

Novi trendovi u proizvodnji bioetanol

Valentina V. Semenčenko¹, Ljiljana V. Mojović¹, Slobodan D. Petrović^{1,2}, Ozren J. Očić³

¹Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

²Hemofarm A.D., Vršac, Srbija

³EU – Fakultet za inženjerski internacionalni menadžment, Beograd, Srbija

Izvod

Bioetanol je biogorivo koje se širom sveta koristi kao zamena za fosilna goriva. Upotrebom smeša bioetanol i benzina može se znatno smanjiti potreba za naftom kao i emisija gasova staklene bašte, odnosno zagađenje životne sredine. Iako se bioetanol već decenijama proizvodi iz skrobinih i šećernih sirovina, useva namenjenih prvenstveno ishrani, danas se smatra da korišćenje obradivih poljoprivrednih površina za proizvodnju ovog goriva nije opravdano pa se intenzivno razvijaju tehnologije za njegovo dobijanje iz lignoceluloznih izvora biomase kao što su šumski, poljoprivredni i komunalni otpad. Upotreba lignocelulozne biomase za proizvodnju biogoriva biće neizbežna u bližoj budućnosti kada se očekuje da će se tečna fosilna goriva morati zameniti obnovljivim održivim alternativama. Primena novih enzimskih sistema za hidrolizu celuloze, sinteza fermentativnih sojeva tolerantnih na inhibitore koji fermentišu pentozu, u kombinaciji sa optimizovanom integracijom procesa, obećavaju značajan napredak.

Ključne reči: Bioetanol • Lignocelulozna biomasa • Biokonverzija

Dostupno na Internetu sa adrese časopisa: <http://www.ache.org.rs/HI/>

Bioetanol je tečno biogorivo koje se dobija procesom fermentacije iz biomase. Zalihe obnovljivih (konvencionalnih) izvora energije (nafta, uglj i gas) ograničene su i imaju značajan negativni uticaj na životnu sredinu, kao što je povećanje emisije gasova staklene bašte [1]. Značaj bioetanol za životnu sredinu ogleda se u redukovanju ukupne emisije CO₂, jednog od gasova staklene bašte koji utiču na globalno zagrevanje. Ukupni bilans CO₂ u procesu sagorevanja bioetanol jednak je nuli, jer biljke za fotosintezu potroše količinu ovog gasa jednaku onoj koja nastane u toku sagorevanja etanol [2]. Ova činjenica je veoma važna sa tačke gledišta Konferencije o klimatskim promenama Ujedinjenih nacija, održane u Kopenhagenu u decembru 2009. godine, čiji je jedan od glavnih zaključaka bio da globalno zagrevanje ne sme premašiti 2 °C do 2020. godine [3].

Trend proizvodnje bioetanol kao goriva u svetu je u stalnom porastu. Prema izveštaju Svetskog udruženja za obnovljiva goriva (eng. *Global renewable fuels alliance*) ukupna svetska proizvodnja bioetanol je 2009. godine iznosila 73,9 milijardi litara (slika 1). Prognozira se da će produkcija ovog goriva 2010. godine dostići 85,9 milijardi litara, što bi predstavljalo porast od 16,2% u odnosu na 2009. godinu [4]. Ono što bioetanol stavlja ispred ostalih obnovljivih izvora energije u ovom trenutku je činjenica da se kompletna postojeća naftna in-

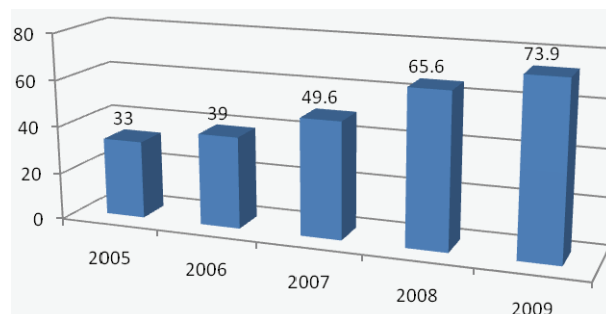
PREGLEDNI RAD

UDK 662.7

Hem. Ind. 65 (2) 103–114 (2011)

doi: 10.2298/HEMIND100913068S

frastruktura može iskoristiti i za distribuciju biogoriva, i da biogorivo može bez problema (ili uz neznatne modifikacije) da sagoreva u benzinskim/dizel motorima [5].



Slika 1. Godišnja svetska proizvodnja bioetanol u periodu 2005–2009. godine izražena u milijardama litara.
Figure 1. World's bioethanol production in the period 2005–2009, in billions of liters.

Proizvodnja bioetanol je 2007. godine predstavljala oko 4% u odnosu na potrošnju benzina od 1300 milijardi litara na svetskom nivou [6]. Sjedinjene Američke Države, Brazil i nekoliko članica Evropske unije predstavljaju najveće proizvođače bioetanol u svetu, što je prikazano u tabeli 1 [4].

Uz podršku novih vladinih programa u Americi, Aziji i Evropi, ukupni globalni zahtevi za biogorivima mogli bi premašiti 125 milijardi litara do 2020. godine [7].

Bioetanol i smeše bioetanol i benzina koristile su se još od same pojave motora sa unutrašnjim sagorevanjem. U Brazilu je komercijalna primena bioetanol, dobijenog iz šećerne trske započela još 1925. godine. Od osamdesetih godina dvadesetog veka značajno se

Prepiska: Lj. Mojović, Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Karnegijeva 4, p. p. 3503, 11120 Beograd.

E-pošta: lmojovic@tmf.bg.ac.rs

Rad primljen: 13. septembar, 2010

Rad prihvaćen: 15. novembar, 2010

povećalo interesovanje za ovo gorivo. Osim što manje zagađuje životnu sredinu izduvnim gasovima, bioetanol ima i veći oktanski broj u odnosu na benzin (108), veću toplotu isparavanja i manju toplotu sagorevanja [8,9]. Bioetanol se može koristiti kao čisto gorivo (u posebno konstruisanim motorima) ili u smeši sa benzinom (E5, E10, E85). Smeše sa nižim zapreminskim udelom bioetanola su kompatibilne sa konvencionalnim motorima, dok smeše sa više od 30% etanola zahtevaju modifikaciju motora. S obzirom da etanol u molekulu sadrži kiseonik, omogućeno je potpunije sagorevanje komponenata benzina, redukovanje količine ugljen-monoksida, toksičnih supstanci kao što su benzeni i smanjenje nivoa ugljovodonika koji ne sagorevaju [2]. U Evropskoj uniji se proizvodnja bioetanola posebno podstiče direktivom o korišćenju biogoriva (Direktiva 2003/30/EC), kojom se obavezuju zemlje članice da proizvedu ili obezbede na tržištu minimalne količine biogoriva. Cilj je bio da se do kraja 2005. godine obezbedi zamena za 2% fosilnih goriva, a do kraja 2010. godine za 5,75%, mereno u odnosu na sadržaj energije [2]. Ova direktiva je u skladu sa Kjoto sporazumom potpisanim 1997. godine sa ciljem da se smanji emisija gasova koji doprinose efektu staklene bašte [2]. Ovom povećanju udela korišćenja alternativnih izvora energije biomasa bi trebalo da odigra važnu ulogu, jer posle uglja, nafte i prirodnog gasa, biomasa je najveći izvor energije koji može da zadovolji oko 14% svetskih potreba za energijom [10].

Tabela 1. Najveći svetski proizvođači bioetanola u periodu 2007–2009. godina, izraženo u milionima litara
Table 1. World's top bioethanol producers in the period 2007–2009, in millions of liters

Država	2009	2008	2007
SAD	40693,2	34068,7	24599,9
Brazil	24900,0	24499,9	18999,7
Evropska Unija	3935,0	2777,2	2158,8
Kina	2050,0	1899,9	1839,7
Tajland	1647,4	339,9	299,8
Kanada	1100,0	899,8	799,9
Indija	347,0	249,8	199,9
Kolumbija	315,0	300,2	283,5
Australija	215,0	99,9	99,9
Ostalo	936,0	486,0	314,2
Ukupno	73948,0	65621,2	49595,3

Tabela 2. Promene specifikacija motornih benzina prema standardima Evropske unije
Table 2. Changes in specifications for motor petrol according to the European Union standards

Karakteristike	1994	Evro 1 (1995)	Evro 2 (1996)	Evro 3 (2000)	Evro 4 (2005)	Evro 5 (2009)
Sumpor, ppm mas., maks.	1000	500	-	150	50/10	10
Benzen, vol.%, maks.	5	5	5	1	1	1
Aromati, vol.%, maks.	-	-	-	42	35	35
Olefini, vol.%, maks.	-	-	-	18	18	18
Kiseonik, vol.%, maks.	-	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7

U ovom radu prikazani su savremeni trendovi u industriji proizvodnje bioetanola u svetu sa posebnim akcentom na dobijanju ovog goriva iz lignocelulozne biomase. Cilj je bio da se ukaže na mogućnosti iskorišćenja različitih obnovljivih izvora sirovina, kao i na prednosti i nedostatke pojedinih postupaka proizvodnje ovog biogoriva uglavnom na lignoceluloznoj biomasi.

