

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Biotehnologije

Ana Car

BT/6700

Proizvodnja bioetanola na obnovljivim sirovinama

Modul: Biokemijsko inženjerstvo

Mentor: prof. Dr. sc. Božidar Šantek

Zagreb, 2015.

OSNOVNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Biotehnologije
Zavod za biokemijsko inženjerstvo
Laboratorij za biokemijsko inženjerstvo

Proizvodnja bioetanola na obnovljivim sirovinama

Sažetak:

Povećana zabrinutost za sigurnost opskrbe naftom i negativan utjecaj fosilnih goriva na okoliš, stavlja pritisak na društvo za pronalaskom obnovljive alternative za dobivanje goriva. Biogoriva kao biodizel, bioplin dobivena iz biomase poželjna su zamjena za fosilna goriva jer su trenutno jedini put ka održivom razvoju. Ovaj rad bavi se proizvodnjom bioetanola na šećernim, škrobnim i lignoceluloznim sirovinama. Brazil i SAD ističu se kao vodeći proizvođači bioetanola prve generacije, no u ovom radu navedene su prednosti lignoceluloznih sirovina kao biomase. Opisane su značajke trenutne proizvodnje bioetanola u svijetu i njegove upotrebe kao goriva.

Ključne riječi: bioetanol, obnovljivi izvori, predtretman, biomasa

Rad sadrži: 41 stranicu, 12 slika, 2 tablice, 21 literarni navod

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je tiskan u elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u: Knjižnica Prehrambeno-Biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: prof.dr.sc. Božidar Šantek

Rad predan: 02. 09. 2015

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Undergraduate studies Biotechnology
Department of Biochemical Engineering
Laboratory for Biochemical Engineering

Bioethanol production on renewable resources

Ana Car

BT/6700

Abstract:

Increased concern about oil supply and negative impact of fossil fuels on the environment has put pressure on society to find alternative, renewable sources of energy. Biofuels as biodiesel, biogas and bioethanol are currently seen as only path to sustainable development. This work deals with ethanol production from sugar, starchy and lignocellulosic biomass. Brazil and USA are the most prominent producers of first generation bioethanol but some advantages of lignocellulosic biomass are quoted in this work. There are also mentioned current characteristics of global bioethanol production and its usage as biofuel.

Keywords: bioethanol, renewable resources, pretreatment, biomass

Thesis contains: 41 pages, 2 tables, 12 pictures, 21 references

Final work in printed (pdf format) version is deposited in: Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: prof.dr.sc. Božidar Šantek

Thesis deliverd: 02. 09. 2015

1. SADRŽAJ

1. SADRŽAJ.....	4
2. UVOD.....	1
3. TEORIJSKI DIO.....	2
3.1 ZNAČAJKE ETANOLA I NJEGOVA VAŽNOST.....	2
3.2 FAZE PROIZVODNJE BIOETANOLA.....	3
3.3 PROIZVODNJA BIOETANOLA U SVIJETU.....	3
3.4 DOBIVANJE ETANOLA.....	6
3.5 SIROVINE ZA DOBIVANJE ETANOLA.....	7
3.5.1 ŠEĆERNE SIROVINE.....	8
3.5.1.1 ŠEĆERNI SOKOVI ZA PROIZVODNJU ETANOLA.....	8
3.5.1.1.1 SOK ŠEĆERNE TRSKE.....	8
3.5.1.1.2 SOK ŠEĆERNE REPE.....	9
3.5.1.1.3 SOK SLATKOG SIRKA.....	9
3.5.1.2 MELASA.....	9
3.5.1.3 SIRUTKA.....	12
3.5.1.4 SULFITNA LUŽINA.....	12
3.5.1.5 HIDROL.....	12
3.5.2 ŠKROBNE SIROVINE.....	12
3.5.2.1 ŠKROB.....	13
2.5.2.2. PREDTRETMAN ŠKROBNIH SIROVINA.....	14
3.5.2.1.1 MLJEVENJE.....	14
3.5.2.1.1.1 MOKRO MLJEVENJE.....	14
3.5.2.1.1.2 SUHO MLJEVENJE.....	15
3.5.2.1.2 UKOMLJAVANJE I OŠEĆERENJE ŠKROBNIH SIROVINA.....	16
3.5.3 LIGNOCELULOZNE SIROVINE.....	17
3.5.3.1 GRAĐA LIGNOCELULOZNIH SIROVINA.....	19
3.5.3.2 PREDTRETMAN LIGNOCELULOZNIH SIROVINA.....	20
3.5.3.2.1 FIZIKALNE METODE.....	21
3.5.3.2.2 KEMIJSKE METODE.....	22
3.5.3.2.3 BIOLOŠKE METODE.....	23
3.5.3.2.4 FIZIKALNO-KEMIJSKE METODE.....	24
3.5.3.3 DETOKSIFIKACIJA.....	24
3.5.3.4 HIDROLIZA LIGNOCELULOZNIH SIROVINA.....	25

3.6	Načini vođenja bioprocesa u proizvodnji bioetanola	25
3.6.1	ŠARŽNI PROCES PROIZVODNJE BIOETANOLA.....	26
3.6.2	ŠARŽNI PROCES S PRITOKOM SUPSTRATA PROIZVODNJE BIOETANOLA	26
3.6.3	POLUKONTINUIRANI PROCES PROIZVODNJE BIOETANOLA	27
3.6.4	KONTINUIRANI PROCES.....	27
3.6.5	NAČINI PROVOĐENJA BIOPROCESA PRI PROIZVODNJI BIOETANOLA IZ LIGNOCELULOZNIH SIROVINA	29
3.7	Mikroorganizmi u procesu proizvodnje bioetanola	31
3.8	Izdvajanje i pročišćavanje bioetanola.....	33
3.9	PROIZVODNJA BIOETANOLA NA POLUČVRSTIM I ČVRSTIM SUPSTRATIMA	37
4.	Zaključak.....	39
5.	Bibliografija.....	40

2. UVOD

Pronalazak odgovora na sve veću potrebu za energijom koja se može koristiti za grijanje, transport vozila i industrijske procese te osiguravanje adekvatne sirovine za proizvodnju iste predstavlja jedan od najvećih izazova 21.-og stoljeća.

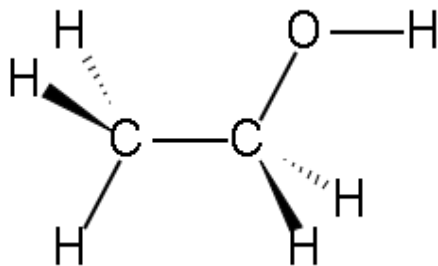
Danas se razumije važnost korištenja biomase u cilju pružanja energije milijardama ljudi kojima ona još nije dostupna. Pretpostavlja se da bi energija iz biomase uskoro mogla nadomjestiti solarnu energiju, energiju vjetra i ostale oblike obnovljive energije. Jedna od najneposrednijih i najvažnijih primjena biomase je fermentacija biomase i proizvodnja bioetanola. Glavni razlog za povećanim interesom za biomasu kao izvor energije je taj što primjena bioenergije pridonosi održivom razvoju. Izvori biomase su često prisutni i na lokalnoj razini, a konverzija u biogorivo je moguća uz male početne troškove. Osim toga, energija biomase može imati veliku ulogu u redukciji stakleničkih plinova jer bi CO₂ koji nastaje izgaranjem biomase mogla teoretski iskoristi novonastala ista količina biomase u fazi rasta na mjestu stare (ista količina ugljika nastaje izgaranjem biogoriva i prirodnom razgradnjom biomase). Nove biorafinerije mogle bi otvoriti nova radna mjesta i pokrenuti ruralni razvoj, a korištenje agro-industrijskih ostataka i nusproizvoda za proizvodnju bioenergije riješio bi problem njihovog odlaganja (Lin i Tanaka 2006).

Najčešće obnovljivo gorivo današnjice je etanol proizveden iz šećera ili žitarica (škrob), ipak ove sirovinske baze ne će biti dostatne. Sukladno tome, buduća upotreba etanola u velikim količinama morat će se bazirati na proizvodnji iz lignoceluloznih sirovina. Razlog tome je što se šećerne i škrobne sirovine koriste za prehranu čovječanstva i kao hrana za životinje, pa bi njihovo korištenje za proizvodnju etanola moglo utjecati na cijenu same hrane i njezinu proizvodnju.

3. TEORIJSKI DIO

3.1 ZNAČAJKE ETANOLA I NJEGOVA VAŽNOST

Etanol je pri sobnoj temperaturi bistra i bezbojna tekućina, karakterističnog, većini ugodnog mirisa. Lako je hlapiv i zapaljiv. Njegova molekulska formula je $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ (Slika 1.) te pripada alkoholima; grupi kemijskih spojeva koje sadrže hidroksilnu (-OH) skupinu vezanu na atom ugljika. Molarna masa etanola iznosi $46,07 \text{ g mol}^{-1}$, a gustoća $0,789 \text{ g cm}^{-3}$. Talište etanola iznosi 159 K ($114 \text{ }^\circ\text{C}$), a vrelište 352 K (78°C). Miješa se s vodom u svakom omjeru pri čemu dolazi do smanjenja volumena i razvoja topline. S vodom i različitim organskim otapalima čini azeotropne smjese. Higroskopan je i reagira neutralno. Etanol ima široku lepezu uporabe: koristi se kao otapalo (jako dobro otapa ulja, masti i boje), sredstvo za ekstrakciju, konzerviranje i dezinfekciju. U medicini se koristi kao protuotrov kod trovanja metanolom i kao antiseptik, u farmaciji za proizvodnju lijekova i tinktura. Služi kao polazna tvar za sintezu važnih kemikalija kao što su octena kiselina, acetaldehid, različiti esteri i eteri te kloroform. Aktivan je sastojak opojnih (alkoholnih) pića, u kojima nastaje fermentacijom šećera uz pomoć kvasca. Koristi se i za izradu umjetnih alkoholnih pića, pri čemu se koristi etilni alkohol isključivo poljoprivrednog podrijetla. Ipak, danas se sve veća pozornost pridaje etanolu kao biogorivu.



Slika1. *Strukturna formula etanola (Anonymus 1)*

3.2 FAZE PROIZVODNJE BIOETANOLA

Proizvodnja bioetanolu kao i svaki biotehnološki proces može se podijeliti u tri glavne faze: **priprema hranjive podloge (eng. upstream), sam bioproces (alkoholno vrenje) i izdvajanje i pročišćavanje produkta (eng. downstream).**

Faza pripreme hranjive podloge obuhvaća odabir sirovine, predobradu sirovine, enzimsku hidrolizu sirovine (škrobne i lignocelulozne sirovine) te izbor radnog mikroorganizma. Odabir sirovine ovisi o dostupnosti sirovine, njezinoj dostatnoj količini, transportnim i proizvodnim troškovima, tržišnoj cijeni, sastavu sirovine te utjecaju na okoliš (količina nastalog CO₂, količina nastalog SO₂, količina PO₄ i omjer utrošene energije i energije proizvedenog biogoriva). Nakon prve faze slijedi fermentacija u bioreaktoru te izdvajanje (destilacija) i pročišćavanje produkta, kao i zbrinjavanje otpada nastalog tijekom proizvodnje. Destilacija se provodi u nekoliko faza pri čemu se dobiva 96 % bioetanol (špirit). Za proizvodnju bezvodnog etanola koriste se proces dehidracije.

3.3 PROIZVODNJA BIOETANOLA U SVIJETU

Istraživanja provedena 2011. godine pokazala su da je približno 78% konzumirane energije u svijetu dobiveno iz fosilnih goriva, 3% iz nuklearne energije, a preostalih 19% iz obnovljivih izvora (vjetar, sunčeva energija, geotermalna energija i biomasa). Većina biogoriva trenutno se proizvodi iz šećera ekstrahiranih iz poljoprivredne biomase ili konverzijom škroba iz žitarica. Trenutno se u svijetu proizvodi 85 milijuna barela nafte godišnje (1 barel = 158.987295 L), a predviđa se da će se do 2030. godine potražnja popeti na 116 milijuna barela (Balan 2014).

Prva biogoriva, etanol iz kukuruza i biodizel iz ulja kikirikija, proizvedena su krajem 19.-og stoljeća. U počecima proizvodnje, biogoriva su smatrana potencijalnim transportnim gorivima, no padajuće cijene fosilnih goriva zaustavile su njihov daljnji razvoj. Interes za komercijalnu proizvodnju biogoriva za transport ponovo se javio 70-ih godina zbog naftne krize i naglog porasta cijene fosilnih goriva. Tada počinje proizvodnja bioetanolu iz šećerene trske u Brazilu, dok se 80-ih godina u SAD-u počinje proizvoditi bioetanol iz kukuruza. Tijekom 90-ih godina zbog poticajne politike naglo raste proizvodnja biogoriva u Sjevernoj Americi i Europi.

