

Metode predobrade lignocelulozne biomase za povećanje prinosa bioplina

Klaić, Lana

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:089718>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-14**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Biotehnologija**

**Lana Klaić
0058215446**

**METODE PREDOBRADE LIGNOCELULOZNE
BIOMASE ZA POVEĆANJE PRINOSA BIOPLINA**

ZAVRŠNI RAD

Predmet: Biotehnologija 2

Mentor: prof. dr. sc. Sunčica Beluhan

Zagreb, 2022

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski sveučilišni studij Biotehnologija

Zavod za biokemijsko inženjerstvo
Laboratorij za biokemijsko inženjerstvo, industrijsku mikrobiologiju i tehnologiju piva i slada

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Biotehnologija

Metode predobrade lignocelulozne biomase za povećanje prinosa bioplina

Lana Klaić, 0058215446

Sažetak: Brzi rast stanovništva, povećanje potražnje za energijom i globalno zatopljenje doveli su do poboljšanih istraživanja kojima je cilj povećati dostupnost alternativnih izvora energije uz manji trošak. Lignocelulozni izvori, dostupni u izobilju u okolišu, mogli bi se uspješno pretvoriti u bioplin i imaju veliki potencijal kao zamjena za fosilna goriva. Lignocelulozna biomasa je otporna na biorazgradnju zbog svoje heterogene strukture, što je jedno od značajnih ograničenja njezine upotrebe kao sirovine za proizvodnju bioplina. Iako se koriste različite metode predtretmana, poznato je da određeni međuprodukti, primjerice furfurali koji nastaju tijekom tretmana kiselinama, mogu imati negativan učinak na mikroorganizme uključene u nastajanje bioplina. U ovom su radu, osim isticanja učinkovitosti i ograničenja različitih metoda prethodne obrade s inženjerskog, kemijskog i biokemijskog gledišta, raspravljene strategije povećanja prinosa bioplina optimiranjem predtretmana kako bi se smanjili inhibicijski učinci na mikroorganizme.

Ključne riječi: lignocelulozna biomasa, metode predobrade, ograničenja predtretmana, bioplin

Rad sadrži: 30 stranica, 4 slike, 3 tablice, 50 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: prof. dr. sc. Sunčica Beluhan

Datum obrane: 19. rujna 2022.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Undergraduate thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate study Biotechnology

Department of Biochemical Engineering
Laboratory for Biochemical Engineering, Industrial Microbiology and Malting and Brewing
Technology

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Biotechnology

**Insight into Pretreatment Methods of Lignocellulosic Biomass to Increase Biogas Yield: Current
State, Challenges, and Opportunities**

Lana Klaić, 0058215446

Abstract: Rapid population growth, increase in energy demand and global warming led to the improvement of further research to enhance the availability of alternative sources of energy at a faster rate and lower cost. Organic sources are available in abundance in the environment and can be successfully converted to biofuel which holds great potential as a substitute to fossil fuels. Lignocellulosic biomass is recalcitrant due to its heterogeneous structure, which is a significant limitation of its use as a feedstock for biogas production. Intermediaries formed during different pretreatment methods commonly show an unfavourable effect on microorganisms involved in biogas formation. This work will highlight the efficiency and limitations of the different pretreatment methods from an engineering, chemical, and biochemical point of view, as well as discuss the strategies to increase biogas yield by way of amending pretreatments to lower inhibitory effects on microorganisms and by optimizing process conditions.

Keywords: lignocellulosic biomass, pretreatment methods, limitations, biogas

Thesis contains: 30 pages, 4 figures, 3 tables, 50 references

Original in: Croatian

Thesis is deposited in printed and electronic form in the Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: Sunčica Beluhan, PhD, Full Professor

Thesis defended: 19 September, 2022

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO.....	2
2.1. KLASIFIKACIJA LIGNOCELULOZNIH MATERIJALA	2
2.2 KEMIJSKA STRUKTURA LIGNOCELULOZNE BIOMASE.....	2
2.3. BIOPLIN KAO OBNOVLJIV IZVOR ENERGIJE	5
2.4. METODE PREDOBRADE LIGNOCELULOZNE BIOMASE U PROCESU PROIZVODNJE BIOPLINA.....	6
2.4.1. MEHANIČKA PREDOBRADE	7
2.4.2. KEMIJSKA PREDOBRADE	9
2.4.3. FIZIKALNO–KEMIJSKA PREDOBRADE	13
2.4.4. BIOLOŠKA PREDOBRADE	15
2.4.5. KOMBINIRANE METODE PREDOBRADE	17
2.5. OGRANIČENJA	19
2.6. TEHNO-EKONOMSKI I EKOLOŠKI ASPEKTI	21
3. ZAKLJUČAK	23
4. POPIS LITERATURE	24

1. UVOD

Ubrzan porast ljudske populacije, gubitak prirodnih resursa i bioraznolikosti, onečišćenje okoliša i klimatske promjene rezultiraju potrebom da se pronađe način smanjenja emisije stakleničkih plinova. Osim toga, smanjenje rezervi fosilnih goriva zbog ubrzane industrijalizacije i motorizacije, događa se većom brzinom od povećanja zaliha (Perin i Jones, 2019).

Fosilna goriva su primarni izvor energije u svijetu, ona čine 88 % ukupne potrošnje primarne energije. Sagorijevanje fosilnih goriva rezultira emisijom stakleničkih plinova, posebice CO₂. Stoga bi zamjena fosilnih goriva obnovljivim izvorom energije usporila povećanje globalne temperature te riješila naveden problem efekta staklenika (Alalwan i sur., 2019). Obnovljiva energija se definira kao energija u ukupnim zalihama primarne energije, a odnosi se na primarnu energiju iz hidroelektričnih, geotermalnih i solarnih izvora, energiju vjetra, valova, energiju plime i oseke te energiju dobivenu iz čvrstih biogoriva, biodizela, ostalih tekućih biogoriva, bioplina kao i obnovljiv dio komunalnog otpada. Biogoriva su goriva dobivena direktno ili indirektno iz biomase. Biomasa je četvrti najveći izvor energije, nakon ugljena, ulja i prirodnog plina, a također je najvažniji i najveći obnovljivi izvor energije koji se koristi da bi se proizvele različite vrste energije. Prednost biomase je što je neutralna (nema emisije ugljika) budući da sav CO₂ proizveden njezinim sagorijevanjem mogu apsorbirati biljke u procesu fotosinteze (Azevedo i sur., 2019).

Lignocelulozna biomasa je najekonomičniji i izniman, prirodno obnovljiv izvor te je stoga najbolji izbor sirovine za proizvodnju bioenergije na zemlji.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Klasifikacija lignoceluloznih materijala

Lignocelulozna biomasa je biološki materijal dobiven iz živućih ili donedavno živućih organizama (Alalwan i sur., 2019). U Meksiku je provedena procjena količine različitih vrsti lignoceluloznih ostataka skupljenih tijekom vremenskog perioda od godinu dana (Tablica 1).

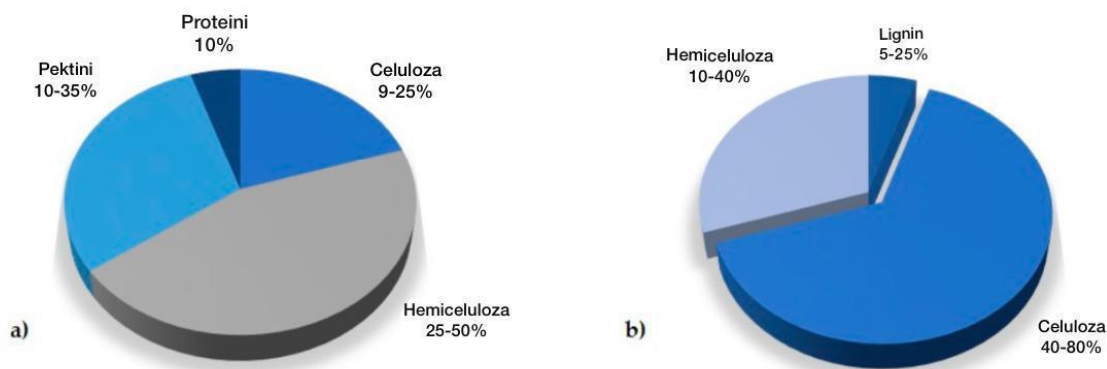
Tablica 1. Količine lignoceluloznih ostataka koji se dobiju u vremenskom periodu od godinu dana u Meksiku (Alalwan i sur., 2019)

Lignocelulozni ostatak	Količina ostataka dobivenih po godini dana u Meksiku
Panjevi, piljevina, grane biljaka i drveća	75,534,119.08 tona
Slama (riža, pšenica, soja, zob i kukuruz)	8,2 milijuna m ³
Ostaci šećerne repe i šećerne trske	16,935,954.03 tona
Gradski čvrsti ostaci	102,895 tona
Komunalni kanalizacijski mulj	7200 milijuna m ³
Ostaci oraha, pistacija, kikirikija, pinjola	74,249.575 tona
Stajnjak krava, svinja, peradi, purica i ovaca	142,139,944.5 tona

Količina ostataka dobivena je iz podataka o biljnoj proizvodnji, te pomnožena koeficijentom gubitka svakog lignoceluloznog ostatka.

2.2 Kemijska struktura lignocelulozne biomase

Tijekom rasta biljne biomase nastaju primarna i sekundarna stijenka; primarna stijenka ima svrhu da štiti, prenosi signale te ostvaruje komunikaciju sa susjednim stanicama. Primarna stijenka često sadrži veći udio pektina, a manji udio celuloze, dok sekundarna stijenka ima lignocelulozni sastav (Azevedo i sur., 2019) (Slika 1).



Slika 1. Građa staničnih stijenki biljaka. a) primarna stijenka i b) sekundarna stijenka (prema Azevedo i sur., 2019)

Lignocelulozna biomasa građena je od tri glavna polimera: celuloza, hemiceluloza i lignin (Tablica 2, Slika 2).

