

MARIJA B. TASIĆ¹
IVANA B. BANKOVIĆ-ILIĆ¹
MIODRAG L. LAZIĆ¹
VLADA B. VELJKOVIĆ¹
LJILJANA V. MOJOVIĆ²

¹Tehnološki fakultet,
Leskovac

²Tehnološko metalurški
fakultet, Beograd

PREGLEDNI RAD

547.262:57.018.8+663.142/.143

BIOETANOL – STANJE I PERSPEKTIVE

U ovom radu razmotreni su procesi dobijanja etanola iz biomase. Naglasak je stavljen na polazne sirovine, značajne faktore koji kontrolišu tok i efekte reakcija ošeećenja i fermentacije i utiču na prinos fermentabilnih šećera i etanola, respektivno, kao što su: vrste i koncentracije kiselina, vrste enzima, vrsta proizvodnog mikroorganizma, temperatura, pH i vreme trajanja reakcije. Radi sagledavanja perspektive industrijske proizvodnje bioetanola, ocenjena je ekonomičnost celokupnog postupka proizvodnje bioetanola iz biomase.

Najznačajniji događaj prošle decenije, koji je fokusirao pažnju svetske javnosti, nesumnjivo je bio rat u Persijskom zalivu. Taj vojni konflikt je najskorije podsećanje svetske i naše javnosti na veliku zavisnost, u preradi nafte, ostalih zemalja od zemalja Srednjeg istoka. Naftna kriza krajem 70-tih godina prošlog veka imala je za posledicu četvorostručnje cene nafte, pa i drugih energenata, a naročito, energenata za motore sa unutrašnjim sagorevanjem [1].

Paralelno sa naftnom krizom, širila se industrijska proizvodnja, koja je dovela do iscrpljivanja prirodnih resursa i dramatičnog zagađivanja okoline sa pretećom ekološkom katastrofom. Egzistencijalno opasnim se sve više iskazuje i tzv. efekat staklene bašte, do koga je došlo usled nagomilavanja atmosferskog CO₂ nastalog sagorevanjem fosilnih goriva (nafte, uglja, gasa). Taj efekat ima za posledicu zagrevanje atmosfere, kao i poplave usled topljenja polarnog i glečerskog leda na planeti, koji se jedino može zaustaviti ili bar usporiti uvođenjem goriva koja ne proizvode CO₂ ili onih koja proizvode CO₂ koji ulazi u biološki ciklus na planeti. To kruženje CO₂ ostvaruje se samo spaljivanjem biomase ili energenata dobijenih iz nje, npr. etanola, jer biomasa, koja se procesom fotosinteze obnavlja, ponovo vezuje sav CO₂ nastao sagorevanjem biomase [2].

Energija biomase trenutno doprinosi sa 9–13% u ukupnoj svetskoj energiji [3]. Etanol iz biomase (bioetanol) predstavlja moderan vid energije biomase, koji predstavlja značajnu zamenu tečnim fosilnim gorivima (nafti) ili, u smeši sa gasovima, zamenu prirodnom gasu.

Bioetanol ima odlična svojstva kao gorivo za motore sa unutrašnjim sagorevanjem. Visok oktanski broj i stepen isparavanja čine bioetanol efikasnijim i čistijim gorivom u poređenju sa prirodnim gasom. Pošto je etanol

manje isparljiv od prirodnog gasa i ima manju fotohemijsku reaktivnost u atmosferi, stvaranje smoga isparavanjem čistog etanola je manje nego kod prirodnog gasa. Etanol ima veoma malu toksičnost u poređenju sa drugim gorivima, kao i laku biorazgradivost u vodi i zemljištu. Smanjenje upotrebe neobnovljivih izvora fosilne energije, zajedno sa poboljšanjem stanja životne sredine, dva su značajna razloga za uvođenje bioetanola kao energenta [4].

Po hemijskom sastavu bioetanol (etanol, etil–alkohol) je tečnost bez boje, karakterističnog mirisa, sa gustinom 0,7939 g/cm³ na 15°C/15°C i tačkom ključanja 78,32°C na pritisku od 1 bar. Rastvorljiv je u vodi i di–etiletru. Neto energetska vrednost mu je 27723 kJ/kg [2]. Njegovo dobijanje počiva na jednačini koju je još 1810. godine ustanovio Gay–Lussac i predstavlja fermentativnu razgradnju glukoze u etanol pomoću kvasaca:



Sadašnja industrijska proizvodnja etanola je zasnovana na alkoholnoj fermentaciji šećera biljnog porekla, praćena izdvajanjem etanola putem destilacije.

Prvi veliki program dobijanja etanola kao energenta (ProAlcool) startovao je u Brazilu 1975. godine, praćen programima u SAD, 1978. godine, i od skora u Kanadi [5]. Iako većina drugih zemalja proizvode etanol kao gorivo i u druge svrhe, glavna proizvodnja se jedino javila u onim zemljama koje poseduju pogodnu, veliku i relativno jeftinu sirovinsku bazu.

Za razliku od izuzetno dinamičnog rasta proizvodnje etanola u svetu (47.500 t – 1993. godine na 191.000 t – 2000. godine) [6] u našoj zemlji zadnjih godina ova proizvodnja stalno opada (1992. godine iznosila je 37.329 t, a 2004. godine iznosi – 27.190 t) [7]. Razlozi za ovakvo stanje su mnogobrojni, počevši od ukupnog stanja privrede, negativnih zbivanja na planu sveukupne proizvodnje, neadekvatnih zakonskih propisa, a posebno negativno mišljenje da se etanol proizvodi samo radi proizvodnje alkoholnih pića, zanemarujući činjenicu

Adresa autora: Miodrag L. Lazić, Tehnološki fakultet Leskovac, Bulevar Oslobođenja 124, 16000 Leskovac
E–mail: lmiodrag@yahoo.com
Rad primljen: Juli 28, 2005
Rad prihvaćen: Januar 9, 2006

da etanol zauzima značajno mesto, pre svega, kao energent ali i kao sirovina za hemijsku i farmaceutsku industriju [2].