Motivacije za povećanu proizvodnju biogoriva različite su u različitim regijama, no osnovni razlozi su:

- smanjenje ovisnosti o uvozu fosilnih goriva iz drugih zemalja
- osiguranje opskrbe energijom
- smanjenje stakleničkih plinova
- podupiranje poljoprivrednika i ruralnog razvoja

Najviše bioetanola, 87% svjetske proizvodnje, proizvodi se u Sjedinjenim Američkim Državama i Brazilu, što je vidljivo iz tablice 1., dok je samo 5% bioetanola proizvedeno u EU (Ajanovic i Haas 2014).

Tablica1. Povijest proizvodnje bioetanola za gorivo po državi ili regiji (F.O. Licht, citirano u RFA (Renewable Fuels Association), Ethanol industry outlook (2008-2014))

(m³ x 10⁵)								
DRŽAVA	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
USA	246.847	352.384	414.048	503.384	527.989	503.460	503.460	541.314
BRAZIL	189.997	244.999	249.004	262.009	210.970	211.112	237.232	234.317
EUROPA	21.588	27.770	39.368	45.750	44.200	44.630	51.898	54.699
KINA	18.397	18.999	20.517	20.500	21.000	21.009	26.346	24.037
KANADA	7.999	8.998	11.016	13.500	17.500	16.996	19.798	19.306
OSTALI	11.935	14.740	34.599	37.272	26.428	28.466	48.150	56.403
SVIJET	496.763	667.890	768.552	882.414	848.087	825.674	886.884	930.076

Uz SAD i Brazil, države kao Francuska, Kina i Kanada proizvode bioetanol na sirovinama kao pšenica, kasava i sok slatkog sirka (Balan 2014).

Većina bioetanola u SAD-u proizvodi se iz kukuruza, a manji dio slatkog sirka, ječma, pšenice i sirutke (Mousdale 2008).

Danas se u SAD-u nalazi više od 200 biorafinerija raspoređenih u 29 saveznih država koje imaju kapacitet proizvodnje više od 567.81×10^5 m³ etanola godišnje. Najveći proizvođači etanola u SAD-u su Iowa, Nebraska, Illinois, Minnesota i Indiana (Renewable Fuel Association 2015).

Drugi najveći proizvođač bioetanola je Brazil. Brazil je najveći proizvođač šećerne trske u svijetu. Šećerna trska je jeftina i dostupna sirovina pa se na njoj temelji brazilska industrija bioetanola. Najveći dio proizvedenog etanola namijenjen je domaćem tržištu gdje se prodaje kao čisti etanol ili kao mješavina s benzinom. Sav benzin prodan u Brazilu je mješavina s etanolom u postotku od 18-27% v/v. Brazil je zamijenio gotovo 42% potrebe za benzinom koristeći bioetanol što benzin čini alternativnim gorivom u zemlji.

Iako proizvodnja i konzumacija etanola u EU neprekidno raste od 2003. godine, Europa i dalje čini skroman udio u svjetskoj proizvodnji. Sa 6,7 milijardi litara etanola godišnje i tržišnom vrijednošću od 8 milijardi €, EU je treći najveći proizvođač etanola u svijetu. Naveći u dio u proizvodnji bioetanola u EU imaju Francuska i Njemačka, a rafinerije bioetanola trenutno su prisutne u 20 članica EU. Francuska ima najveći broj rafinerija, nakon čega slijede Poljska i Njemačka. Najčešće korištene sirovine su pšenica, kukuruz i šećerna repa koje čine oko 90% korištenih sirovina. Ostale sirovine su ječam, raž i tritikal (pšenični hibrid) (ePURE (european renewable ethanol) 2014).

Vrijednost bioetanola kao biogoriva (čisti ili kao dodatak benzinu) je u tome što sadrži više kisika od benzina zbog čega mješavina "čišće izgara", te nastaje manje štetnih plinova i zbog toga što ima veći oktanski broj (pokazuje koliko je motorno gorivo u stanju podnijeti kompresije prije samozapaljenja) što poboljšava osobine motora. Nedostaci etanola su to što veže vodu i sadrži 30% manje energije u odnosu na benzin.

Također, zbog koroziivnosti etanola, automobili koji koriste etanol moraju imati posebno pripremljene motore. Pri proizvodnji bioetanola za motorna goriva mora se provesti dehidracija kako bi se dobio bezvodni etanol, koji se tek onda smije miješati s benzinom.

Benzin korišten u EU obično sadrži 5% v/v etanola. Mješavina s 10% v/v etanola (E10) je dostupna u Francuskoj, Finskoj i Njemačkoj, dok druge članice EU razmatraju njezino uvođenje (ePURE (european renewable ethanol) 2014). U SAD-u je uvelike prisutna

mješavina E10, a polako se uvodi mješavina s 15% v/v etanola (E15). Za E10 i E15 nije potrebno provoditi nikakve preinake na motoru i mogu ih koristiti sva novija vozila proizvedena nakon 2000. godine.

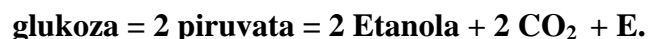
E10 je također prisutna na tržištu Australije i Novog Zelanda. Na brazilskom tržištu koristi se mješavina sa 18-25% v/v etanola, za čije su korištenje potrebne preinake na motoru.

Brazil je 2003. godine na tržište lansirao automobile (FFV, eng. Flexi Fuel Vehicles) koji mogu koristiti benzin s udjelom etanola od 20-25% v/v do čistog bezvodnog etanola (E100) koji danas čine 90% prodanih vozila u Brazilu (ePURE (european renewable ethanol) 2014).

3.4 DOBIVANJE ETANOLA

Alkoholna fermentacija najstariji je način dobivanja etanola. To je biokemijski proces koji se koristi u proizvodnji piva, vina i drugih alkoholnih pića, primjenjuje se u proizvodnji čistog alkohola, koji se koristi u proizvodnji žestokih alkoholnih pića, kemijskoj i farmaceutskoj industriji te kao gorivo (Grba 2010). Alkoholnu fermentaciju provode uglavnom kvasci iz fermentabilnih šećera. Fermentaciju mogu provoditi kvasci koji su već prisutni na samoj sirovini ili naknadno dodana čista kultura kvasaca.

Danas se zna točan biokemijski put razgradnje šećera do etanola koji obuhvaća razgradnju glukoze glikolizom do piruvata, zatim dekarboksilaciju nastalog piruvata u acetaldehid i njegovu redukciju u etanol. Ovakav način razgradnje šećera svojstven je kvascima i pojedinim bakterijama i može se prikazati ovisnošću :



Nastajanje etanola iz različitih šećera može se prikazati sljedećim jednadžbama:

- **heksoze :** $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \rightarrow 2 \text{ C}_2\text{H}_5\text{OH} + 2 \text{ CO}_2 + \text{E}$
- **heksozni disaharidi:** $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11} \rightarrow 4 \text{ C}_2\text{H}_5\text{OH} + 4 \text{ CO}_2 + \text{E}$
- **heksozni polisaharidi:** $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n \rightarrow 2n \text{ C}_2\text{H}_5\text{OH} + 2n \text{ CO}_2 + \text{E}$

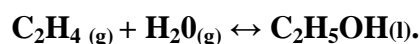
Vidljivo je da osim etanola nastaje još i CO₂ koji pri izlasku iz komine uzrokuje pjenjenje što podsjeća na vrenje pa se proces još naziva i alkoholno vrenje. Alkoholna fermentacija je prirodno zaštićeni proces jer alkohol koji nastaje djeluje kao inhibitor za većinu bakterijskih vrsta pa one postepeno nestaju napretkom procesa vrenja. Uvjete za

alkoholno vrenje treba prilagoditi tako da najviše odgovaraju kvascima. Koncentracija šećera u podlogama može biti od 15-20%, ali je zbog moguće inhibicije supstratom poželjna nešto niža koncentracija od oko 5 %. Vrsta i količina kvasca, njegov aktivitet te koncentracija šećera i sastav hranjive podloge uvjetuju vrijeme trajanja alkoholnog vrenja (Grba 2010).

Etanol se također može dobiti kemijskom sintezom. Sintetski alkohol koristi se za potrebe kemijske industrije gdje se primjenjuje kao otapalo i sirovina za pripremu drugih kemikalija. Proizvodi se iz petrokemijskih sirovina, tj. hidratacijom etena dobivenog krekiranjem nafte.

Ovom reakcijom nastaju toksični nusproizvodi stoga se sintetski etanol ne koristi za ljudsku uporabu. Reakcija hidratacije etena provodi se u prisustvu pare i fosforne kiseline kao katalizatora vezanog na površinu čvrstog nosača (silikagel ili dijatomejska zemlja).

Jednadžba reakcije:



Reakcija se provodi pri temperaturi od 300 °C i tlaku od 60-70 atm., a omjer vodene pare i etanola je 0.6 : 1. Kao završni proizvod dobiva se vodena otopina etanola. Voda se uklanja frakcijskom destilacijom što rezultira mješavinom 4 % vode i 96 % etanola. Preostalih 4 % vode uklanja se refluksiranjem s kalcijevim oksidom (dehidratacijska tvar) ili miješanjem s benzenom koji razdvaja azeotropnu smjesu i daljnjom destilacijom nastaje čisti etanol. Nove tehnike pročišćavanja koriste zeolite koji imaju strukture s porama koje mogu apsorbirati vodu te je tako ukloniti iz smjese.

3.5 SIROVINE ZA DOBIVANJE ETANOLA

Sirovine iz kojih se alkoholnom fermentacijom može dobiti etanol su različite. Od davnina je poznato alkoholno vrenje mošta u proizvodnji vina i drugih voćnih sirovina u proizvodnji voćnih rakija, što se u prirodi zbivaju kao spontane fermentacije. Međutim, osnovne sirovine u industrijskoj proizvodnji alkohola su uglavnom šećerne i polisaharidne sirovine te u novije doba lignocelulozni materijali (Grba 2010).

Osim gore navedene podjele sirovine za proizvodnju etanola također možemo još podijeliti na sirovine prve generacije i sirovine druge generacije. U sirovine prve generacije spadaju šećerne i škrobne sirovine koje su široko rasprostranjene i koriste se u prehrani ljudi i

kao stočna hrana. U sirovine druge generacije ubrajaju se lignocelulozne sirovine koje imaju visok potencijal prinosa biogoriva te se ne koriste za proizvodnju hrane ili krmiva.

3.5.1 ŠEĆERNE SIROVINE

Od šećernih sirovina se najčešće koriste melase šećerne repe i šećerne trske, sokovi šećerne repe i šećerne trske, sirutka, sulfitna lužina i hidrol, a veoma rijetko voćne sirovine. (Grba 2010).

Za proizvodnju etanola iz šećernih sirovina koristi se najmanje složena tehnologija i postupak proizvodnje je najjednostavniji jer sirovine sadrže već fermentabilne šećere (glukozu, fruktozu, manozu, saharozu i maltozu) pa nije potrebna njihova predobrada u cilju redukcije šećera.

3.5.1.1 ŠEĆERNI SOKOVI ZA PROIZVODNJU ETANOLA

Šećerna repa, šećerna trska, slatki sirak i neka voća su dobar izvor sokova bogatih šećerima za proizvodnju bioetanola. Međutim, kratko vrijeme skladištenja i podložnost kontaminacijama različitim mikroorganizmima pokazali su se kao glavni nedostaci sokova kao supstrata (Zabed, i dr. 2014).

Pojednostavljeni proces proizvodnje sokova obuhvaća usitnjavanje sirovine pomoću raznih mlinova ili rezača, nakon čega slijedi tiještenje ili ekstrakcija šećernog soka te njegovo pročišćavanje. Nakon procesa ekstrakcije osim soka dobiva se bagasa (šećerna trska i slatki sirak) ili pulpa (šećerna repa) koji se također mogu iskoristiti za proizvodnju bioetanola.

3.5.1.1.1 SOK ŠEĆERNE TRSKE

Šećerna trska (Slika 2. i 3.) je najvažniji usjev za proizvodnju bioetanola u tropskim i suptropskim krajevima.

Nakon žetve ubrzo nastupa kvarenje tj. degradacija udjela saharoze pa se za razliku od šećerne repe ne može skladištiti.



Slika2. *Usjev šećerne trske (Anonymous 2)*



Slika3. *Stabljike šećerne trske (Anonymous 3)*

Ukupan udio fermentabilnih šećera iznosi od 12% do 17% od čega 90% čini saharoza, a preostalih 10% su glukoza i fruktoza. Sastav šećera varira ovisno o vrsti, stupnju zrelosti i vremenu žetve. Sok šećerne trske sadrži adekvatnu količinu organskih nutrijenata i minerala što ga čini idealnom sirovinom za proizvodnju bioetanol (Zabed, i dr. 2014).

3.5.1.1.2 SOK ŠEĆERNE REPE

Rijetki sok šećerne repe sadrži 15- 20% suhe tvari s 85% do 90% fermentabilnih šećera, a proizvodi se vodenom ekstrakcijom repinih rezanaca (Zabed, i dr. 2014).