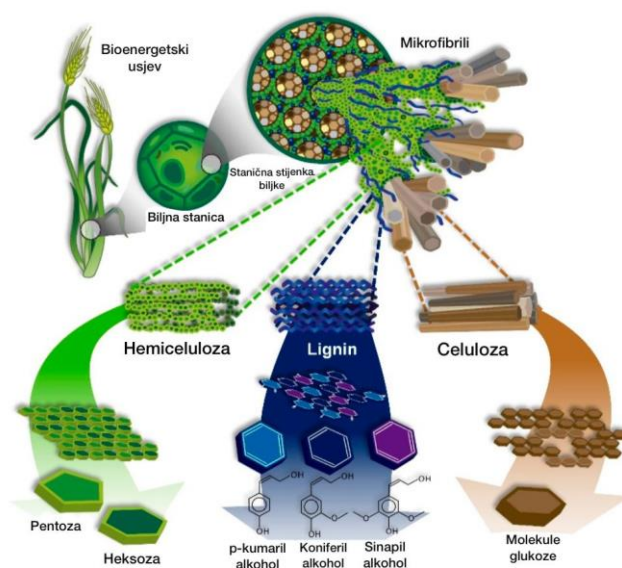
Tablica 2. Točan udio celuloze, hemiceluloze i lignina u različitim lignoceluloznim sirovinama izraženo kao postotak suhe tvari (Perin i Jones, 2019)

Lignocelulozni supstrat	Udio (% suhe tvari)		
	celuloza	hemiceluloza	lignin
Stabljika bambusa	43,04	22,13	27,14
Breza	40,1± 0,6	17,5±0,2	24,2±0,1
Klip kukuruza	42,0±0,1	45,9±0,9	2,8±0,2
Stabljika kukuruza	36,4±0,1	30,3±0,1	6,9±1,4
Kukuruzovina	42,21	22,28	19,54
Kukuruzna slama	49,3±1,8	28,8±1,4	7,5±0,4
Pamučna stabljika	41,6±0,5	23,6±0,4	23,3±0,7
Eukaliptus	52,07±2,6	24,51±1,1	25,2±1,1
Prazni grozdovi voća	34,9	26,64	31,1
Divovska trska	41,5±2,6	20,5±0,6	18,4±1,4
Trava	47,12±3,2	36,01±3,17	11,55±0,3
Kukuruzna slama	38,33±0,8	29,76±1,35	3,82±0,5
Livadarka	41,28±5,3	28,14±3,2	30,14±7,9
<i>Miscanthus</i>	36,3±2,1	22,16±1,9	22,55±2,5

Tablica 2. Točan udio celuloze, hemiceluloze i lignina u različitim lignoceluloznim sirovinama izraženo kao postotak suhe tvari (Perin i Jones, 2019) - nastavak

Zobena slama	35,0	28,2	4,1
Prazni grozdovi uljane palme	38,5±1,9	26,1±1,1	11,6±1,6
Borovo drvo	38,2±0,3	24,1±0,7	34,4±0,3
Topola	46,0±0,1	16,7±0,1	26,6±0,3
Ljuske riže	36,0	12,0	26,0
Rižina slama	37,8±0,2	29,6±0,7	14,8±0,4
Slama raži	36,5±0,1	NR	21,3±0,1
Otpad od piljevine	31,5±1,3	26,1±2,1	24,9±1,7
Sirkova slama	26,93±1,2	32,57±1,9	10,16±1,8
Smreka	24,7±0,2	10,2±0,1	35,0±0,3
Šećerna trska	46,1±0,7	20,1±0,9	20,3±0,6
Stabljika suncokreta	34±0,6	20,8±0,8	29,7±0,6
Vodeni zumbul	36,84±0,8	27,7±0,2	10,7±0,4
Pšenična slama	43,4	26,9	22,2
Piljevina vrbe	35,6±0,9	21,5±0,9	28,7±0,2

NR: not reported



Slika 2. Struktura lignocelulozne biomase i njezinih biopolimera; celuloze, hemiceluloze i lignina (prema Hernández-Beltrán i sur., 2019)

Celuloza je glavni strukturni sastojak biljne stanice. Homopolimer je građen od jedinica glukoze povezanih β -1,4-glikozidnim vezama koje joj daju tvrdoću i stabilnost te su karakteristični za strukturu stanične stijenke. Glavna podjedinica celuloze jest β -D-glukopiranoza, koja čini kristalinične i amorfne regije u stanici. Orijentacija i smjer pružanja lanaca celuloze određuju njihovu funkciju. U primarnoj strukturi stijenke nalazi se prvi tip α heliksa, zbog čega je molekulska masa primarne stijenke manja od one sekundarne stijenke koja omogućuje skladištenje šećera i tekućina. Celulozni lanci sekundarne stijenke su kruti i ravni kako bi stanici osigurali molekularnu strukturu (Marriott i sur., 2016).

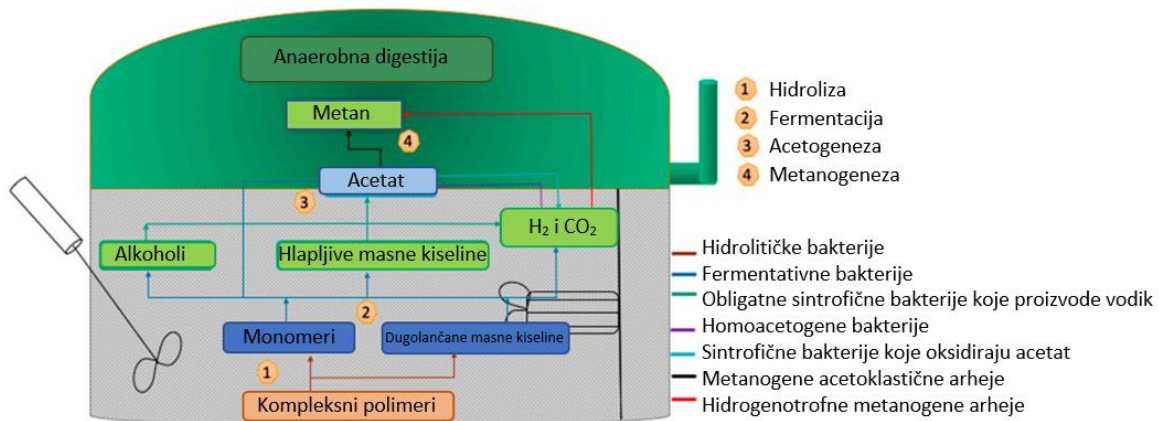
Lignin se dobiva oksidacijom *p*-hidroksicinamil alkohola, *p*-kumaril alkohola, koniferil alkohola i sinapil alkohola. Nastajanje lignina odvija se preko tri biosintetska puta: šikimatnog, fenilpropanoidnog te monolignolskog. Podjedinice iz kojih se formira lignin su gvajacil (G), siringil (S) i *p*-hidroksifenil (H). Trodimenzionalni i amorfni heteropolimeri koji grade lignin imaju ulogu kada lignin podliježe strukturnom i metaboličkom oštećenju te služi kao zaštita od patogena.

Hemiceluloza može biti prisutna i u primarnoj staničnoj stijenci, za razliku od celuloze koja se nalazi većinom u sekundarnoj staničnoj stijenci. Ovaj spoj je drugi po redu najčešće pronađen polisaharid u prirodi. Podjedinice hemiceluloze su D-ksiloza, manoza, L-arabinoza, galaktoza i glukuronska kiselina, te su u glavnim lancima povezane β -1,4-glikozidnim vezama, a sadrže i β -1,2-, β -1,3-, β -1,6-glikozidne veze. Ksilan je najvažniji polisaharid prisutan u hemicelulozi u biljaka. Heterogenost kemijske kompozicije lignocelulozne biomase predstavlja izazov pri razgradnji danih spojeva. Ustanovljeno je da biorazgradivost lignocelulozne biomase raste uz prethodnu mehaničku, kemijsku, fizikalno-kemijsku ili biološku obradu.

2.3. Bioplin kao obnovljiv izvor energije

Korištenje biomase kao obnovljivog izvora energije smatra se održivim u smislu zadovoljavanja potrebe za energijom, ali i u pogledu smanjivanja emisije stakleničkih plinova. Nadalje, smanjuje nagomilavanje otpada u okolišu. Proizvodnja bioplina iz lignoceluloznih supstrata transformacijom hlapivih organskih krutih tvari (VS, engl. volatile solids) anaerobnom digestijom (AD, engl. anaerobic digestion) je također i alternativan izvor energije. Bioplin dobiven iz otpada mogao bi potpuno zamijeniti prirodan plin u mnogim regijama. AD

je bioproces koji uključuje četiri faze: hidroliza, acidogeneza, acetogeneza i metanogeneza. Pri tome važnu ulogu ima konzorcij mikroorganizama koji sadrži različite bakterije i arheje (Slika 3). Kompozicija bioplina ovisi o vrsti tj. podrijetlu same sirovine. Najvećim dijelom bioplin sadržava CH₄ (40-45 %) i CO₂ (25-60 %), uz nekolicinu onečišćenja kao što su H₂S, NH₃, i drugi. Navedeni CO₂ moguće je izdvojiti i koristiti u dobivanju kemikalija (Barbera i sur., 2019).