ULOGA INDUSTRIJE PRERADE NAFTE U PRIMENI BIOETANOLA

Bioetanol se najčešće koristi u smeši sa benzinom, dobijenim rafinerijskom preradom sirove nafte. Kvalitet namešanog motornog goriva potrebno je da ispunjava zahteve za kvalitetom motornih benzina koji je predviđen evropskim standardima (EN 228 uspostavljen 1996), koji se odnosi na bezolovne benzine [11,12]. Česte promene standarda odnosno specifikacija (tabela 2) sa rigoroznim ekološkim zahtevima, doprinele su i značajnom porastu proizvodnje bioetanola i njegovom korišćenju kao komponente za proizvodnju motornih benzina.

Proizvodnja motornih benzina, prema aktuelnom evropskom standardu (Evro 5) moguća je samo u rafinerijama koje su izvršile modernizaciju tehnoloških procesa uvođenjem savremenih katalitičkih procesa, kao i procesa hidrodesulfurizacije [13,14]. U tom slučaju rafinerije mogu proizvoditi benzinsku komponentu odgovarajućeg kvaliteta koja, namešana sa bioetanolom, daje benzin koji odgovara standardima Evropske unije.

Primenom bioetanola, pored značajnih ekoloških efekata i ispunjenja zahteva prema direktivi Evropske komisije, postiže se sledeće:

1. razvoj sektora poljoprivrede,
2. razvoj i bolje ekonomsko poslovanje raznih grana industrije, kroz proizvodnju i primenu nusproizvoda i
3. smanjenje uvozne energetske zavisnosti (proizvodnja domaće nafte zadovoljava oko 20% domaćih, ukupnih, potreba za derivatima).

SIROVINE ZA PROIZVODNJU BIOETANOLA

Sirovine za proizvodnju bioetanola mogu se podeliti u tri osnovne grupe: 1) šećerne (šećerna repa, šećerna trska, sirak, voće itd.), 2) skrobne (kukuruz, pšenica,

pirinač, krompir, kasava, slatki krompir, ječam itd.) i 3) lignocelulozne (drvo, poljoprivredni viškovi, gradski otpad itd.). Šećerne sirovine se mogu, pomoću kvasca, razgraditi direktno metaboličkim putem, te ovakvi supstrati ne zahtevaju skupu pripremu. Sirovine koje sadrže škrob i lignocelulozu su jeftinije od sirovina koje sadrže šećer, ali je prevođenje ovih sirovina do oblika koji je dostupan kvascima skupo i predstavlja nedostatak ovih supstrata [2,15,16].

Vodeći proizvođači etanola su Brazil i SAD, koji zajedno čine 80% svetske proizvodnje [17]. Najveći procenat etanola (90%) proizvodi se fermentacijom glukoze iz kukuruznog skroba (SAD) i saharoze iz šećerne trske (Brazil). Trenutno proizvodnja bioetanola kao pogonskog goriva gotovo u potpunosti zavisi od skroba i šećera iz postojećih poljoprivrednih useva. Glavni nedostatak korišćenja škrobnih i šećernih sirovina jeste njihova cena i to što im je primarna namena ishrana.

U Srbiji, jedna od najpogodnijih i najrasprostranjenijih poljoprivrednih sirovina za industrijsku proizvodnju bioetanola je kukuruz [18]. Krupno zrno i sirup koji ostanu iza destilacije prevode se u visokokvalitetnu hranu za stoku, a CO₂ koji nastaje tokom fermentacije skladišti se i prodaje za upotrebu u gaziranim pićima i proizvodnju suvog leda [5].

Tečna goriva koja se proizvode iz obnovljivih lignoceluloznih izvora pružaju nekoliko pogodnosti: niže cene sirovina, povećanje obradivih površina predviđenih za poljoprivredne useve namenjene ishrani ljudi i životinja, manju upotrebu fosilnih goriva [19].

Glavne prepreke i problemi koje je potrebno rešiti prilikom biokonverzije lignoceluloze do bioetanola su: izbor i optimizacija predtretmana; relativno visoki troškovi enzimske hidrolize; postizanje zadovoljavajuće konverzije šećera (uključujući pentoze) do etanola; integrisanje i poboljšanje procesa kako bi se smanjio utrošak energije i vode; karakterisanje i ocena nusproizvoda lignina i na kraju, upotreba reprezentativnih i pouzdanih podataka za procenu troškova i određivanje uticaja na životnu sredinu i socio-ekonomsku situaciju [19]. Sprovedena su mnoga istraživanja radi unapređenja i optimizacije postojećih procesa i utvrđivanja inhibirajućih faktora koji utiču na niske prinose kod enzimske hidrolize. Zahtevni fizičko-hemijski predtretmani sirovina, kao i visoke cene enzimskih preparata, razlozi su što je proizvodnja bioetanola iz lignoceluloznih sirovina još uvek, uglavnom, na laboratorijskom nivou [20]. Uvođenje efikasne proizvodnje bioetanola iz lignoceluloznih sirovina imalo bi veliki značaj u proizvodnji alternativnih goriva i istovremenom iskorišćavanju šumskog i poljoprivrednog otpada.

U zavisnosti od vrste sirovine, za dobijanje bioetanola primenjuju se različiti postupci konverzije, što je prikazano u tabeli 3 [17].

Tabela 3. Postupci za dobijanje bioetanola iz različitih sirovina
Table 3. Bioethanol pathways from different raw materials

Sirovina	Postupak
Drvo	Kiselinska hidroliza + fermentacija
Drvo	Enzimska hidroliza + fermentacija
Slama	Kiselinska hidroliza + fermentacija
Slama	Enzimska hidroliza + fermentacija
Pšenica	Sladovanje + fermentacija
Šećerna trska	Fermentacija
Šećerna repa	Fermentacija
Kukuruz (zrno)	Fermentacija
Kukuruz (stabljika)	Kiselinska hidroliza + fermentacija
Sirak	Fermentacija

LIGNOCELULOZNA BIOMASA

Lignocelulozna biomasa je najrasprostranjenija u biosferi jer ulazi u sastav ćelijskog zida biljaka, a sastoji se iz celuloze, hemiceluloze i lignina [21]. Lignocelulozne sirovine se mogu podeliti u više grupa: 1) poljoprivredni ostaci (otpaci od šećerne trske, kukuruzovina, slama od pšenice, pirinča i ječma, ljuske od pirinča, koštice od maslina itd.); 2) tvrdo drvo (jasika, topola); 3) meko drvo (omorika, smrča); 4) celulozni otpad (stare novine, iskorišćeni kancelarijski papir, kaša od recikliranog papira itd.); 5) biljna biomasa (lucerka i ostalo krmno bilje); 6) komunalni čvrsti otpad [22]. Šume obuhvataju oko 80% svetske biomase i predstavljaju atraktivnu sirovinu za proizvodnju bioetanola zbog dostupnosti, niske cene, velike količine, kao i mogućnosti obnavljanja [2].

Hemijski sastav i struktura lignocelulozne biomase

Osnovne hemijske komponente lignocelulozne biomase su: celuloza, hemiceluloza, lignin, ekstrakti, pepeo i druga jedinjenja.

Celuloza je glavna komponenta ćelijskog zida viših biljaka. Celulozna vlakna obezbeđuju čvrstoću drveta i čine 40–50% njegove suve mase. Celuloza je homopolisaharidni polimer sastavljen od molekula β -D-glukopiranoze povezanih (1→4)-glikozidnim vezama. Molekuli celuloze su linearni, stepen polimerizacije (n) varira od sirovine do sirovine i prosečno iznosi od 2000 do 27000 glukoznih jedinica. Osnovna jedinica koja se u molekulu ponavlja je dimer nastao od dva anhidrovana molekula celuloze – celobioza. Svaka monomerna jedinica celuloze može formirati dve vodonične veze sa monomerom u susednom lancu. Vodonične veze povezuju lance u svakom sloju, pošto su inače slojevi spojeni samo slabim van der Valsovim vezama. Rezultat je veoma stabilna konfiguracija bez međumolekulskih šupljina. Kada se rešetke nativne celuloze razore, na primer jakim alkalijama ili rastvaranjem celuloze, postoji mogućnost njene regeneracije. Lanci regenerisane celuloze

nisu paralelni, ali su termodinamički stabilniji od native celuloze [2,22].