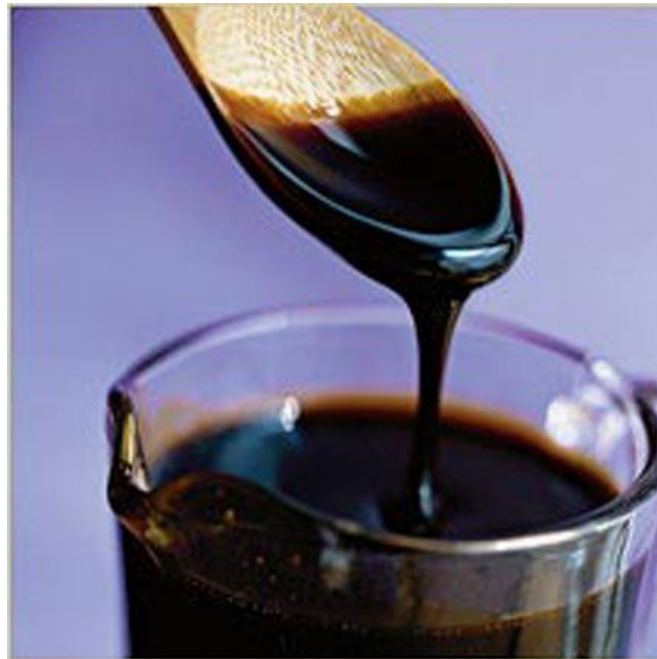
Zbog visoke koncentracije šećera može se direktno koristiti za proizvodnju etanola. Gusti sok šećerne repe može se dobiti uparavanjem rijetkog soka koji zaostaje kao nusprodukt. Ugušćeni sok sadrži 60-65% suhe tvari te zauzima manji volumen pri skladištenju i može se skladištiti dulje od rijetkog soka jer je manje podložan kontaminaciji.

3.5.1.1.3 SOK SLATKOG SIRKA

Slatki sirak ima određene prednosti pred drugim šećernim usjevima (šećerna repa i trska) kao što je kratko vrijeme kultivacije (4-5 mjeseci), dobro podnosi sušu i niske temperature. Stabljika slatkog sirka sadrži slobodne topive šećere, uglavnom glukoza, saharoza i netopive ugljikohidrate kao celuloze i hemiceluloza. Sok slatkog sirka sadrži prosječno 15 g saharoze na 100g otopine (Zabed, i dr. 2014).

3.5.1.2 MELASA

Melasa je gust, vrlo viskoznan, tamno obojen nusproizvod šećerne industrije (Slika 4.). Sadrži 80 do 83% suhe tvari u kojoj prevladavaju šećeri. Udjel suhe tvari i kemijski sastav melase može biti vrlo promjenjiv, ovisno o podrijetlu (repina ili tršćana), tipu (obična, odnosno Steffen i Quentin melasa; ovisno o primjeni ionskih izmjenjivača za zamjenu kalijevih iona kalcijevim ili magnezijevim ionima, zbog povećanja iscrpka saharoze), tijeku kampanje prerade sirovina(osobito šećerne repe), načinu i trajanju skladištenja melase. Melasa je česta i veoma rasprostranjena sirovina u biotehnološkoj proizvodnji, poglavito u proizvodnji pekarskoga kvasca, etanola, organskih kiselina, antibiotika i enzima. Repina i tršćana melasa razlikuju se, ne toliko prema udjelu šećera, koliko prema vrsti šećera i drugih sastojaka važnih za pripremljanje mikrobnih podloga (Tablica 2.) (Marić 2000).



Slika4. *Melasa* (Anonymuous 4)

Tablica2. *Kemijski sastav repine i tršćane melase (Marić 2000).*

Sastojci (%)	Repina melasa	Tršćana melasa
Suha tvar	75-85	77-86
Ukupni šećer	46-55	50-60
Invertni šećer	0,5-1,0	10-30
Rafinoza	0,6-1,0	-
Dušik	0,8-2,5	0,4-1,5
Pepeo	5-10	7-11
P ₂ O ₅	0,02-0,07	0,6-2,0
CaO	0,3-0,7	0,1-1,1
K ₂ O	2,2-4,5	2,6-5,0
Na ₂ O	0,8-1,5	0,5-2,0
MgO	0,01-0,4	0,3-1,0
Talog izdvojen centrifugiranjem(%)	0,5-1,0	1,0-1,5
Oligoelementi (mg/kg)		
Cink	30-50	5-20
Bakar	3-7	5-25
Željezo	50-100	150-500
Mangan	3-12	-
Vitamini (mg/kg)		
Tiamin	1-3	3-4
Riboflavin	0,1-0,7	2-3
Piridoksin	3-6	6-7
Nikotinamid	37-51	20-30
Ca-pantotenat	40-120	20-120
Folna kiselina	0,2-0,3	0.03-0,1
Biotin	0,01-0,12	0,8-1,8
Inozitol	5000-8000	5000-6000

3.5.1.3 SIRUTKA

Sirutka je sekundarna sirovina životinjskog podrijetla, a dobiva se kao nusproizvod pri proizvodnji sira. Može biti slatka ili kisela, ovisno o postupku grušanja mlijeka (enzimski ili kiselinski). Svježu se sirutku izravno koristi kao krmivo ili je se u biotehnološkim postupcima prerađuje u proteinska krmiva i etanol. Najvažniji proteini sirutke su beta-laktoglobulin, alfa-laktoalbumin, imunoglobulini i albumin krvnog seruma. U sirutki je velik i udio vitamina A i holina (Marić 2000).

3.5.1.4 SULFITNA LUŽINA

Sulfitna je lužina nusproizvod sulfitnog postupka prerade drva u celulozu. Sulfitna kiselina pritom reagira s ligninom, tvoreći topljivu lignosulfonsku kiselinu, pa gotovo polovica suhe tvari drva prelazi u otopinu što se naziva sulfitna lužina. Uporabljivost sulfitne lužine kao izvora ugljika za mikrobne procese određen je udjelom hlapljivih kiselina, SO₂ i furfurala, jer ti sastojci inhibiraju rast mikroorganizama (Marić 2000).

3.5.1.5 HIDROL

Hidrol je sirupasti ostatak pri proizvodnji glukoze iz škrobnih sirovina (žitna melasa). Ima 50 do 55% suhe tvari od čega je 68 do 78% glukoza, a ostatak nefermentabilni sastojci, uglavnom dekstrini i genciobioza (Marić 2000).

3.5.2 ŠKROBNE SIROVINE

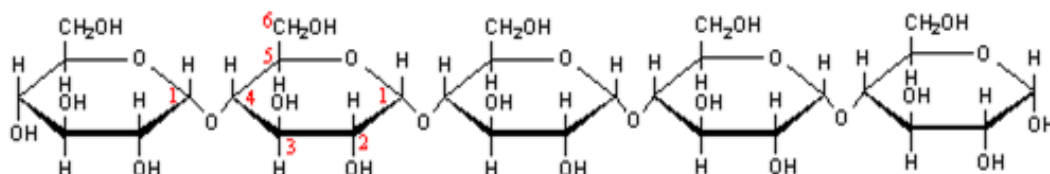
U proizvodnji alkohola koriste se i škrobne sirovine (kukuruz, druge žitarice, riža, krumpir). U svijetu je najveća proizvodnja alkohola iz kukuruza, posebno u SAD-u, a u novije vrijeme i u Kini i Europi. Proizvodnja alkohola iz škrobnim sirovina je principijelno ista ili slična onoj na šećernim sirovinama, ali se razlikuju u procesu pripreme supstrata. Škrobne sirovine je nužno razgraditi tj. prevesti škrob do fermentabilnih šećera (monosaharidi, disaharidi), koje kvasci mogu prevreti u etanol (Grba 2010).

3.5.2.1 ŠKROB

Škrob je polimer monosaharida glukoze i obično se sastoji od 20 do 30 % dugih ravnolančanih, vodotopljivih molekula amiloze (Slika 5.) što u hladnom reagiraju s jodom i daju plavo obojenje, te 70 do 80 % razgranatih molekula amilopektina (Slika 6.) što u toploj vodi prelaze u škrobni lijepak i s jodom daju ljubičastu boju. Škrob se pojavljuje u biljkama u obliku granula ili zrnaca, veličina i oblik kojih ovise o vrsti biljke u kojoj škrob nastaje fotosintezom. Škrob je najvažniji rezervni ugljikohidrat žitarica, kukuruza i krumpira (Marić 2000).

Amiloza

Molekule amiloze sastoje se od glukoznih (α -glukopiranoznih) jedinica vezanih α -1,4-glikozidnom vezom u dugačke ravne lance. Jedna molekula sadrži 25 do 1000 glukoznih jedinica i zato je molekulska masa amiloze promjenjiva u širokom rasponu od 4×10^3 do $1,5 \times 10^5$ (Marić 2000).

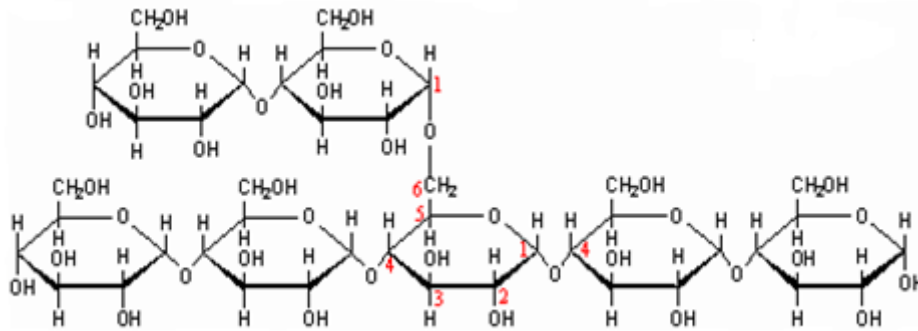


Slika5. Strukturna formula amiloze (Anonymous 5)

Amilopektin

Molekule amilopektina građene su od oko 3000 glukoznih jedinica, molekulska masa im može biti i veća od 5×10^5 (Marić 2000).

Amilopektin je razgranati polimer koji se sastoji od glukoznih jedinica povezanih α -1,4 glikozidnim vezama ali i α -1, 6 glikozidnim vezama na mjestu grananja. Do grananja dolazi na svakih 24 do 30 glukoznih jedinica, a ogranci sadržavaju prosječno 20 do 25 glukoznih jedinica.



Slika 6. Strukturna formula amilopektina (Anonymous 6)

2.5.2.2. PREDTRETMAN ŠKROBNIH SIROVINA

Proces proizvodnje bioetanol iz škrobnih sirovina uvijek počinje pripremom i ukomljavanjem, bez obzira na različitost sirovina i namjenu proizvoda hidrolize. Priprava se sastoji od čišćenja ili pranja, ponekad namakanja te usitnjavanja sirovina. Ukomljavanje usitnjenih sirovina s vodom uključuje zagrijavanje, želatiniranje, likvefikaciju i ošećerenje komine (Marić 2000).

3.5.2.1.1 MLJEVENJE

Postupak mljevenja se primjenjuje radi oslobađanja škrobnih zrnaca iz endosperma zrna. U suvremenim biotehnoškim procesima proizvodnje alkohola iz kukuruza ili koje druge žitarice, supstrat se samelje u krupicu. Ako se proizvodi samo alkohol, najčešća je suha meljava, dok se u proizvodnji škroba i pivske krupice koristi mokra meljava (Grba 2010).

3.5.2.1.1.1 MOKRO MLJEVENJE

U ovom postupku se polazna sirovina (kukuruz ili neka druga žitarica) prvo moči kako bi se uklonila oštećena zrna, pljeva, komadi klipova i strani materijal. Nakon toga slijedi

močenje očišćenog zrnja u vodi u koju je dodan sumporni dioksid radi suzbijanja rasta bakterija.

Močenje traje jedan do dva dana na temperaturi od oko 50 °C. Tijekom močenja zrno bubri i omekšava, što mljevenje čini učinkovitijim. Nakon močenja zrnje se grubo melje kako bi se od zrna odvojila klica koja je bogata uljem (85 %). Voda zaostala od močenja, poznata pod nazivom kukuruzna močevina (eng. "corn steep liquor,") se ne baca već se koncentrira uparavanjem.

Tijekom močenja otopina je apsorbirala topive nutrijente te se može upotrijebiti za stočnu hranu. Nakon grubog mljevenja, klica se s obzirom da je lakša, odvaja od ostatka kukuruznog zrna u hidrociklonu nakon čega se ispire s vodom, suši i dalje obrađuje za dobivanje ulja.

Ostatak kukuruznog zrna nakon uklanjanja klice ide na fino mljevenje pomoću kojeg se odvajaju škrob i gluten od vlakana. Vlakna se uklanjaju prosijavanjem nakon čega se suše i koriste kao stočna hrana. Preostala smjesa škroba i glutena razdvaja se centrifugalnom separacijom. Glutenska frakcija služi kao stočna hrana, a škrob se dalje procesira za dobivanje etanola.