POSTUPCI PROIZVODNJE BIOETANOLA

Sušтина postupka proizvodnje bioetanolа je u alkoholnoj fermentaciji, odnosno anaerobnoj biohemijskoj, odnosno enzimskoj razgradnji šećera do etanola i CO₂ pomoću različitih mikroorganizama (najčešće kvascima). Šećer koji se fermentiše može se dobiti iz različitih izvora: voća, žitarica, krompira, šećerne repe i drugog biljnog materijala. U zavisnosti od polazne biljne sirovine, razlikuju se procesi dobijanja jednostavnih šećera iz njih.

Proizvodnja bioetanolа podržava razvoj tri tehnološke platforme. Prva je tradicionalna dvostepena konverzija biomase u etanol, koja uključuje ošećerenje i fermentaciju. Druga je direktna fermentacija biomase putem istovremenog ošećerenja i fermentacije. Treća, koja drastično menja pristup produkciji bioetanolа, uključujući termičku obradu biomase, da bi se dobili H₂ i C O, iz kojih se sintetizuje etanol [1]. Karakteristično za sve tri tehnološke platforme je dobijanje etanola, koji se procesom destilacije izdvaja u maksimalnoj koncentraciji od 96%, dok ostalih 4% čini voda. Apsolutni (100%) etanol se ne može dobiti samo destilacijom, već je za to potrebno i primeniti proces dehidratacije. Dodavanjem 5% neke otrovne supstance (benzin ili sl.) sprečava se njegova upotreba u proizvodnji alkoholnih pića [8].

U okviru ovog rada na dalje detaljnije su razmatrane samo prve dve platforme sa ekonomskom opravdanom primenom u industrijskim uslovima.

Dvostepeni procesi ošećerenja i fermentacije

Najjednostavnija je tradicionalna dvostepena razgradnja sirovina. Prvi stepen predstavlja hidrolizu sirovine u fermentativne šećere (ošećerenje) u kome se polimerni makromolekuli razlažu do monosaharida fizički, hemijski ili enzimski. Veliki broj različitih faktora, čija su dejstva najčešće kombinovana, utiču na kinetiku ošećerenja, kao i na prinos etanola u procesu fermentacije. Najvažniji su: vrsta i koncentracija kiselina, vrsta enzima, temperatura, vreme trajanja razgradnje i pH. U tabeli 1 dat je pregled najvažnijih uslova ošećerenja.

Uslovi koji kontrolišu kiselinsku hidrolizu glukoze: vreme trajanja reakcije, temperatura i pH, mogu se objediniti u jedinstveni parametar, sjedinjena jačina "combined severity" (CS). Objedinjavanjem vremena trajanja reakcije sa temperaturom u jedinstvenu reakcionu ordinatu, definisan je parametar jačine, R_o, prema sledećoj jednačini [9]:

$$R_o = t \exp \left[\frac{T_r - T_b}{14,75} \right]$$

gde je t – vreme trajanja reakcije (min), T_r – reakciona temperatura (°C) i T_b – referentna temperatura (100°C).

Chum i sar. uveli su treći parametar, pH sredine i opisali faktor CS [9]:

$$C S = \log R_o - pH$$

gde je pH izračunat iz količine dodate sumporne kiseline.

Primena parametra CS nije ograničena samo na kiselinsku hidrolizu šećera, već i na enzimsku, s obzirom na činjenicu kiselinskog predtretmana sirovine koja se enzimski hidrolizuje do monosaharida [9].

Iako ošećerenje kiselinama daje relativno visoke prinose šećera bez prethodne pripreme, uz veliku brzinu hidrolize i na niskim reakcionim temperaturama, naročito sa koncentrovanijim kiselinama, on ima i izvesne nedostatke, kao što su: obavezna neutralizacija hidrolizata pre fermentacije, inhibicija rasta kvasca sporednim proizvodima hidrolize, niži prinos etanola, nemogućnost istovremenog sprovođenja ošećerenja i fermentacije i skuplji konstrukcioni materijal za izradu opreme [10]. Ovi problemi se zaobilaze korišćenjem enzima kao biokatalizatora.

Drugi stepen predstavlja prevođenje šećera u etanol ili fermentacija u kojoj mikroorganizmi (anaerobne bakterije, kvasci) metabolišu šećere u etanol. Najčešće se pri industrijskoj fermentaciji koriste kvasci rodova *Saccharomyces* [11,12], *Kluyveromyces* [13], *Pachysolen* i *Candida* [14], bakterije vrste *Zymomonas mobilis*, *Bacillus subtilis* i *Bacillus polymixa* [15], određene termofilne bakterije roda *Clostridium*, kao i veliki broj raznih sojeva dobijenih metodama genetskog ukrštanja [16–20]. Pored vrste proizvodnog mikroorganizma i količine inokuluma [21], proces fermentacije zavisi i od koncentracije fermentabilnih šećera, prisustva inhibitora i nefermentabilnih šećera, zatim, od koncentracije soli amonijuma i fosfata [22], magnezijuma ili kalcijuma [11] i temperature. Optimizacijom ovih parametara osigurava se efikasnost procesa i maksimalni prinos etanola. Uticaj nekih od ovih parametara na prinos etanola pregledno je dat u tabeli 2.

Simultano ošećerenje i fermentacija (SSF)

Proces simultanog ošećerenja i fermentacije (SSF) je kombinacija enzimске hidrolize podloge sa istovremenom fermentacijom šećera u etanol. Tok SSF procesa je isti kao i u postupku odvojenog ošećerenja i fermentacije, izuzev činjenice da se odvija u istom bioreaktoru. Jedini problem vezan za SSF su različite optimalne temperature za ošećerenje i fermentaciju koje su približno 45°C i 30°C, respektivno. Ovaj problem je rešen korišćenjem termotolerantnih sojeva kvasaca sposobnih da fermentišu glukozu u etanol na temperaturama oko 40°C, koja je bliža optimalnoj aktivnosti enzimskog kompleksa na temperaturama u opsegu 40–45°C [5]. Termotolerantne su se pokazale neke vrste rodova *Saccharomyces*, *Kluyveromyces* i *Fabospora* po sposobnosti fermentisanja glukoze, galaktoze i manoze na 40,

