

Potencijal korištenja jelovine biotehnološkim metodama

Peti, Nika

Undergraduate thesis / Završni rad

2021

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:159:350213>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-16**



Repository / Repozitorij:

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



Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološku fakultet
Preddiplomski studij Biotehnologija

Nika Peti

7668/BT

**POTENCIJAL KORIŠTENJA JELOVINE BIOTEHNOLOŠKIM
METODAMA**

ZAVRŠNI RAD

Mentor: prof. dr.sc. Vlatka Petravić Tominac

Zagreb, 2021.

Ovaj rad je izrađen u Laboratoriju za biokemijsko inženjerstvo, industrijsku mikrobiologiju i tehnologiju piva i slada na Zavodu za biokemijsko inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta u Zagrebu u sklopu projekta "Održiva proizvodnja biokemikalija iz sekundarnih lignoceluloznih sirovina" (OPB-SLS; HRZZ-9717) (voditelj projekta red. prof. dr. sc. Božidar Šantek)

Zahvaljujem svojoj mentorici prof.dr.sc. Vlatki Petravić Tominac na stručnoj pomoći i savjetima pri izradi ovog rada.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Biotehnologija

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

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Biotehnologija

Potencijal korištenja jelovine biotehnološkim metodama

Nika Peti, 0058213917

Sažetak: Pojam lignocelulozne biomase podrazumijeva poljoprivredni i šumski otpad, drvne ostatke i trave te dio industrijskog otpada. Njezin osnovni sastav uključuje tri strukturna polimera: celulozu, hemicelulozu i lignin. Primjena lignoceluloznih materijala u biotehnologiji postaje sve popularnija jer su to obnovljive sirovine koje ne konkuriraju tržištu hrane. Lignocelulozna biomasa može se koristiti za dobivanje različitih proizvoda visoke dodane vrijednosti, ali njezina biotehnološka primjena zahtijeva odgovarajuću predobradu. Metoda predobrade se bira prema vrsti sirovine, proizvodu, radnom mikroorganizmu i vrsti procesa. Općenito, zbog visokog udjela lignina, meko drvo je teže obraditi od nekih drugih lignoceluloznih sirovina. U ovom radu prikazan je u biotehnološki potencijal mekog drva s naglaskom na jelovinu.

Ključne riječi: biotehnologija, jelovina, lignoceluloza, meko drvo, predobrada

Rad sadrži: 29 stranice, 13 slika, 7 tablica, 43 literaturna navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je tiskao i elektroničkom obliku (pdf formatu) pohranjen u: Knjižnici
Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: *prof. dr. sc. Vlatka Petravić Tominac*

Rad predan: 13. rujna 2021.

Datum obrane: 16. rujna 2021.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

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

Department of Biochemical Engineering
Laboratory of Biochemical Engineering, Industrial Microbiology and Beer and malt technology

Scientific area: Biotechnical Science
Scientific field: Biotechnology

Potential of fir wood using biotechnological methods

Nika Peti, 0058213917

Abstract: The term lignocellulosic biomass implies agricultural and forest wastes, wood residues and grass, as well as a part of industrial waste. The primary composition of lignocellulose includes three structural polymers: cellulose, hemicellulose and lignin. The use of lignocellulosic materials in biotechnological processes is becoming more popular because they are renewable raw materials that do not compete on the food market. Lignocellulosic biomass can be used to produce various types of high value-added products, but its biotechnological application requires the appropriate pretreatment. The pretreatment method is selected according to the type of raw material, product, working microorganism and the type of the process. Generally, because of its high percentage of lignin, soft wood is harder to process than some other lignocellulosic raw materials. In this thesis, the biotechnological potential of softwood with emphasis on fir wood is presented.

Key words: biotechnology, fir wood, lignocellulose, pretreatment, soft wood

Thesis contains: 29 pages, 13 figures, 7 tables, 43 references

Original in: Croatian

Final work printed and electronic (pdf format) version deposited in: Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: *PhD. Vlatka Petravić Tominac, Full professor*

Thesis delivered: September 13th 2021.

Defence date: September 16th 2021.