3.5.2.1.1.2 SUHO MLJEVENJE

Proces suhog mljevenja započinje čišćenjem sirovine kao i u slučaju mokrog mljevenja.

Danas je u svijetu zastupljeniji postupak suhog mljevenja (oko 67 %) s obzirom da su ukupni troškovi po litri proizvedenog etanola dva do četiri puta manji nego kod primjene postupka mokrog mljevenja koji je zastupljen svega oko 33% (Nikolić 2009).

Sirovina nakon čišćenja dolazi do mlinova čekićara gdje se zrnje usitnjava do određene veličine (većina biorafinerija usitnjava do veličine od 1 mm). Teško je odrediti idealnu veličinu čestica, budući da manje čestice vode ka većem prinosu ali mogu uzrokovati sljepljivanje kod zagrijavanja, veći viskozitet komine i otežano odvajanje proizvoda. Kod većih čestica ne dolazi do navedenih problema ali je potrebno koristiti više energije tijekom kuhanja sirovine što povećava troškove procesa. .

3.5.2.1.2 UKOMLJAVANJE I OŠEĆERENJE ŠKROBNIH SIROVINA

Usitnjavanjem ili mljevenjem gomoljastih sirovina bogatih vodom (iznad 80 %) dobiva se komina koja se odmah može podvrgnuti postupku likvefikacije i ošecerenja.

Zrnate sirovine treba u odgovarajućem omjeru pomiješati s vodom, zbog malog udjela vode u sirovini (slad 3-5 %, žitarice i kukuruz 14-17 %). Zrnate sirovine (cijelo zrnje, prekrupa dobivena mljevenjem) ili tehnički škrob se u odgovarajućoj posudi s mješalom (komovnjak ili kotao za kuhanje komine) suspendira u vodi, najčešće u omjeru 1 : 2,8 do 4,5.

Ovisno o sirovini, načinu pripreme i namjeni slatke komine, primjenjuju se temperature od 100 do 160 °C . Za komine pripravljene od mljevenih žitarica obično se primjenjuje temperatura od otprilike 100 °C. Pri višim temperaturama struktura amiloze se gubi, kristalinična zrnca upijaju više vode pa sve više bubre i povećavaju volumen 25 do 30 puta, pri čemu zrnca dobivaju male radijalne pukotine.

Rast temperature iznad točke želatiniranja i nastavak upijanja vode izazivaju difuziju amiloze iz raspadajućih zrnaca. Molekule vode sljubljuju se sa slobodnim hidroksilnim skupinama glukoze, pa tako modificirani škrob prelazi u koloidnu otopinu i tvori koloidni gel.

Nastajanje gela je ireverzibilno i povezano s rastom viskoznosti. Zbog daljnjeg upijanja vode, dobiva se mliječno-mutnu, opalescentnu i veoma viskoznu masu što se u praksi naziva želatiniziranim škrobom ili škrobnim lijepkom („klajsterom“). Dodatkom termostabilne α -amilaze viskoznost komine se smanjuje zbog likvefikacije želatiniziranog škroba.

Vodotopljivi želatinizirani škrob može se enzimski hidrolizirati, ali kominu treba prije toga ohladiti na optimalnu temperaturu za primjenu hidrolitičkog enzima. Suvremenoj enzimskoj hidrolizi toplinski želatiniziranog škroba prethodila je enzimska hidroliza proizvoda djelomične hidrolize škroba dobivenih primjenom kiselina i topline.

Pritom nastaju vodotopljivi dekstrini što ih se lako hidrolizira uz primjenu β -amilaze iz slada ili bakterijskog ili one fungalnog podrijetla. To je bila i ostala osnova kombinirane kemijsko enzimске metode ošecerenja škroba , kakva se i danas temelji na mikrobnim enzimima (Marić 2000).

Alfa-amilaza cijepa α -1,4 glikozidne veze ali ne i α -1,6 glikozidne veze amilopektina, posljedično, amiloza je reducirana do maltoze i maltotrioze. Pri produljenom djelovanju

enzima dobiva se glukoza i maltoza. Djelovanjem alfa-amilaze amilopektin se reducira samo do mješavine maltoze i glukoze te oligosaharida koji sadrže α -1,6 povezane glukozne ostatke (Mousdale 2008). Alfa-amilaze su endo-enzimi, nasumce cijepaju glikozidne veze u unutrašnjosti škrobne molekule što smanjuje viskoznost koloidnog gela škrob/voda (Marić 2000).

U želatiniziranom škrobu i dekstrinima β -amilaza hidrolizira α -1,4 glikozidne veze. Ona počinje hidrolizu od neredukcijskog kraja škrobnog lanca, odcjepljujući po dvije glukozne jedinice, znači disaharid maltozu (Marić 2000).

Međutim, ne može cijepati α -1,6 veze tj. u mjestima grananja škrobnog lanca. Ako bočni lanac ima paran broj glukoznih jedinica, hidrolizirati će se sve do mjesta grananja, a ako je broj jedinica neparan zaostat će jedan glukozni ostatak.

Glukoamilaze (amiloglukozidaze) su enzimi što također cijepaju α -1,4 glikozidne veze. Oni počinju hidrolizu s kraja škrobnog lanca, odcjepljujući jednu po jednu molekulu glukoze i pritom hidroliziraju i α -1,6 veze u točkama grananja, pa mogu potpuno razgraditi amilopektin do glukoze (Marić 2000).

3.5.3 LIGNOCELULOZNE SIROVINE

Klimatske promjene i rastuća potreba za energijom kao i dostupnost iste zahtijevaju zamjenu fosilnih goriva kao najraširenijeg izvora energije. To je skrenulo pozornost na korištenje fermentabilnih šećera iz lignoceluloznih sirovina kao najrasprostranjenijeg obnovljivog izvora ugljikohidrata za proizvodnju biogoriva (Singh, i dr. 2010).

Godišnje se proizvede približno $150\text{--}170 \times 10^9$ tona lignocelulozne sirovine. Također, valja napomenuti da su biogoriva prve generacije, proizvedena iz hranidbenih usjeva kao što su žitarice, šećerni usjevi i uljarice, ozbiljno kritizirana jer mogu potaknuti kompeticiju između proizvodnje hrane i goriva te dovesti do povećanja cijene hrane (Jouzani i Taherzadeh 2015).

Prednosti biogoriva baziranih na lignoceluloznim sirovinama su sljedeće:

- Biomasa je geografski ujednačenije rasprostranjena nego fosilna goriva, prema tome, izvori energije će u većoj količini biti „domaći“ te tako pružati sigurnost opskrbi.
- Lignocelulozne sirovine umanjuju potencijalni konflikt između količine zemlje korištene za proizvodnju hrane i energetske usjeva. Lignocelulozna sirovina je jeftinija nego konvencionalna poljoprivredna sirovina i može se proizvesti uz manju primjenu gnojiva, pesticida i energije.
- Proizvodnja biogoriva iz lignoceluloznih sirovina omogućuje otvaranje novih radnih mjesta u ruralnim krajevima. (Hahn- Hagerald, i dr. 2006)

Problemi pri proizvodnji alkohola iz lignoceluloznih sirovina su vezani uz složenost same sirovine, transport biomase manje gustoće do centraliziranih biorafinerija te problemi vezani uz prethodnu obradu sirovina (predtretman) i hidrolizu do fermentabilnih šećera (Balan 2014).

Iako je lignocelulozna biomasa vrlo rasprostranjena, komercijalizacija procesa proizvodnje etanola je limitirana zbog nedovoljnog istraživanja, osobito onih vezanih za smanjenje proizvodnih troškova (Joshi, i dr. 2011)

Lignocelulozne sirovine mogu biti:

a) Poljoprivredni ostaci : slama (pšenica, ječam, riža, raž), kukuruzovina, biomasa šećerene trske (bagasa), pulpa šećerne repe

b) Drvo: nativno, šumski otpaci, otpaci od prerade drveta, piljevina

c) Energetski usjevi (za čiju sadnju se mogu iskoristiti rubna zemljišta koja nisu pogodna za sadnju drugih usjeva) : miskantus, višegodišnje trave, topola

d) Komunalni otpad: papir

3.5.3.1 GRAĐA LIGNOCELULOZNIH SIROVINA

Lignoceluloza je mnogo kompleksniji supstrat od škroba. Sastoji se od ugljikohidratnih polimera (celuloze i hemiceluloze) i lignina. Ugljikohidratni polimeri su čvrsto vezani za lignin vodikovim ali i kovalentnim vezama (Lin i Tanaka 2006).

Celuloza je glavni sastojak lignocelulozne biomase i čini 40-50 % suhe tvari biomase. Stupanj polimerizacije i kristaličnosti celuloze varira među vrstama i ima veliki utjecaj na proces hidrolize (Bishu Jashij, 2011.). Celuloza je poput škroba građena od lanaca sastavljenih od jedinica D- glukoze. Svaka jedinica vezana je β -1,4-glikozidnom vezom sa sljedećom jedinicom (1000-1500 jedinica). Dugi lanci celuloze poredani su u snopove učvršćene vodikovim vezama između brojnih OH-skupina. Snopovi su međusobno isprepleteni i čine zamjetna vlakna. U drvu su celulozni snopovi uloženi u lignin i imaju strukturu sličnu armiranom betonu. Kristalična je celuloza u staničnim stijenkama otporna na hidrolizu, među ostalim, zbog zaštitnog učinka okolnog lignina (Marić 2000).

Hemiceluloza je jednostavnije građe i čini od 25 do 35 % suhe tvari biomase te se jednostavno reducira do fermentabilnih šećera (Joshi, i dr. 2011). Hemiceluloza je razgranati polimer sastavljen od pentoznih šećera (ksilozne i arabinoze), nekih heksoza (pretežno manozna) i šećernih kiselina (Marić 2000).

Lignin je treći po redu najznačajniji sastojak lignoceluloznih sirovina te čini od 25 do 35 % suhe tvari biomase. Kompleksni je polimer p-kumarila, koniferal i sinopil alkohola (supstituirani fenoli). Lignin se ponaša kao cementni (zaštitni) sastojak i neprobojna barijera za enzime. Omogućuje biljkama strukturu potporu i neprobojnost koja im je potrebna kao i otpornost na mikroorganizme i oksidativni stres (Joshi, i dr. 2011). Vrlo je otporan na kemijsku i biokemijsku razgradnju, ali je poput hemiceluloze potencijalno zanimljiva biotehnološka sirovina (Marić 2000).

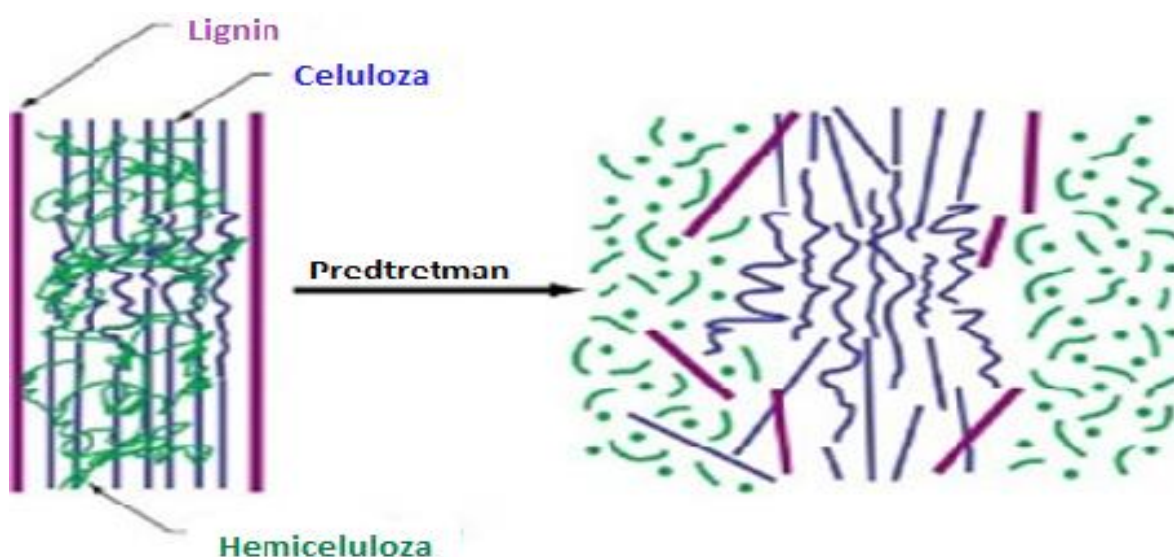
Proces proizvodnje etanola iz lignoceluloznih sirovina sastoji se od delignifikacije kako bi se oslobodila celuloza i hemiceluloza iz kompleksa, depolimerizacije ugljikohidratnih polimera do slobodnih šećera i fermentacije mješavine heksoza i pentoza do etanola.