Tabela 1. Pregled uslova reakcije ošećerenja nekih sirovina za bioetanol

Table 1. A review of the reaction conditions of the saccharification of some raw materials for bioethanol

Sirovina Raw materials	Katalizator Catalyst		Uslovi hidrolize ili ošećerenja Reaction conditions				Prinos Yield [%]	Referenca Reference
	Kiselina, baza Acid, Alkali	Enzim Enzyme	C _{kiseline, baze} C _{acid, alkali} [%]	T [°C]	pH	t [min]		
Pšenične mekinje Wheat bran	H ₂ SO ₄	amilokluzidaza amylglucosidase (AMG 300L)	1-4	50-180	5	10-50	~80 ^a ~83 ^b	[34]
Pšenične mekinje Wheat bran (SFR) ¹	H ₂ SO ₄	-	1	130	-	40	80,4 ^a	[35]
Pšenične mekinje Wheat bran (SFR)	H ₂ O ₂ , alkalni	-	2	60	11,5	10-240	65-86 ^a	[36]
Pšenično brašno Wheat flour	-	<i>Aspergillus niger</i> glukoamylaza glucosamylase (AMG 300L) <i>Aspergillus niger</i> glukoamylaze glucosamylase (AAI)	-	60	4,5	1320	-	[17]
Lignoceluloza Softwood	H ₂ SO ₄	-	0,5-4,4	150-240	5,5	1-30	53,8-69,2 ^b	[9]
Lignoceluloza Softwood	-	β-glukozidaza β-glucosidase	-	38	4,9	8640	-	Š37]
Kukuruzno vlakno Corn fiber	H ₂ SO ₄	amilokluzidaza amylglucosidase	4	121	4,2	10-60	48-90,3 ^a	[38]
Skrob iz Kazave Cassava starch	-	Koji enzimi Koji enzymes	-	30	3,5	7200	90-94,6 ^b	[39]
Tapioka prašak Tapioca powder	-	α-amilaza β-amilaza (Biotempase) glukoamylaza glucosamylase <i>Aspergillus sp.</i> NA21 (Amylo 300)	-	60	5	1440	-	[40]
Strugotina žutog jablana Yellow poplar sawdust	H ₂ SO ₄	-	0,8	175	-	10	70-97 ^b	[41]
Krompir Potato	HCl	-	0,5-2	94-98	4,5-4,7	60	60-66 ^b	[42]
Krompir Potato	-	<i>Bacillus licheniformis</i> α-amilaza α-amylase <i>Aspergillus oryzae</i> α-amilaza α-amylase <i>Aspergillus niger</i> glukoamylaza glucosamylase	-	55-95	4,5-5,6	150	77-96 ^b	[43]

¹ - SFR (starch free residue) - sirovina bez skroba

^a - totalnog teorijskog prinosa šećera (of the theoretical yield of total sugars)

^b - teorijskog prinosa etanola (of the theoretical yield of ethanol)

43 i 46°C, respektivno [13]. Poređenje ova dva procesa dato je u tabeli 3.

Zadnjih godina proces SSF je poboljšán uvođenjem istovremene fermentacije raznih vrsta šećera pomoću jednog ili više mikroorganizama. Ovaj proces poznat je kao simultano ošećerenje i kofermentativna ili združena fermentacija (SSCF) [1].

SIROVINE

U proizvodnji bioetanola uglavnom se koriste: kukuruz, ječam, ovas, pirinač, pšenica, krompir, sirak, šećerna repa i šećerna trska. Da bi se izbeglo mešanje

upotrebe plodova biljaka za ljudsku i industrijsku upotrebu, samo sporedni plodovi se smatraju sirovinom. Lignocelulozna biomasa i biljni ostaci i otpad raznih privrednih grana, takođe su sirovina za proizvodnju bioetanola. Lignocelulozna biomasa može obezbediti 442.000 miliona litara bioetanola godišnje [3].

Biljke, kao što su šećerna trska i šećerna repa, sadrže saharozu, koja se može hidrolizovati u monomernu jedinicu, dok drugi plodovi, kao što su kukuruz i žitarice, sadrže skrob, koji se može hidrolizovati u glukozu. Pored žitarica (pšenica i kukuruz), koje su do sada najčešće korišćene kao skrobne sirovine, značajno mesto, s obzirom na svoju rasprostranjenost i prinos, zauzi-

Tabela 2. Pregled uslova reakcije fermentacije nekih sirovina

Table 2. A review of the reaction conditions of the fermentation of some raw materials

Podloga Substrate	Mikroorganizmi Microorganisms	Uslovi ošecerenja Reaction conditions				Prinos Yield [%]*	Referenca Reference
		T [°C]	pH	t [h]	Sporedni proizvodi By-products		
Hemiceluloza Hemicellulose	RWB202-AFX ¹	30	5	160	Glicerol, acetati, sukcinati, laktati Glycerol, acetates, succinates, lactates	80–82	[18,19]
Lignoceluloza Lignocellulose	<i>Pachysolen tannophilus</i> ATCC32691 and <i>Candida shehatae</i> ATCC34887	30	4,5	20	Ksilitol Xylitol	~80	[14]
Melasa šećerne repe Molasses from sugar beet	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC36856	33	–	24	Rafinoza, oligosaharidi, glicerol Raffinose, oligosaccharides, glycerol	59–76	[20]
Lignoceluloza iz drveta i lekovitog bilja Lignocellulose from wood and herbs	<i>Kluyveromyces marxianus</i> CECT10875	42	–	72–82	–	50–72	[13]
Sintetički glukozni medijum Synthetic medium with glucose	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> CBS8066	30	4	45	Glicerol Glycerol	–	[11]
Sintetički medijum baziran na skrobu Synthetic medium based on starch	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> SR93	30	5	200	–	48	[16]
Skrob iz krompira Starch from potato	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	30	4	45–64	–	77–96	[25]
Skrob iz krompira Starch from potato	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	28	5	20	–	60–66	[21]
Skrob iz kukuruza Starch from corn	<i>Zymomonas mobilis</i> ²	30	5	20–120	–	95,4–98	[44]
Skrob iz kukuruza Starch from corn	YF207/pGA11/pAA12 ³	30	–	36	–	–97,2–98	[45]