Hemiceluloze pripadaju grupi heteropolisaharida i čine 15–30% suve mase drveta [2]. Hemiceluloze mekog i tvrdog drveta, iako različite strukture i sastava hidrolizuju do monomernih komponenata: glukoze, manoze, galaktoze, ksiloze, arabinoze i malih količina ramnoze, glukuronske, metilglukuronske i galakturonske kiseline. Većina hemiceluloza ima stepen polimerizacije oko 200 [2]. Hemiceluloze se uglavnom rastvaraju u alkalijama tako da se mogu lakše hidrolizovati [22].

Lignin je veoma kompleksan molekul sastavljen iz fenilpropanskih jedinica. Mada su osnovni strukturni elementi lignina poznati, neke njegove hemijske karakteristike ostaju nejasne. Biosintetički lignin nastaje iz glukoze preko formiranja tri prekursora alkohola: kumaril, koniferil i sinapil alkohol. Drvo ima visok sadržaj lignina. Hemijske veze između lignina i hemiceluloze i celuloze su estarske, etarske i glikozidne. Etarske veze su stabilnije u poređenju sa estarskim između lignina i ugljenih hidrata. Ove veze čine lignin izuzetno otpornim prema hemijskoj i enzimskoj razgradnji, dok biološku razgradnju omogućuju mnoge gljive i određene aktinomycete.

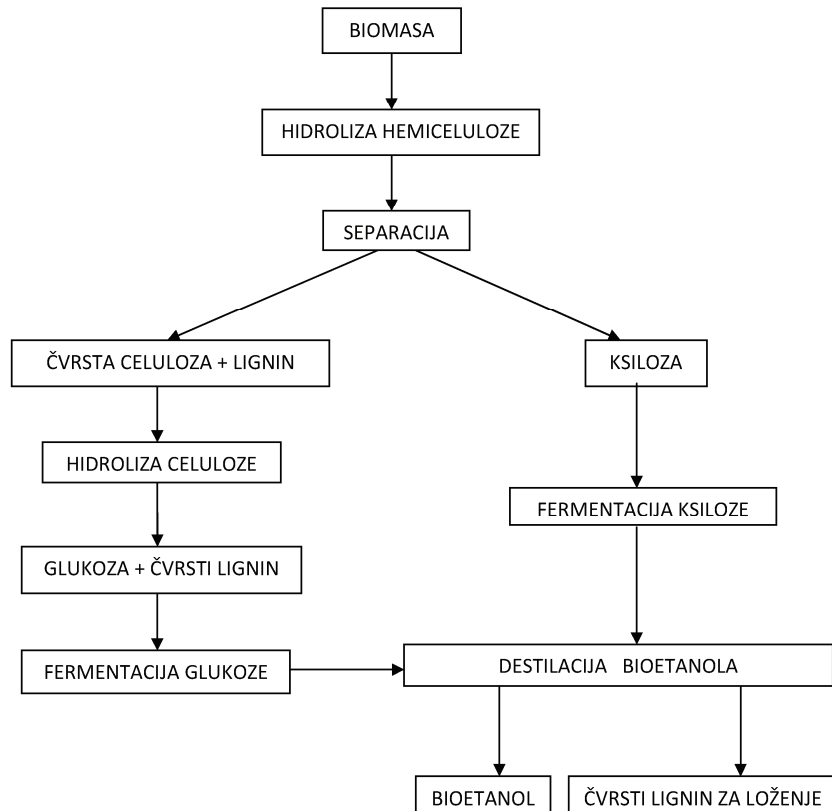
Ekstrakti su jedna od glavnih komponenata drvnog materijala, a rastvorljivi su u neutralnim organskim ras-

tvaračima i vodi. Sastoje se iz velikog broja lipofilnih i hidrofilnih komponenata. Ekstrakti se mogu klasifikovati u četiri grupe: 1) terpenoidni i steroidni, 2) masti i voskovi, 3) fenolna jedinjenja i 4) neorganske komponente [2].

Prethodna priprema lignocelulozne biomase

Proces proizvodnje bioetanol iz lignoceluloznih sirovina sastoji se od četiri faze: 1) predtretman, 2) hidroliza, 3) fermentacija i 4) razdvajanje i prečišćavanje bioetanol. Šematski prikaz procesa proizvodnje bioetanol iz lignocelulozne biomase dat je na slici 2 [17].

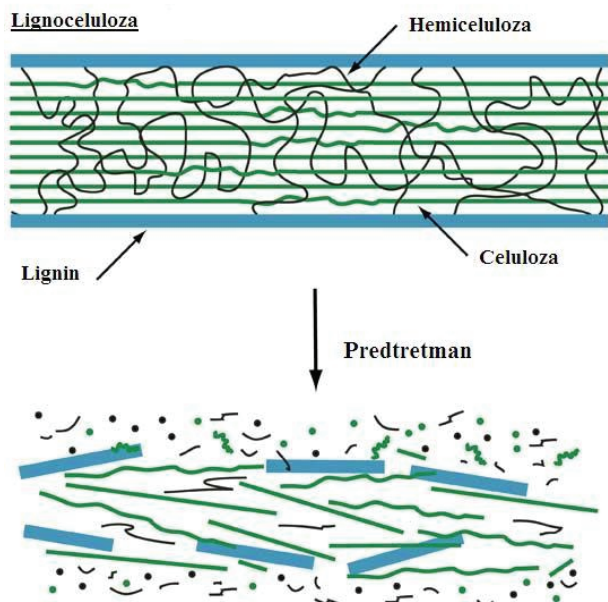
Prilikom proizvodnje bioetanol iz lignocelulozne biomase zbog njene složene strukture prethodna priprema sirovine je od izuzetnog značaja. Mikroorganizmi ne mogu da fermentišu lignin, koji je sastavna komponenta lignocelulozne sirovine pored celuloze i hemiceluloze. Struktura lignoceluloze je izgrađen od matrice celuloze i lignina koja je povezana hemiceluloznim lancima (slika 3). Tokom predtretmana neophodno je razložiti matricu kako bi se smanjio stepen kristaliničnosti celuloze i povećala frakcija amorfne celuloze koja je najpogodnija za enzimsku reakciju [22]. Predtretmanom se celuloza i hemiceluloza izdvajaju od lignina, a zatim se njihovom hidrolizom prevode u fermentabilne šećere (heksoze i pentoze). Hidrolizu treba voditi pod uslovima pri kojima ne dolazi do izdvajanja jedinjenja



Slika 2. Šematski prikaz proizvodnje bioetanol iz lignocelulozne biomase.

Figure 2. Flow chart for the production of bioethanol from lignocellulosic biomass.

koja bi mogla da inhibiraju fermentaciju. Na hidrolizu celuloze utiče poroznost površine (dostupna površina) lignoceluloznog materijala i osnovni cilj predtretmana je razdvajanje lignina i celuloze, smanjenje kristaliničnosti celuloze i povećanje poroznosti materijala.



Slika 3. Uticaj predtretmana na strukturu lignocelulozne biomase.

Figure 3. Pretreatment effect on the lignocellulosic biomass structure.

Lignin, koji se razdvoji od celuloze i hemiceluloze, može se direktno spaljivati i koristiti kao gorivo, na primer za zagrevanje domaćinstava, ili se može efikasno prevesti u sintetički gas (CO_2 , CO i H_2) procesom termičke gasifikacije i tako koristiti kao dodatni izvor energije.

Predtretmanom biomasa se omekšava i u velikom meri se razaraju ćelijske strukture čime se povećava prinos u procesu hidrolize. Uspešan predtretman mora da ispuni sledeće zahteve: 1) da pospeši formiranje šećera ili omogući njihovo nastajanje tokom hidrolize, 2) izbegne razlaganje ili gubitak ugljenih hidrata, 3) da onemogući nastajanje nusprodukata koji bi mogli da inhibiraju procese hidrolize i fermentacije i 4) da bude ekonomski isplativa. Hidrolizom bez predtretmana dobijaju se prinosi najčešće manji od 20%, dok sa predtretmanom prinos može biti i preko 90% [23].

Predtretman lignocelulozne biomase može se vršiti različitim postupcima, od kojih su najznačajniji: fizički, fizičko-hemijski, hemijski i biološki.