3.5.3.2 PREDTRETMAN LIGNOCELULOZNIH SIROVINA

Predobrada (Slika 7.) sirovina potrebna je kako bi se promijenio sastav i struktura sirovine što podrazumijeva uklanjanje lignina, potpunu ili djelomičnu hidrolizu hemiceluloze (do D-ksiloze i D-arabinoze) te smanjenje stupnja kristalčnosti celuloze.

Time se povećava poroznost materijala i osigurava bolja dostupnost celuloze hidrolitičkim sredstvima (celulaze i/ili kiseline). Efikasno proveden predtretman ima za posljedicu smanjenu potrebu za hidrolitičkim enzimima koji čine velik udio u troškovima proizvodnje, smanjenje energetske troškova za miješanje i izdvajanje proizvoda, brza fermentacija bez inhibicije i maksimalan prinos bioetanola.

Metode predobrade dijele se na: **fizikalne, fizikalno-kemijske, kemijske i biološke.**



Slika 7. Hidroliza lignoceluloze (Anonymous 7)

3.5.3.2.1 FIZIKALNE METODE

U fizikalne metode predtretmana ubrajaju se mehaničko usitnjavanje, piroliza, ekstruzija i zračenje. Fizikalne metode ne zahtijevaju upotrebu nikakvih kemikalija.

Mehanički procesi podrazumijevaju mljevenje ili sjeckanje biomase čime se povećava površina biomase, a smanjuje stupanj polimerizacije i kristaliničnost celuloze. Međutim, energija potrebna za usitnjavanje biomase na milimetarsku razinu je vrlo visoka što je neprihvatljivo s inženjerske točke gledišta (Zhao, i dr. 2012).

Usitnjavanje biomase je preliminarni postupak neovisno o vrsti korištenog predtretmana, no zbog visokog utroška energije potrebno je naći kompromis između željene veličine čestica i troškova procesa.

Sjeckanjem se biomasa usitnjava do veličine od 10 do 30 mm, a mljevenjem od 0,2 do 2 mm (Balan 2014).

Piroliza je postupak u kojem dolazi do razgradnje neke organske tvari zbog djelovanja topline bez prisustva kisika ili nekoga reagensa, osim vodene pare. Na temperaturi iznad 300°C, celuloza iz lignocelulozne biomase naglo se razgrađuje, nakon čega dolazi do tvorbe plinova i ostatka. Pri nižim temperaturama, razgradnja je znatno sporija. (Janušić, i dr. 2008).

Ekstruzija podrazumijeva povećanje volumena ili rastezanje lignoceluloznog materijala vlažnom toplinom, što uzrokuje pucanje vlakana i oslobađanje manjih komadića celuloze. Postupak ekstruzije uključuje podvrgavanje lignoceluloznog materijala pregrijanoj vodenoj pari pod tlakom u trajanju od 2 do 20 minuta i zatim spuštanje tlaka na razinu atmosferskog. Zato isparuje voda u lignoceluloznom materijalu te se on brzo rasteže i raspada u manje komadiće veće poroznosti (Marić 2000).

Lignocelulozne komplekse može se uspješno depolimerizirati zračenjem uz primjenu visokih doza (više od 10 Mrada) gama-zraka. Stupanj depolimerizacije ovisi o dozi zračenja. vrijednosti niže od 1 Mrada nemaju nikakav učinak, a iznad 50 Mrada izazivaju znatno smanjenje udjela kristalinične celuloze, tj. njezino prevođenje u vodotopiv oblik. Troškovi takve predobrade su vrlo visoki pa taj postupak nema industrijsku primjenu (Marić 2000).

3.5.3.2.2 KEMIJSKE METODE

U kemijskim predtretmanima koriste se razni kemijski agensi kao što su, kiseline, lužine, organska otapala i ozon a kao obećavajuća tehnologija navodi se predtretman ionskim tekućinama.

U kiselim uvjetima (korištenjem mineralnih kiselina kao H_2SO_4 , HCl , H_3PO_4 i HNO_3 ili organskih kao fumarna ili octena) hemiceluloza se reducira do monomera ksiloza, ostavljajući za sobom lignin i celulozu koja se onda može enzimatski razgraditi do monomera. Koncentracija kiseline, temperatura i trajanje procesa utječe na tvorbu hidroksimetil furfurala, furfurala i nekoliko fenola koji djeluju inhibirajuće na procese hidrolize i fermentacije. Manje degradacijskih produkata nastaje uporabom mineralnih kiselina (Balan 2014).

Najčešće se koristi razrijeđena sumporna kiselina (0.5 to 1.5% H_2SO_4) na temperaturi od 100 do 150°C (Joshi, i dr. 2011). Predtretman razrijeđenom sumpornom kiselinom je vrlo razvijen jer omogućuje visoke prinose čime se pospješuje proces hidrolize celuloze. U procesu se može koristiti i koncentrirana kiselina, no onda je potrebno koristiti opremu otpornu na koroziju te regenerirati kiselinu što povećava ukupne troškove za razliku od razrijeđene koju nije potrebno regenerirati. Nakon tretmana kiselinom, hidrolizat je potrebno neutralizirati.

Alkalnim predtretmanom razbija se kompleks lignin-ugljikohidrati, dolazi do bubrenja i povećanja unutrašnje površine celuloze i smanjenja njezine kristaličnosti. Ovim procesom hidroliziraju se manje količine celuloze i hemiceluloze. U ovom procesu nastaje manje degradirajućih produkata u odnosu na predtretman kiselinama (Balan 2014). Najčešće se koriste $NaOH$ ili vapno. Preferira se korištenje vapna jer je jeftinije i sigurnije te se lako regenerira iz hidrolizata reakcijom s CO_2 (Joshi, i dr. 2011).

U odnosu na predtretman kiselinama, predtretman bazama je ograničen zbog mogućnosti odigravanja reakcije saponifikacije lužina i intermolekularnih esterskih prstenova dobivenih razgradnjom veza ksilana hemiceluloze i drugih komponenata (Predojević 2010).

Osim $NaOH$ i vapna koriste se još i KOH i amonijak. Alkalni predtretman je učinkovitiji na biomasi s manjim udjelom lignina.

U kemijske predtretmane u neutralnom uvjetima ubrajaju se ozonoliza, predtretman ionskim tekućinama i organskim otapalima.

Ozon je alotropska modifikacija kisika, a može se koristiti u predtretmanu lignocelulozne biomase, s ciljem razgradnje lignina i hemiceluloze. Nedostatak te metode jest činjenica da ozon u znatnoj mjeri djeluje na lignin, slabije na hemicelulozu, a gotovo nikako na celulozu. Prednosti su mnoge, ali zbog velike količine potrebnog ozona, taj postupak nije ekonomičan (Janušić, i dr. 2008).

Predtretman ionskim tekućinama je nova metoda predobrade lignoceluloznih sirovina. Ionske tekućine su soli u kojima ioni nisu koordinirani u strukturu kristalne rešetke te su zbog toga u tekućem stanju pri sobnim temperaturama, odnosno temperaturama manjim od 100 °C. Predtretman ionskim tekućinama omogućava visok stupanj separacije lignina te ugljikohidrata (celuloze i hemiceluloze). Ovim postupkom mogu se razgraditi i hemiceluloza i celuloza koje se zatim mogu regenerirati antiotapalom kao voda ili organskim otapalima (aceton, diklormetan itd.). Ionske tekućine su nezapaljive, termostabilne tekućine s niskim tlakom pare što ih čini sigurnijima za okoliš. Visoka cijena ionskih tekućina koči njihovu upotrebu u industrijskom mjerilu.

Organska otapala (metanol, etanol, aceton, etileneglikol, trieten glikol i dr.) i njihove vodene otopine koriste se u predtretmanu lignoceluloznih sirovina. Ona omogućuju ekstrahiranje lignina i dijelom hemiceluloze iz lignocelulozne sirovine. Organskom otapalu mogu se dodati kiseline npr. HCl, H₃PO₄ i H₂SO₄ koje kataliziraju delignifikaciju. Prednost ovog procesa je lako uklanjanje organskog otapala destilacijom. Proces je neekonomičan zbog visokih cijena organskih otapala i njihovog pročišćavanja za ponovnu uporabu.

3.5.3.2.3 BIOLOŠKE METODE

U biološkoj predobradi lignoceluloznih sirovina koriste se mikroorganizmi kao gljive bijelog i smeđeg truljenja te gljive mekog truljenja kao i neke bakterije.

Mikrobi vrlo efektivno razgrađuju lignin uz pomoć degradirajućih enzima lakaza i peroksidaza. Biološki predtretmani vode se pri umjerenim uvjetima i zahtijevaju niske kapitalne troškove u usporedbi s fizikalnim i kemijskim predtretmanima ali je proces vrlo spor (nekoliko dana). Također, biološki predtretman rezultira manjim prinosom šećera u odnosu na kemijski predtretman (Balan 2014).

3.5.3.2.4 FIZIKALNO-KEMIJSKE METODE

Tretman parom je vrlo raširen i najčešće korišten fizikalno-kemijski predtretman. U ovom procesu usitnjena biomasa se tretira zasićenom vodenom parom pri visokom tlaku, nakon čega se tlak naglo smanjuje što uzrokuje eksplozivnu dekompoziciju materijala (Prasad, Singh i Joshi 2007).

Najvažniji parametri procesa su temperatura, tlak i trajanje procesa koji se optimiziraju ovisno o karakteristikama biomase. Uglavnom se primjenjuje temperatura od 160 do 260 °C što odgovara tlaku od 0,69 do 4,83 Mpa, a proces traje nekoliko minuta (Zhao, i dr. 2012).

Dodatkom aditiva kao što su H₂SO₄, ili SO₂ i CO₂, doprinosi se efikasnijoj enzimskoj hidrolizi, smanjenju inhibitorских komponenata i potpunom uklanjanju hemiceluloze. Prednost eksplozivne dekompozicije u prisustvu vodene pare je u tome što je potrebna manja količina energije u usporedbi sa mehaničkim postupkom (do 70%) i nema otpadnih efluenata, koje bi trebalo reciklirati u cilju zaštite životne sredine, a što utječe na poskupljenje postupka (Prasad, Singh i Joshi 2007).

U procesu eksplozije vlakana amonijakom lignocelulozni materijal izlaže se tekućem amonijaku pri visokim temperaturama (60-100 °C) i visokom tlaku određeno vrijeme nakon čega se tlak naglo snižava. Naglo sniženje tlaka uzrokuje ekspanziju amonijačnog plina i dolazi do bubrenja i razaranja lignocelulozne sirovine (Zhao, i dr. 2012).

Temperature korištene u ovom procesu su znatno manje nego one u tretmanu biomase parom, što smanjuje potrošnju energije i ukupne troškove. Nedostaci su slabije otapanje hemiceluloze u odnosu na predtretmana kiselinama i predtretman parom proces (Prasad, Singh i Joshi 2007). Međutim, amonijak je potrebno reciklirati isparavanjem što komplicira dizajn sustava i povećava kapitalne troškove (Zhao, i dr. 2012).

3.5.3.3 DETOKSIFIKACIJA

Nakon predtretmana u hidrolizatu se osim fermentabilnih šećera nalaze i furfural, hidroksimetil furfural, aldehidi (vanilin, 4-hidroksiacetofenon, 4-hidroksibenzaldehid 3,4-dihidroksibenzaldehid), kiseline, organske kiseline (octena, kumarna, ferulična...) i alkoholi koji mogu inhibirati enzime u procesu hidrolize te ih je potrebno ukloniti iz hidrolizata.

Uklanjanje se može vršiti kemijskim metodama kao što su adsorpcija na aktivni ugljen, precipitacija ili ionska izmjena. Od fizikalnih metoda može se koristiti vakuum uparavanje za uklanjanje hlapivih inhibitora. Za uklanjanje se također mogu koristiti enzimi (lakaze, peroksidaze) ili mikroorganizmi.

3.5.3.4 HIDROLIZA LIGNOCELULOZNIH SIROVINA

Hidroliza lignoceluloznih sirovina obavlja se enzimski ili pomoću kiselina. Metode kiselinske hidrolize mogu se podijeliti u dvije grupe: hidroliza s koncentriranim odnosno razrijeđenim kiselinama. Hidroliza s koncentriranim kiselinama daje (70%-tna sulfatna i 40%-tna klorovodična) daju bolje rezultate i iskorištenje ali je prisutan problem toksičnosti i korozije, a uz to je nužna i regeneracija da bi proces bio ekonomičan.

Novije metode koriste kombinirani proces hidrolize, gdje se u prvom stupnju koriste razrijeđene kiseline za razgradnju hemiceluloze, a u drugom stupnju se koncentriranim kiselinama razgrađuje samo celuloza. Za razgradnju celuloze, u novije vrijeme sve se više primjenjuje enzimski hidroliza pomoću celulaza, pri čemu se dobije glukoza koju kvasci lagano previru u etanol (Grba 2010).