* – Teorijskog prinosa etanola (of the theoretical yield of ethanol)

¹ – *Saccharomyces cerevisiae*, genetski modifikovana, XylA genom iz *Piromyces* sp. E2 (ATCC 76762)

¹ – *Saccharomyces cerevisiae* strains co-expressing XylA gene from *Piromyces* sp. E2 (ATCC 76762)

² – *Zymomonas mobilis* immobilisana na κ -nosačima

² – *Zymomonas mobilis* immobilized in κ -carageenan beads

³ – *Saccharomyces cerevisiae*, genetski modifikovana, glukoamilaza iz *Rhizopus oryzae* i α -amilaza iz *Bacillus stearothermophilus*

³ – *Saccharomyces cerevisiae* strains co-expressing *Rhizopus oryzae* glucosomylase and *Bacillus stearothermophilus* α -amylase

ma krompir [24]. Upotreba krompira za dobijanje etanola je opravdana u slučaju postojanja značajnih količina otpadnog materijala pri preradi krompira, kao i u oblastima sa velikim tržišnim viškovima krompira i relativno lakog izdvajanja [25]. Za razliku od plodova koji sadrže šećere, iskoristljivost lignoceluloze kao supstrata za proizvodnju bioetanolu ima barijeru zbog kompleksne strukture, koja je čini otpornijom na razgradnju. Lignoceluloza se sastoji iz tri velike frakcije: celuloze (~45% u suvoj materiji), hemiceluloze (~30% u suvoj materiji) i lignina (~25% u suvoj materiji) [5]. Problem upotrebe lignoceluloze leži u nemogućnosti jednog mikroorganizma da fermentiše pentoze i heksoze nastale u procesu ošecerenja. Najiskorišćeniji kvasac *Saccharomyces cerevisiae* ne može da fermentiše pentoze i zbog toga mu je ograničena upotreba za lignocelulozne podloge. Ista ograničenja su se javila i kod bakterije *Zymomonas mobilis*. Kao posledica, za poslednje dve decenije veliki broj mikroorganizama se podvrgava genetskoj manipulaciji u cilju dobijanja željenih osobina [26].

Na izbor sirovine utiču: raspoloživi agrarni kapaciteti, vreme skladištenja sirovine, priprema sirovine [27],

uslovi hidrolize, fermentacije i destilacije, kao i međuprodukti. Tako je šećerna trska najveći sirovinski materijal za proizvodnju etanola u Brazilu, Indiji i Južnoj Africi, dok je kukuruz u SAD; a šećerna repa u Francuskoj. U SAD 2003. godine [23] prinos bioetanolu dobijenog iz kukuruza bio je 330 l/t, dok je u Francuskoj 1998. godine iz šećerne repe dobijeno 100 l/t [28]. Uslovi proizvodnje etanola iz nekih sirovina dati su u tabeli 4 [29].

Što se tiče naše zemlje, priča o korišćenju etanola kao pogonskog goriva za automobile još uvek je samo u domenu teorije. Ali, proizvodnja nekih od potencijalnih izvora sirovine u SCG, kao što su: kukuruz, ječam, raž, pšenica, industrijsko bilje i krompir za 2004. godinu, iznosila je 13.138, 814, 30, 5.516, 2.355 i 1.950 hiljada tona, respektivno [7]. Ova činjenica, kao i velike količine sporednih proizvoda koje se javljaju pri preradi ovih sirovina, stavljaju našu zemlju u potencijalno velike proizvođače bioetanolu.

SPOREDNI PROIZVODI

Kao što je ukazano Gay-Lissac-ovom jednačinom, CO₂ i etanol nastaju iz glukoze u skoro ekvimolarnim

Tabela 3. Poređenje najprimenljivijih procesa za proizvodnju bioetanola
Table 3. Comparison of the most applied processes for ethanol production

	Prednosti Advantages	Nedostaci Disadvantages
Proces ošecerenja i fermentacije Separate hydrolysis and fermentation process (SHF)	<p>Mogućnost izvođenja svake faze pod optimalnim uslovima The possibility of carrying out each step under optimal reaction conditions</p> <p>Velike brzine hidrolize High hydrolysis rates</p> <p>Jeftin i lako dostupan katalizator u procesu kiselinske hidrolize supstrata Cheap and easily available accelerant in the acid hydrolysis of the substrate</p>	<p>Oslobodeni šećeri inhibiraju enzime tokom reakcije hidrolize Released sugars inhibit the enzymes during the hydrolysis reaction</p> <p>Teškoće u stvaranju povoljne sredine za fazu hidrolize Difficulties with making a favorable medium in the hydrolysis reaction</p> <p>Veliki troškovi enzimskog ošecerenja zbog visoke cene enzima High costs of enzymatic saccharification because of the high price of enzymes</p> <p>Skuplji konstrukcioni materijal za opremu Expensive construction material for equipment</p>
Proces simultanog ošecerenja i fermentacije Simultaneous saccharification and fermentation process (SSF)	<p>Proces se odvija u jednom biorektoru Process within one bioreactor</p> <p>Zajednički uslovi ošecerenja i fermentacije Common saccharification and fermentation reaction conditions</p> <p>Mikroorganizmi odmah koriste dobijene šećere Immediate use of saccharified sugars by microbes</p> <p>Zajedničko prisustvo mikroorganizama i enzima smanjuje akumulaciju šećera Common presence of microbes and enzymes decrease accumulation of sugars</p> <p>Prisustvo etanola smanjuje mogućnost kontaminacije podloge u fermentaciji Ethanol presence reduces the possibility of medium contamination</p> <p>Rad u ne-sterilnim uslovima stvara mogućnost 'scaling-up' procesa Non-sterile conditions enable 'scaling-up' of the process</p> <p>Ograničeni troškovi investiranja Limited capital costs</p>	<p>Različiti temperaturni optimumi reakcija ošecerenja i fermentacije Different temperature optimum of saccharification and fermentation reaction</p> <p>Upotreba termotolerantnih mikroorganizama The use of thermotolerant microbes</p> <p>Neophodne genetske manipulacije nad mikroorganizmima, koje omogućavaju direktnu fermentaciju šećera u etanol Necessary genetic manipulations over the microbes, which enable the fermentation of sugars into ethanol</p> <p>Teškoće u recirkulaciji i ponovnoj upotrebi mikroorganizama Microbe recycling and re-using difficulties</p> <p>Prinosi etanola su mali zbog visoke koncentracije šećera, koji smanjuju rast mikroorganizama, zbog čega je dovedena u pitanje ekonomičnost procesa Low ethanol yields because of the high sugar concentration, which decreases the growth of the microbes, which brings the economics of the process into question.</p>