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. Općenito o sastavu lignoceluloznih sirovina	2
2.1.1. Celuloza	3
2.1.2. Hemiceluloza	3
2.1.3. Lignin	4
2.1.4. Pepeo i ekstraktivne tvari	5
2.1.5. Inhibitori	6
2.2. Metode predobrade lignoceluloze	7
2.2.1. Fizikalna predobrada	7
2.2.2. Fizikalno-kemijska predobrada	8
2.2.3. Kemijska predobrada	9
2.2.4. Biološka predobrada	10
2.3. Primjeri predobrade i biotehnoške primjene mekog drveta	12
2.3.1. Meko drvo	12
2.3.2. Jela kao predstavnik mekog drva	13
2.3.3. Predobrada mekog drveta za biotehnoške procese	14
2.3.3.1. Odabir metode predobrade mekog drveta	14
2.3.3.2. Primjer jednostupanjske predobrade mekog drveta razrijeđenom sumpornom kiselinom	15
2.3.3.3. Primjer dvostupanjske predobrade mekog drveta razrijeđenom sumpornom kiselinom	16
2.3.3.4. Primjer biološke predobrade mekog drva	18
2.4. Bioetanol kao primjer biotehnoškog proizvoda dobivenog iz jelovine	19
2.5. Ostale mogućnosti primjene jelovine	22
2.5.1. Bioulje	22
2.5.2. Biougljen	23
3. ZAKLJUČAK	24
4. LITERATURA	25

1. UVOD

Lignocelulozni materiali predstavljaju najobilniju biomasu na svijetu. S vremenom je počeo sve više rasti interes za njezino korištenje s obzirom na činjenicu da ne konkurira na tržištu hrane. Pored brojnih mogućih biotehnoloških primjena, lignocelulozna biomasa također može služiti i kao obnovljivi izvor energije koji, za razliku od fosilnih goriva, ne doprinosi povećanju CO₂ u atmosferi (Kumar i sur., 2009). Lignocelulozni materijali dijele se na nekoliko skupina: poljoprivredni ostaci, kruti komunalni otpad i šumarski ostatci (Janušić i sur., 2008). Glavninu kemijske strukture lignoceluloze tvore tri strukturna polimera (hemiceluloza, celuloza i lignin), a udjeli tih komponenata variraju ovisno o vrsti i podrijetlu sirovine. Kako bi lignocelulozni materijali bili iskoristivi za daljnje procese potrebna je njihova predobrada, koja mijenja čvrsto povezanu nativnu kemijsku strukturu lignoceluloze i time olakšava ili omogućava kasnije postupke tijekom tehnološkog procesa. Metode predobrade se klasificiraju na četiri skupine: fizikalne metode kojima je cilj fizičko usitnjavanje i povećanje površine, kemijske metode kod kojih se koriste kemikalije, fizikalno-kemijske metode te biološke metode koje upotrebljavaju mikroorganizme ili enzime.

Osnovna podjela vrsta drveta je provedena prema njihovoj tvrdoći na tvrdo i meko drvo. Istraživanja su pokazala kako postoje razlike u kemijskom sastavu tvrdog i mekog drveta. Zbog te razlike, sve metode predobrade nisu jednako primjenjive na sve vrste drvnih sirovina. Zbog većeg udjela lignina teže je provesti predobradu mekog drveta je nego predobradu tvrdog drveta. Stoga se prema tome i treba prilagoditi cijeli postupak predobrade.

Cilj ovog rada je prikazati neke metode predobrade lignocelulozne biomase, njihove prednosti i nedostatke, te trenutna dostignuća u predobradi jelovine ili drugih vrsta mekog drveta razrijeđenom kiselinom. Uz to je prikazano i nekoliko primjera primjene nekih metoda predobrade za dobivanje potencijalno važnih biotehnoloških proizvoda iz jelovine, odnosno mekog drveta.