Fizičke metode

Otpadni materijali se mogu usitniti kombinacijom lomljenja, drobljenja i mlevenja kako bi se smanjila kristaliničnost celuloze. Time se enzimu celulazi pospešuje pristup što većoj površini biomase, čime se povećava stepen konverzije celuloze. U fizičke metode predtret-

mana ubrajaju se: mehaničko sitnjenje, piroliza i radijacija. Iako se mehaničkim metodama predtretmana povećava efikasnost enzimske hidrolize celuloze, osnovni nedostatak ovih postupaka je veliki utrošak energije i velika kapitalna ulaganja [24]. Piroliza je takođe ispitivana kao jedna od metoda za predtretman lignoceluloznih sirovina jer se celuloza ubrzano razgrađuje pod uticajem visoke temperature [22].

Fizičko-hemijske metode

Fizičko-hemijske metode za prethodnu pripremu sirovina su znatno efektivnije od fizičkih. U fizičko-hemijske metode spadaju: eksplozija pod uticajem vodene pare, predtretman toplom vodom, eksplozija u prisustvu amonijaka i eksplozija u prisustvu CO_2 . Od ovih metoda je najznačajnija eksplozija pod uticajem vodene pare. U toku ovog postupka, primenom zasićene pare pod visokim pritiskom dolazi do reakcije autohidrolize u kojoj se deo celuloze i lignina prevodi u rastvorljive oligomere. Faktori koji utiču na predtretman parnom eksplozijom su: vreme zadržavanja, temperatura, veličina čestica biomase i sadržaj vlage. U nekim slučajevima (na primer biljni otpad), nije poželjna upotreba veoma sitnih čestica zbog ekonomičnosti [25]. Ovaj metod se smatra jednim od najisplativijih za tvrdo drvo (topola, hrast, breza i javor) i poljoprivredne ostatke, ali je manje efikasan za meko drvo (bor i kedar). Shahbazi i sar. [26] predložili su frakcionisanje ovog postupka za meko drvo na parnu eksploziju i alkalnu delignifikaciju u cilju dobijanja etanola i nusproizvoda. Soderstrom i sar. [27] predložili su dvostepeni parni predtretman impregniranja mekog drveta razblaženom kiselinom koja uključuje delimičnu hidrolizu celuloze u drugom stepenu. Prema ovim autorima, predtretmanom se omogućava značajno povećanje prinosa proizvedenog bioetanola.

Jedan od metoda koji najviše obećava je predtretman tečnom vrelom vodom (eng. *liquid hot water* – LHW) ili termohidroliza. Laser i sar. [28] naglašavaju da pod optimalnim uslovima, ova metoda daje slične rezultate kao predtretman razblaženom kiselinom, ali bez dodatka kiseline i nastajanja proizvoda neutralizacije. Takođe, ovom metodom se povećava prinos izdvojenih pentosa bez nastajanja inhibitora [29]. Negro i sar. [30] uporedili su parnu eksploziju sa LHW predtretmanom za biomasu topole, pri čemu je ovaj drugi pokazao bolje rezultate na temperaturi od 210 °C u trajanju od 4 min.

Od fizičko-hemijskih metoda, važno je pomenuti eksploziju vlakana amonijakom (eng. *ammonia fiber explosion* – AFEX), koja je u osnovi slična parnoj eksploziji. Slično parnoj eksploziji i AFEX-u, eksplozivna dekompozicija u prisustvu CO_2 ima isti princip, ali su prinosi relativno niski [31].

Hemijske metode

U hemijskim predtretmanima koriste se razni hemijski agensi kao što su ozon, kiseline, alkalije, perok-

sidi i organski rastvarači. Najčešće se primenjuju neorganske kiseline kao što su sumporna i hlorovodonična. Postupak hidrolize razblaženom sumpornom kiselinom je uspešno razvijen s obzirom da se mogu postići veliki prinosi reakcije čime se znatno pospešuje sledeći proces hidrolize celuloze. Međutim, troškovi predtretmana razblaženom kiselinom su viši nego kod parne eksplozije ili AFEX-a, zbog toga što je pri konstrukciji reaktora za ovu vrstu predtretmana neophodno koristiti materijale otporne na koroziju i povišeni pritisak [31].

Biološke metode

Biološki predtretmani zahtevaju mali utrošak energije i blage reakcione uslove. Međutim, većina ovih procesa je suviše spora, traje od nekoliko dana do nekoliko nedelja, zbog čega je primena na industrijskom nivou ograničena. U ovim postupcima se mogu koristiti različiti mikroorganizmi koji razgrađuju lignoceluloznu biomasu: gljive, plesni i bakterije. Mnoge bele plesni razgrađuju lignin i zbog toga se koriste za proizvodnju ligninaza i razgradnju lignoceluloze. U patentu koji se odnosi na razgradnju lignina u procesu proizvodnje bioetanola iz biomase, Zhang je koristio gljivu *Phanerochaete chrysosporum* [32]. Šema ovog procesa predstavlja odvojenu fermentaciju pentozna i heksoza.

Jedan od glavnih problema koji se javljaju u toku procesa predtretmana i hidrolize biomase jeste promenljivost u sadržaju lignina i hemiceluloze. Na njihov sadržaj utiču: vrsta biljke iz koje je uzeta biomasa, starost useva, primenjene agrotehničke mere i tako dalje. Novi trendovi za poboljšanje predtretmana lignocelulozних sirovina takođe uključuju i projektovanje genetski modifikovanih biljaka sa većim sadržajem ugljenih hidrata ili takvih da omogućće predtretman u blažim uslovima ili upotrebom hemicelulaza [22].

Uklanjanje tosičnih materija iz lignocelulozних hidrolizata

Tokom predtretmana i hidrolize lignocelulozne biomase, osim fermentabilnih šećera, nastaju i neka jedinjenja koja mogu da inhibiraju fermentaciju. Inhibitorne supstance nastaju kao rezultat hidrolize jedinjenja ekstrakata, organskih kiselina koje se esterifikuju sa hemicelulozom (sirćetna, mravlja, glukuronska, galakturonska) i rastvorenih fenolnih jedinjenja. Takođe, inhibitori nastaju i razgradnjom rastvorljivih šećera (furfural i hidrosimetilfurfural (HMF)) i lignina (cimetaldhid, *p*-hidroksibenzaldehid, 4-hidroksi-3,5-dimetoksibenzaldehid) i kao proizvod korozije (metalni joni) [23]. Iz ovih razloga je, u zavisnosti od vrste predtretmana i hidrolize, potrebno izvršiti uklanjanje toksina iz toka koji ulazi u fermentor. Metode detoksikacije mogu biti fizičke, hemijske ili biološke. Ove metode se ne mogu direktno porediti zbog različitog stepena neutralizacije inhibitora. Pored toga, mikroorganizmi koji se koriste u

procesu fermentacije imaju različit stepen tolerancije na inhibitore.

HIDROLIZA CELULOZE

Da bi se izvršila fermentacija lignocelulozних sirovina, neophodno je da se celuloza razloži do glukoze (saharifikacija) korišćenjem kiselina ili enzima. Hidroliza lignoceluloze posle koje sledi fermentacija, mnogo je komplikovanija od obične hidrolize šećera. Za izvođenje faze hidrolize lignocelulozних sirovina mogu se koristiti kiselinski i enzimski postupci ili njihova kombinacija [1].

Hidroliza kiselinama

Hidroliza u prisustvu kiselina je jedna od najstarijih i najčešće primenjivanih tehnologija za prevođenje lignoceluloze u fermentabilne šećere. Postoje dva tipa procesa kiselinske hidrolize: hidroliza sa razblaženom i koncentrovanom kiselinom. Ako se koristi razblažena kiselina (H_2SO_4 i HCl) na temperaturi između 200–400 °C, potrebna je koncentracija kiseline od 1,5% da bi došlo do hidrolize kristalne celuloze, međutim, pod ovim uslovima dolazi do razlaganja glukoze u HMF i ostale neželjene proizvode. Na sličan način, ksiloza se razlaže na furfural i druge komponente. Tokom dvostepenog režima, prvi stepen se odvija pod blagim uslovima (190 °C, 0,7% kiseline, 3 min) da bi se izdvojile pentoze, dok se u drugom stepenu čvrsti supstrat podvrgava oštrijim uslovima (215 °C, 0,4% kiseline, 3 min) da bi se izdvojile heksoze. Na ovaj način, dobija se prinos od 50% glukoze [33]. U drugoj varijanti kiselinske hidrolize koristi se ekstremno niska koncentracija kiseline i visoka temperatura tokom šaržnog procesa (pristup autohidrolize), a ovakva hidroliza je primenjena na piljevini [34].