iznosima. Ova reakcija je u stvarnosti dosta složena i odigrava se preko niza sukcesivnih reakcija, a pored dva osnovna produkta nastaju i sporedni produkti (glicerol, sirćetna kiselina, mlečna kiselina, furfural, 5-hidroksimetilfurfural, levulinska kiselina, mravlja kiselina,...) zavisno od vrste mikroorganizama i načina dobijanja šećera. Sporedni proizvodi utiču na sposobnost proizvodnih mikroorganizama, a time i na prinos etanola.

Najčešći sporedni proizvodi kisele hidrolize su: furfural, 5-hidroksimetilfurfural, mravlja kiselina, levulinska kiselina i lignin. Vrsta i koncentracija ovih proizvoda određena je uslovima koji kontrolišu kiselu hidrolizu do glukoze [9]. Trenutno, ne postoji ni jedan mikroorganizam, koji može da iskoristi lignin, kao monomernu jedinicu za proizvodnju etanola [26]. Tokom kisele hidrolize lignoceluloznog materijala, neki delovi lignina se razgrađuju dajući aromatična jedinjenja, od kojih oni sa najma-

njom molekulskom masom, fenoli, najviše inhibiraju dalju fermentaciju šećera [30].

EKONOMIKA

I pored činjenice da bioetanol spada u obnovljive izvore energije, za razliku od većine fosilnih goriva, troškovi proizvodnje etanola su veći od troškova dobijanja benzina [9]. Faktori koji određuju cenu bioetanola su: agrarni potencijali, radna snaga, porezi, troškovi proizvodnje, transportni troškovi, a posebno troškovi dobijanja biomase kao sirovine [3].

Preliminarna ekonomska analiza naročito mora uzeti u obzir troškove dobijanja sirovine, jer tržišna cena sirovine najviše doprinosi sveukupnim troškovima. Analiza troškova dobijanja sirovine iz sirovog materijala se zasniva na udelu (the Fraction of Revenue from Feedstock, FRF). FRF cene sirovine u vrednosti proizvoda dobijenog iz te sirovine [31]:

Tabela 4. Poređenje postupaka za dobijanje bioetanola iz različitih biljnih sirovina [29]

Table 4. Comparison of process factors of other feedstocks to corn [29]

	Trajanje skladištenja sirovine Storage length of supply	Priprema sirovine Feedstock preparation	Ekstrakcija šećera Sugar extraction	Utečnjavanje Cooking hydrolysis	Fermentacija Fermentation	Destilacija Distillation	Dobijanje sporednih proizvoda Coproduct processing
Kukuruz Corn	Silos, 12 meseci Grain bins, 12 months	Mlevenje Grind	Nema None	Zagrevanje i hidroliza Heat and hydrolysis	Sa čvrstom fazom With solids	Dve kolone Two columns	Suvi trop ili tečna džibra DDGS or wet stillage
Pšenica Wheat	Silos, 12 meseci Grain bins, 12 months	Mlevenje Grind	Nema None	Zagrevanje i hidroliza Heat and hydrolysis	Sa čvrstom fazom With solids	Dve kolone Two columns	Suvi trop ili tečna džibra DDGS or wet stillage
Sirak za zrno Milo/sorghum	Silos, 12 meseci Grain bins, 12 months	Mlevenje Grind	Nema None	Zagrevanje i hidroliza Heat and hydrolysis	Sa čvrstom fazom With solids	Dve kolone Two columns	Suvi trop ili tečna džibra DDGS or wet stillage
Sirak šećerac Sweet sorghum	Gomile, 3 meseca Piles, 3 months	Drobljenje u rotacionim mlinovima Crush in roller mill	Odvajanje šećera od vlakna Separate sugar & fiber	Nema None	Tečnost Liquid only	Veće količine Larger size	Vlakna slabog kvaliteta Low value fiber
Šećerna trska Sugarcane	Gomile, 3 meseca Piles, 3 months	Drobljenje u rotacionim mlinovima Crush in roller mill	Odvajanje šećera od vlakna Separate sugar & fiber	Nema None	Tečnost Liquid only	Veće količine Larger size	Vlakna slabog kvaliteta Low value fiber
Šećerna repa Sugarbeets	Gomile, 4 meseca Piles, 4 months	Sečenje Slice	Obimna ekstrakcija Extensive extraction	Nema None	Tečnost Liquid only	Veće količine Larger size	Šećerna kaša suva ili vlažna Beet pulp dry or wet
Krompir Potato	Kontrolisana atmosfera, 12 meseci Controlled atmosphere, 12 months	Mlevenje Grind	Nema None	Zagrevanje i hidroliza Heat and hydrolysis	Tečnost Liquid only	Nešto veće količine Somewhat larger size	Krompirasta kaša suva ili mokra Potato pulp dry or wet
Skrob Starch	Rezervoari, 12 meseci Bins, 12 months	Nema None	Nema None	Zagrevanje i hidroliza Heat and hydrolysis	Tečnost Liquid only	Nešto veće količine Somewhat larger size	Samo kvasci Yeast only
Melasa Molasses	Cisterne, 12 meseci Tanks, 12 months	Nema No	Nema None	Nema None	Tečnost Liquid only	Nešto veće količine Somewhat larger size	Samo kvasci Yeast only

$$FRF = \frac{\text{cena sirovine}}{\text{vrednost proizvodnje}} = \left(\frac{C_f}{\sum x_i \beta_i y_i \alpha_i V_i} \right)$$

gde je: i – komponenta i -te sirovine (npr. za pšenicu: ugljenihidrati, gluten, mekinje); C_f – jedinična cena sirovine (npr. 0,145 US\$/kg pšenice); α_i – udeo maksimalnog teoretskog prinosa proizvoda dobijenog iz i -te komponente; y_i – teorijski prinos proizvoda dobijenog iz i -te komponente; V_i – vrednost proizvoda dobijenog iz i -te komponente (cena proizvoda/jedinici biomase); x_i – udeo i -te komponente u sirovini i β_i – konverzioni faktor hidrolize zrna (za glukozu iz skroba $\beta_i = 1,11$). FRF ima vrednosti u granicama od 0 do 1.

