najmä z hľadiska procesov jeho impregnácie. Tento pohyb je vyvolaný gradientom vonkajšieho tlaku, v literatúre sa najčastejšie opisuje Darcyho zákonom. Pre listnáče sú hlavnými vodivými elementmi cievy. Priepustnosť dreva je veľmi variabilnou veličinou nielen pre rôzne druhy dreva, ale aj v rámci jednej dreviny. Faktory ovplyvňujúce rozpustnosť sa delia na vnútorné a vonkajšie. Vnútorné faktory súvisia so štruktúrou dreva.

Najčastejšou príčinou zníženia priepustnosti listnatých drevín je zatylovanie, kde tyly (výrastky parenchymatických buniek, ktoré uzatvárajú cievy), znižujú efektívny polomer ciev.

Schematické znázornenie vodivých ciest pre hydrodynamický pohyb listnáčov je uvedené na Obr. 4.

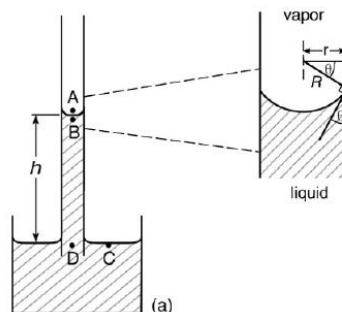


Obr. 4: Vodivé cesty v dreve (priepustnosť dreva): (a) ihličnaté, (b) listnaté (Požgaj a kol. 1993).

Pre ihličnaté dreviny je priepustnosť daná počtom a polomerom dvojbodiek. Možno teda očakávať, že jej hodnoty budú v podstate nižšie než u listnáčov. Vonkajšie faktory ovplyvňovania priepustnosti súvisia s odchýlkami od podmienok platnosti pohybových rovníc, ako napr. turbulentný tok v cievach (Požgaj a kol. 1993).

3.5. Teória kapilárneho vztlínania

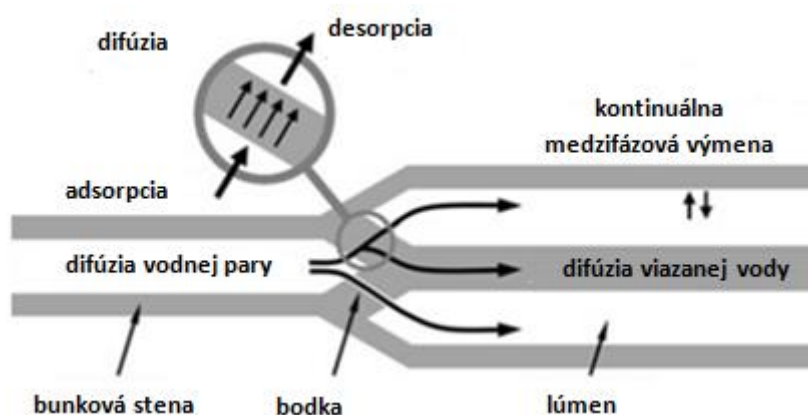
Adhézne a kohézne sily spôsobujú vztlínanie vody v póroch. Adhézne sily držia molekuly vody na povrchu a kohézne sily držia molekuly vody spolu, táto kombinácia umožňuje prenikanie do pórov a teda impregnáciu. Konkávny meniskus vodného stĺpca kapiláry naznačuje, že tlak pod povrchom kvapaliny je nižší než atmosférický tlak. Kapilárne vztlínanie vody v kapiláre môžeme ovplyvniť zmenou tlaku pri menisku (Požgaj a kol. 1993).



Obr. 5: Schematické znázornenie kapilárneho vztlínania s priemerom kapiláry r , h je výška stĺpca vztlínajúcej kvapaliny, θ je uhol zmáčania a R je polomer krivosti menisku v kapiláre (Požgaj a kol. 1993).

3.6. Sorpcia vody pod bodom nasýtenia vlákien

Drevo je hygroskopický materiál, ktorý naberá vlhkosť z okolitého vzduchu (sorpcia), pri desorpcii ju do okolia odovzdáva. Pod bodom nasýtenia vlákien, to znamená v celom hygroskopickom rozmedzí, kapilárna sorpcia neprebíha vo významnom rozsahu. Sorpčná izoterma je závislosť rovnovážnej vlhkosti dreva od relatívnej vlhkosti vzduchu pri konštantnej teplote. Ohyb sorpčnej izotermy dreva smerom nahor nad približne 70% relatívnej vlhkosti je najpravdepodobnejšie spôsobený zmäkčením hemicelulóz, ktoré pri izbovej teplote v tomto rozmedzí vlhkosti pretínajú bod skleneného prechodu a umožňujú tak prijatie väčšieho počtu molekúl vody v bunkovej stene. Sorpčná hysteréza je pravdepodobne tiež spojená so skleneným prechodom hemicelulóz, kde sa predpokladá, že volumetrické relaxačné procesy po hygroexpansii / kontrakcii sú riadené obsahom vlhkosti. Pokiaľ ide o rýchlosť sorpcie, zistilo sa, že stresová relaxácia hrá dominantnú úlohu, zatiaľ čo difúzne procesy sú menej dôležité.



Obr. 6: Schematické znázornenie transportu vlhkosti pod bodom nasýtenia vlákien.

Fyzikálny vzťah vody a dreva na vnútorných povrchoch buniek doposiaľ vedecky popísaný nebol. Orientačné kontaktné uhly rôznych drevín je možno získať z prác venovaných vzťahu vzhľadom na drsnosť povrchu (Tab.2) (Papp a Csiha 2017).