2. TEORIJSKI DIO

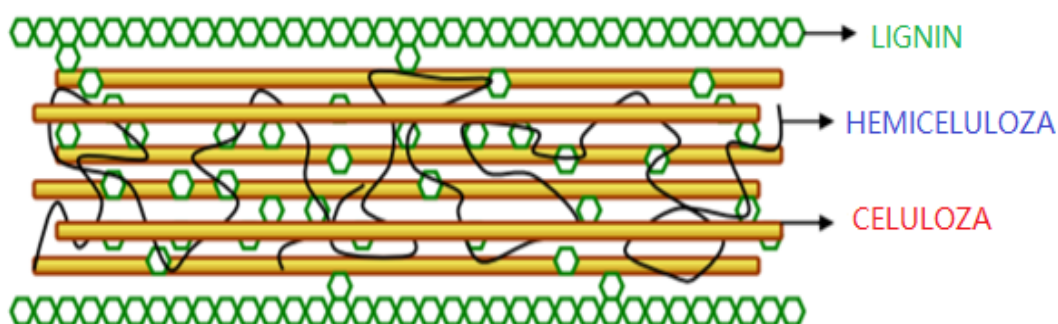
2.1. Općenito o sastavu lignoceluloznih sirovina

Lignoceluloza je sastavni dio stanične stijenke biljnih stanica koja biljkama daje čvrstoću i zaštitu od vanjskih utjecaja. Osnovne komponente od kojih su lignocelulozne sirovine građene su: celuloza (36-61% u s.tv.), hemiceluloza (13-39% u s.tv.) i lignin (6-29% u s.tv.) (Rezić i sur., 2016). Udio tih komponenti u biomasi razlikuje se ovisno o sirovini (Tablica 1).

Kako lignocelulozne sirovine ne možemo koristiti u izvornom obliku, potrebna je njihova predobrada. Cilj predobrade lignocelulozne biomase je hidroliza celuloze i hemiceluloze do šećera, a s obzirom da je lignin izuzetno otporan na kemijske i enzimske reagense, njega je potrebno ukloniti.

Tablica 1. Udio celuloze, hemiceluloze i lignina u nekim poljoprivrednim ostacima (Sun i Cheng, 2002).

Lignocelulozni materijal	Celuloza (%)	Hemiceluloza (%)	Lignin (%)
Trave	25-40	35-50	10-30
Lišće	15-25	80-85	0
Ljuske orašastih plodova	25-30	25-30	30-40
Stablo tvrdog drveta	40-55	24-40	18-25
Stablo mekog drveta	45-50	25-35	25-35

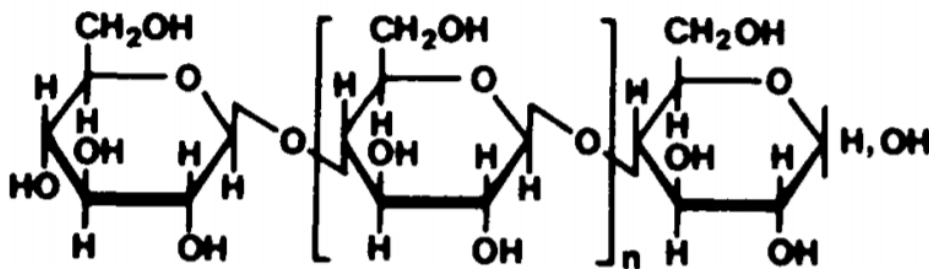


Slika 1. Prikaz sastava lignoceluloze (Mussatto i Teixeira, 2010).

2.1.1. Celuloza

Celuloza je osnovna molekula u staničnoj stijenci viših biljaka. Prirodno je netopiva, ali u određenim uvjetima može se razgraditi pomoću enzima (celulaza) (French i sur.,2002). U prirodi se rijetko kad pojavljuje u potpuno čistom obliku (kuglice pamuka). Uz nju se najčešće nalaze hemiceluloza i lignin. (Lynd i sur., 2002). Kemijska formula celuloze je $(C_6H_{10}O_5)_n$ pri čemu je „n“ oznaka za stupanj polimerizacije koji npr. za drvo jele iznosi 2500 (celuloza. Hrvatska enciklopedija, 2021).

Celuloza je linearni homopolimer velike molekulske mase koji se sastoji od ponovljenih jedinica celobioze koju tvore dva prstena glukoze povezani β -1,4 glikozidnom vezom. Celuloza je prisutna u obliku mikrovlakana gdje su dugolančani polimeri celuloze međusobno povezani vodikovim vezama te van der Waalsovima interakcijama. Formiranjem vodikovih veza, lanci celuloze se najčešće tako rasporede da formiraju kristaličnu strukturu, pa se prema tome, mikrovlakna celuloze sastoje od visoko uređenih kristaličnih struktura i manje uređenih, amorfni struktura (Mussatto i Teixeira, 2010).