FRF ne daje nikakve precizne zaključke, ali ukazuje da li bioproces zaslužuje dalja istraživanja. Što je niži FRF, veća je potreba za opsežnijim ispitivanjima i ekonomskim razvojem u nameri da dokažu izvodljivost procesa sa odgovarajućom sirovinom.

Prema podacima časopisa "Chemical Market Reporter" vrednosti FRF za proizvodnju etanola u hemijskoj i petrohemijskoj industriji iznose 0,535 i 0,576, respektivno [31]. Što je FRF veće, to je proces manje interesantan za dalja istraživanja, u datom periodu. Važno je napomenuti da se ovi rezultati menjaju u budućnosti zbog usavršavanja procesa, variranja u ceni zrna i upotrebe genetskog inženjeringa.

Povezanost procesnih i transportnih troškova je takva da ako se proizvodni troškovi smanje tehničkim usavršavanjem ili upotrebom kombinacije različitih biljnih plodova u procesu [32], transportni troškovi se posledično smanjuju na optimalnu vrednost. Ovo ukazuje na činjenicu da su manji proizvodni kapaciteti ekonomski atraktivniji.

Neke vrlo važne činjenice moraju da se znaju u cilju potpunije i preciznije procene troškova i prednosti dobijanja bioetanola. Najvažnije od njih date su u tabeli 5 [5].

Tabela 5. Troškovi i koristi u proizvodnji bioetanola [5]
Table 5 Costs and benefits of fuel-ethanol production [5]

Direktni troškovi Direct costs	Direktne koristi Direct benefits
Zrno ili šećerna trska kao sirovine Grain or sugar-cane feedstock	Prodaja etanola Sale of ethanol
Upotreba električne energije i vode Electricity and water use	Povećanje nacionalne poljoprivredne industrije Major national agricultural industry
Transport, proizvodnja, fermentacija i destilacija Transport, processing, fermentation and distillation	Proizvodnja električne energije Cogeneration of electricity
Distribucija i nabavljanje Distribution and supply	Prodaja sporednih proizvoda Sale of coproducts
Poreske subvencije ili olakšice Tax subsidy or exemption	Tehnološki razvoj Technological development
Indirektni troškovi Indirect costs	Indirektne koristi Indirect benefits
Degradacija zemljišta Land degradation	Smanjenje emisije gasova "staklene bašte" Reduced emission of "green house" gases
Povećanje zagađenja acetaldehidom Increased acetaldehyde pollution	Smanjenje CO i NO _x zagađivanjem Reduced pollution by CO and NO _x
Isplata u stranoj valuti i interes stranaca Foreign currency payments and interest	Zaposlenost po selima i socijalna stabilnost Rural employment and social stability
Vojna zaštita rezervi prirodnog gasa Military protection of gasoline supplies	Obnovljivi izvori Renewable resources
	Smanjenje upotrebe fosilnih goriva Reduction in fossil-fuel use
	Smanjenje u zavisnosti na uvoznim uljima Reduced dependency on imported oil

ZAKLJUČAK

Energija se može dobiti iz obnovljive biomase direktnim sagorevanjem ili konvertovanjem biomase u bioetanol pa onda sagorevanjem. Predviđa se da će do sredine veka u svetu udeo biomase u potrošnji energije iznositi između 30 i 40% [33]. Prema dokumentima EU, predviđa se da će proizvodnja energije iz biomase u odnosu na ostale obnovljive izvore energije 2010. godine iznositi 73% [33]. Budući da SCG želi članstvo u Europskoj Uniji, a ima ogromne poljoprivredne potencijale za gajenje kultura od kojih se kasnijom preradom dobija etanol, opredeljenje za forsiranje korišćenja biogoriva je vrlo značajna odluka.

Glavna je prednost bioetanola u odnosu na fosilna goriva manja emisija štetnih gasova i otpadnih voda. Dodatne prednosti iskorišćavanja sporednih proizvoda i ostataka biljnog porekla su iz poljoprivrede, šumarstva i drvne industrije, kao i smanjenje uvoza energenta. Saharoza, skrob i lignoceluloza su perspektivni izvori šećera za dobijanje bioetanola. Zbog činjenice da je lignoceluloza relativno jeftin supstrat, trenutna istraživanja su koncentrisana na njenu iskoristljivost kao sirovinu za dobijanje bioetanola.

Za skoro celokupnu industrijsku proizvodnju bioetanola odgovorne su vrste roda *Saccharomyces*.

Ozbiljno ograničenje njihovoj upotrebi je što fermentišu samo uzak spektar ugljenih hidrata. Da se to prevaziđe, u poslednje dve decenije radi se na genetskom poboljšanju karakteristika industrijski prihvatljivih proizvodnih mikroorganizama.

ZAHVALNICA

Rad je urađen u okviru projekta TR 7042B koji finansira Ministarstvo nauke i zaštite životne sredine.