Tab. 2: Kontaktné uhly zmáčania v závislosti od drsnosti opracovaného povrchu dreva.

Drsnosť povrchu (opracovanie brúsením č.)	Kontaktný uhol zmáčania (°)			
	Buk	Smrek	Breza	Dub
60	75.19	85.33	72.19	105.46
220	48.40	71.56	52.4	62,40
280	50.60	71.26	50.61	74.25
320	53.67	70.86	51.19	81.91
600	58.21	73.51	59.73	85.93

Použitá literatúra

1. Papp, E.A., Csiha, C., 2017: Contact angle as function of surface roughness of different wood species. *Surfaces and Interfaces* 8: 54-59.
2. Plötze, M., Niemz, P., 2011: Porosity and pore size distribution of different wood types as determined by mercury intrusion porosimetry. *European Journal of Wood and Wood Products* 69(4): 649-657.
3. Sophocleous, M., 2010: Understanding and explaining surface tension and capillarity: an introduction to fundamental physics for water professionals. *Hydrogeology journal* 18(4): 811-821.
4. Engelund, E.T., Thygesen, L.G., Svensson, S., Hill, C., 2013: A critical discussion of the physics of wood–water interactions. *Wood Science and Technology* 47: 141–161.
1. Hansen, E.W., Fonnum, G., Weng, E., 2005: Pore morphology of porous polymer particles probed by NMR relaxometry and NMR cryoporometry. *J Phys Chem B* 109: 24295–24303.
2. Berthold, J., Rinaudo, M., Salme'n, L., 1996: Association of water to polar groups—estimations by an adsorption model for ligno-cellulosic materials. *Colloid Surf A* 112: 117–129.
3. Zelinka, S.L., Lambrecht, M.J., Glass, S.V., Wiedenhoef, A.C., Yelle, D.J., 2012: Examination of water phase transitions in Loblolly pine and cell wall components by differential scanning calorimetry. *Thermochim Acta* 533: 39–45.
4. Matthews, J.F., Skopec, C.E., Mason, P.E., Zuccato, P., Torget, R.W., Sugiyama, J., Himmel, M.E., Brady, J.W., 2006: Computer simulation studies of microcrystalline cellulose. *Carbohydr Res* 341: 138–152.
5. Christensen, G.N., Kelsey, K.E., 1959: The rate of sorption of water vapor by wood. *Holz Roh Werkst* 17: 178–188.
6. Joly, C., Gauthier, R., Escoubes, M., 1996: Partial masking of cellulosic fiber hydrophilicity for composite applications - water sorption by chemically modified fibers. *J Appl Polym Sci* 61: 57–69.
7. Požgaj, A., Babiak, M., Chovanec, D., Kurjatko, S., 1993: Štruktúra a vlastnosti dreva. Zvolen. 485 s.

Kapitola 4: Morfológia pórovitého substrátu dreva

Xylém je hlavným pletivom v dreve a rozlišuje sa na bel' a jadro. Bel' je zmes živých aj odumretých buniek, kým jadrové drevo je zložené výlučne z odumretých buniek. Dreň sa zvyčajne nachádza v strede kmeňa a je zložená z pletiva, ktoré sa vyvinulo v začiatočných rokoch rastu. Xylém je usporiadaný do vzdialených koncentricky orientovaných kruhov, označované ako letokruhy.

Drevo je zložené z vysoko orientovaných axiálnych a radiálnych bunkových systémov. Axiálny systém je zložený primárne z pozdĺžnych buniek orientovaných v smere rastu kmeňa. Tieto bunky sa líšia rozmerovo aj tvarovo. Hrubostenné bunky poskytujú mechanickú ochranu a pevnosť a tenkostenné bunky primárne poskytujú transport tekutín a zásobu výživných látok. Radiálny systém je orientovaný kolmo na kmeň stromu a pozostáva z lúčov, ktoré tvoria horizontálne súbory buniek, ktoré vychádzajú z kôry do jadra (primárne lúče) alebo do letokruhov (sekundárne lúče). Ich hlavnou funkciou je zásoba a distribúcia zásobných látok. Lúče zaberajú 5% – 11% z celkového objemu mäkkého dreva a až do 30% z tvrdého dreva. Jadrové drevo má primárne opornú funkciu. Počas tvorby jadrového dreva vznikajú aj extraktívne látky, ktoré sú uložené v bunkách. Tieto extraktívne látky robia drevo menej priepustným a odolnejším. V mäkkom dreve sa špecifické bodky uzavú a v tvrdom dreve sa cievy zablokujú tyliami. Týmito mechanizmami sa zvyšuje prirodzená odolnosť jadrového dreva proti poškodeniu.