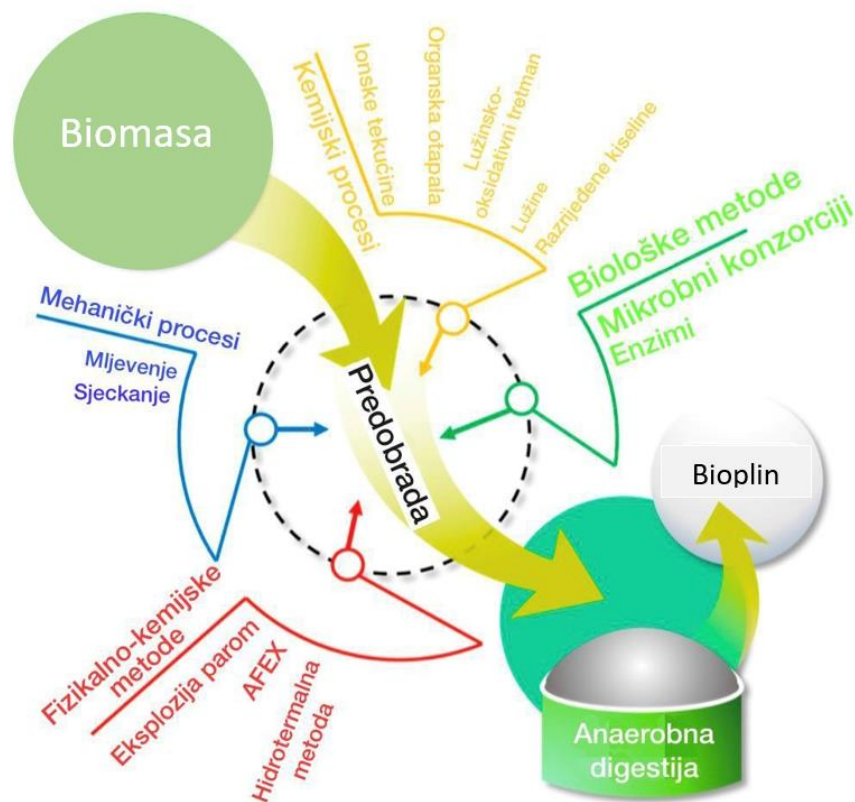


Slika 3. Koraci postupka proizvodnje bioplina i mikroorganizmi koji sudjeluju u procesu (prema Hernández-Beltrán i sur., 2019)

2.4. Metode predobrade lignocelulozne biomase u procesu proizvodnje bioplina

Predobrada ili frakcioniranje važan je korak prilagođavanja strukture lignocelulozne biomase, a njena svrha je da se holoceluloza (grade ju celuloza i hemiceluloza) učini raspoloživom za biokonverziju. Glavni cilj predobrade je oslabljivanje stanične stijenke što dovodi do smanjenja kristaliničnosti celuloze. Bez obzira na vrstu biomase, predobrada ima veliku ekonomsku i tehnološku važnost u biokonverziji lignocelulozne biomase kako bi ona postala iskoristivom za dobivanje bioplina. Predtretman mora biti ekonomičan budući da u nekim slučajevima operativni i kapitalni troškovi dosežu preko 40 % ukupnih troškova obrade (Rajendran i sur., 2018).

Metode predobrade biomase mogu se podijeliti na: (1) mehaničke postupke kojima je cilj smanjenje veličine čestica; (2) kemijske postupke koji se provode uz razrijeđene kiseline, lužine ili organska otapala; (3) fizikalno-kemijske postupke kao što su eksplozija parom i vruća voda; (4) biološke postupke uz pomoć mikrobnih zajednica ili enzimskim putem (Slika 4).



Slika 4. Metode predobrade s ciljem povećanja biorasploživosti lignocelulozne biomase (prema Rajendran i sur., 2018)

2.4.1. Mehanička predobrada

Mehaničkim metodama predobrade postiže se smanjenje veličine čestica lignocelulozne sirovine primjerice mljevenjem ili sjeckanjem. Navedene metode često se primjenjuju u procesu proizvodnje bioplina pa su stoga i dobro istražene, no mehanički su tretmani skupi budući da je potrebna relativno velika količina energije za njihovo provođenje. Smanjenje veličine čestica lignocelulozne biomase dovodi do povećanja kontaktne površine i poroznosti čestica, do smanjenja kristaliničnosti celuloze te porasta učinkovitosti u sljedećim koracima obrade kao i u cijelom proizvodnom procesu. Mehaničke metode predobrade ne dovode do nastanka sekundarnih inhibitornih supstanci, dakle prikladne su u procesu proizvodnje metana te u ostalim bioprocima. Međutim, prekomjerno smanjenje veličine čestica supstrata može dovesti do pada učinkovitosti proizvodnje metana. Da bi se postigla zadovoljavajuća učinkovitost procesa potrebno je uzeti u obzir potrošnju energije, optimalnu veličinu čestica i mehaničku brzinu kojom se ona postiže, te vrijeme mehaničke obrade. Prema literaturi, ne

postoji standardna veličina čestice optimalna za proces biometanacije, ona ovisi o tipu sirovine i karakteristikama procesa proizvodnje biometana. Zabilježene su neznatne razlike u prinosu bioplina dobivenog pomoću čestica pšenične slame čiji je raspon veličine od 0,7 do 0,22 mm, a treba spomenuti da prinos metana nije porastao niti ukoliko je veličina čestice 0,048 mm (Dumas i sur., 2015). Istražen je i utjecaj različitih veličina čestica (0.088, 0.40, 1.0, 6.0 mm) raznovrsnih poljoprivrednih ostataka (pšenična slama, rižina slama, lišće biljke *Mirabilis*, lišće cvjetače, lišće biljke *Ipomoea fistulosa*, kora banane) na prinos bioplina te kao krajnji rezultat dobiveno je da se najveći prinos bioplina postigne uz veličinu čestice 0,088 mm. S druge strane, primijećen je najveći prinos metana iz suncokretove pogače kada je veličina čestica 1,4 – 2,0 mm, što je 17 % više nego u rasponu veličina 0,355 – 0,55 mm. Osim toga, zabilježen je i slučaj da nema porasta prinosa metana ukoliko se veličina čestica pšenične, odnosno rižine slame poveća s 0,30 na 0,75 mm. Očekivano, obje navedene veličine čestica daju veći prinos u odnosu na netretiranu česticu čija je veličina 1,5 mm (Chandra i sur., 2015).

Tsapekos i sur. (2015) istražili su šest mehaničkih metoda predobrade koje reduciraju veličinu čestice na 0 do >20 mm. Metode koje generiraju čestice veličine veće od 20 mm za 33 % do 41 % ukupne biomase ne pokazuju veći prinos u odnosu na netretiranu biomasu. Prinos metana uvećan je 25 % ukoliko su čestice veće od 20 mm činile 22 % ukupne biomase. U sličnom istraživanju, pronađena je bliska povezanost između dužine čestice i prinosa metana ako se uspoređuju čestice istog poljoprivrednog materijala različitih duljina. Proučavane su dvije veličine čestica, <2 mm i >20-100 mm, različitih sirovina (meko drvo, tvrdo drvo, pamuk) te rezultati sugeriraju da je povećanje prinosa metana povezano sa smanjenjem veličine čestice (Krause i sur., 2018).

Vrijeme redukcije čestica važno je sa stajališta potrošnje energije i ima utjecaj na učinkovitost biokonverzije lignocelulozne biomase. Ispitano je kako 30, odnosno 60 minuta mehaničke predobrade utječe na prinos metana. 30 minuta predobrade nije dovelo do povećanja prinosa metana, dok je 60 minuta rezultiralo porastom prinosa za 21 %. Da bi se potrošnja energije tijekom mehaničke obrade svela na minimum, potrebno je uzeti u obzir brzinu mljevenja. Sve brzine mljevenja u rasponu od 200 do 1200 okr/min daju isti prinos metana iz livadske trave, a prinos je 27 % veći u odnosu na netretiranu biomasu (Tsapekos i sur., 2018).

Različiti optimumi veličine čestica biomase, vremena i brzine mljevenja vode do zaključka da izbor najbolje strategije mehaničke predobrade ovisi o vrsti lignoceluloznog materijala i nije preporučljivo koristiti univerzalnu strategiju predobrade svih sirovina.

2.4.2. Kemijska predobrada

Kemijska predobrada lignocelulozne biomase kiselinama, lužinama i organskim otapalima smatra se obećavajućom zbog uspješnosti razgradnje supstrata složene strukture, povećanja dostupnosti ugljikohidrata uklanjanjem lignina i/ili smanjenjem stupnja polimerizacije i kristaliničnosti celuloze. Kemijske metode predobrade sirovina su relativno jeftine te učinkovito hidroliziraju kompleksne organske molekule (Pellera i Gidarakos, 2018).

Kiseline

Glavni cilj tretmana razrijeđenim kiselinama je postizanje lakšeg pristupa ugljikohidratnim frakcijama celuloze tako što se hidrolizira hemiceluloza. Najčešće se koriste kiseline u niskim koncentracijama (0,2 % do 2,5 % v/v) i temperature između 130 °C i 210 °C. S druge strane, može se koristiti niska temperatura (sobna temperatura) ukoliko se koristi koncentrirana kiselina (iznad 30 % v/v). Visoke koncentracije kiselina mogu dovesti do korozije i posljedično do visokih troškova održavanja, a osim toga mogu rezultirati nastankom velikih količina inhibicijskih supstanci te porasta cijene pročišćavanja. Mnoga istraživanja potvrđuju da je tretman razrijeđenom kiselinom najbolji izbor za predobradu lignoceluloze. Ispitan je prinos metana iz *Salvinia molesta* koja se tretira 2 %, 4 %, i 6 % sumpornom kiselinom (H₂SO₄). Prinos metana raste 100 % u odnosu na netretiranu sirovinu, a nema razlike između prinosa sirovina koje su tretirane kiselinama različitih koncentracija (Syaichurrozi i sur., 2019). Slično tome, kukuruzna slama predtretirana 2 % sumpornom kiselinom daje iznimno visoku koncentraciju metana, 175 mL/g VS (engl. volatile solids, hlapive tvari sadržane u čvrstoj fazi podloge) (Song i sur., 2014). Predtretmani 2 % klorovodičnom kiselinom i 4 % octenom kiselinom, međutim, rezultiraju manjim prinosima metana u odnosu na sumpornu kiselinu, točnije 163 te 145 mL/g VS. Za neke sirovine, reakcija je efikasnija ukoliko se provodi pri višoj temperaturi u kraćem vremenskom trajanju, dok se u nekim istraživanjima najbolji rezultati postižu tretmanom razrijeđenom kiselinom pri sobnoj temperaturi (30 °C) u trajanju dva dana (Syaichurrozi i sur., 2019).

Lužine

Predobrada lužinom je visoko učinkoviti postupak, posebice u procesu delignifikacije. Tijekom tretmana dolazi do bubrenja i povećanja unutrašnje površine celuloze te istovremenog smanjenja stupnja polimerizacije i kristaliničnosti celuloze. Da bi se najbolje iskoristilo pozitivno djelovanje lužine, treba optimizirati dobavu, temperaturu reakcije i količinu lužine.