Postupkom sa koncentrovanom kiselinom, koncentracije 30–70% H_2SO_4 , postiže se veći prinos glukoze (90%) i ovaj proces je relativno brz (10–12 h), ali je količina korišćene kiseline otežavajući ekonomski faktor [33].

Hidroliza enzimima

Budućnost proizvodnje bioetanola iz lignocelulozних sirovina danas u najvećoj meri zavisi od razvoja enzimskih postupaka, koji su još uvek prilično skupi da bi cena tako proizvedenog bioetanola bila konkurentna ceni fosilnog goriva ili ceni bioetanola proizvedenog iz skrobne biomase. Međutim, očekuje se značajan napredak u domenu poboljšanja celulolitičke aktivnosti (aktivnosti enzima celulaza), termičke stabilnosti enzima i efektivnosti konverzije celuloze do 2015. godine, što će ovaj proces, prema opštim predviđanjima, učiniti najkonkurentnijim za proizvodnju bioetanola. Metode koje će se koristiti za ove svrhe uključuju klasične metode i metode genetskih modifikacija enzima.

Cilj enzimske hidrolize je da se depolimerizuju polisaharidi – čvrsta frakcija koja ostaje posle predtretmana koja je nerastvorna u vodi. Posle većine predtret-

mana, glavni deo ovih polisaharida čini celuloza. Za sintezu celulolitičkih enzima najčešće se koriste plesni *Trichoderma reesei* i ređe *Aspergillus niger*. Plesni sintetišu kompleks celulolitičkih enzima potrebnih za efikasnu hidrolizu, od kojih su najvažnije tri grupe enzima koji deluju sinergistički: endo- β -1,4-glukanaze (EG, EC 3.2.1.4) napadaju endogeni deo lanca celuloze, celobiohidrolaze (CBH, EC 3.2.1.91) napadaju krajeve polimera, oslobađajući celobiozu koja se potom cepa na dva molekula glukoze pomoću enzima β -glukozidaze (BG, EC 3.2.1.21) [35]. Takozvani „pomoćni“ enzimi kao što su hemicelulaze [36] i ligninaze [37] takođe mogu imati ulogu u hidrolizi tako što olakšavaju glavnim enzimima pristup celulozi. Aktivnost celobiohidrolaza rezultira u postepenom smanjenju nivoa polimerizacije dok endoglukanaze izazivaju cepanje celuloze u manje lance brzo smanjujući stepen polimerizacije. Endoglukanaze posebno dobro deluju na amorfnu celulozu, dok celobiohidrolaze deluju i na kristalnu celulozu [35]. Iako *T. reesei* proizvodi nekoliko β -glukozidaza, koje razlažu hidrolizom nastale molekule celobioze na dva molekula glukoze, njihova aktivnost nije velika. Nažalost, celobiohidrolaze se inhibiraju celobiozom. Iz tog razloga je neophodno dodati i β -glukozidaze poreklom iz drugih mikroorganizama kako bi se pospešila efikasnost celulaze iz ove plesni.

Da bi došlo do hidrolize nerastvorne celuloze, potrebno je da se celulaze adsorbuju na površinu čestica supstrata. Trodimenzionalna struktura ovih čestica u kombinaciji sa njihovom veličinom i oblikom određuje da li će β -glikozidne veze biti pristupačne enzimu [38]. Zbog toga je enzimaska hidroliza celuloze sporija u poređenju sa enzimskom razgradnjom drugih biopolimera. Na primer, hidroliza skroba enzimom amilazom je 100 puta brža od brzine hidrolize celuloze celulazom pod industrijskim proizvodnim uslovima.

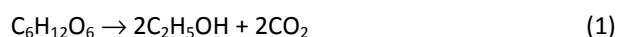
Efikasno uklanjanje lignina zahteva ekstremne uslove, pa se danas delignifikacija uspešno postiže sa belocrvenim plesnima, koje pripadaju porodici *Basidiomycetaceae*. Ove plesni sintetišu oksidativne enzime, koji stvaraju radikale, sposobne da raskidaju kovalentne veze u ligninu. Ovi enzimi deluju sinergistički sa celulazama i hemicelulazama, uklanjajući ligninski sloj.

Visoki troškovi proizvodnje enzima kao i velike doze potrebne za hidrolizu prethodno pripremljene biomase, su osnovni nedostaci ovog procesa koji usporavaju njegovu komercijalizaciju u proizvodnji bioetanol iz lignoceluloznih sirovina.

Jedno od mogućih rešenja mogli bi biti celulozomi – strukture izolovane iz nekih mikroorganizama koje poseduju enzimске komplekse potrebne za razgradnju lignoceluloznih sirovina. Mikroorganizmi koji proizvode celulozome imaju sposobnost da simultano razgrađuju lignocelulozne sirovine prevodeći ih u sopstvenu ćelijsku masu i produkte metabolizma, kao što je etanol [21].

FERMENTACIJA HIDROLIZATA BIOMASE

Fermentaciju hidrolizata do bioetanol vrši se primenom mikroorganizama kao što su kvasci. Pošto lignocelulozni hidrolizat ne sadrži samo glukozu već i razne monosaharide (ksiloza, manoz, galaktoza i arabinosa) i oligosaharide, mikroorganizmi bi trebalo da efikasno fermentišu ove šećere radi uspešne industrijske proizvodnje bioetanol [39]. Cilj hemijskog procesa fermentacije je da prevede glukozu do alkohola i ugljen-dioksida. Reakcije koje se odigravaju u samom kvascu tokom ovog procesa su veoma složene ali se krajnji proces može prikazati jednačinom:



Glukoza \rightarrow etil-alkohol + ugljen-dioksid

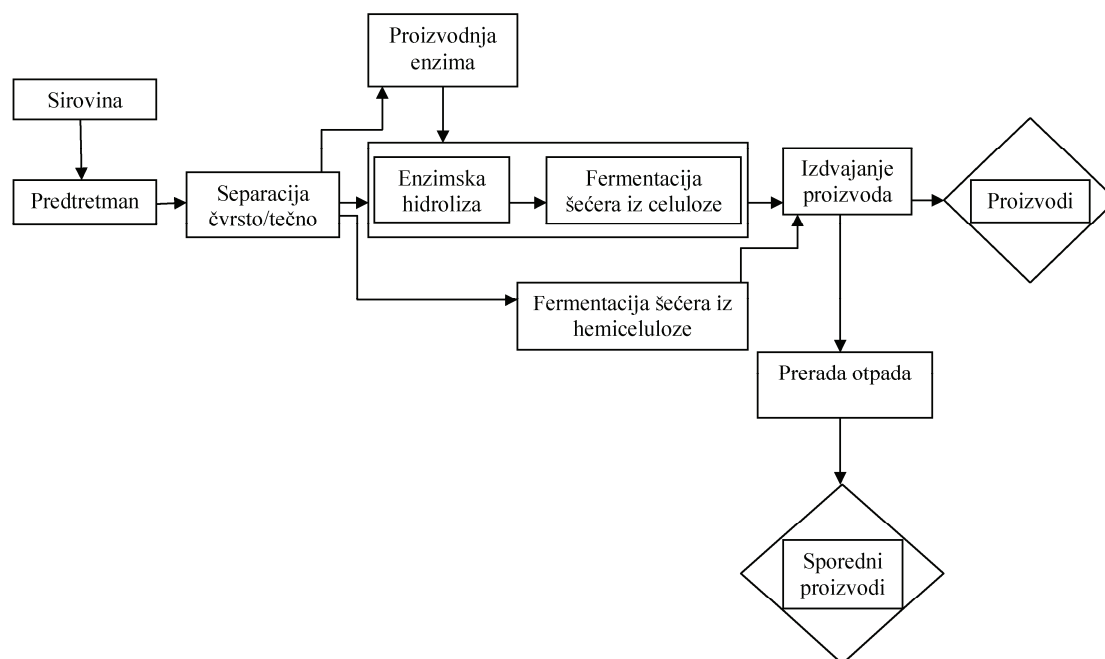
Teorijski se od 1 kg glukoze dobija 0,51 kg bioetanol i 0,49 kg ugljen-dioksida. Međutim, u praksi mikroorganizmi koriste deo glukoze za ćelijski rast tako da je realan prinos manji od 100% (tabela 4) [40].