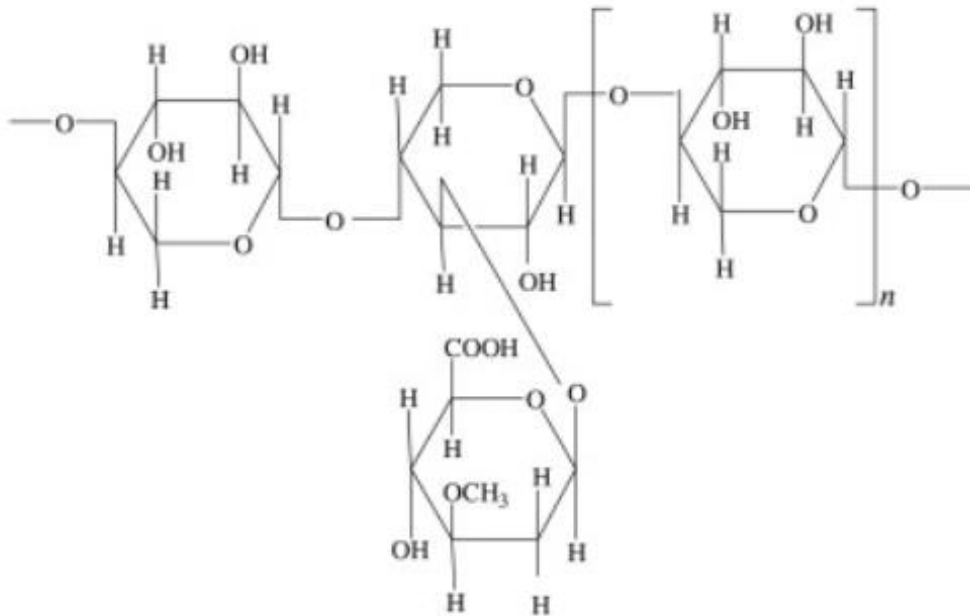
Slika 2. Kemijska struktura celuloze (Marchessault i Sundararajan, 1983)

2.1.2. Hemiceluloza

Pored lignina i celuloze, hemiceluloza je jedan od tri glavna strukturalna polimera lignocelulozne biomase. Većina poljoprivrednih otpadaka, kao što su kukuruzna vlakna, slama te otpaci šećerne trske u sebi sadrže 20-40% hemiceluloze koja je drugi najzastupljeniji polisaharid u prirodi.

To je heterogeni polimer sastavljen od pentoza (ksiloze i arabinoze), heksoza (manoze, glukoze i galaktoze) te šećernih kiselina. Za razliku od celuloze, hemiceluloza nije kemijski homogena. Ovisno o tome radi li se o mekom ili tvrdom drvetu, prevladavati će određeni šećeri. U hemicelulozi tvrdog drveta prevladavaju ksilani, dok hemiceluloza mekog drveta sadržava

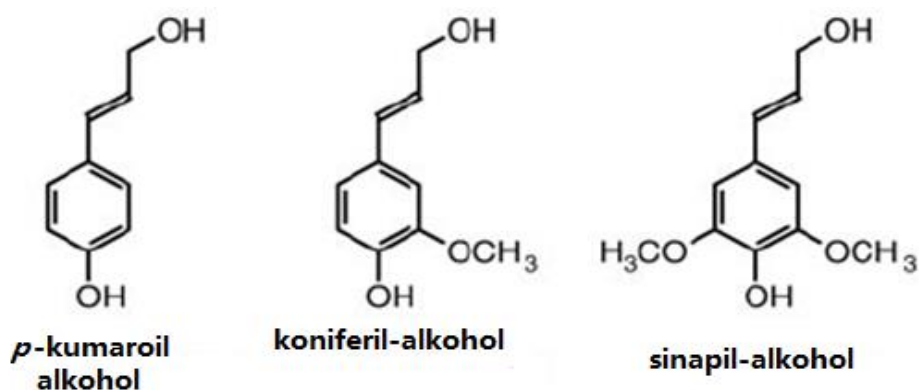
pretežito glukomanane (Saha, 2003). Smatra se da je ona uključena u regulaciju produljenja i modifikacija stijenke biljaka te, za razliku od lignina, imaju snažan utjecaj na interakcije među mikrovlaknima celuloze. Amorfna struktura hemiceluloze olakšava njenu hidrolizu (Wyman i sur., 2005)



Slika 3. Kemijski sastav hemiceluloze (Alam i sur, 2014).