REFERENCE

- [1] J. Sheehan, M. Himmel, Enzymes, energy, and the environment: A strategic perspective on the U.S. Department of energy's research and development activities for bioethanol, *Biotechnol. Prog.* **15** (1999) 817–827.
- [2] J. Baras, J. Jakovljević, Stanje i mogućnost razvoja proizvodnje i primene etanola u Jugoslaviji, *Tehnološki fakultet, Novi Sad*, 1996, str. 7, 12, 34.
- [3] S. Kim, B.E. Dale, Global potential bioethanol production from wasted crops and crop residues, *Biomass and Bioenergy* **26** (2004) 361–375.
- [4] E. Gnansounou, A. Dauriat, C.E. Wyman, Refining sweet sorghum to ethanol and sugar: economic trade-offs in the context of North China, *Biores. Technol.* **96** (2005) 985–1002.
- [5] A.E. Wheals, L.C. Basso, D.M.G. Alves, H.V. Amorim, Fuel ethanol after 25 years, *Tibtech* **17** (1999) 482–487.

- [6] <http://ergonomija.zpm.fer.hr/2004/habjanac/Bioenergija.html>.
- [7] Republički zavod za statistiku Srbije, Odeljenje statistike, industrije i energetike (dostupno na adresi: www.stat-srb.sr.gov.yu).
- [8] http://www.automarket.co.yu/mozaik/etanol_nastavak.asp.
- [9] S. Larsson, E. Palmqvist, B. Hahn-Hägerdal, C. Tengborg, K. Stenberg, G. Zacchi, N.O. Nilvebrant, The generation of fermentation inhibitors during dilute acid hydrolysis of softwood, *Enzyme Microb. Technol.* **24** (1999) 151–159.
- [10] J. Woodward, Utilization of cellulose as a fermentation substrate: Problems and Potential in carbon substrates in biotechnology, IRL Press, Washington, pp. 45–65 (1987).
- [11] S. Alfenore, C. Molina-Jouve, S.E. Guillouet, J.L. Uribelarra, G. Goma, L. Benbadis, Improving ethanol production and viability of *Saccharomyces cerevisiae* by a vitamin feeding strategy during fed-batch process, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **60** (2002) 67–72.
- [12] P. Malacrin, E. Tosi, G. Caramia, R. Prisco, G. Zapparoli, The vinification of partially dried grapes: a comparative fermentation study of *Saccharomyces cerevisiae* strains under high sugar stress, *Lett. in Appl. Microbiol.* **40** (2005) 466–472.
- [13] M. Ballesteros, J.M. Oliva, M.J. Negro, P. Manzanares, I. Ballesteros, Ethanol from lignocellulosic materials by a simultaneous saccharification and fermentation process (SFS) with *Kluyveromyces marxianus* CECT 10875, *Proc. Biochem.* **39** (2004) 1843–1848.
- [14] S. Sánchez, V. Bravo, E. Castro, A.J. Moya, F. Camacho, Comparative study of the fermentation of D-glucose/D-xylose mixtures with *Pachysolen tannophilus* and *Candida shehatae*, *Bioproc. Eng.* **21** (1999) 525–532.
- [15] B.V. Konstantinović, Dobijanje etanola iz krtola krompira pomoću *Saccharomyces cerevisiae*, magistrski rad, Univerzitet u Nišu, Leskovac, 2000, str.20.
- [16] Y. Nakamura, F. Kobayashi, M. Ohnaga and T. Sawada, Alcohol fermentation of starch by a genetic recombinant yeast having glucoamylase activity, *Biotechnol. Bioengi.* **53** (1997) pp. 21–25.
- [17] P. Labeille, J. L. Baret, Y. Beaux, F. Duchiron, Comparative study of wheat flour saccharification and ethanol production with two glucoamylase preparations, *Ind. Crops Products* **6** (1997) 291–295.
- [18] M. Kuyper, M.M.P. Hartog, M.J. Toirkens, M.J.H. Almering, A.A. Winkler, J.P. van Dijken, J.T. Pronk, Metabolic engineering of a xylose-isomerase-expressing *Saccharomyces cerevisiae* strains for rapid anaerobic xylose fermentation, *FEMS Yeast Res.* **5** (2005) 399–409.
- [19] M. Kuyper, A.A. Winkler, J.P. van Dijken, J.T. Pronk, Minimal metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for efficient anaerobic xylose fermentation: a proof of principle, *FEMS Yeast Res.* **4** (2004) 655–664.
- [20] H. Atiyeh, Z. Duvnjak, Production of fructose and ethanol from sugar beet molasses using *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 36858, *Biotechnol. Prog.* **18** (2002) 234–239.
- [21] B. Konstantinović, V. Veljković, M. Lazić, Uticaj mineralnih materija i veličine inokuluma na kinetiku alkoholne fermentacije hidrolizata krompira, III Simpozijum "Savremene tehnologije i privredni razvoj", Zbornik izvoda radova sa programom rada, rad BIH-15, str. 35, 23–24. oktobar 1998, Leskovac.
- [22] V.B. Veljković, M.L. Lazić, D.J. Rutić, M.Z. Stanković, The effects of some inorganic salts on the ethanol fermentation of Juniper berry sugars, *Acta Biotechnol.* **9** (1989) 379–380.
- [23] K.L. Kadam, J.D. McMillan, Availability of corn stover as a sustainable feedstock for bioethanol production, *Biores. Technol.* **88** (2003) 17–25.
- [24] S. Rašković, M. Stanković, V.B. Veljković, D. Savić, M. Lazić, Alkoholna fermentacija hidrolizata skroba krompira dobijenih enzimskom hidrolizom, Jugoslovenski kongres prehrambenog, farmaceutskog i hemijskog inženjerstva sa međunarodnim učešćem, Zbornik izvoda radova, rad P 72, str. 139, 16–17. septembar 1999, Novi Sad.
- [25] M.L. Lazić, S. Rašković, M.Z. Stanković, V.B. Veljković, Enzimsko hidroliza krompira i dobijanje etanola, *Hem. ind.* **58** (2004) 322–326.
- [26] J. Zaldivar, J. Nielsen, L. Olsson, Fuel ethanol production from lignocellulose: a challenge for metabolic engineering and process integration, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **56** (2001) 17–34.
- [27] S. Rašković, M.Z. Stanković, M.L. Lazić, V.B. Veljković, D.S. Savić, Uticaj načina pripreme sirovine na enzimsku hidrolizu skroba iz krompira, VI Savjetovanje hemičara i tehnologa Republike Srpske, Zbornik izvoda radova str. 148., 19–20. novembar 1998, Banja Luka.
- [28] Etienne portrait – ademe: Agency for Environment and Energy Management Department of Agriculture and Bioenergy, The potential of liquid biofuels in France, *Renew. Energy* **16** (1999) 1084–1089.
- [29] http://www.agen.ufl.edu/čchyn/age4660/lect/lect_10x/feefact.htm (2.1.2005.).
- [30] S. Ando, I. Arai, K. Kiyoto, S. Hanai, Identification of aromatic monomers in steam-exploded poplar and their influences on ethanol fermentation by *S. cerevisiae*, *J. Ferment. Technol.* **64** (1986) 567–570.
- [31] A.A. Koutinas, R. Wang, C. Webb, Evaluation of wheat as generic feedstock for chemical production, *Ind. Crops Products* **20** (2004) 75–88.
- [32] M.H. Nguyen, R.G.H. Prince, A simple rule for bioenergy conversion plant size optimisation: bioethanol from sugar cane and sweet sorghum, *Biomass and Bioenergy* **10** (1996) Nos 5/6 pp. 361–365.
- [33] <http://www.geocities.com/RainForest/3283/index.htm> (25.3.2001.).
- [34] B.P. Adrados, P. Chotýborská, M. Galbe, G. Zacchi, Ethanol production from non-starch carbohydrates of wheat bran, *Biores. Technol.* **96** (2005) 843–850.
- [35] P. Chotýborská, B.P. Adrados, M. Galbe, G. Zacchi, K. Melzoch, M. Rychtera, Processing of wheat bran to sugar solution, *J. Food Eng.* **61** (2004) 561–565.
- [36] C. Maes, J.A. Delcour, Alkaline hydrogen peroxide extraction of wheat bran non-starch polysaccharides, *J. Cereal Sci.* **34** (2001) 29–35.
- [37] C. Tengborg, M. Galbe, G. Zacchi, Influence of enzyme loading and physical parameters on the enzymatic hydrolysis of steam-pretreated softwood, *Biotechnol. Prog.* **17** (2001) 110–117.
- [38] D.J. Schell, C.J. Riley, N. Dowe, J. Farmer, K.N. Ibsen, M.F. Ruth, S.T. Toon, R.E. Lumpkin, A bioethanol process development unit: initial operating experiences and results with a corn fiber feedstock, *Biores. Technol.* **91** (2004) 179–188.
- [39] S. Ueda, C.T. Zenin, D.A. Monteiro, Y.K. Park, Production of ethanol from raw cassava starch by a nonconventional fermentation method, *Biotechnol. and Bioengi.* **23** (1981) pp. 291–299.
- [40] N.K. Aggarwal, P. Nigam, D. Singh, B.S. Yadav, Process optimization for the production of sugar for the bioethanol industry from Tapioca, a nonconventional source of starch, *World J. Microbiol. Biotechnol.* **17** (2001) 783–787.
- [41] S.G. Allen, D. Schulman, J. Lichwa and M.J. Antal, Jr., A comparison of aqueous and dilute acid single temperature pretreatment of yellow poplar sawdust, *Ind. Eng. Chem. Res.* **40** (2001) 2352–2361.
- [42] B.V. Konstantinović, M.L. Lazić, V.B. Veljković, Kiselinska hidroliza skroba iz krtola krompira, III Jugoslovenski sim-