Visoke koncentracije lužnatog reagensa razgrađuju polisaharide. Da bi se postigli željeni rezultati, najpovoljnija je niska koncentracija lužine pri relativno niskoj temperaturi (30 °C) i atmosferskom tlaku. Toksični spojevi kao što su furfural i hidroksimetilfurfural ne nastaju pri procesu te time raste učinkovitost biometanacije (Cabrera i sur., 2014).

Iako nije moguće odrediti najbolji izbor lužnatog reagensa, obzirom na prednosti koje pojedini reagens pruža i njegovu cijenu, natrijev hidroksid daje zadovoljavajuće rezultate u većini slučajeva. Kataliza se odvija u umjerenim uvjetima temperature i tlaka, pucanje veza između lignina i hemiceluloze u kompleksu lignin – ugljikohidrati je učinkovito; točnije radi se o hidrolizi eterske i esterske veze lignocelulozne strukture te esterske i ugljik – ugljik veze u molekulama lignina. U procesu alkalne predobrade divovske trske u rasponu koncentracija NaOH od 0,5 % do 2 % w/v, najbolji učinak ima NaOH 2 % w/v, budući da prinos metana poraste s 217 mL/g VS za netretiranu biomasu na 355 mL/g za biomasu tretiranu natrijevim hidroksidom navedene koncentracije (Jiang i sur., 2016). Alkalna predobrada hibrida biljke *Pennisetum* također daje najveći prinos metana (201 mL/g VS) uz 2 % NaOH, a testirane su koncentracije 2 %, 4 %, 6 %, 8 % w/v (Xihui i sur., 2018).

Međutim, natrij može imati štetan utjecaj na okoliš, a osobit je problem salinizacija zemlje. Usprkos cijeni koja je tri puta viša od cijene NaOH, kalijev hidroksid predstavlja moguću alternativu. Uspoređen je prinos metana nakon predtretmana pšenične slame natrijevom, odnosno kalijevom lužinom (0,5 do 8 %) te su dobivene maksimalne vrijednosti 374 mL/g VS s 2 % NaOH, to jest 370 mL/g VS s 0,5 % KOH, dok prinos metana ukoliko pšenična slama nije predobrađena iznosi 303 mL/g VS (Moset i sur., 2018). Podaci upućuju da troškovi korištenja KOH ipak ne bi bili značajno veći budući da je vrlo djelotvoran u nižoj koncentraciji. Osim toga, KOH se može vrlo lako regenerirati te u prirodi služi kao izvor kalija, nutrijenta važnog u rastu biljaka. Još jedna alternativa korištenju NaOH je kalcijev oksid, usprkos tome što je NaOH učinkovitiji sukladno sljedećim podacima: predtretman *Miscanthus x giganteus*, *M. sacchariflorus*, *M. sinensis* natrijevim hidroksidom povećava prinos metana 24 do 55 %, a predtretman kalcijevim oksidom 19 do 30 %. Kalcijev hidroksid također ima čestu primjenu, a ispitan je učinak predobrade uz Ca(OH)₂ u pet različitih koncentracija: 6 %, 8 %, 10 %, 12 % i 15 %. Optimalne koncentracije Ca(OH)₂ kojim se predobrađuje rižina slama prije proizvodnje bioplina su 8 % i 10 %, čime se dobiva prinos od 564,7 mL/g VS i 574,5 mL/g VS, što je 34,3 % i 36,7 % više nego ukoliko biomasa nije podvrgnuta predtretmanu (Gu i sur., 2015).

Predtretman organskim otapalima

Predtretman organskim otapalima je jedina tehnologija koja omogućuje izoliranje svakog pojedinog sastojka lignocelulozne biomase. Dobiveni relativno čisti lignin može se prodavati kao sporedni proizvod ili konvertirati u vrijedniji produkt. Tretman se provodi organskim otapalima kao što su metanol, etanol, aceton, octena kiselina, peroctena kiselina, sa i bez dodatka katalitičkog reagensa. Katalizatori mogu biti anorganske (klorovodična, sumporna, fosforna) i organske kiseline (oksalna, acetilsalicilna, salicilna kiselina). Iako dodatak katalizatora povećava učinkovitost predobrade, nedostatak je nepovoljan utjecaj na okoliš jer kiseline sudjeluju u kiselinski kataliziranoj razgradnji monosaharida u furfural i 5-hidroksimetilfurfural nakon čega slijedi kondenzacija lignina i reaktivnih aldehida. Kiselinski katalizatori se dodaju kako bi ubrzali reakciju izdvajanja lignina te smanjili temperaturu predtretmana. Međutim, negativan efekt primjene kemijskih katalizatora jest korozija opreme i potreba za obradom otpadnih voda nakon procesa izolacije, što rezultira povećanjem potrošnje vode. Mravlja kiselina je obećavajući katalizator; ima manji utjecaj na koroziju od jakih anorganskih kiselina te se na taj način izbjegava nastanak inhibicijskih supstanci koje nastaju upotrebom octene kiseline (Agnihotri i sur., 2015).

Predtretman organskim otapalima dovodi do hidrolize unutar molekulskih veza u ligninu te veza između lignina i hemiceluloze. Organska otapala osim toga uzrokuju hidrolizu glikozidnih veza u hemicelulozi te u manjoj mjeri u celulozi. Optimalni uvjeti za predtretman su: temperatura od 180 do 195 °C, vrijeme obrade 30 – 90 min, te omjer tekućine i krutine 4:1 do 10:1. Kao što je spomenuto ranije, organske kiseline mogu biti zamjena za anorganske kako bi se izbjegla korozija i potrošnja energije tijekom regeneracije kiseline. Provedena je usporedba predtretmana rižine slame organskim kiselinama (octena, limunska, oksalna kiselina) i klorovodičnom kiselinom kao predstavnikom anorganskih kiselina. Predobrada oksalnom kiselinom rezultirala je prinosom reducirajućih šećera 2,68 puta većim u odnosu na neobrađenu sirovinu, a 1,25 puta većim nego u slučaju predobrade HCl-om. Prinosi metana dobiveni tijekom predtretmana organskim kiselinama bili su 2,47 – 2,53 puta veći od onog dobivenog tijekom tretmana anorganskom kiselinom (Amnuaycheewa i sur., 2016).

U ovom predtretmanu rizično je vođenje procesa pri visokom tlaku i brzo isparavanje organskih otapala zbog njihove niske točke vrenja. Važno je postojanje sustava regeneracije otapala kako bi se smanjili troškovi i izbjegao inhibicijski učinak zaostalog otapala na mikroorganizme. U jednom je postupku uspješno regenerirano 98 % organskog otapala N-metilmorfolin-N-oksida (NMMO ili NMO) koji je prethodno korišten u predobradi mekog drveta smreke, rižine slame

i slame tritikale pri 130 °C, tijekom 1-15 sati. Proizvodnja metana time je povećana između 400 % i 1200 % (Teghammar i sur., 2012).

Od otapala najveću pažnju privlače alkoholi s niskim vrelištima, posebice etanol. To je zahvaljujući visokoj učinkovitosti prema lignoceluloznoj biomasi i jednostavnosti regeneracije destilacijom. Ostale prednosti su niska cijena i niska toksičnost prema ljudima u usporedbi s metanolom i sličnim otapalima (Agnihotri i sur., 2015).

Ionske tekućine

Ionske tekućine su ekološki prihvatljive i predstavljaju novu skupinu nehlapivih otapala visoke polarnosti i niskog tališta. Predtretman zasnovan na ionskim tekućinama djelotvoran je za široki raspon vrsta biomase, bez obzira na veličinu postrojenja, te učinkovito narušava kristaliničnu strukturu celuloze. Ionske tekućine imaju posebna svojstva u usporedbi s tradicionalnim otapalima, kao što je nizak tlak para što onemogućuje emisiju u atmosferu te je na taj način eliminiran gubitak otapala evaporacijom. Osim toga, karakterizira ih relativno visoka toplinska stabilnost, niska zapaljivost i mogućnost reciklacije zahvaljujući kojoj se smanjuje količina otpada (Konda i sur., 2014).

Priprava ionskih otapala u pravilu je jednostavna, a hidrofobnost/hidrofilnost dobivenog spoja ovisi o prirodi aniona i kationa. Često se koriste metilimidazolijevi i metilpiridinijski kationi s alil-, etil-, butil- skupinama, a najčešće korišteni anioni su halogenidi, formijati, acetati, amidi, imidi, tiocijanati, fosfati, sulfiti, sulfonati. Proučavana je promjena kristalinične strukture lignocelulozних sirovina (stabljika pamuka i konoplje te dijelovi biljke bagrema) nakon tretmana 1-etil-3-metilimidazolijevim acetatom (EmimOAC) ili 1-etil-3-metilimidazolijevim kloridom (EmimCl). Rezultati su pokazali da tip aniona u ionskoj tekućini ima značajan utjecaj na efikasnost uklanjanja lignina i hemiceluloze. Acetatni anion pokazuje bolju ekstrakciju celuloze iz lignocelulozних supstrata (Kim i sur., 2016).

Mnogo parametara utječe na proces predobrade biomase ionskim tekućinama: primjerice fizikalno-kemijska svojstva ionske tekućine, vrijeme reakcije i temperatura, omjer biomase i ionske tekućine, vrsta sirovine te udio vode u uzorku. Viskoznost raste tijekom predobrade što negativno utječe na industrijsku upotrebu ionske tekućine (Zhang i sur., 2017).

Nedostatak upotrebe ionskih tekućina je njihova visoka cijena, stoga ih je poželjno reciklirati. Da bi tretman ionskim tekućinama bio ekonomski isplativ, trebalo bi ponovo iskoristiti >97 % iskorištene ionske tekućine, a preporuča se rekuperacija >90 % otpadne topline. Provedena je procjena efikasnosti recikliranih tekućina 1-alil-3-metilimidazolijeva klorida (amimCl) i 1-

butil-3-metilimidazolijska acetata (bmimOAc) na eukaliptusu. Nakon četiri ciklusa reciklacije efikasnost hidrolize iznosi 54,3 % za (amimCl) i 72,8 % za (bmimOAc). Nakon više od četiri ponovnih korištenja opada učinak ionskih tekućina, to jest smanjuje se konverzija šećera i uklanjanje lignina (Xu i sur., 2017). Obrada vodenog zumbula 1-N-butil-3-metilimidazolijevim kloridom (BmimCl) /dimetil sulfoksidom (DMSO) pri 120 °C 120 min rezultira porastom prinosa metana za 97,6 % u usporedbi s netretiranim vodenim zumbulom. Pri tome su ionske tekućine i pomoćna otapala uspješno regenerirani (Gao i sur., 2013).