3.6 Načini vođenja bioprocesa u proizvodnji bioetanol

U industrijskoj proizvodnji alkohola zastupljeni su:

- Šaržni proces
- Šaržni proces s pritokom supstrata

- Polukontinuirani proces
- Kontinuirani proces

3.6.1 ŠARŽNI PROCES PROIZVODNJE BIOETANOLA

Šaržni proces naziva se još i zatvorenim procesom fermentacije. Prethodno sterilizirani supstrat inokulira se radnim mikroorganizmom nakon čega započinje bioproces. Tijekom cijelog bioprocasa u bioreaktor se ne dodaje ništa osim tvari za regulaciju bioprocasa kao što su kisik (u slučaju aerobnih mikroorganizama), protupjenici, kiseline i lužine za kontrolu pH. Sastav hranjive podloge u bioreaktoru, koncentracija biomase i metabolita se konstantno mijenja zbog rasta radnog mikroorganizma i proizvodnje etanola. Bioreaktor se prazni tek na kraju bioprocasa.

Ovakav klasični šaržni proces primjenjuje se samo u proizvodnji alkohola iz kukuruza (najviše u malim farmerskim pogonima). U suvremenim pogonima sve je više zastupljena kontinuirana fermentacija (Marić 2000).

3.6.2 ŠARŽNI PROCES S PRITOKOM SUPSTRATA PROIZVODNJE BIOETANOLA

Šaržni proces s pritokom supstrata je proces u kojem se nutrijenti potrebni za rast kvasca dodaju isprekidano ili kontinuirano, putem jedne ili više prihrana (Lim i Shin 2013).

Uzgoj započinje kao šaržni proces s niskom koncentracijom limitirajućeg supstrata. Nema izlaznog toka iz bioreaktora te se volumen unutar bioreaktora konstantno povećava. Prihrana počinje kada se koncentracija limitirajućeg supstrata u bioreaktoru smanji na određenu koncentraciju (ponekad i blizu nule), a koncentracija biomase značajno naraste. Tijekom bioprocasa koncentracija supstrata se održava konstantnom pomoću ulaznog toka s visokom koncentracijom supstrata.

Prednost ovog postupka je izbjegavanje inhibicije supstratom u inicijalnoj fazi procesa, što dovodi do veće koncentracije etanola u istom vremenskom periodu u usporedbi s klasičnim šaržnim procesom (de Oliva-Neto, i dr. 2013).

Ove ove vrste procesa najčešće se koriste tzv. šaržni proces s pritokom supstrata i reciklacijom kvašćeve biomase. Najčešće zastupljeniji su Melle-Boinot postupci (anaeroban proces) i Vogelbusch B-postupak (aeroban proces-osim etanola proizvodi se i prehrambeni kvasac). Melle-Boinot postupak s reciklacijom kvašćeve biomase koristi 75 % brazilskih destilerija pri proizvodnji etanola na melasi i soku šećerne trske.

3.6.3 POLUKONTINUIRANI PROCES PROIZVODNJE BIOETANOLA

Polukontinuirani proces je kombinacija šaržnog i kontinuiranog procesa. Nakon početnog šaržnog uzgoja, iz bioreaktora se izdvaja 1/2-2/3 volumena iskorištene podloge i dovodi se isti volumen svježe sterilne hranjive podloge te se kultura kvasca održava u ekspanzionalnoj fazi. Ovakvim vođenjem procesa ostvaruje se brzi rast stanica uz smanjenu inhibiciju supstratom.

3.6.4 KONTINUIRANI PROCES

Kontinuirani proces dobiva se “otvaranjem,, zatvorenog odnosno šaržnog procesa.

U kontinuiranim procesima, jedan ili više ulaznih tokova koji sadrže potrebne hranjive tvari kontinuirano ulazi u bioreaktor dok se sadržaj bioreaktora koji sada sadrži nastale metabolite i mikrobnu biomasu istovremeno odvodi putem izlaznog toka.

Volumen bioreaktora je konstantan isto kao i koncentracija graničnog supstrata i biomase u bioreaktoru. Mikroorganizmi su stalno u log fazi rasta jer prtok svježeg graničnog supstrata odgovara specifičnoj brzini rasta kvasca te se u bioreaktoru uspostavlja „ustaljeno stanje“. Takvo ustaljeno stanje može se kontrolirati turbidostatski odnosno mjerenjem optičke gustoće kulture i prema tome automatski regulirati dotok hranjive podloge. Ustaljeno stanje se može održavati i kemostatski, gdje se koncentracija biomase održava konstantnim podešavanjem koncentracije jednog supstrata (granični supstrat).

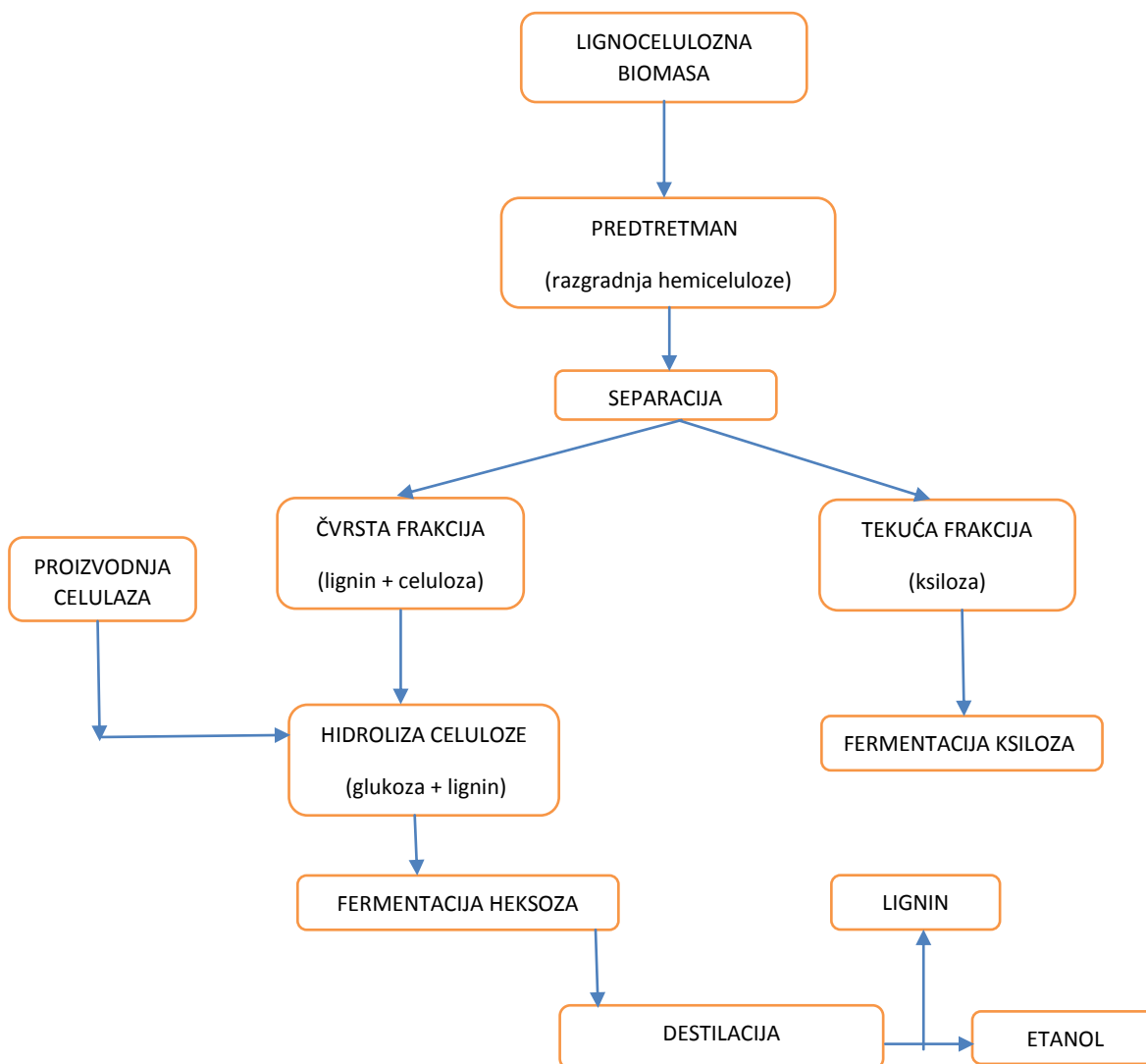
Za proizvodnju etanola u velikom mjerilu koristi se više fermentora povezanih u seriju sa (ili bez) mogućnošću reciklacije biomase (eng. “cascading,,) (Mousdale 2008). Već se duže vrijeme sve više se u proizvodnji alkohola na melasi primjenjuju kontinuirani procesi (Grba 2010), te se u Brazilu pri proizvodnji etanola iz šećerne trske koristi i kontinuirani proces s reciklacijom kvašćeve biomase.

Fermentacija škrobnih sirovina najčešće je kontinuirana, pogotovo u pogonima velikog kapaciteta, a isto kao i destilacija i rektifikacija. Osnovni razlozi su veća produktivnost procesa odnosno smanjenje fiksnih investicijskih troškova, koji mogu biti smanjeni za 50 % u odnosu na šaržne procese (Grba 2010).

Kontinuirani proces nije dominantan industrijski proces zbog podložnosti kontaminaciji mikroorganizmima ili njegovim mutacijama te zbog teškoća u održavanju sterilnosti.

3.6.5 NAČINI PROVOĐENJA BIOPROCESA PRI PROIZVODNJI BIOETANOLA IZ LIGNOCELULOZNIH SIROVINA

Proces proizvodnje bioetanola iz lignoceluloznih sirovina provodi se u nekoliko stupnjeva kao što je prikazao na slici 8.



Slika 8. Shematski prikaz proizvodnje bioetanola iz lignocelulozne biomase (Annonymus 8)

Bioetanol iz lignoceluloznih sirovina može se proizvoditi procesima **odvojene hidrolize i fermentacije, simultane hidrolize i fermentacije i direktne mikrobnе hidrolize i fermentacije.**

U procesu odvojene hidrolize i fermentacije (eng. Separate Hydrolysis and Fermentation, SHF) hidroliza celuloze i fermentacija glukoze provode se u dva zasebna bioreaktora te se celuloza iz čvrste frakcije (lignin + celuloza koja je nakon predtretmana dostupnija celulazama) prvo reducira do glukoze, nakon čega se uklanja lignin. Nastala glukoza se zatim fermentira do etanola. Prednost ovog procesa je što se hidroliza i fermentacija provode pri optimalnim uvjetima (hidroliza: 45-50 °C, fermentacija 30-35 °C). Nedostatak ovog procesa je inhibicija celulozitičkih enzima produktom (glukozom) pa se brzina hidrolize smanjuje što uzrokuje niže prinose.

U procesu simultane hidrolize i fermentacije (eng. Simultaneous Saccharification and Fermentation, SSF) hidroliza celuloze i fermentacija glukoze provodi se u jednom stupnju pa se celulaze i radni mikroorganizam dodaju zajedno. Celuloza iz čvrste frakcije hidrolizira se do glukoze koju odmah previre kvasac te ne dolazi do inhibicije produktom kao kod SHF procesa. Mane ovog procesa su što se previranje pentoza vrši zasebno, proces se ne provodi pri optimalnim uvjetima te kod viših koncentracija supstrata dolazi do ograničenja prijenosa mase i topline te nedovoljne izmiješanosti.

Simultana saharifikacija i ko-fermentacija je proces sličan SSF procesu osim što se fermentacija pentoza i heksoza vrši u istom koraku. U ovom procesu predobrađena biomasa se direktno izlaže različitim enzimima i mikroorganizmima koji reduciraju celulozu i hemicelulozu do fermentabilnih šećera te ih prevode u etanol. Za fermentaciju se koriste najčešće genetički modificirani mikroorganizmi. Ovaj proces je u prednosti pred simultane saharifikacije i fermentacije zbog većih prinosa etanola i bržeg odvijanja procesa (Joshi, i dr. 2011).

Direktna mikrobnа hidroliza i fermentacija (eng. Consolidated Bioprocessing, CBP) je proces u kojem se produkcija celulaza, hidroliza supstrata i fermentacija provode u jednom stupnju. U tu svrhu može se koristiti čista kultura ili mješovita kultura mikroorganizama.