- pozijum prehrambene tehnologije, Zbornik radova Sveska V, str. 102–107, Beograd 1998.
- [43] B. Konstantinović, V. Veljković, M. Lazić, Uticaj mineralnih materija i veličine inokuluma na kinetiku alkoholne fermentacije hidrolizata krompira, III Simpozijum "Savremene tehnologije i privredni razvoj", Zbornik izvoda radova sa programom rada, rad BIH-15, str. 35, 23–24. oktobar 1998., Leskovac.
- [44] M.S. Krishnan, F. Taylor, B.H. Davison, N.P. Nghiem, Economic analysis of fuel ethanol production from corn starch using fluidized – bed bioreactors, *Biores. Technol.* **75** (2000) 99–105.
- [45] H. Shigechi, Y. Fujita, J. Koh, M. Ueda, H. Fukuda, A. Kondo, Energy – saving direct ethanol production from low – temperature – cooked corn starch using a cell – surface engineered yeast strain co – displaying glucoamylase and α – amylase, *Biochem. Eng. J.* **18** (2004) 149–153

SUMMARY

BIOETHANOL – STATE AND PERSPECTIVES

(Review paper)

Marija B. Tasić¹, Ivana B. Banković–Ilić¹, Miodrag L. Lazić¹, Vlada B. Veljković¹, Ljiljana V. Mojović²

¹Faculty of Technology, University of Niš, 16000 Leskovac, Bulevar oslobođenja 124

²Faculty of Technology and Metallurgy, University of Belgrade, Karnegijeva 4, 11000 Beograd, State Union of Serbia and Montenegro

Processes of bioethanol production currently applied all over the world are reviewed in this paper. Attention is focussed on potentially cheap biomass sources, as well as the most important operating factors controlling the progress and result of saccharification and fermentation reactions and affecting the yield of fermentable sugars and ethanol, respectively, such as: the type and concentration of acid, the type of enzyme, the type of working microorganism, operating temperature, duration time and pH. The hydrolysis conditions, namely duration time, temperature and sulfuric acid concentration, were combined in a single parametar, known as the "combined severity" (CS), in order to estimate the efficiency of bioethanol production from biomass. When the CS increases, the yield of fermentable sugars also increases. The decrease in the yield of monosaccharides coincides with the maximum concentrations of by-products, such as furfural and 5-hydroxymethylfurfural, which are well-known as yeast inhibitors. The highest ethanol yields has been obtained using the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. With low oil prices and political reluctance to implement carbon taxes, fuel-ethanol production will remain uncompetitive unless some other form of cost reduction can be made, such as feedstock preparation costs.

Key words: Bioethanol • Saccharification • Alcoholic fermentation • Ethanol-producing microorganisms •

Ključne reči: Bioetanol • Ošeećenje • Fermentacija • Etanol-proizvodni mikroorganizmi •