Tabela 4. Prinosi bioetanol iz kukuruzovine primenom hidrolize sa koncentrovanom kiselinom (% suve mase)
Table 4. Yields of bioethanol by concentrated sulfuric acid hydrolysis from corn stalks (% of dry weight)

Masa kukuruzovine, kg	1000
Sadržaj celuloze, kg	430
Efikasnost konverzije i izdvajnja celuloze	0,76
Stehiometrijski prinos bioetanol	0,51
Efikasnost fermentacije glukoze	0,75
Prinos bioetanol iz glukoze, kg	130
Masa kukuruzovine, kg	1000
Sadržaj hemiceluloze, kg	290
Efikasnost konverzije i izdvajnja hemiceluloze	0,90
Stehiometrijski prinos bioetanol	0,51
Efikasnost fermentacije ksiloze	0,50
Prinos bioetanol iz ksiloze, kg	66
Ukupni prinos bioetanol iz 1000 kg kukuruzovine	196 kg (225,7 l)

Odvojena hidroliza i fermentacija

Klasična konfiguracija procesa koja se koristi za fermentaciju hidrolizata biomase je proces iz dva koraka gde se hidroliza celuloze i fermentacija vrše odvojeno. Ova konfiguracija je poznata kao odvojena hidroliza i fermentacija (eng. *separate hydrolysis and fermentation* – SHF). Druga mogućnost je simultana saharifikacija i fermentacija (eng. *simultaneous saccharification and fermentation* – SSF) (slika 4) [41-43], gde se hidroliza i fermentacija odvijaju u istom reaktoru. Najčešće korišćeni mikroorganizam za fermentaciju lignoceluloznih hidrolizata je *Saccharomyces cerevisiae* koji fermentiše heksoze, ali ne i pentoze iz hidrolizata.



Slika 4. Šematski prikaz procesa simultane saharifikacije i fermentacije (SSF).
Figure 4. Scheme for SSF (simultaneous saccharification and fermentation).

Kod odvojene hidrolize i fermentacije, čvrsta frakcija lignoceluloznog materijala se podvrgava hidrolizi (saharifikaciji). Ova frakcija sadrži celulozu u obliku koji je dostupan dejstvu kiselina ili enzima. Dobijeni hidrolizat celuloze se dalje fermentiše u drugom reaktoru i prevodi u etanol. Jedna od glavnih prednosti SHF procesa je što se svaki korak procesa može izvoditi pod optimalnim operativnim uslovima jer se odigravaju u dva odvojena reaktora. Najvažniji faktori koji se moraju uzeti u obzir kod saharifikacije su reakciono vreme, temperatura, pH, količina enzima i količina supstrata [22].

Simultana saharifikacija i fermentacija

Proces simultane saharifikacije i fermentacije (SSF) pokazuje izvesne prednosti u odnosu na proces SHF, jer se postižu veći prinosi uz manji utrošak energije. U ovom procesu se celulaze i mikroorganizmi dodaju u isti reaktor, tako da ćelije kvasca odmah mogu da metabolišu glukozu koja nastaje tokom enzimske hidrolize celuloze, oslobađajući etanol. Na taj način se neutrališe inhibitorno dejstvo šećera na celulaze. Međutim, pošto je neophodno koristiti razblaženiji medijum kako bi se postigla odgovarajuća reološka svojstva, koncentracija finalnog proizvoda je niska. Pored toga, ovaj proces se odigrava pod uslovima koji nisu optimalni za hidrolizu i zahteva veće doze enzima, što pozitivno utiče na konverziju supstrata, ali negativno na troškove procesa. Uzimajući u obzir da cena enzima čini veći deo troškova proizvodnje, neophodno je pronaći metode za smanjenje utroška enzima celulaze [22].

Fermentacija pentoza

Jedan od osnovnih problema kod proizvodnje bioetanol iz lignocelulozne biomase je u tome što kvasac *Saccharomyces cerevisiae* može da fermentiše samo određene mono- i disaharide kao što su glukozu, fruktozu, maltozu i saharozu. Ovaj mikroorganizam ne može da asimiluje celulozu i hemicelulozu direktno, niti pentoze koje nastaju hidrolizom celuloze (uglavnom ksiloza). Jedan od načina da se ovaj problem prevaziđe je primena genetičkog inženjeringa odnosno tehnologija rekombinantne DNK. Ovim metodama može se postići da proizvodni mikroorganizmi poveća toleranciju na etanol i da prošire sposobnost da metabolišu različite supstrate. Tako na primer, modifikovani oblik *Zymomonas mobilis* pored heksoza (glukoza, fruktoza), može da fermentiše i pentoze (ksiloza) u etanol [2]. Drugi pristup je primena mikroorganizama koji fermentišu pentoze, kao što su neki kvasci i bakterije. U ovom slučaju, predlaže se konfiguracija sa odvojenom fermentacijom pentoza i heksoza. Kvasci kao što je *Pichia stipitis*, *Candida shahatae* i *Pachysolen tannophilus* mogu da asimiluju pentoze ali je njihov stepen konverzije glukoze do etanola pet puta manji nego što je slučaj sa *Saccharomyces cerevisiae*. Pored toga, zahtevaju kiseonik (aerisanje) a tolerantnost na etanol je 2–4 puta manja [38]. Termofilne bakterije koje mogu da fermentišu pentoze su mikroorganizmi koji se mogu gajiti zajedno sa bakterijama koje hidrolizuju celulozu, kao što je *Clostridium thermocellum* kako bi se vršila direktna konverzija predtretirane lignocelulozne biomase u etanol. Ovaj proces se

naziva konsolidovani bioproces (eng. *consolidated bio-processing* – CPB) (slika 5) [41].

U mikroorganizme koji mogu da fermentišu heksoze i pentoze spada i gljiva *Mucor indicus* kojom se postiže prinos bioetanol od 0,46 g/g glukoze, kada se gaji pod anaerobnim uslovima. Pored toga, ova gljiva asimiluje inhibitore koji se javljaju u hidrolizatima razblaženih kiselina [44].

Termohemijski postupci

Postoje dva postupka proizvodnje bioetanol koja uključuju i termohemijske reakcije. Prvi sistem je hibrid termohemijskog i biološkog sistema [45]. Lignocelulozna biomasa se prvo termohemijski gasifikuje a sintetički gas (smeša vodonika i ugljen-monoksida) se uduvava u vidu mehurića kroz specijalno projektovane fermentore. Reakcija gasifikacije biomase je:



Mikroorganizam koji može da prevodi ovaj gas se uvodi u fermentor pod posebnim uslovima kako bi se izazvala fermentacija do bioetanol [40].

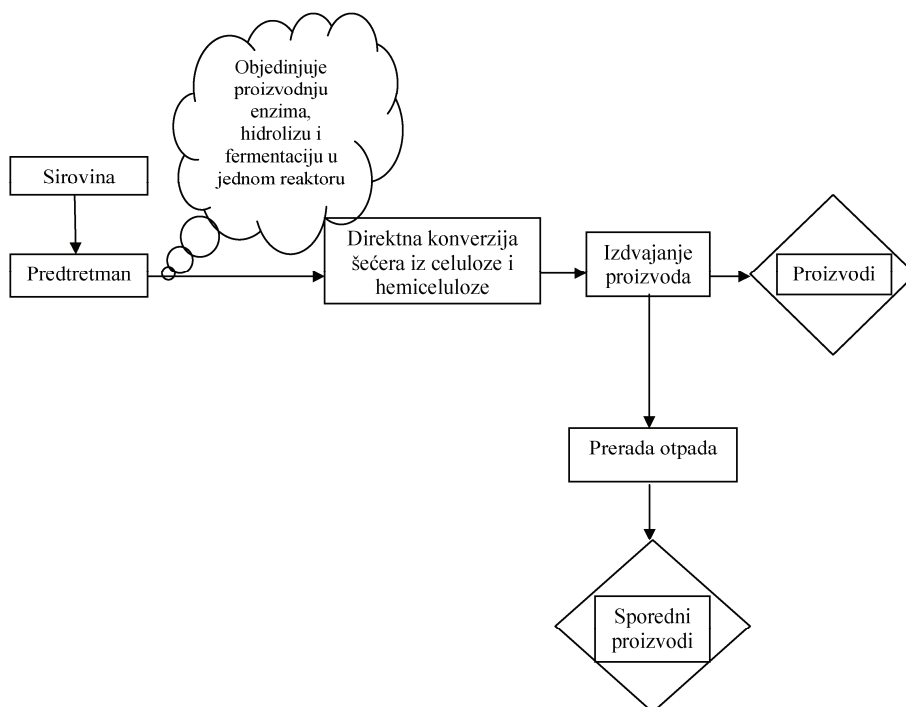
U drugom termohemijskom procesu proizvodnje bioetanol ne koriste se mikroorganizmi. U ovom postupku se lignocelulozna biomasa prvo gasifikuje, a sintetički gas zatim prolazi kroz sistem sa hemijskim katalizatorom, koji konvertuje sintetički gas do bioetanol. Dobijeni su prinosi do 50% etanol u procesu sa sintetičkim gasom. U postupcima u kojima prvo nastaje metanol, koji se zatim katalitičkim putem prevodi u eta-

nol, postignuti su prinosi do 80% etanol. Nažalost, kao i kod drugih procesa, pronalazjenje ekonomski isplativog termohemijskog postupka je i dalje u fazi istraživanja [45].