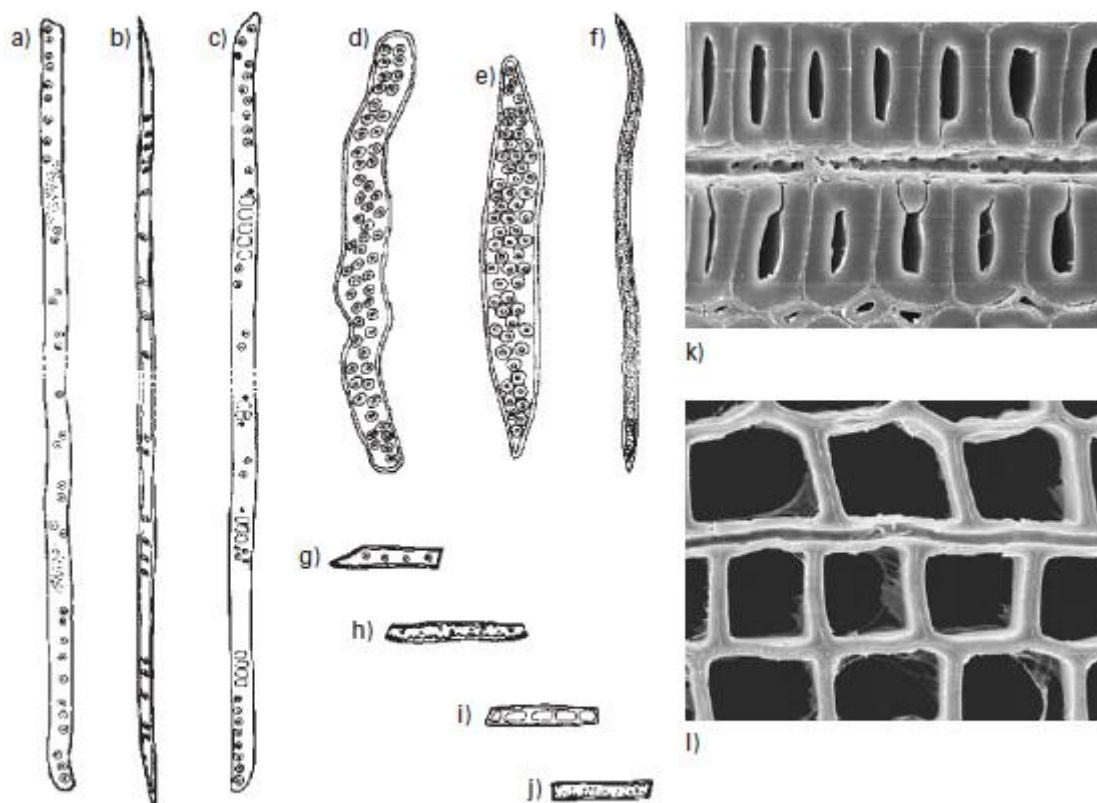
Drevné bunky sa tvoria vo vaskulárnom kambii, najprv rastú všetky typy buniek axiálnej sústavy a potom bunky radiálnej sústavy. Toto platí pre tvrdé aj mäkké drevo. V mäkkom dreve axiálne drevné bunky (tracheidy) sú typicky usporiadané do reťazcov, kde každý rad buniek je pôvodom z rovnakej materskej bunky. V tvrdom dreve je to zložitejšie a usporiadanie podľa vzdialenosti sa tam neukazuje, pretože je tam viacero typov buniek (napr. cievy, vlákna, parenchymatické bunky) s rôznymi veľkosťami. Mäkké drevo má omnoho jednoduchšiu štruktúru než tvrdé drevo s nižším počtom typov buniek, teda s väčšou bunkovou jednotou (obvyčajne 3 axiálne a 2 radiálne typy), v tvrdom dreve je vyššia variabilita (5 - 6 axiálnych a 2 radiálne typy).

4.1. Anatómia ihličnatého dreva

Ihličnaté drevo tvorí letokruhy z tracheíd, ktoré sa delia na skoré (jarné) a neskoré (letné). Bunky skorého dreva sú veľké a majú tenkú stenu a bunky neskorého dreva sú menšie a majú hrubšiu bunkovú stenu. Xylém mäkkého dreva je zložený z obmedzeného počtu buniek nazývaných tracheidy, parenchymatické a epitelové bunky s tracheidmi zvyčajne tvoria 90 – 95 % celkového objemu buniek a parenchymatický lúč 5 – 10 %.

Tracheidy tvoria axiálny systém dlhých štíhlych buniek, veľa z nich má dĺžku rovnú sto-násobku ich priemeru a v priečnom reze sú buď obdĺžnikové alebo štvorcové. Tracheidy majú prázdny stred (napr. bunkový lúmen a uzavreté konce, ktoré sú zaoblené v radiálnom alebo špicaté v tangenciálnom smere. V mäkkom dreve ako napr. borovicovom, tracheidy skorého dreva sú ľahko rozlíšené od buniek neskorého dreva vďaka ich tenkým bunkovým stenám a veľkým radiálnym polomerom v porovnaní s neskorými bunkami s hrubými

bunkovými stenami a menšími priermi. Pre niektoré druhy mäkkých drevín je charakteristická náhla zmena zo skorého na neskoré drevo, ako napr. borovica a smrekovec, zatiaľ čo v iných druhoch, napr. jedľa, je tento prechod postupný. Tracheidy v smrekoch a boroviciach sú zvyčajne dlhé 3.1 – 3.4 mm s priemerom 14 – 46 μm (Tab. 3). Dĺžka a šírka tracheíd je druhovo aj individuálne odlišná. Tracheidy majú uzavreté konce na rozdiel od ciev v tvrdom dreve, preto bodky sú hlavnou cestou pre penetráciu tekutín cez drevnú štruktúru.



Obr. 7: Bunky v smrekovom dreve: a, b, c) tracheidy d) vazicentrické tracheidy; e, f) vaskulárne tracheidy; g, h) lúčové tracheidy i, j) lúčový parenchým; k, l), priečné rezy

Tab. 3: Dĺžka a šírka typických tracheíd v ihličnatom dreve.