Alkalni vodikov peroksid

Alkalni reagens može se kombinirati s vodikovim peroksidom. H₂O₂ unaprjeđuje enzimsku razgradivost širokog raspona vrsta lignocelulozne biomase što dovodi do povećanja prinosa enzimске hidrolize. H₂O₂ se koristi kao agens za izbjeljivanje lignoceluloznog materijala. Tijekom predobrade oslobađaju se slobodni radikali, a prednost je što u biomasi neće zaostati višak vodikova peroksida budući da se on raspada na kisik i vodu te nema nastanka sekundarnih produkata. Tako dolazi do oksidativne fragmentacije i uklanjanja lignina iz lignoceluloznog matriksa. Vodikov peroksid u alkalnoj sredini unaprjeđuje delignifikaciju i enzimsku razgradivost više nego tretman samim lužnatim reagensom. Međutim, nedostatak metode je potreba za održavanjem konstantnog pH tijekom procesa kako bi se postigla zadovoljavajuća učinkovitost procesa (Zhang i sur., 2017).

Tretman H₂O₂ u alkalnim uvjetima pospješuje depolimerizaciju lignina, a odvija se pri blagim umjerenim temperaturama i tlaku, što smanjuje učestalost pojave inhibitora. Optimalni uvjeti predobrade su: koncentracija vodikova peroksida od 0,3 %, pri 100 °C, tijekom 4,6 sati (Ayeni i sur., 2019). Niska koncentracija H₂O₂ pri sobnoj temperaturi značajno poboljšava anaerobnu obradivost ostataka iz mlina za masline, uz porast prinosa do 0,328 L/g. Predobrada *Miscanthus floridulus* 0,8 % vodikovim peroksidom rezultira porastom prinosa metana za 49 % za u odnosu na netretirani supstrat. Međutim, reciklacija H₂O₂ u pet sukcesivnih ciklusa rezultira kontinuiranim opadanjem efikasnosti procesa predobrade (Katakuri i sur., 2017).

2.4.3. Fizikalno–kemijska predobrada

Fizikalno-kemijski tretmani koriste se za povećanje topljivosti lignoceluloznih sastojaka kako bi se olakšala hidroliza biomase i spriječio nastanak inhibitora, a ovisi o temperaturi i udjelu vode u sirovini. Metode su relativno komplicirane, no vrlo učinkovite i omogućavaju visok prinos u postupcima nakon predobrade. U pravilu fizikalni postupci obrade zahtijevaju veliku

potrošnju energije, što ih čini skupima i neekonomičnima. Stoga je važno optimirati proces i reducirati troškove (Ullah i sur., 2018).

Eksplוזija vodenom parom

Eksplוזija vodenom parom je postupak u kojem se sirovina nekoliko minuta izlaže pari pri visokom tlaku, nakon čega slijedi dekompresija pri čemu dolazi do pucanja vlaknaste strukture slamnate ili drvenaste biomase. Da bi se potakla autohidroliza, biomasa se tretira zasićenom parom pri temperaturi 160 – 260 °C i tlaku 0,69 – 4,83 MPa nekoliko sekundi do nekoliko minuta. Razlika eksplozije vodenom parom i predtretmana parom je u brzom smanjenju tlaka i hlađenju biomase koji u postupku eksplozije vodenom parom dovode do hidrolize hemiceluloze do vodotopljivih oligomera ili šećera (Ullah i sur., 2018). Predobrada *Miscanthus lutarioriparius* eksplozijom parom i 0,3 M NaOH pri čemu je veličina čestica 0,5 mm, povećava prinos metana za 57 % u odnosu na supstrat koji nije prethodno obrađen. Li i sur. (2016) su istražili utjecaj različitih uvjeta predobrade *Miscanthus lutarioriparius* eksplozijom parom na poboljšanje anaerobne biorazgradivosti. Ispitani uvjeti tlaka, temperature i vremena obrade bili su: 0,5 MPa, 153 °C, 5 min; 1,0 MPa, 180 °C, 5 min; 1,5 MPa, 198 °C, 3 min; 1,5 MPa, 198 °C, 5 min; 1,5 MPa, 198 °C, 10 min, a rezultirali su porastom biokemijskog potencijala metana za 5,9 %, 19,9 %, 51,3 %, 49,7 %, 49,8 %.

Hidrotermalna predobrada

U zadnje vrijeme hidrotermalna predobrada dobiva na važnosti budući da učinkovito penetrira u biomasu, hidratira celulozu i uklanja hemicelulozu, te djelomično uklanja lignin. Posebice važna prednost je izbjegavanje korištenja kemikalija i reaktora otpornih na koroziju. U većini slučajeva tretman omogućava uklanjanje većeg dijela hemiceluloze i dijela lignina prisutnog u biomasi tako što ih razgrađuje do topljivih frakcija. Temperatura najviše utječe na učinkovitost hidrotermalnog tretmana, a u pravilu se provodi pri 90 – 260 °C. Hidrotermalna predobrada slame šafranike praćena je pri 120, 150, 180 °C tijekom 1, 2 i 5 sati, a najveći prinos biometana zabilježen je pri najblažim uvjetima (120 °C, 1 sat) te on iznosi 98,3 % više nego biomasa bez predobrade (Hashemi i sur., 2019). Luo i sur. (2019) su ispitali utjecaj različitih temperatura u rasponu 90 do 130 °C na hidrotermalnu obradu rižine slame. Pri 100 °C i 130 °C prinos metana je bio 127,6 i 124,6 mL/g VS, to jest 22,90 % i 19,83 % više nego za neobrađenu biomasu. Pokusi učinkovitosti 5 do 15 minutne hidrotermalne predobrade ostataka mahuna kakaa u temperaturnom rasponu 155 – 220 °C rezultirali su prinosom metana od 526,38 mL/g VS i

postignut je pri 150 °C, tijekom 15 minuta, dok su manje blagi uvjeti rezultirali nižim prinosom bioplina (Hashemi i sur., 2019).

Eksplozija vlakana amonijakom (AFEX)

AFEX (engl. ammonia fiber explosion) je fizikalno–kemijska metoda predobrade u kojoj se primjenjuju voda i amonijak pri različitim temperaturama i vremenu izlaganja biomase. Tretman se sastoji od obrade tekućim amonijakom i eksplozije parom. Prednost je što proces ne zahtijeva malu veličinu čestica biomase kako bi se postigla visoka učinkovitost i nema nastanka inhibitora. Kako bi se smanjili troškovi i proces učinio što ekološki prihvatljivijim, amonijak se reciklira nakon predobrade. Moguće je postići 99,3 % učinkovito izdvajanje amonijaka iz biomase pšenične slame koja je prethodno obrađena 0,70 % amonijakom pri 105 °C. Prinos metana iznosio je 538,1 mL/g VS nakon predobrade, što je 31,9 % više nego za neobrađenu pšeničnu slamu (Wang i sur., 2019). Hashemi i sur. (2019) su detaljno istražili učinkovitost predobrade tršćane biomase 10 % v/v tekućim amonijakom pri različitim temperaturama u rasponu od 50 do 70 °C, tijekom reakcije od 12 do 24 sata i dodatkom etanola u koncentracijama 5, 25 i 50 % v/v. Najviši prinos metana postignut je pri 70 °C, 12 h postupka, uz dodatak 10 % amonijaka i 50 % etanola, te on iznosio 299,3 mL/g VS, a 105,6 mL/g VS za neobrađenu biomasu.

2.4.4. Biološka predobrada

Predobrada lignocelulozne biomase biološkim tretmanima je alternativan izbor kojim se mogu zamijeniti kemijski predtretmani. Međutim, zbog male brzine reakcije nije česta komercijalna upotreba. Više vrsta mikroorganizama, primjerice bijele, smeđe i meke gljive truležnice koriste se u predobradi lignoceluloznih materijala. Smeđe gljive truležnice sudjeluju u razgradnji lignina, no najpoznatije i najučinkovitije u procesu delignifikacije su bijele gljive truležnice. Većina gljiva koje razgrađuju lignocelulozu izlučuju enzime koji uz degradaciju lignina kataliziraju i degradaciju celuloze i hemiceluloze. Neki od takvih enzima su celobioza dehidrogenaza, aril alkohol oksidaza, glioksilat oksidaza, bakar oksidaza te hidrolitički enzimi. Navedeni enzimi zaslužni su za prisutnost slobodnih radikala i međuprodukata koji sudjeluju u razgradnji lignina i polisaharida (Wyman i sur., 2018). Biološki tretmani lakazama, mangan peroksidazama i različitim peroksidazama tijekom 0, 6 ili 24 sata inkubacije ne rezultiraju visokim prinosima fenolnih spojeva koji inhibiraju proizvodnju metana. Enzim lakaza dovodi

do porasta prinosa biometana za 25 % nakon 24 sata inkubacije, a peroksidaze povećavaju proizvodnju biometana za 17 % i smanjuju vrijeme inkubacije s 24 sata na 6 sati. Istražena je uspješnost biološke predobrade grančica bagrema i lijeske, slame ječma i bagase uz pomoć gljive *Ceriporiopsis subvermispota*. Gljiva proizvodi enzime mangan peroksidazu i lakazu koji povećavaju prinos metana 100 % u odnosu na neobrađeni bagrem. Usprkos tome što su postupci predobrade lignoceluloze gljivama ekološki i ekonomski prihvatljivi, preporuča se dizajniranje posebnog bioreaktora koji bi omogućio aerobne i aseptične uvjete za tretmane gljivama. Vrijeme predobrade i gubitci ugljikohidrata mogu se reducirati odgovarajućim izborom soja gljive i optimizacijom uvjeta obrade. Proizvodnja bioplina iz lignocelulozne biomase može se ubrzati predobradom uz pomoć anaerobne gljive *Neocallimastix frontalis* izolirane iz tekućine iz buraga krava i divokoza (Dollhofer i sur., 2018).