UTICAJ BIOETANOLA NA EKONOMIJU I ŽIVOTNU SREDINU

Kako bi proces proizvodnje biogoriva bio ekonomski isplativ, cena različitih vrsta ovih goriva mora biti konkurentna međusobno, ali i sa mineralnim gorivima kao što su dizel i benzin. Ova konkurentnost omogućava dostupnost biogoriva na tržištu i mogućnost da potrošači pređu sa fosilnog na biogorivo.

S obzirom da je do danas cena bioetanol znatno viša od cene fosilnog benzina, vlade nekih država uvode posebne povlastice kako bi podstakle proizvodnju i potrošnju bioetanol u sektoru saobraćaja. Razlikuju se tri glavna pristupa u implementaciji regulativa i politika za biogoriva: 1) politika zasnovana na uvođenju taksa, 2) politika zasnovana na uvođenju subvencija u poljoprivredi i 3) uvođenje zakonske regulative vezane za gorivo [46]. Na razvoj i promovisanje biogoriva danas mnogo više utiče sektor poljoprivrede nego energetski sektor. Štaviše, većina programa koja promovišu korišćenje biogoriva zavisi od subvencija i vladinih programa, koji mogu dovesti do poremećaja cena na tržištu i predstavljati veliko opterećenje za državni budžet. Ako bi se cene nafte održale na ovako visokom nivou, i uz postojeći razvoj sve efikasnijih i jeftinijih tehnologija, bio-



Slika 5. Šematski prikaz konsolidovanog bioprocasa CPB.
Figure 5. Scheme for CPB (consolidated bioprocessing).

goriva bi u bližoj budućnosti mogla postati ekonomski isplativa alternativa u mnogim državama [47].

Cena sirovina i njena promenljivost znatno utiču na cenu bioetanol [48]. Sirovine predstavljaju 60–75% ukupnih troškova proizvodnje bioetanol [17]. Na primer, cena bioetanol iz šećerne trske u Brazilu iznosi 0,23–0,29 USD po litru [49]. U Evropskoj uniji i SAD-u bioetanol dobijen iz šećernih sirovina ili kukuruza iznosi 0,29 USD po litru [50] i 0,53 USD po litru [51], redom.

ZAKLJUČAK

Proizvodnja bioetanol na svetskom nivou se od 2005. do 2009. godine povećala od 33,0 do 73,9 milijardi litara [4]. Mnogi istraživački projekti u poslednje vreme su usmereni ka razvoju koncepta obnovljivih izvora energije, održivom razvoju, „zelenoj energiji“ i ekološki prihvatljivim procesima proizvodnje. Da bi masovna proizvodnja bioetanol bila moguća, neophodno je da ovaj proces bude ekonomski isplativ i da u celini ne utiče negativno na životnu sredinu. U tehnologijama koje se trenutno komercijalno primenjuju, glavnicu troškova čine sirovine (preko 60%), posle čega slede troškovi proizvodnje. U opštem slučaju, proizvodnja bioetanol iz šećernih sirovina (kao što je šećerna trska), znatno je jeftinija nego proizvodnja iz skrobnih sirovina. Iako je prinos etanol iz kukuruza viši nego iz šećerne repe, zbog manjeg godišnjeg prinosa po hektaru kukuruza, neophodno je zasejavati veće obradive površine. To se negativno odražava na proizvodnju hrane. S druge strane, lignocelulozna biomasa predstavlja najperspektivniju sirovinu za proizvodnju bioetanol. Dostupnost i niske cene različitih vrsta ovih sirovina, pružaju velike mogućnosti za razvoj bioindustrije koja bi mogla da podrži razvoj međunarodnog tržišta biogoriva i doprinese smanjenju globalne emisije gasova staklene bašte.

Trenutne tendencije u istraživanjima radi poboljšanja proizvodnje etanol odnose se na prirodu biomaterijala, faze procesa proizvodnje, integraciju pojedinih faza u odgovarajuću procesnu šemu (napr. SHF, SSF i CPB postupci), istraživanja na polju genetičkog inženjeringa i srodne inženjerske probleme.

LITERATURA

- [1] L. Mojović, D. Pejin, O. Grujić, S. Markov, J. Pejin, M. Rakin, M. Vukašinović, S. Nikolić, D. Savić, Progress in the production of bioethanol on starch-based feedstocks, *Chem. Ind. Chem. Eng. Q.* **15**(4) (2009) 221-226.
- [2] L. Mojović, D. Pejin, M. Lazić, Bioethanol kao gorivo – stanje i perspektive, monografija, Tehnološki fakultet, Leskovac, 2007.
- [3] Draft decision-/ CP.15, United Nations Framework Convention on Climate Change, Copenhagen 2009, <http://unfccc.int/resource/docs/2009/cop15/eng/107.pdf>
- [4] Renewable Fuels Association <http://www.ethanol-rfa.org/news/entry/global-ethanol-production-to-reach-85.9-billion-litres-22.7-billion-ga/>
- [5] D. Semenčenko, M. Radosavljević, V. Semenčenko, Uloga i mesto istraživanja i primene biogoriva u strategijama razvoja obnovljivih izvora energije, *Sym-op-is*, XXXVI Simpozijum o operacionim istraživanjima, Ivanjica, 2009.
- [6] Renewable Energy Network for the 21st Century (REN21), Renewable 2007 Global Status Report, Paris, REN21 Secretariat and Washington, DC, Worldwatch Institute, 2008.
- [7] A. Demirbas, Producing and using bioethanol as an automotive fuel, *Energ. Source B* **2** (2007) 391-401.
- [8] L. Mojović, S. Nikolić, M. Rakin, M. Vukašinović, Production of bioethanol from corn meal hydrolyzates, *Fuel* **85** (2006) 1750-1755.
- [9] M.B. Tasić, V.B. Veljković, I.B. Banković-Ilić, M.L. Lazić, L.V. Mojović, Bioethanol – Stanje i perspektive, *Hem. ind.* **60** (2006)1-10.
- [10] Z. Predojević, Postupci pripreme lignocelulozne sirovine za dobijanje bioetanol, *Hem. ind.* **64** (2010) 283-293.
- [11] T. Furman, O. Očić, D. Skala, R. Nikolić, M. Brkić, S. Kovčičin, J. Crnobarac, M. Jovanović, M. Tomić, L. Savin, *Biodizel – alternativno i ekološko tečno gorivo*, monografija, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, 2005.
- [12] S. Christy, S. Warren, Market study on projected oil demand in Serbia and Montenegro and regional trade, Petroleum Economics Limited, London, 2005.
- [13] O. Očić, Oil Refineries in the 21st Century, monograph, Wiley, 2005.
- [14] Program modernizacije Rafinerije nafte Pančevo, biznis plan, NIS, 2008.
- [15] S. Nikolić, L. Mojović, M. Rakin, D. Pejin, Bioethanol production from corn meal by simultaneous enzymatic saccharification and fermentation with immobilized cells of *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus*, *Fuel* **88** (2009) 1602-1607.
- [16] S. Nikolić, L. Mojović, D. Pejin, M. Rakin, V. Vučurović, Improvement of ethanol fermentation of hydrolyzates of corn semolina by immobilized *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* by media supplementation, *Food Technol. Biotech.* **47** (2009) 83-89.
- [17] M. Balat, H. Balat, Recent trends in global production and utilization of bio-ethanol fuel, *Appl. Energ.* **86** (2009) 2273-2282.
- [18] S. Nikolić, L. Mojović, M. Rakin, D. Pejin, J. Pejin, Ultrasound-assisted production of bioethanol by simultaneous saccharification and fermentation of corn meal, *Food Chem.* **122** (2010) 216-222.
- [19] A. Margeot, B. Hahn-Hagerdal, M. Edlund, R. Slade, F. Monot, New improvements for lignocellulosic ethanol, *Curr. Opin. Biotech.* **20** (2009) 372-380.
- [20] W.Z. Li, J. Xu, J. Wang, Y. Yan, Studies of monosaccharide production through lignocellulosic waste hydrolysis using double acids, *Energ. Fuel* **22** (2008) 2015-2021.
- [21] E.A. Bayer, R. Lamed, M. Himmel, The potential of cellulases and cellulosomes for cellulosic waste management, *Curr. Opin. Biotech.* **18** (2007) 237-245.