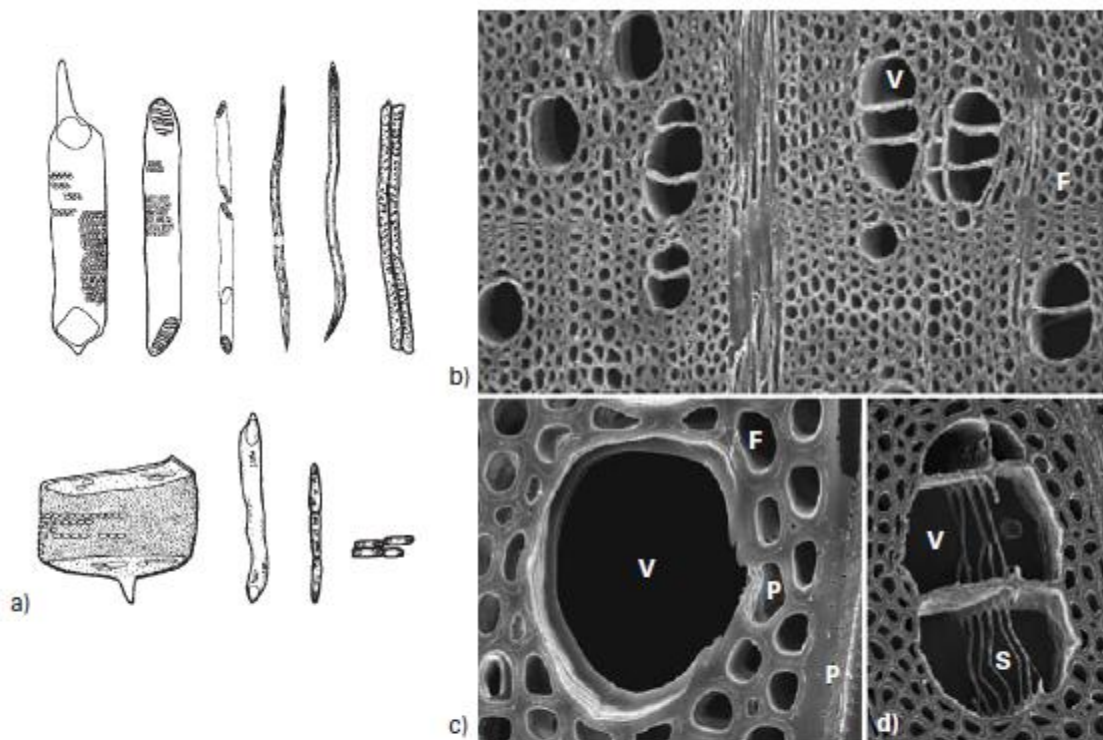
Druh dreviny	Dĺžka tracheíd (mm)		Šírka tracheíd (μm)	
	Priemerná dĺžka	Rozsah	Priemerná šírka	Rozsah
Smrek	3.4	1.1 – 6.0	31	21 – 40
Borovica	3.1	1.8 – 4.5	35	14 - 46

Lúče mäkkého dreva môžu byť zložené buď z úplného lúčového parenchýmu alebo kombinácie lúčových parenchýmov a lúčových tracheíd, príp. aj výlučne z lúčových tracheíd. Parenchymatický lúč sú živé bunky s tenkými stenami a jednoduchými bodkami, ktoré umožňujú transport tekutín medzi lúčmi a v axiálnom tracheidnom systéme. Lúčové tracheidy sa nachádzajú na okrajoch lúčov alebo aj vnútri spolu s parenchymatickými bunkami. Ich funkciou je radiálny transport tekutín. Mäkké drevo obsahuje málo pozdĺžneho parenchýmu a poznajú sa vďaka malým bodkám a častým farebným inklúziám. Epitelové bunky sú

špecifické živé parenchymatické bunky, ktoré obklopujú živcové kanáliky a vyskytujú sa aj v skorom a aj neskorom dreve. Ich funkciou je produkovať živicu do živcových kanálikov. Živicové kanáliky sa často vyskytujú v mäkkom dreve, ale nie sú prítomné v tvrdom dreve. Tieto kanáliky sú obklopené epitelovými bunkami v mäkkom dreve a vylučujú živicu do kanálikových lúmenov.

4.2. Anatómia listnatého dreva

Tvrdé drevo je pokročilý komplex anatomických štruktúr oproti mäkkému drevu. Cievy sú zložené z jednotlivých buniek, ktoré sú pospájané na koncoch a tvoria pozdĺžne rúrky o dĺžke od niekoľkých centimetrov až po niekoľko metrov. Cievy predstavujú hlavný vodivý prvok v tvrdom dreve a bunky majú buď úplne otvorené alebo perforované konce. Cievy sa objavujú v pričnom reze dreva ako diery a preto sa tvrdé drevo nazýva “kruhovitopórovité” na rozdiel od “roztrúseno-pórovitého” mäkkého dreva. Veľkosť a priestorová distribúcia ciev je druhovo odlišná.