Trenutno ne postoji idealan mikroorganizam koji može učinkovito degradirati lignoceluloznu sirovinu i iskoristiti sve šećere nastale razgradnjom (Joshi, i dr. 2011). No, dobri kandidati su bakterije *Clostridium thermocellum* i *Clostridium phytofermentans* jer

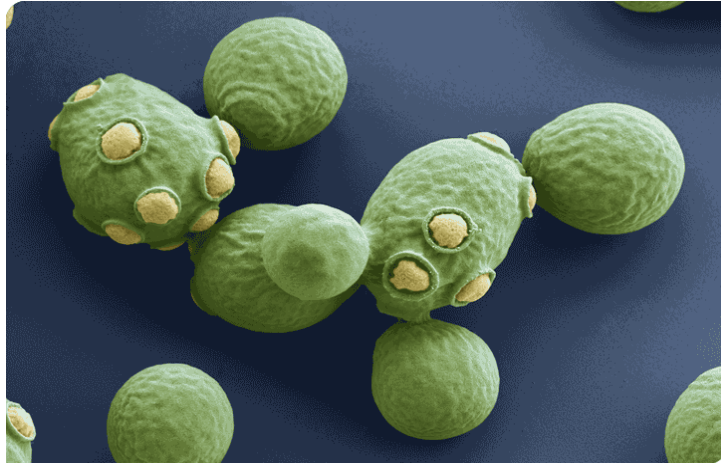
proizvode celulolitičke enzime. Međutim, obje imaju nisku toleranciju prema produktima fermentacije i uz etanol proizvode i octenu kiselinu (Balan 2014).

Direktna hidroliza i fermentacija je obećavajuća tehnologija kojom se može reducirati broj radnih jedinica kao i iznos ukupnih troškova procesa (Jouzani i Taherzadeh 2015).

3.7 Mikroorganizmi u procesu proizvodnje bioetanol

Kvasci pogodni za alkoholno vrenje su fermentativni, askosporogeni i svrstani su uglavnom u rod *Endomycetales*, koji ima četiri porodice. Najbrojnija je *Saccharomycetaceae* i sadrži 4 potporodice, od kojih je najbrojnija *Saccharomycoidae* koja obuhvaća 13 rodova. Najbolje proučeni rod askosporogenih kvasaca je *Saccharomyces* jer se u njemu nalazi oko 30 vrsta koje su od velikog industrijskog odnosno ekonomskog značaja. Najpoznatija vrsta iz tog roda svakako je *Saccharomyces cerevisiae*. Ekonomska važnost kvasca *S. cerevisiae* i podvrsta (sojeva, izolata) posljedica je svojstava ovog mikroorganizma da vrlo brzo fermentira šećere do etanola i CO₂, te da ima visoku toleranciju na alkohol kao proizvod. Svi sojevi kvasca *S. cerevisiae* fermentiraju monosaharide i disaharide veoma brzo, dok trisaharid maltotriozu previru sporije, a samo djelomično rafinozu. S druge strane, pojedini sojevi kvasaca *S. cerevisiae* imaju visoku toleranciju na visoke koncentracije šećera u kominama i alkohola kao produkta (Grba 2010).

Kvasac *S. cerevisiae* naziva se još i pivskim ili pekarskim kvascem. Jednostanični je eukariotski mikroorganizam koji pripada kraljevstvu gljiva. *S. cerevisiae* može postojati u dvije različite forme: kao haploid i kao diploid. Diploidne stanice su elipsastog oblika promjera 5-6 µm, dok su haploidne stanice okruglaste i promjera oko 4 µm. Može se razmnožavati sporulacijom no najčešće se razmnožava pupanjem (Slika 9.).



Slika9. *Saccharomyces cerevisiae* (Anonymous 9)

Pup raste na matičnoj stanici i kada dosegne veličinu odrasle stanice odvaja se, a na matičnoj stanici ostaje ožiljak. Kvascu je potrebno 90 min. da udvostruči svoju populaciju, a žuto-zelene kolonije su vidljive 2-3 dana nakon inokulacije na svježi medij. Može živjeti u aerobnim i anaerobnim uvjetima (fakultativni anaerob). Tijekom anaerobne respiracije razgrađuje molekulu glukoze do etanola i CO₂. Međutim, kvasac može proizvoditi etanol i u prisutnosti kisika ako se nalazi u mediju s visokom koncentracijom šećera što je poznato pod nazivom Crabtree efekt.

Saccharomyces cerevisiae je mezofil i raste na temperaturi od 5 do 35 °C, ali optimalna temperatura za rast se nalazi između 25 i 35 °C. Optimalan pH za rast kvasca je u intervalu od 3,5 do 5. Genom kvasca *Saccharomyces cerevisiae* je prvi eukariotski genom koji je do kraja sekvencioniran (1996. god.). Uz *Escherichiu coli* jedan je od najintenzivnije proučavanih eukariotskih modelnih organizama u molekularnoj biologiji i biologiji stanice. Genom *Saccharomyces cerevisiae* sastoji se od oko 13.000.000 parova baza i 6.275 gena organiziranih u 16 kromosoma. Samo za njih 5.800 se smatra da su funkcionalni geni.

S obzirom da kvasac *S. crevisiae* ne fermentira laktozu, u te se svrhe najčešće koriste kvasci iz roda *Kluyveromyces* i roda *Candida* (*C. shehate*) jer posjeduju enzim galaktozidazu pa mogu fermentirati laktozu iz sirutke (Grba 2010).

Hidrolizati lignoceluloznih sirovina sadrže značajnu količinu pentoza kao ksiloza i arabinoza koje kvasac *S cerevisiae* ne može iskoristiti.

Za proizvodnju alkohola iz pentoza koriste se modificirani sojevi kvasca *S. cerevisiae* i kvasci iz roda *Candida* (*C. shehate*) te kvasci *Pichia stipitis* i *Pachysolen tannophilus* (Marić 2000), ali je njihov stupanj konverzije glukoze do etanola pet puta manji nego što je slučaj sa *Saccharomyces cerevisiae* te zahtijevaju kisik, a tolerantnost na etanol je 2-4 puta manja.

Bakterije su manje poznate kao producenti etanola ali njihova sposobnost da rastu na mnogo višim temperaturama nego kvasci dovela je rano u povijesti do razmatranja njihova korištenja i vođenja fermentacije na temperaturama od 70 °C i višim što bi ubrzalo cijeli proces i smanjilo troškove izdvajanja etanola (Mousdale 2008).

Zymomonas mobilis je gram negativna bakterija koja može previrati samo glukozu, fruktozu i saharozu, ali se može lako genetički modificirati za previranje pentoza. *Zymomonas mobilis* ima GRAS status, homofermentativna je bakterija, podnosi visoke koncentracije etanola (120 g/L), ima veći prinos etanola (5-10% više) i bolju specifičnu produktivnost (2,5 puta) nego *S. cerevisiae*. Međutim, nemogućnost previranja pentoza koči njegovu široku primjenu. *S. cerevisiae* i dalje ima prednost zbog veće otpornosti na kontaminaciju.

Escherichia coli i *Klebsiella oxytoca* mogu biti genetički modificirane u svrhu proizvodnje etanola. To su gram negativne bakterije koje prirodno mogu koristiti pentoze. Međutim, ne koriste se u industrijskom mjerilu zbog niske tolerancije na etanol i zbog potrebnog neutralnog pH za njihov rast što povećava mogućnost kontaminacije (Zhao, i dr. 2012).

3.8 Izdvajanje i pročišćavanje bioetanola

Destilacija etanola iz prevrele komine i dalje ostaje dominantan postupak u proizvodnji etanola bilo u malom ili industrijskom mjerilu (Mousdale 2008).

Destilacija je separacijski postupak kojim se isparivanjem, a zatim ukapljivanjem pročišćavaju kapljevine ili razdvajaju sastojci smjese kapljevina na temelju njihovih različitih vrelišta. Lakše hlapiva tvar prelazi u parnu fazu nakon čega se kondenzira.

Nakon separacije prevrele komine, tekući dio sadrži 7-9% v/v etanola. Sustav za izdvajanje alkohola iz komine sastoji se od najmanje tri kolone. Prva kolona je destilacijska i u njoj se odvaja sva količina alkohola iz prevrele komine zajedno sa ostalim hlapivim

primjesama (glicerol, acetaldehid, octena kiselina, viši alkoholi i dr.) od preostalog dijela komine koji se naziva džibra i sadrži sve anorganske tvari i teško hlapive organske tvari (melanini, koloidi).

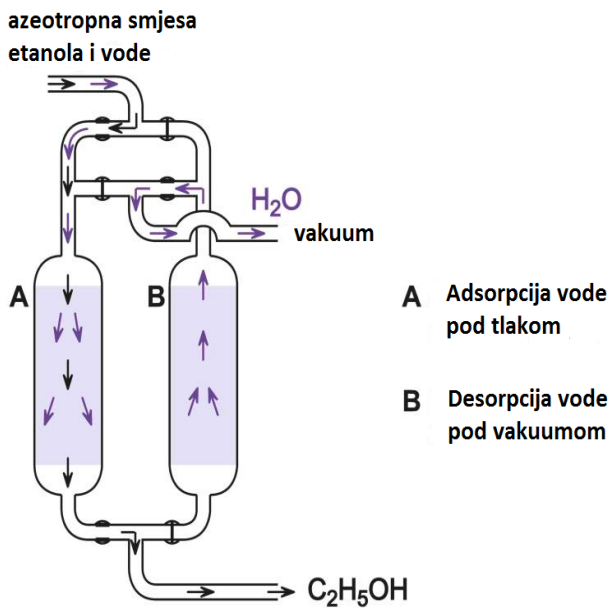
Izdvojeni destilat koji sadrži oko 60% v/v etanola odlazi na drugu kolonu (epiracijska kolona), gdje se izdvajaju lako hlapive komponente (acetaldehid, esteri, octena kiselina i dr.). Nakon izdvajanja lakše hlapivih tvari, alkohol se izdvaja s dna druge kolone i odlazi u treću kolonu koja se naziva rektifikacijska kolona.

Rektifikacija je kontinuirani destilacijski postupak te u ovoj koloni dolazi do potpunog pročišćavanja alkohola od ostalih primjesa. U ovoj je koloni alkohol lakše hlapiva komponenta pa se koncentrira pri vrhu kolone. Pri dnu kolone nakupljaju se viši alkoholi koji se još nazivaju i patočnim uljima jer su lakši od vode. Prilikom izdvajanja plivaju na vodi pa se odvajaju dekantiranjem. Na kraju procesa dobije se 96% v/v alkohola i 4% v/v vode koji tvore azeotropnu smjesu i nije moguće daljnje koncentriranje. Pri proizvodnji alkohola za biogorivo koriste se samo kolone za destilaciju i rektifikaciju. U destilacijskoj koloni izdvoji se sav alkohol iz komine, koji odlazi na vrh, a na dnu zaostaje džibra. U rektifikacijskoj koloni se izdvoje patočna ulja, koja se naknadno miješaju s bezvodnim alkoholom nakon dehidracije. Zbog toga u proizvodnji alkohola za gorivo nema izdvajanja lako hlapivih komponenti kao u proizvodnji rafiniranog alkohola (Grba 2010).

Za dehidraciju etanola i dobivanje bezvodnog etanola u industriji se najčešće koriste molekularna sita i postupak azeotropne destilacije.

Nakon rektifikacije u kojoj se proizvede 96% etanol vrši se dehidracija u kolonama s molekulskim sitima koje rade naizmjenično. Dok jedna kolona izdvaja vodu iz rafiniranog alkohola, druga se regenerira s pregrijanim dehidriranim alkoholom (Slika10.). Broj kolona za dehidraciju može biti i veći što ovisi o kapacitetu biorafinerije. Ovaj je sustav znatno efikasniji od azeotropne destilacije, što se očituje u većoj ekonomičnosti procesa, jeftinijoj investiciji, boljoj kvaliteti alkohola te u jednostavnosti procesa (Grba 2010).

Molekularna sita su kuglice načinjene od zeolita s promjerom pora oko 3×10^{-10} m (Slika10.). Tijekom procesa dehidracije pare 96%-tnog alkohola prolaze kroz modul s molekularnim sitom pri čemu molekule vode ulaze unutar pora molekularnog sita (adsorbiraju se). Molekule etanola su prevelike pa prolaze kroz modul te se na kraju procesa dobiva bezvodni etanol.



Slika10. Shematski prikaz rada molekularnih sita

(Anonymous 10)

Slika11. Molekularna sita

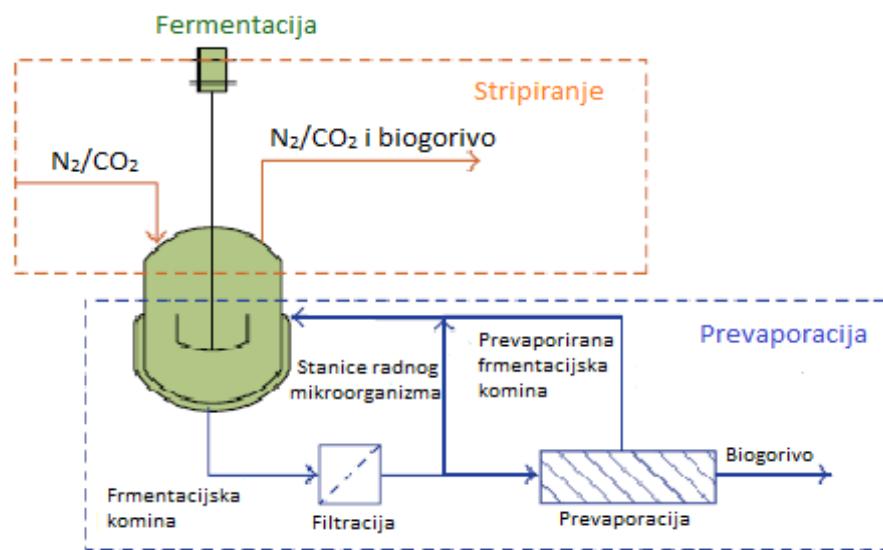
(Anonymous 11)

Osim molekularnih sita, za dehidraciju etanola koristi se i proces azeotropne destilacije. Rafiniranom etanolu (96% etanol, 4 % voda) dodaje se treća sastavnica. Najčešće je to benzen ili cikloheksan, no u novije se vrijeme zbog karcinogenosti benzena koristi toulen. Smjesa etanol-voda- dodana tvar čini azeotrop koji ima niže vrelište od svake komponente posebno. Nakon miješanja provodi se postupak destilacije i dobiva se 99,8 % etanol. Ovo je najčešće korišteni postupak dehidracije u Brazilu pri čemu se tercijarni azeotrop tvori pomoću cikloheksana.