- [22] O.J. Sanchez, C.A. Cardona. Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks, *Bioresource Technol.* **99** (2008) 5270-5295.
- [23] L.R. Lynd, Overview and evaluation of fuel ethanol from cellulosic biomass: technology, Economics, the Environment, and Policy, *Ann. Rev. Energ. Environ.* **21** (1996) 403-465.
- [24] P. Ghosh, T.K. Ghose, Bioethanol in India: recent past and emerging future, *Adv. Bioch. Eng. Biot.* **85** (2003) 1–27.
- [25] I. Ballesteros, J.M. Oliva, M.J. Negro, P. Manzanares, Ballestros: Enzymatic hydrolysis of steam exploded herbaceous agricultural waste (*Brassica carinata*) at different particule sizes, *Process Biochem.* **38** (2002) 187–192.
- [26] A. Shahbazi, Y. Li, M.R. Mims, Application of sequential aqueous steam treatments to the fractionation of softwood, *Appl. Biochem. Biotech.* **26** (2005) 973-987.
- [27] J. Soderstrom, L. Pilcher, M. Galbe, G. Zacchi, Two-step steam pretreatment of softwood by dilute H₂SO₄ impregnation for ethanol production, *Biomass Bioenerg.* **24** (2003) 475-486.
- [28] M. Laser, D. Schulman, S.G. Allenm, J. Lichwa, Jr., M.J. Antal, L.R. Lynd, A comparison of liquid hot water and steam pretreatments of sugar cane bagasse for bioconversion to ethanol, *Bioresource Technol.* **81** (2002) 33–44.
- [29] J.C. Ogier, D. Ballerini, J.-P. Leygue, L. Rigal, J. Pourquie, Production d'ethanol a partir de biomasse lignocellulosique, *Oil Gas Sci. Technol. - Revue de l'IFP* **54** (1) (1999) 67–94.
- [30] M.J. Negro, P. Manzanares, I. Ballestros, J.M. Oliva, A. Cabanas, M. Bellestros, Hydrothermal pretreatment conditions to enhance ethanol production from poplar biomass. *Appl. Biochem. Biotech.* **105** (2003) 87–100.
- [31] Y. Sun, J. Cheng, Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review, *Bioresour. Technol.* **83** (2002) 1–11.
- [32] B.S. Zhang, Process for preparing fuel ethanol by using straw fiber materials, Patent CN1880416, 2006.
- [33] C.N. Hamelinck, G. van Hooijdonk, A.P.C. Faaij, Ethanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short-, middle-, and long-term, *Biomass Bioenerg.* **28** (2005) 384-410.
- [34] T.V. Ojumu, O.A. Ogunkunle, Production of glucose from lignocellulosic under extremely low acid and high temperature in batch process, auto-hydrolysis aproach, *J. Appl. Sci.* **5**(1) (2005) 15–17.
- [35] L.R. Lynd, P.J. Weimar, W.H. van Zyl, I.S. Pretorius, Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **66**(3) (2002) 506–577.
- [36] A. Berlin, N. Gilkes, D. Kilburn, R. Bura, A. Markov, A. Skomarovsky, O. Okunev, A. Gusakov, V. Maximenko, D. Gregg, Evaluation of novel fungal cellulase preparation for ability to hydrolyze softwood substrates – evidence for the role of accessory enzymes, *Enzyme Microb. Technol.* **37** (2005) 175-184.
- [37] H. Palonen, L. Viikari, Role of oxidative enzymatic treatments on enzymatic hydrolysis of softwood, *Biotechnol. Bioeng.* **86** (2004) 550–557.
- [38] Y-H. P. Zhang, L.R. Lynd, Toward an aggregated understanding of enzymatic hydrolysis of cellulose: noncomplexed cellulose systems, *Biotechnol. Bioeng.* **8** (2004) 797–824.
- [39] S. Katahira, A. Mizuike, H. Fukuda, A. Kondo, Ethanol fermentation from lignocellulosic hydrolysate by a recombinant xylose- and celooligosaccharide-assimilating yeast strain, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **72** (2006) 1136–1143.
- [40] A. Demirbas, Bioethanol from cellulosic materials: a renewable motor fuel from biomass, *Energy Sources A* **27** (2005) 327–337.
- [41] Q. Xu, A. Singh, M.E. Himmel, Perspectives and new directions for the production of bioethanol using consolidated bioprocessing of lignocellulose, *Curr. Opin. Biotechnol.* **20** (2009) 364–371.
- [42] P.A.M. Claassen, J.B. van Lier, A.M. Lopez Contreras, E.W.J. van Niel, Utilisation of biomass for the supply of energy carriers, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **52** (1999) 741–755.
- [43] C.A. Cardona, O.J. Sanchez, Fuel ethanol production: process design trends and integration opportunities, *Bioresour. Technol.* **98** (2007) 2415–2457.
- [44] A. Sues, R. Millati, L. Edebo, M.J. Taherzadeh, Ethanol production from hexoses, pentoses and dilute-acid hydrolyzate by *Mucor indicus*, *FEMS Yeast Res.* **5** (2005) 669–676.
- [45] P.C. Badger, Ethanol from cellulose: a general review, in: J. Janick, A. Whipkey (eds.), *Trends in New Crops and New Uses*, ASHS Press, Alexandria, VA, 2002.
- [46] A.M. Smith, Prospects for increasing starch and sucrose yields for bioethanol production, *Plant J.* **54** (2008) 546–558.
- [47] C. DeFraiture, M. Giordano, Y. Liao, Biofuels and implications for agricultural water use: blue impacts of green energy, *Water Policy* **1** (10) (2008) 67–80.
- [48] S. Yoosin, C. Sorapipatana, A study of ethanol production cost for gasoline substitution in Thailand and its competitiveness, *Thammasat Int. J. Sci. Technol.* **12** (2007) 69–80.
- [49] M. Kojima, T. Johnson, Potential for biofuels for transport in developing countries, Energy sector management assistance programme, joint UNDP/World Bank, Washington DC, 2005.
- [50] D. Mitchell, A note on rising food prices, World Bank Development Prospects Group, World Bank Washington DC, , 2008.
- [51] K. Christensen, A. Smith, The case for hemp as biofuel, Vote Hemp Inc. Report, Brattleboro, VT, 2008.

SUMMARY

RECENT TRENDS IN BIOETHANOL PRODUCTION

Valentina V. Semenčenko¹, Ljiljana V. Mojović¹, Slobodan D. Petrović^{1,2}, Ozren J. Očić³

¹*Faculty of Technology and Metallurgy, University of Belgrade, Karnegijeva 4, Belgrade, Serbia*

²*Hemofarm A.D., Beogradski put b.b., Vršac, Serbia*

³*EU – Faculty for International Engineering Management, Carigradska 26, Belgrade, Serbia*

(Review paper)

The rapid depletion of the world petroleum supply and the increasing problem of greenhouse gas effects have strengthened the worldwide interest in alternative, nonpetroleum sources of energy. Bioethanol accounts for the majority of biofuel use worldwide, either as a fuel or a gasoline enhancer. Utilization of bioethanol can significantly reduce petroleum use and exhaust greenhouse gas emission. The production of this fuel has been increasing over the years, and has reached the level of 73.9 billion liters during the year 2009. Even though for decades ethanol production mainly depended on energy crops containing starch and sugar (corn, sugar cane etc.), new technologies for converting lignocellulosic biomass into ethanol are under development today. The use of lignocellulosic biomass, such as agricultural residues, forest and municipal waste, for the production of biofuels will be unavoidable if liquid fossil fuels are to be replaced by renewable and sustainable alternatives. For biological conversion of lignocellulosic biomass, pretreatment plays a central role affecting all unit operations in the process and is also an important cost deterrent to the commercial viability of the process. The key obstacles are: pretreatment selection and optimization; decreasing the cost of the enzymatic hydrolysis; maximizing the conversion of sugars (including pentoses) to ethanol; process scale-up and integration to minimize energy and water demand; characterization and evaluation of the lignin co-product; and lastly, the use of the representative and reliable data for cost estimation, and the determination of environmental and socio-economic impacts. Currently, not all pretreatments are capable of producing biomass that can be converted to sugars in high enough yield and concentration, while being economically viable. For the three main types of feedstocks, the development of effective continuous fermentation technologies with near to 100% yields and elevated volumetric productivities is one of the main research subjects in the ethanol industry. The application of new, engineered enzyme systems for cellulose hydrolysis, the construction of inhibitor tolerant pentose fermenting strains, combined with optimized process integration promise significant improvements.

Keywords: Bioethanol • Lignocellulosic biomass • Bioconversion