Obr. 8: Typické bunky v listnatom dreve: a) Horný riadok: cievy, libriformné vlákno a tracheid. Spodný riadok: cievy a parenchymatické bunky b) Pričny rez brezy s cievami (V), vláknami (F) a lúčmi (R); c) tenkostenná brezová cieva obklopená parenchýmatickými a vláknitými bunkami; d) brezová cieva s charakteristickým skaliformom (S) s bodkami na koncoch ciev

Vláčna v tvrdom dreve sa delia na libriformy a vláknité tracheidy a spoločne s cievami tvoria základ pletiva tvrdého dreva. Ich primárna funkcia je oporná a zaberajú 30% – 75% zo

základného objemu pletiva tvrdého dreva. Libriformné vlákna sú úzke bunky priemerne dlhé 0.7 - 2.0 mm a široké medzi 10 – 60 µm. Dĺžka vlákien u bežných druhov je v rozmedzí 0.4 – 1.8 mm a šírka 12 – 36 µm. Vlákňité tracheidy sú kratšie než libriformy. V tvrdom dreve je pomer parenchýmatických buniek vyšší než v mäkkom dreve a majú zásobnú funkciu. Pozdĺžny parenchým sa viac vyskytuje v tvrdom dreve než v mäkkom dreve, kde zaberá nad 50 % celkového objemu dreva. Lúče v tvrdom dreve sú zložené z parenchýmatických buniek a lúčovitých pletív a okupujú 7 – 30 % objemu dreva. Oproti mäkkému drevu, lúče v tvrdom dreve sa líšia v šírke aj vo výške. Sú dva typy parenchýmatických buniek: homocelulárne, kde parenchýmatické bunky sú jednotné a heterocelulárne, kde parenchým je zložený z 2 – 3 typov buniek.

Cievy v jadrách tvrdých drier môžu byť buď sčasti alebo úplne zaplnené charakteristickými inklúziami, tzv. tylami. Tyly reprezentujú výrastky zo susedných živých parenchymatických buniek (lúč alebo pozdĺžny parenchým) do ciev cez dierky. Nasledujúce čiastočné rozpustenie dierkových membrán, tyly vyčnievajú ako balóny do ciev zo susedných parenchymatických buniek. Zo štrukturálneho hľadiska tyly sú zložené z dvoch stien a chemicky sú zložené z celulózy, hemicelulózy a lignínu. Štúdie naznačujú, že tyly vznikajú kvôli nedostatku vody v cievach, ktoré stimulujú susedný parenchým na vývin tylov v cievach. Tyly sa často tvoria v kruhových pórových cievach určitých drier (napr. dub). Vývoj tylov je fyziologický proces spojený s tvorbou jadrového dreva alebo odumieraním bele počas rúbania stromu. Taktiež môžu byť zapríčinené aj mechanickým poškodením alebo infekciou. Drevo s tylami je nepriepustné pre tekutiny (napr. dub) (Daniel 2009).

4.3. Hustota dreva

Hustota je jednou z hlavných technických vlastností dreva. Je relatívne ľahko merateľná a súvisí s mnohými inými fyzikálnymi vlastnosťami, ako napr. pevnosť, tuhosť a vyhotovenie v praxi. Taktiež s hustotou súvisia aj zmršťovanie a napučovanie, hoci tento vzťah nie je priamy ako v prípade pevnostných vlastností. Hustota sa tiež používa aj ako hodnota kvality, t.j. vo vzťahu k možnosti použitia na rôzne účely. Napr. na stavebné účely je vhodnejšie drevo s vyššou hustotou a drevo s nižšou hustotou je vhodné napr. na výrobu celulózy a papiera. Merná (objemová) hustota látky je definovaná ako pomer hmotnosti a objemu. Štruktúra dreva pozostáva z pevného materiálu (bunkové steny), vody a vzduchu (bunkové lúmeny) alebo voľný objem, čo tvorí celkovú hustotu a je definované rovnicou:

$$\rho_{obj.} = \frac{m_{voda} + m_{vzduch} + m_{drevo}}{V_{voda} + V_{vzduch} + V_{drevo}}$$

V prípade, že hmotnosť vzduchu zanedbáme, rovnicu možno zjednodušiť:

$$\rho_{obj.} = \frac{m_{voda} + m_{drevo}}{V_{voda} + V_{vzduch} + V_{drevo}}$$

Objemová hustota dreva je druhovo odlišná. Rozsah hustôt u bežných drevín je medzi 330 – 600 kg.m⁻³.

4.4. Hustota bunkovej steny

Najbežnejšou látkou drevených stoniek je α -celulóza. Vzhľadom k tomu, že lignocelulózové materiály sa skladajú z celulózy, hemicelulózy a lignínu, tieto tri hlavné komponenty určujú hustotu bunkovej steny a aj celého dreveného tkaniva. Stavebná bunka celulózovej kryštálovej mriežky je zložená z celobiózových zvyškov z piatich molekúl celulózy. Jednotka I α celulózy je P1 alebo trojklonná s parametrami pre a-os = 0.674 nm, b-os = 0.593 nm, c-os = 1.036 nm a uhlami $\alpha = 117^\circ$, $\beta = 113^\circ$ a $\gamma = 81^\circ$. Objem tejto jednotky sa vypočíta podľa vzorca:

$$V = abc\sqrt{1 - \cos^2 \alpha - \cos^2 \beta - \cos^2 \gamma + 2 \cos \alpha \cos \beta \cos \gamma}$$

Predošlé parametre udávajú objem $V = 339.5 \text{ \AA}^3$. Táto jednotka pozostáva z 12 atómov uhlíka, 10 atómov kyslíka a 14 atómov vodíka s celkovou hmotnosťou $M = 12 \times 12.0107u + 10 \times 15.9994u + 14 \times 1.0079u = 318.23u$, kde $1u = 1.660538 \times 10^{-24} \text{ kg}$. Teda, vypočítaná hustota celulózy je $\rho = M/V = 1556.5 \text{ kg.m}^{-3}$.