Nusprodukti biološke predobrade u pravilu ne inhibiraju hidrolizu koja slijedi, budući da se predobrada provodi u umjerenim uvjetima, zahtijeva malu količinu energije i kemikalija, te nastaje mala količina inhibitora i otpada. S druge strane, vrijeme predobrade je duže u odnosu na ostale metode. Iz tog razloga brojna istraživanja koriste različite mikrobne populacije za hidrolizu specifičnih supstrata. Nekoliko sojeva proizvođača lignin peroksidaza i lakaza korišteno je za predobradu pšenične slame te je zabilježeno smanjenje količine lignina za 48,2 % nakon 7 dana inkubacije kao i povećanje prinosa metana za 407,1 % u odnosu na netretiranu pšeničnu slamu (Shah i Ullah, 2019).

Mikrobna predobrada daje bolje rezultate anaerobne razgradnje nego enzimska predobrada zbog veće funkcionalnosti i tolerancije na uvjete u okolišu (temperatura i pH). Neka istraživanja predlažu korištenje mikrobnih konzorcija koji razgrađuju lignocelulozu u anaerobnim uvjetima. Tekućina iz buraga dovodi do povećanja prinosa iz stabljika i lišća uljane repice za 47 % nakon 24 sata predobrade. Stabljika pamuka predtretirana je termofilnim mikrobnim konzorcijem MC1. Rezultati su pokazali da potražnja za otopljenim kisikom i količina hlapivih organskih proizvoda raste u ranim fazama predobrade, te je maksimalan prinos metana od 128 mL/g VS postignut nakon 6 dana predobrade. Međutim, u odnosu na 122 mL/g VS, prinos metana nije se značajno povećao (Yuan i sur., 2016).

Enzimska predobrada vrši se oksidacijskim i hidrolitičkim enzimima koje proizvode bakterije i plijesni, među njih spadaju enzimi egzo- i endo-glukanaze, celobiazaze, ksilanaze, pektinaze, ligninolitički enzimi kao što su lakaze, manganaze, peroksidaze te α -amilaze i proteaze. Enzimska predobrada ima brojne prednosti u odnosu na obradu bakterijama i plijesnima. Primjerice, tretman enzimima zahtijeva manje hranjiva i reakcije se odvijaju u kraćem

vremenu, a ne zahtijeva skupu opremu. Međutim, enzimaska aktivnost ovisi o brojnim čimbenicima među koje spadaju struktura lignoceluloznog supstrata, temperatura, pH, vrijeme inkubacije i izvedba bioreaktora. Također, zbog visoke cijene enzima dovodi se u pitanje ekonomska isplativost ove metode za povećanje prinosa bioplina u industrijskom mjerilu. Efikasnost enzimske predobrade dokumentirana je istraživanjem u kojem je zabilježen porast prinosa metana za 111% iz kukuruznih otpadaka nakon 18 sati obrade celulazama (Brémond i sur., 2018).

2.4.5. Kombinirane metode predobrade

Odgovarajuća kombinacija metoda predobrade određenog supstrata omogućila bi bolju biorazgradivost lignoceluloznog materijala pri relativno niskoj cijeni i rezultirala maksimalnim iskorištenjem lignoceluloznih sastojaka. Brojna istraživanja pokazala su da je kombinacija dviju različitih metoda predobrade, primjerice biološke i kemijske ili fizikalne metode, učinkovitija nego što bi to biološki odnosno kemijski tretman bili zasebno. Tretmani fungima u proizvodnji metana ekonomski je prihvatljiva, ali nemaju čestu primjenu zbog dugotrajnosti procesa, dok bi u kombinaciji s metodama poput mehaničkih i kemijskih bilo moguće postići bolju produktivnost procesa. Obrada rižine slame mljevenjem i biološki tretman uz pomoć *Pleurotus ostreatus* uklanja 30,4 % lignina i daje prinos metana od 258 mL/g VS, dakle prinos je povećan 165 % u odnosu na neobrađenu rižinu slamu (Mustafa i sur., 2017). Obrada zobene slame srednje jakom kiselinom (2 % HCl), kombinirana s enzimskom obradom, rezultira otapanjem 96,8 % hemiceluloze, 77,2 % celuloze i 42,2 % lignina. Osim toga, na taj način dolazi do nastanka više vrsta šećera koji se mogu dalje iskoristiti kao supstrati u procesu biometanacije.

U pravilu se supstrat prvo tretira mehaničkom metodom te zatim kemijskom, fizikalno – kemijskom ili biološkom metodom, kako bi se postigla veća učinkovitost. Međutim, moguće je kombinirati i dvije metode koje spadaju u istu skupinu obrada; primjerice kemijska obrada razrijeđenom kiselinom s ciljem hidrolize hemiceluloze nakon koje slijedi tretman razrijeđenim lužnatim reagensom koji uklanja lignin, a moguć je i tretman alkalnim peroksidom u kojem se koristi vodikov peroksid kao oksidacijsko sredstvo i alkalni reagens. Tretman lignoceluloze razrijeđenom kiselinom i razrijeđenim lužnatim sredstvom uklanja potrebu za neutralizacijom biomase, a posljedično se smanjuje inhibitorni učinak produkata degradacije (Chen i sur., 2018). Najčešće se kombiniraju fizikalno – kemijske i termokemijske metode predobrade.

U nekim slučajevima učinkovita može biti i kombinacija tri različite metode predobrade: mehaničke, termičke i kemijske predobrade pšenične slame (Moset i sur., 2018). Prednost predobrade koja uključuje tri različita postupka je što je moguće izbjeći grube mehaničke postupke usitnjavanja čestica, kemikalije se mogu koristiti u manjim koncentracijama te se za postizanje veće učinkovitosti proces može provoditi pri nižim temperaturama. Optimizacijom uvjeta predobrade poboljšava se ekonomičnost i energetska potrošnja procesa. Navedene metode predobrade imaju različit mehanizam djelovanja prema lignoceluloznoj biomasi i postotak povećanja prinosa metana (Tablica 3). Vidljivo je da mehaničke metode predobrade povećavaju prinos metana do 83 %, a mogu se koristiti kao jedan od tretmana nakon kojeg se provodi obrada drugom metodom (Moset i sur., 2018).

Tablica 3. Kratak pregled učinaka različitih metoda predobrade na prinos metana iz lignocelulozne biomase (Hernández-Beltrán i sur., 2019)

Metoda predobrade	Mehanizam djelovanja	Povećanje prinosa metana (%) (supstrat)	Referenca	
Mehanička	Mljevenje, usitnjavanje	Povećanje kontaktne površine za rad enzima	Do 83 (pšenična slama)	Tsapekos i sur., 2017.
Kemijska	Kiseline	Hidroliza hemiceluloze	Do 74 (kukuruzna slama)	Song i sur., 2014.
	Lužine	Uklanjanje lignina, smanjenje stupnja polimerizacije i kristalčnosti celuloze	Do 105 (kukuruzna slama)	Song i sur., 2014.
	Organska otapala	Omogućavanje izolacije lignoceluloznih komponenti	Do 400 (meko drvo smreke, rižina slama, slama tritikale)	Teghammar i sur., 2012.
	Ionske tekućine	Dekristalinizacija celuloze	Do 97 (vodeni zumbul)	Gao i sur., 2013.
	Alkalni vodikov peroksid	Uklanjanje lignina i poboljšanje enzimske razgradivosti	Do 115 (kukuruzna slama)	Song i sur., 2014.
Fizikalno-kemijska	Eksplozija parom	Hidroliza hemiceluloze i slamanje lignocelulozne strukture	Do 88 (biomasa trske)	Wyman i sur., 2018.
	Hidrotermički tretman	Uklanjanje lignina i hemiceluloze	Do 204 (rižina slama)	Luo i sur., 2019.
	AFEX	Uklanjanje lignina, dekrystalizacija celuloze, hidroliza hemiceluloze	Do 183 (otpaci u preradi šećerne trske)	Hashemi i sur., 2019.
Biološka	Gljivice, mikrobi, enzimi	Delignifikacija i razgradnja lignina	Do 400 (pšenična slama)	Shah i Ullah, 2019.

2.5. Ograničenja

Efikasnost metode predobrade ovisi o dostupnoj sirovini te njenoj kompoziciji. Kompleksan je zadatak odrediti optimalnu metodu ili metode za obradu određene vrste lignocelulozne

biomase. Neovisno o odabranoj metodi, u većini slučajeva prvo se provodi smanjenje veličine čestica biomase. Iako je mehanička obrada izravno povezana s povećanjem prinosa metana, ona ne rezultira uklanjanjem lignina, barijere koja ograničava pristup ugljikohidratima za biometanaciju. Veličina čestica lignocelulozne biomase mora se reducirati na 1-2 mm kako bi se hidroliza mogla nesmetano odvijati; no smanjenje veličine čestica skupa je operacija koja čini oko 33 % ukupne potrošnje struje u cijelom procesu (Neumann i sur., 2016). Uzimajući u obzir velike zahtjeve za energijom za mehaničke procese i njenu cijenu, oni nisu ekonomski isplativi. Stoga je važno smanjenje potrebe za energijom i povećanje učinkovitosti mljevenja biomase.

Ograničenja kemijskih metoda obrade su cijena reagensa, trošak procesa koji uključuje dodatan korak neutralizacije te potreba za reaktorima otpornim na koroziju. Osim toga, nastanak inhibicijskih supstanci može inhibirati ili značajno smanjiti učinkovitost konverzije hidrolizata lignocelulozne biomase u metan. Veća učinkovitost i nastajanje manje količine inhibicijskih supstanci može se postići kombiniranjem kemijskih reagensa u nižim koncentracijama i ostalih metoda obrade, što rezultira smanjenjem troškova. Ukoliko se provodi tretman lužinom, učinkovita je otapanje lignina, a mala količina alkalnog reagensa koji zaostaje u biomasi sudjeluje u neutralizaciji pH tijekom faze acidogeneze procesa biometanacije. Stoga je prije anaerobne razgradnje poželjnija obrada lužnatim reagensom nego kiselinom (Taherdanak i sur., 2014).