Osim destilacije, dva najčešće korištena “in situ,, postupka za izdvajanje biogoriva su prevaporacija i stripiranje (Slika 12.). Prevaporacija je membranska tehnika koja koristi neporozne, porozne, hidrofilne ili organofilne membrane. Prije prevaporacije komina se mora filtrirati kako bi se uklonile mikrobne stanice. Filtracija je kritičan korak jer se proces prevaporacije provodi na mnogo višim temperaturama od onih koje mogu podnijeti mikroorganizmi. Komina je u kontaktu s membranom s jedne strane dok se s druge strane nameće vakuum ili dovodi plin te molekule biogoriva iz komine isparavaju kroz membranu (pokretačka sila za prijenos mase je razlika u parcijalnim tlaku komponenti s obje strane

membrane). Prevaporirana fermentacijska komina se zatim ponovno vraća u fermentor. Iako je prevaporacija obećavajuća tehnologija trenutno je skuplja od destilacije.

Stripiranje je relativno jednostavan proces, pri čemu se plin (CO_2 , N_2) uvodi u kominu pri velikim protocima. Hlapive molekule biogoriva ekvilibriraju s molekulama uvedenog plina koji se zatim odvodi iz bioreaktora. Stripiranje ne utječe na fermentacijski mikroorganizam pa se biomasa ne mora odvojiti prije postupka što ga čini pogodnim za kontinuirane procese. Mane ovoga procesa su visoki troškovi za opremu, visoki troškovi kondenziranja izdvojenog biogoriva te pjenjenje (Balan 2014).



Slika 12. Shematski prikaz prevaporacije i stripiranja (Balan 2014)

3.9 PROIZVODNJA BIOETANOLA NA POLUČVRSTIM I ČVRSTIM SUPSTRATIMA

Uzgoj na čvrstim supstratima (eng. solid state fermentation, SSF) podrazumijeva rast mikroorganizama na sirovini koja ne sadrži slobodnu vodu ili sadrži jako malo slobodne vode.

Glavnina vode sadržana je unutar čestica čvrstog materijala. Iako male količine vode mogu biti prisutne u obliku kapljica ili u obliku tankog filma na površini čestica, vodena faza između čestica materijala je diskontinuirana, a glavninu prostora zauzima kontinuirana plinovita faza (u slučaju submerznog uzgoja količina suhe čvrste tvari rijetko iznosi više od 50 g/L, dok se kod uzgoja na čvrstim supstratima maseni udio čvrste tvari kreće između 20 i 70 %). Kada se govori o SSF procesu pojam fermentacije ima općenitije značenje te označava kontroliranu kultivaciju mikroorganizama na čvrstim supstratima. Zbog niskog udjela vode većina SSF procesa provodi se pomoću gljiva dok su kvasci i bakterije manje zastupljeni (Mitchell, Berović i Krieger 2002).

Sirovine koje se koriste u SSF procesu uglavnom su produkti ili nusprodukti poljoprivredne ili prehrambene industrije kao rižine i pšenične mekinje i slama, sačme uljarica te voća i povrća, brašna (pšenica, kasava riža), gomolj kasave itd..

Sjeckanje i mljevenje sirovine može biti potrebno u cilju smanjenja veličine čestica kako bi supstrat bio dostupniji mikroorganizmu. Također, toplinski predtretman ili kemijska hidroliza može biti potrebna radi povećanja podložnost makromolekula u krutini mikroorganizmima i njihovim enzimima (Mitchell, Berović i Krieger 2002).

Iako se etanol diljem svijeta proizvodi submerznom fermentacijom, SSF proces nudi mnoge prednosti. Zbog manje količine vode potrebne u procesu manji je rizik od kontaminacije mikroorganizmima što snižava troškove potrebne da se osiguraju strogi aseptički i sterilni uvjeti. Također, manja količina vode podrazumijeva manje bioreaktore, odnosno manje materijala potrebnog za njihovu konstrukciju. Izdvajanje produkta je jednostavnije i zahtjeva manje energije zbog manje količine vode.

Međutim, proizvodnja etanola na čvrstim supstratima nije u upotrebi zbog teškoća pri prevođenju procesa u industrijsko mjerilo te nedovoljno znanja i istraživanja. Tijekom SSF proizvodnje etanola koncentracija etanola je zbog manjka tekućine veća i izglednija je inhibicija kvasca. Provodljivost topline u čvrstim supstratima mnogo je manja nego kod

submerznog procesa i može doći do mjestimičnog pregrijavanja te je otežana regulacija temperature. Zbog male količine vode otežan je i prijenos mase i kontrola pH.

4. Zaključak

Na osnovu ovog literaturnog razmatranja mogu se donijeti sljedeći zaključci:

- Proizvodnja bioetanola u svijetu narasla je od 2007. godine sa $496,763 \times 10^5$ l na $930,076 \times 10^5$ l 2014. godine. Razlog tome je želja za neovisnošću o uvozu fosilnih goriva čija cijena varira i ekološki prihvatljivijim gorivom koje ima manji utjecaj na okoliš tj. manju emisiju stakleničkih plinova čime se osigurava održivi razvoj.
- Trenutno se u svijetu najviše bioetanola proizvoda iz šećernih i škrobnih sirovina koje se koriste za prehranu ljudi i životinja. Zbog stalnog rasta svjetske populacije te smanjenja zaliha fosilnih goriva izgledno je da će se u budućnosti proizvodnja bioetanola temeljiti na lignoceluloznim sirovinama jer se za razliku od šećernih i škrobnih sirovina ne koriste u prehrani ljudi i životinja te ne dovode u pitanje etičnost njihova korištenja. Također lignocelulozne sirovine su vrlo dostupan i jeftin izvor biomase za proizvodnju biogoriva.
- Pozornost se treba usmjeriti na razvoj i poboljšanje procesa proizvodnje etanola iz lignoceluloznih sirovina u smislu usavršavanja postojećih i pronalaska novih postupaka predtretmana, hidrolize, fermentacije (njihovu integraciju) te same distribucije lignoceluloznih sirovina do biorafinerija.

5. Bibliografija

- Ajanovic, Amela, i Reinhard Haas. »On the future prospects and limits of biofuels in Brazil, the US and EU.« *Applied Energy*, 15. December 2014: 730–737.
- Prasad, S., Anoop Singh, i H.C. Joshi . »Ethanol as an alternative fuel from agricultural.« *Resources, Conservation and Recycling* , 2007: 1-39.
- Singh, Anoop, Deepak Pant, Nicholas E. Korres, Abdul-Sattar Nizami, Shiv Prasad, i Jerry D. Murphy. »Key issues in life cycle assessment of ethanol production from lignocellulosic.« *Bioresource Technology*, 2010.
21. kolovoz 2015. https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Saccharomyces_cerevisiae.
- Anonymous. n.d. www.expatsinbrasil.com (pokušaj pristupa 19. 8 2015).
- Balan, Venkatesh. »Current challenges in commercial producing biofuels from lignocellulosic biomass.« *ISRN Biotechnology 2014 (2014)*: 1-31.
- de Oliva-Neto, Pedro, Claudia Dorta, Ana Flavia Azevedo Carvalho, Marta Gomes de Lima, i Douglas Fernandes da Silva. »The Brazilian technology of fuel ethanol fermentation – yeast inhibition factors and new perspectives to improve the technology.« U *Materials and processes for energy: communicating current research and technological developments*, uredio A Mendez-Villas. 2013.
- ePURE (european renewable ethanol). *Renewable ethanol: driving jobs, growth and innovation throughout Europe, State of the industry report*. 2014. <http://www.epure.org> (pokušaj pristupa 17. 8 2015).
- Grba, Slobodan. *Kvaci u biotehnoškoj proizvodnji*. Zagreb: Plejada, 2010.
- Hahn- Hagerald, B, M Galbe, M F Gorwa- Grauslund, G Liden, i G Zacchi. »Bio-ethanol – the fuel of tomorrow from the residues of today.« *Trends in Biotechnology* 24, br. 12 (2006): 550-556.
- <http://sugarcane.org>. 2015. <http://sugarcane.org/sugarcane-products/ethanol> (pokušaj pristupa 16. 8 2015).
- <http://www.tateandlyle.com>. 18. 8 2015.
- <http://www.tateandlyle.com/aboutus/ourindustry/pages/cornwetmilling.aspx>.
- Janušić, Vanja, Duška Ćurić, Tajana Krička, Neven Voća, i Ana Matin. »Predtretmani u proizvodnji bioetanola iz lignocelulozne biomase.« *Poljoprivreda* 14, br. 1 (2008).
- Joshi, Bishnu , Megh Raj Bhatt, Jarina Joshi, Rajani Malla, i Lakshmaiah Sreerama. »Lignocellulosic ethanol production: Current practices.« *Biotechnology and Molecular Biology Review*, 2011: 172-182.
- Jouzani, Gholamreza Salehi, i Mohammad J Taherzadeh. »Advances in consolidated bioprocessing systems for bioethanol and butanol production from biomass: a comprehensive review.« *Biofuel Research Journal* 2, br. 1 (2015): 152-195.
- Lim, Henry C, i Hwa Sung Shin. *Fed-Batch Cultures: Principles and Applications of Semi-Batch Bioreactors*. Cambridge university press, 2013.

- Lin, Yan, i Shuzo Tanaka. »Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects.« *Applied Microbiology and Biotechnology* 69, br. 6 (2006).
- Marić, Vladimir. *Biotehnologija i sirovine*. Zagreb: Stručna i poslovna knjiga d.o.o, 2000.
- Mitchell, David A, Marin Berovič, i Nadia Krieger. »Overview of solid state bioprocessing.« *Biotechnology Annual Review* 8 (2002): 183-225.
- Mousdale, David M. *Biofuels: Biotechnology, Chemistry, and Sustainable Development*. CRC Press, 2008.
- Nikolić, Svetlana B. *Doktorska disertacija: Proizvodnja bioetanola kao alternativnog goriva iz kukuruza pomoću slobodnog i imobilisanog kvasca*. Uredio Doktorska disertacija. Beograd: Univerzitet u Beogradu, Tehnološko- Metalurški Fakultet, 2009.
- Predojević, Zlatica J. *Stručni rad: Postupci pripreme lignocelulozne sirovine za dobijanje bioetanola*. Novi Sad: Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, 2010.
- Renewable Fuel Association. *Pocket guide to ETHANOL*. 2015. www.EthanolRFA.org (pokušaj pristupa 17. 8 2015).
- Zabed, Hossain, Golam Faruq, Jaya Narayan Sahu, Mohd Sofian Azirum, Rosli Hashim, i Amru Nasrulhaq Boyce. »Bioethanol produciton from frementable sugar juice.« *The scientific world journal* 2014 (2014): 1-11.
- Zhao, Xin-Qing , i dr. »Bioethanol from Lignocellulosic Biomass.« U *Biotechnology in China III: Biofuels and Bioenergy* , uredio Feng-Wu Bai, Chen-Guang Liu, He Huang, & George T. Tsao, 25-51. Springer Berlin Heidelberg, 2012.
- Anonymous 2 www.expatsinbrasil.com , pristupljeno 19. kolovoza 2015
- Anonymous 3 www.planthealthaustralia.com.au , pristupljeno 19. kolovoza 2015
- Anonymous 4 www.joyfulbelly.com , pristupljeno 17. kolovoza 2015
- Anonymous 5 www.rpi.edu , pristupljeno 14. kolovoza 2015
- Anonymous 6 www.rpi.edu , pristupljeno 14. kolovoza 2015
- Anonymous 7 www.amb-express.com , pristupljeno 31.kolovoza 2015
- Anonymous 9 www.microbiologyonline.org.uk , pristupljeno 17. kolovoza 2015
- Anonymous 10 www.essentialchemicalindustry.org , pristupljeno 1. rujna 2015
- Anonymous 11 www.psamolecularsieve.com , pristupljeno 31. Kolovoza 2015