Udáva sa, že hustota látky bunkovej steny rastie, keď sa zvyšuje obsah celulózy a jej stupeň kryštalinity. Kryštalinita sa udáva zvyšovaním z dvoch až do 10 kruhov. Hustota lignínu sa pohybuje v rozmedzí od 1333 do 1376 kg.m⁻³ a hustota hemicelulózy od 1457 do 1798 kg.m⁻³. Napr. drevo smreka, ak poznáme hustotu celulózy - 1557 kg.m⁻³, hustota lignínu pre smrek je 1347 kg.m⁻³ hustota hemicelulózy pre mäkké drevo je 1622 kg.m⁻³, zloženie smrekového dreva je 48.1% celulózy, 21.2 % hemicelulózy a 28.9% lignínu, priemer hustoty bunkovej steny je 1509 kg.m⁻³ suchého dreva. Hustota bunkovej steny mäkkého dreva (od 1517 do 1529 kg.m⁻³) je mierne vyššia než tvrdého dreva (1497 – 1517 kg.m⁻³). Hustota bunkovej steny sa udáva ako konštantná a nie je závislá od rýchlosti rastu. Dutiny v suchých bunkových stenách zaberajú veľmi malý objem, medzi 1.62 – 3.27 %. Rozdiely v prázdnom objeme medzi druhmi stromov alebo účinku rýchlosti rastu na voľný objem sa udáva ako bezvýznamný (Saranpää 2003, Qiu a kol. 2015).

4.5. Porozita dreva

Porozita a drevná hustota sú dôležité parametre, ktoré výrazne vplyvajú na vlastnosti materiálu, ako napr. adsorpcia, impregnavilita, ale aj tepelná vodivosť, pevnosť v ťahu a ohybe. Porozita je definovaná odčítaním objemu pevnej frakcie a teda sa dá vypočítať z normálneho objemu alebo hustoty sušiny ρ a špecifickej hustoty (alebo bunkovej steny) pevnej časti ρ_s . Póry v dreve sa delia na makropóry s polomerom $> 0.5 \mu\text{m}$, mezopóry (500 – 80 nm a mikropóry (80 - 1.8 nm). Distribúcia veľkosti pórov je druhovo rozdielna. Všeobecne, pre mäkké drevo, typický priemer tracheíd je medzi 10 – 50 μm , priemer

uzavretých živičných kanálikov je cca od 30 do 150 μm . Mikrodutinky v suchej bunkovej stene majú typický priemer 0.3 – 60 nm. Účinný priemer dvojbodiek pre mäkké drevo sa pohybuje od 0.2 – 4 μm . Hrubá štruktúra tvrdého dreva je omnoho zložitejšia. Cievy dosahujú priemer 50 – 400 μm (v skorom jarnom dreve), pričom sa počas roka zmenšia na 20 – 50 μm . Kvôli týmto veľkým pórom je účinný priemer väčší, od 5 – 170 μm . Priemer lúmenov je v rozpätí 1 – 30 μm . Avšak, tiež aj tvrdé drevo obsahuje bodky, ktorých priemer je omnoho menší, než priemer dvojbodiek v mäkkom dreve, ale sú početnejšie a môžu slúžiť ako alternatívne prvky v cievnom systéme. V Tab. 4 sú príklady distribúcie pórov v rôznych drevinách (Plötze a Niemz 2011). Okrem veľkosti pórov na sorpcii dreva hrá významnú rolu aj schopnosť vody prenikať do pórov, t.j. kapilárne vztlínanie.

Tab. 4: Distribúcia pórov v jednotlivých drevinách.

Druh	Hustota dreva [g/cm ³]	Relatívny objem v %				Póry s najviac zastúpeným polomerom [nm]	Charakteristický polomer pórov [nm]	Kumulatívny objem pórov [mm ³ /g]	Celkový špecifický povrch pórov [m ² /g]
		Makropóry		Mezopóry	Mikropóry				
		58–2 [μm]	2–0.5 [μm]	500–80 [nm]	80–1.8 [nm]				
Buk	0.781	46.91	13.92	12.79	26.38	3856.4	1571.4	638.96	58.32
Tis	0.626	7.68	37.53	46.26	8.54	364.1	452.4	840.09	45.34
Javor Klen	0.483	31.63	58.57	7.39	2.41	525.9	816.1	1415.84	71.99
Smrek	0.401	26.01	19.93	49.16	4.90	148.2	339.9	1770.17	117.97
Breza	0.594	44.88	41.98	8.77	4.37	6399.1	873.5	984.54	63.01
Smrekovec	0.588	44.61	15.54	24.13	15.74	9557.4	1334.3	989.90	80.66
Dub	0.706	22.26	9.16	31.63	36.95	12.7	178.0	687.31	59.22
Borovica	0.451	62.90	16.45	16.15	4.50	12454.8	4044.4	1506.12	121.78
Jelša	0.538	42.16	36.94	13.64	8.27	5328.8	1062.4	1117.82	74.00
Eben	1.156	10.32	6.24	9.48	73.95	31.2	30.2	202.58	19.98

Použitá literatúra:

1. Daniel, G. 2009: Wood and fibre morphology. Wood chemistry and wood biotechnology, 1, Pp. 45-70.
2. Plötze, M., Niemz, P., 2011: Porosity and pore size distribution of different wood types as determined by mercury intrusion porosimetry. European Journal of Wood Products 69: 649–657.
3. Qiu, J., Khalloufi, S., Martynenko, A., Van Dalen, G., Schutyser, M., Almeida-Rivera, C., 2015: Porosity, bulk density, and volume reduction during drying: Review of measurement methods and coefficient determinations. Drying Technology 33(14): 1681-1699.
4. Saranpää, P., 2003: Wood density and growth. Wood quality and its biological basis 87-117.