Organska otapala omogućuju izolaciju pojedinačnih sastojaka lignocelulozne biomase i na taj način smanjuju kapitalne troškove biorafinerija. U ograničenja spadaju velike količine otpada u procesima obrade te cijena specijalizirane opreme. Ionske tekućine u mnogim slučajevima imaju prednost pred organskim otapalima zbog mogućnosti primjene u ekstremnim uvjetima i mnogo načina apliciranja, ali njihova je primjena ograničena cijenom i potrebom za recikliranjem (Gao i sur., 2013).

Uspriko prednostima bioloških tretmana, nedostatak tih metoda je potreba za održavanjem specifičnih uvjeta tijekom rasta, potreba za velikim prostorom, duže vrijeme obrade i gubitci ugljikohidrata. Biološka predobrada rijetko rezultira nastankom inhibitora u znatnim količinama te je inhibicija prilikom anaerobne razgradnje mnogo manja u usporedbi s kemijskim i fizikalno-kemijskim tretmanima (Taherdanak i sur., 2014).

2.6. Tehno-ekonomski i ekološki aspekti

Tehno-ekonomska izvedivost jedan je od najvažnijih parametara povezanih s komercijalnom održivošću proizvodnje biogoriva iz lignoceluloznih supstrata. Mnogi autori su proveli tehno-ekonomsku analizu različitih tretmana s ciljem pronalaženja isplativih uvjeta u konceptu biorafinerije. Uspoređena je tehno-ekonomska izvedivost komercijalne obrade gljivama četiriju sirovina – kukuruzovina, višegodišnje trave, poljoprivredni ostaci osim kukuruza, tvrdo drvo – te je procijenjena cijena proizvodnje šećera 1.7, 1.6, 2.0, odnosno 2.8 \$/kg za svaku navedenu sirovinu (Vasco-Correa i Shah, 2019). Istražena je proizvodnja fermentabilnih šećera iz različitih sirovina kako bi se unaprijedio proces i omogućila komercijalizacija obrade ionskim tekućinama. Predobrada kukuruzovine, divljeg prosa i topole ionskim tekućinama ima cijenu od 2.7, 3.2, odnosno 3.0 \$ po kilogramu proizvedenog šećera. Nadalje, drugo istraživanje bavi se procjenom ekonomskih i tehnoloških prednosti obrade eksplozijom parom, razrijeđenom sumpornom kiselinom, eksplozijom amonijakom te biološkim tretmanom kukuruzovine, a cijena proizvodnje šećera iznosi 0.43, 0.42, 0.65 te 1.41 \$/kg. Prema istraživanju Brandt i sur. (2018) provedena je ekonomska analiza pretvorbe biomase mekog drveta u šećere isključivo mehaničkim metodama predobrade, točnije procesom mljevenja u tri stupnja, te je trošak proizvodnje koncentriranog šećernog sirupa procijenjen na 0,496 \$/kg šećera. Međutim, ne postoji zadovoljavajući broj izvještaja o učinku tog procesa na okoliš niti o njegovoj održivosti. Procijenjena je izvedba četiriju različitih metoda predobrade – tekuća vruća voda, eksplozija parom, razrijeđena kiselina i organosolv, te tretman razrijeđenom kiselinom ima najlošije rezultate. Preostale tri metode obrade imaju sličan učinak, no tretman tekućom vrućom vodom značajno smanjuje emisiju CO₂ te dvostruko povećava prinos ukupnih šećera u odnosu na organska otapala i eksploziju parom. Eksplozija parom obećavajuća je tehnologija te nudi najbrojnije ekonomske, ekološke i energetske prednosti, nakon čega slijedi tretman vrućom vodom s ciljem proizvodnje bioetanolu iz papira i drvnog otpada. Iako tretman razrijeđenom kiselinom ima vrlo dobar tehnološki učinak, zbog velike potrošnje energije, visoke cijene i emisije stakleničkih plinova, primjena ove metode nije poželjna. Slično tome, tretman razrijeđenom lužinom popraćen je emisijom stakleničkih plinova i negativno utječe na okoliš te stoga nije prvi izbor metode za predobradu. Dokazano je da dodatak niske doze lužnatog reagensa prilikom enzimske predobrade smanjuje potrebnu količinu enzima kojima se provodi predtretman za 23 do 39 %, no takva vrsta tretmana također ima negativan utjecaj na okoliš. Dakle, poželjno je da se buduća istraživanja bave odabirom kombinacija različitih

vrsta predtretmana te standardizacijom uvjeta tijekom provođenja postupka obrade kako bi se smanjio negativan učinak na okoliš i cijena procesa. Analiza učinka anaerobne razgradnje važna je s tehno-ekonomskog i ekološkog stajališta, u svrhu stvaranja baze podataka, te određivanja geografskih lokacija biljaka koje se koriste u proizvodnji bioplina (Rajendran i Murthy, 2019).

3. ZAKLJUČAK

1. Lignocelulozni supstrati su važna sirovina u procesu proizvodnje bioplina, a proces anaerobne razgradnje omogućuje djelomično iskorištavanje otpada te služi kao izvor obnovljive bioenergije.
2. Struktura lignoceluloznih sirovina i dalje predstavlja tehnološku prepreku zbog ograničene biorazgradivosti, stoga je važna predobrada određenih supstrata kako bi se unaprijedila tehnologija anaerobne razgradnje.
3. Najčešći problem kod predobrade lignoceluloznih supstrata predstavljaju energetska potrošnja, operativni trošak i formiranje inhibicijskih supstanci poput furfurala i hidroksimetilfurfurala koji utječu na procese izolacije bioplina i ostalih proizvoda s dodanom vrijednošću. Mogućim rješenjem smatra se kombiniranje različitih metoda predobrade specifičnim za supstrat i izolaciju u kojima nastaju bioenergija i drugi proizvodi.
4. Kako bi se postigla tehno-ekonomska održivost iskorištavanja lignoceluloznih supstrata, proučava se ideja integriranih biorafinerija za proizvodnju bioplina u kojima bi na istoj platformi bila moguća proizvodnja dvaju ili više bioproizvoda.

4. POPIS LITERATURE

Agnihotri, S; Johnsen, IA; Bøe, MS; Øyaas, K; Moe, S (2015) Ethanol Organosolv Pretreatment of Softwood (*Picea abies*) and Sugarcane Bagasse for Biofuel and Biorefinery Applications. *Wood Sci. Technol.* **49**, 881–896. <https://doi.org/10.1007/s00226-015-0738-4>

Alalwan, HA; Alminshid, AH; Aljaafari, HAS (2019) Promising Evolution of Biofuel Generations. Subject Review. *Renew. Energy Focus* **28**, 127–139. <https://doi.org/10.1016/j.ref.2018.12.006>

Amnuaycheewa, P; Hengaroonprasan, R; Rattanaporn, K; Kirdponpattara, S; Cheenkachorn, K; Sriariyanun, M (2016) *Enhancing Enzymatic Hydrolysis and Biogas Production from Rice Straw by Pretreatment with Organic Acids*. *Ind. Crops Prod.* **87**, 247–254. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.04.069>

Antwi, E; Engler, N; Nelles, M; Schüch, A (2019) Anaerobic Digestion and the Effect of Hydrothermal Pretreatment on the Biogas Yield of Cocoa Pods Residues. *Waste Manag.* **88**, 131–140. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.03.034>

Ayeni, AO; Oyekunle, DT; Shodipe, OC; Folayan, JA (2019) Data on the Enzymatic Conversion of Alkaline Peroxide Oxidative Pretreated Sugarcane Bagasse for the Production of Fermentable Sugars. *Data Brief* **24**, 103867. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2019.103867>

Azevedo, SG; Sequeira, T; Santos, M; Mendes, L (2019) Biomass-Related Sustainability: A Review of the Literature and Interpretive Structural Modeling. *Energy* **171**, 1107–1125. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2019.01.068>

Barbera, E; Menegon, S; Banzato, D; D'Alpaos, C; Bertucco, A (2019) From Biogas to Biomethane: A Process Simulation-Based Techno-Economic Comparison of Different Upgrading Technologies in the Italian Context. *Renew. Energy* **135**, 663–673. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.12.052>

Brandt, KL; Gao, J; Wang, J; Wooley, RJ; Wolcott, M (2018) Techno-Economic Analysis of

Forest Residue Conversion to Sugar Using Three-Stage Milling as Pretreatment. *Front. Energy Res.* **6**, 1–11. <https://doi.org/10.3389/fenrg.2018.00077>

Brémond, U; de Buyer, R; Steyer, JP; Bernet, N; Carrere, H (2018) Biological Pretreatments of Biomass for Improving Biogas Production: An Overview from Lab Scale to Full-Scale. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **90**, 583–604. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.03.103>

Cabrera, E; Muñoz, MJ; Martín, R; Caro, I; Curbelo, C; Díaz, AB (2014) Alkaline and Alkaline Peroxide Pretreatments at Mild Temperature to Enhance Enzymatic Hydrolysis of Rice Hulls and Straw. *Bioresour. Technol.* **167**, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.05.103>

Chandra, R; Takeuchi, H; Hasegawa, T; Vijay, VK (2015) Experimental Evaluation of Substrate's Particle Size of Wheat and Rice Straw Biomass on Methane Production Yield. *Agric. Eng. Int. CIGR J.* **17**, 93–104.