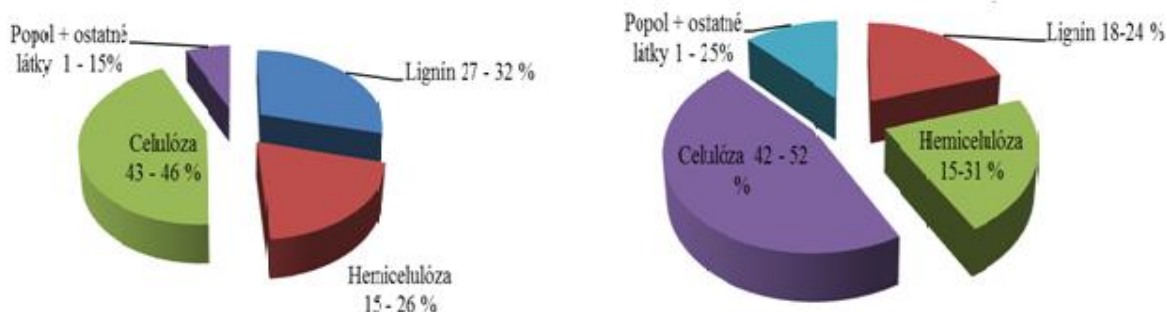
Kapitola 5: Chemické zloženie pórovitého substrátu dreva

Všeobecné chemické zloženie drevín je znázornené na obr. 7. Základné stavebné chemické zložky dreva (celulóza, hemicelulóza, lignín a extraktívne látky) podľa jednotlivých druhov drevín sú uvedené v Tab. 4.

Celulóza ($C_6H_{10}O_5$)_n je hlavná zložka lignocelulózovej biomasy, polysacharid pozostávajúci z lineárneho reťazca D-glukózy navzájom pospájaných β -(1,4)-glykozidovými väzbami. Celulózové vlákna sú navzájom pospájané do celulózových fibríl. Vlákna celulózy sú pospájané množstvom intra- a inter- molekulových vodíkových väzieb. Preto je celulóza nerozpustná vo vode ako aj väčšine organických rozpúšťadiel. Reťazce celulózy/hemicelulózy sú chránené lignínom a acetylovými skupinami, ktoré sú naviazané na makroštruktúru kovalentnými väzbami.

Hemicelulózy ($C_5H_8O_4$)_n sa nachádzajú na sekundárnych bunkových stenách, a sú to rozvetvené heteropolysacharidy obsahujúce pentózy (β -D-xylózu, α -L-arabínózu), hexózy (β -D-manózu, β -D-glukózu, α -D-galaktózu) a aj urónové kyseliny (α -D-glukurónovú, α -D-4-O-metyl-galakturónovú α -D-galacturónovú). Hemicelulózy sú ľahko hydrolyzovateľné vďaka amorfnej a rozvetvenej štruktúre ako aj nízkej molekulovej hmotnosti. Aby bola celulóza prístupná pre enzýmy, treba odstrániť hemicelulózy, ktoré ju pokrývajú.

Lignín, $[C_9H_{10}O_3(OCH_3)_{0,9-1,7}]_n$ je aromatický polymér pozostávajúci fenyl-propanoidových prekursorov. Hlavné fenylpropánové jednotky lignínu sú zložené z syringyl-, guaiacyl- and p-hydroxyphenolu pospájané do súboru väzieb, čo tvorí komplexnú maticu (Mood a kol. 2013, Kim 2018).



Obr. 7: Chemické zloženie (a) ihličnatých, (b) listnatých drevín.

Tab. 4: Základné chemické zložky dreva podľa jednotlivých druhov drevín.

Druh	Celulóza	Hemi-celulóza	Lignín	Extraktívne látky	Popol	Referencia
	[%]					
Jelša	47	29	23			Yang a kol. 2015
Buk	47.7	21.4	25.5	16.3	0.3	Bodirlau a kol. 2008
Jedľa Douglas	42.5 - 46.3	17.9 - 25.4	22.0 - 23.9	1.6	0.3	Tanoue a kol. 2020, Liaw a kol. 2012
Javor	41.0 - 49.0	15.0 - 22.0	21.0 - 29.1			Ximenes a kol. 2013, Pfriem a kol. 2009

Topoľ	40.0-43.8	14.8 – 18.0	29.0- 29.1			Kumar a kol. 2009, Esteghlalian a kol. 1997
Borovica	40.0 – 49.8	20.8 - 28.5	26.7 - 28.0	2.7	0.3	Du a kol. 2010, Hamelinck a kol. 2005, Müller-Hagedorn a kol. 2003
Smrek	43.8 –51.0	6.3 – 23.0	26.0 - 28.3			Shafiei a kol. 2010, Galbe a Zacchi 2007, Pfriem a kol. 2009
Breza	40.0 – 45.0	25.7 – 33.0	15.7 – 18.0	22	0.3	Tumuluru a kol. 2011. Kocaeffe a kol. 2008
Vrba	49.3	14.1	20.0			Tumuluru a kol. 2011
Listnáče	42.0 – 52.0	14.5 – 30.6	18.0 – 24.0			Timell 1967
Ihličnany	43.0 – 46.0	14.5 – 26.0	27.0 – 32.0			Timell 1967
Hrab	48.9	23.3	20.1	7.7	0.7	Müller-Hagedorn a kol. 2003
Osika	49.0	29.0	19.0	24.0	0.4	Kocaeffe a kol. 2008
Dub	22.0 – 50.0	17.0 – 30.0	17.0 – 30.0	2.0 – 12.6	0.2 – 0.5	Le Floch a kol. 2015

Použitá literatúra

1. Bodirlau, R., Teaca, C. A., & Spiridon, I. (2008). Chemical modification of beech wood: Effect on thermal stability. *BioResources*, 3(3), 789-800.
2. Du, B., Sharma, L. N., Becker, C., Chen, S. F., Mowery, R. A., van Walsum, G. P., & Chambliss, C. K. (2010). Effect of varying feedstock–pretreatment chemistry combinations on the formation and accumulation of potentially inhibitory degradation products in biomass hydrolysates. *Biotechnology and bioengineering*, 107(3), 430-440.
3. Esteghlalian, A., Hashimoto, A. G., Fenske, J. J., & Penner, M. H. (1997). Modeling and optimization of the dilute-sulfuric-acid pretreatment of corn stover, poplar and switchgrass. *Bioresource technology*, 59(2-3), 129-136.
4. Galbe, M., & Zacchi, G. (2007). Pretreatment of lignocellulosic materials for efficient bioethanol production. In *Biofuels* (pp. 41-65). Springer, Berlin, Heidelberg.
5. Hamelinck, C. N., Van Hooijdonk, G., & Faaij, A. P. (2005). Ethanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short-, middle-and long-term. *Biomass and bioenergy*, 28(4), 384-410.
6. Kim, D. (2018). Physico-chemical conversion of lignocellulose: Inhibitor effects and detoxification strategies: A mini review. *Molecules*, 23(2), 309.
7. Kocaeffe, D., Poncsak, S., & Boluk, Y. (2008). Effect of thermal treatment on the chemical composition and mechanical properties of birch and aspen. *BioResources*, 3(2), 517-537.
8. Kumar, R., Mago, G., Balan, V., & Wyman, C. E. (2009). Physical and chemical characterizations of corn stover and poplar solids resulting from leading pretreatment technologies. *Bioresource technology*, 100(17), 3948-3962.
9. Le Floch, A., Jourdes, M., & Teissedre, P. L. (2015). Polysaccharides and lignin from oak wood used in cooperage: Composition, interest, assays: A review. *Carbohydrate research*, 417, 94-102.

10. Liaw, S. S., Wang, Z., Ndegwa, P., Frear, C., Ha, S., Li, C. Z., & Garcia-Perez, M. (2012). Effect of pyrolysis temperature on the yield and properties of bio-oils obtained from the auger pyrolysis of Douglas Fir wood. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 93, 52-62.
11. Mood, S. H., Golfeshan, A. H., Tabatabaei, M., Jouzani, G. S., Najafi, G. H., Gholami, M., & Ardjmand, M. (2013). Lignocellulosic biomass to bioethanol, a comprehensive review with a focus on pretreatment. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 27, 77-93.
12. Müller-Hagedorn, M., Bockhorn, H., Krebs, L., & Müller, U. (2003). A comparative kinetic study on the pyrolysis of three different wood species. *Journal of analytical and Applied Pyrolysis*, 68, 231-249.
13. Pfriem, A., Zauer, M., & Wagenführ, A. (2009). Alteration of the pore structure of spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) and maple (*Acer pseudoplatanus* L.) due to thermal treatment as determined by helium pycnometry and mercury intrusion porosimetry. *Holzforschung*, 63(1), 94-98.
14. Qiu, J., Khalloufi, S., Martynenko, A., Van Dalen, G., Schutyser, M., & Almeida-Rivera, C. (2015). Porosity, bulk density, and volume reduction during drying: Review of measurement methods and coefficient determinations. *Drying Technology*, 33(14), 1681-1699.
15. Saranpää, P. (2003). Wood density and growth. *Wood quality and its biological basis*, 87-117.
16. Shafiei, M., Karimi, K., & Taherzadeh, M. J. (2010). Pretreatment of spruce and oak by N-methylmorpholine-N-oxide (NMMO) for efficient conversion of their cellulose to ethanol. *Bioresource Technology*, 101(13), 4914-4918.
17. Shankar Tumuluru, J., Sokhansanj, S., Hess, J. R., Wright, C. T., & Boardman, R. D. (2011). A review on biomass torrefaction process and product properties for energy applications. *Industrial Biotechnology*, 7(5), 384-401.
18. Tanoue, K. I., Hikasa, K., Hamaoka, Y., Yoshinaga, A., Nishimura, T., Uemura, Y., & Hiden, A. (2020). Heat and Mass Transfer during Lignocellulosic Biomass Torrefaction: Contributions from the Major Components—Cellulose, Hemicellulose, and Lignin. *Processes*, 8(8), 959.
19. Timell, T. E. (1967). Recent progress in the chemistry of wood hemicelluloses. *Wood Science and Technology*, 1(1), 45-70.
20. Ximenes, E., Kim, Y., & Ladisch, M. R. (2013). Biological conversion of plants to fuels and chemicals and the effects of inhibitors. Aqueous pretreatment of plant biomass for biological and chemical conversion to fuels and chemicals, 39-60.
21. Yang, Y., Zhan, T. Y., Lu, J. X., & Jiang, J. H. (2015). Influences of thermo-vacuum treatment on colors and chemical compositions of alder birch wood. *BioResources*, 10(4), 7936-7945.

„Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na Základe Zmluvy č. APVV-18-0533“.