Chen, X; Zhai, R; Shi, K; Yuan, Y; Dale, BE; Gao, Z; Jin, M (2018) Mixing Alkali Pretreated and Acid Pretreated Biomass for Cellulosic Ethanol Production Featuring Reduced Chemical Use and Decreased Inhibitory Effect. *Ind. Crops Prod.* **124**, 719–725. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.08.056>

Dollhofer, V; Dandikas, V; Dorn-In, S; Bauer, C; Lebuhn, M; Bauer, J (2018) Accelerated Biogas Production from Lignocellulosic Biomass after Pre-Treatment with Neocallimastix Frontalis. *Bioresour. Technol.* **264**, 219–227. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.05.068>

Dumas, C; Damasceno, GSG; Abdellatif, B; Carrère, H; Steyer, JP; Rouau, X (2015) Effects of Grinding Processes on Anaerobic Digestion of Wheat Straw. *Ind. Crops Prod.* **74**, 450–456. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.03.043>

Gao, J; Chen, L; Yuan, K; Huang, H; Yan, Z (2013) Ionic Liquid Pretreatment to Enhance the Anaerobic Digestion of Lignocellulosic Biomass. *Bioresour. Technol.* **150**, 352–358. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.10.026>

Gu, Y; Zhang, Y; Zhou, X (2015) Effect of Ca(OH)₂ Pretreatment on Extruded Rice Straw

Anaerobic Digestion. *Bioresour. Technol.* **196**, 116–122.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.07.004>

Hashemi, SS; Karimi, K; Majid Karimi, A (2019) Ethanolic Ammonia Pretreatment for Efficient Biogas Production from Sugarcane Bagasse. *Fuel* **248**, 196–204.
<https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.03.080>

Hashemi, SS; Karimi, K; Mirmohamadsadeghi, S (2019) Hydrothermal Pretreatment of Safflower Straw to Enhance Biogas Production. *Energy* **172**, 545–554.
<https://doi.org/10.1016/j.energy.2019.01.149>

Hernández-Beltrán, J; Hernandez De Lira, I; Cruz-Santos, M; Saucedo-Luevanos, A; Hernández-Terán, F; Balagurusamy, N (2019) Insight into Pretreatment Methods of Lignocellulosic Biomass to Increase Biogas Yield: Current state, Challenges and Opportunities. *Applied sciences* **9**, 3721. DOI: 10.3390/app9183721

Jiang, D; Ge, X; Zhang, Q; Li, Y (2016) Comparison of Liquid Hot Water and Alkaline Pretreatments of Giant Reed for Improved Enzymatic Digestibility and Biogas Energy Production. *Bioresour. Technol.* **216**, 60–68. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.05.052>

Katukuri, NR; Fu, S; He, S; Xu, X; Yuan, X; Yang, Z; Guo, RB (2017) Enhanced Methane Production of *Miscanthus Floridulus* by Hydrogen Peroxide Pretreatment. *Fuel* **199**, 562–566.
<https://doi.org/10.1016/j.fuel.2017.03.014>

Kim, H; Ahn, Y; Kwak, S-Y (2016) Comparing the Influence of Acetate and Chloride Anions on the Structure of Ionic Liquid Pretreated Lignocellulosic Biomass. *Biomass Bioenergy* **93**, 243–253. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2016.07.022>

Konda, NM; Shi, J; Singh, S; Blanch, HW; Simmons, BA; Klein-Marcuschamer, D (2014) Understanding Cost Drivers and Economic Potential of Two Variants of Ionic Liquid Pretreatment for Cellulosic Biofuel Production. *Biotechnol. Biofuels* **7**, 1–11.
<https://doi.org/10.1186/1754-6834-7-86>

Krause, MJ; Chickering, GW; Townsend, TG; Pullammanappallil, P (2018) Effects of Temperature and Particle Size on the Biochemical Methane Potential of Municipal Solid Waste Components. *Waste Manag.* **71**, 25–30. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.11.015>

Li, C; Liu, G; Nges, IA; Liu, J (2016) Enhanced Biomethane Production from *Miscanthus lutarioriparius* Using Steam Explosion Pretreatment. *Fuel* **179**, 267–273. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2016.03.087>

Luo, T; Huang, H; Mei, Z; Shen, F; Ge, Y; Hu, G; Meng, X (2019) Hydrothermal Pretreatment of Rice Straw at Relatively Lower Temperature to Improve Biogas Production via Anaerobic Digestion. *Chin. Chem. Lett.* **30**, 1219–1223. <https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2019.03.018>

Marriott, PE; Gómez, LD; McQueen-Mason, SJ (2016) Unlocking the Potential of Lignocellulosic Biomass through Plant Science. *New Phytol.* **209**, 1366–1381. <https://doi.org/10.1111/nph.13684>

Moset, V; Xavier, CDAN; Feng, L; Wahid, R; Møller, HB (2018) Combined Low Thermal Alkali Addition and Mechanical Pre-Treatment to Improve Biogas Yield from Wheat Straw. *J. Clean. Prod.* **172**, 1391–1398. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.10.173>

Mustafa, AM; Poulsen, TG; Xia, Y; Sheng, K (2017) Combinations of Fungal and Milling Pretreatments for Enhancing Rice Straw Biogas Production during Solid-State Anaerobic Digestion. *Bioresour. Technol.* **224**, 174–182. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.11.028>

Neumann, P; Pesante, S; Venegas, M; Vidal, G (2016) Developments in Pre-Treatment Methods to Improve Anaerobic Digestion of Sewage Sludge. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* **15**, 173–211. <https://doi.org/10.1007/s11157-016-9396-8>

Pellera, F-M; Gidarakos, E (2018) Chemical Pretreatment of Lignocellulosic Agroindustrial Waste for Methane Production. *Waste Manag.* **71**, 689–703. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.04.038>

Perin, G; Jones, PR (2019) Economic Feasibility and Long-Term Sustainability Criteria on the Path to Enable a Transition from Fossil Fuels to Biofuels. *Curr. Opin. Biotechnol.* **57**, 175–182. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2019.04.004>

Rajendran, K; Drielak, E; Varma, VS; Muthusamy, S; Kumar, G (2018) Updates on the Pretreatment of Lignocellulosic Feedstocks for Bioenergy Production—A Review. *Biomass Convers. Biorefinery* **8**, 471–483. <https://doi.org/10.1007/s13399-017-0269-3>

Rajendran, K; Murthy, GS (2019) Techno-Economic and Life Cycle Assessments of Anaerobic Digestion—A Review. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* **20**, 101207. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101207>

Shah, TA; Ullah, R (2019) Pretreatment of Wheat Straw with Ligninolytic Fungi for Increased Biogas Productivity. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 1–12. <https://doi.org/10.1007/s13762-019-02277-8>

Sharma, SK; Mishra, IM; Sharma, MP; Saini, JS (1988) Effect of Particle Size on Biogas Generation from Biomass Residues. *Biomass* **17**, 251–263. [https://doi.org/10.1016/0144-4565\(88\)90107-2](https://doi.org/10.1016/0144-4565(88)90107-2)

Song, Z; Yang, G; Liu, X; Yan, Z; Yuan, Y; Liao, Y (2014) Comparison of Seven Chemical Pretreatments of Corn Straw for Improving Methane Yield by Anaerobic Digestion. *PLoS ONE* **9**, e93801. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093801>

Syaichurrozi, I; Villta, PK; Nabilah, N; Rusdi, R (2019) Effect of Sulfuric Acid Pretreatment on Biogas Production from *Salvinia molesta*. *J. Environ. Chem. Eng.* **7**, 102857. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.102857>

Taherdanak, M; Zilouei, H (2014) Improving Biogas Production from Wheat Plant Using Alkaline Pretreatment. *Fuel* **115**, 714–719. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2013.07.094>

Teghammar, A; Karimi, K; Horváth, IS; Taherzadeh, MJ (2012) Enhanced Biogas Production from Rice Straw, Triticale Straw and Softwood Spruce by NMMO Pretreatment. *Biomass*

Bioenergy **36**, 116–120. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.10.019>

Tsapekos, P; Kougias, PG; Angelidaki, I (2015) Biogas Production from Ensiled Meadow Grass; Effect of Mechanical Pretreatments and Rapid Determination of Substrate Biodegradability via Physicochemical Methods. *Bioresour. Technol.* **182**, 329–335. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.02.025>

Tsapekos, P; Kougias, PG; Angelidaki, I (2018) Mechanical Pretreatment for Increased Biogas Production from Lignocellulosic Biomass; Predicting the Methane Yield from Structural Plant Components. *Waste Manag.* **78**, 903–910. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.07.017>

Tsapekos, P; Kougias, PG; Egelund, H; Larsen, U; Pedersen, J; Trénel, P; Angelidaki, I (2017) Mechanical Pretreatment at Harvesting Increases the Bioenergy Output from Marginal Land Grasses. *Renew. Energy* **111**, 914–921. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2017.04.061>

Ullah, K; Sharma, VK; Ahmad, M; Lv, P; Krahl, J; Wang, Z (2018) The Insight Views of Advanced Technologies and Its Application in Bio-Origin Fuel Synthesis from Lignocellulose Biomasses Waste, a Review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **82**, 3992–4008. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.10.074>

Vasco-Correa, J; Shah, A (2019) Techno-Economic Bottlenecks of the Fungal Pretreatment of Lignocellulosic Biomass. *Fermentation* **5**, 30. <https://doi.org/10.3390/fermentation5020030>

Wang, D; Xin, Y; Shi, H; Ai, P; Yu, L; Li, X; Chen, S (2019) Closing Ammonia Loop in Efficient Biogas Production: Recycling Ammonia Pretreatment of Wheat Straw. *Biosyst. Eng.* **180**, 182–190. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2019.02.010>

Wyman, V; Henríquez, J; Palma, C; Carvajal, A (2018) Lignocellulosic Waste Valorisation Strategy through Enzyme and Biogas Production. *Bioresour. Technol.* **247**, 402–411. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.055>

Xihui, K; Yongming, S; Lianhua, L; Xiaoying, K; Zhenhong, Y (2018) Improving Methane Production from Anaerobic Digestion of Pennisetum Hybrid by Alkaline Pretreatment.

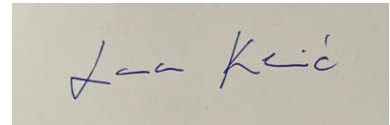
Bioresour. Technol. **255**, 205–212. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.12.001>

Yuan, X; Wen, B; Cui, Z; Ma, L; Zhou, D; Kuang, M; Yang, W (2016) Enhancing Anaerobic Digestion of Cotton Stalk by Pretreatment with a Microbial Consortium (MC1). *Bioresour. Technol.* **207**, 293–301. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.02.037>

Zhang, Q; Hu, J; Lee, DJ (2017) Pretreatment of Biomass Using Ionic Liquids: Research Updates. *Renew. Energy* **111**, 77–84. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2017.03.093>

Izjava o izvornosti

Ja Lana Klaić izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

A rectangular box containing a handwritten signature in blue ink that reads "Lana Klaić".

Vlastoručni potpis