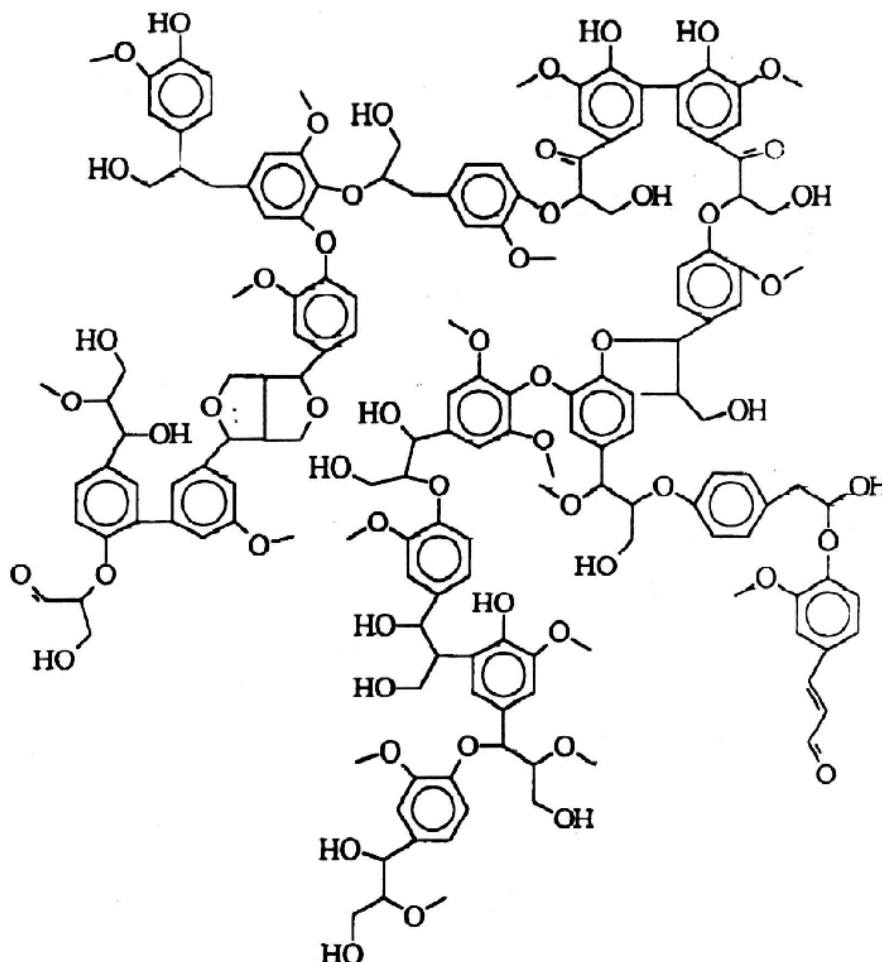
2.1.3. Lignin

Lignin je amorfni, polimerni materijal koji u biljci nastaje iz triju fenolpropanoidnih monomera: koniferil-alkohol, sinapil-alkohola i i-kumaril-alkohol (Lebo, 2002.)



Slika 4. Fenolpropanoidni monomeri koji izgrađuju lignin (Hatfield i Vermerris, 2001).

Lignin je, uz celulozu i hemicelulozu sastavni dio stanične stijenke biljaka. Neophodan je radi strukturne cjelovitosti same stijenke, radi čvrstoće stabljike te igra ulogu u zaštiti biljke od patogena. Također, lignin čini staničnu stijenku vodonepropusnom čime omogućava prijenos vode i otopina kroz sustav žilica u biljci (Boerjan i sur., 2003).



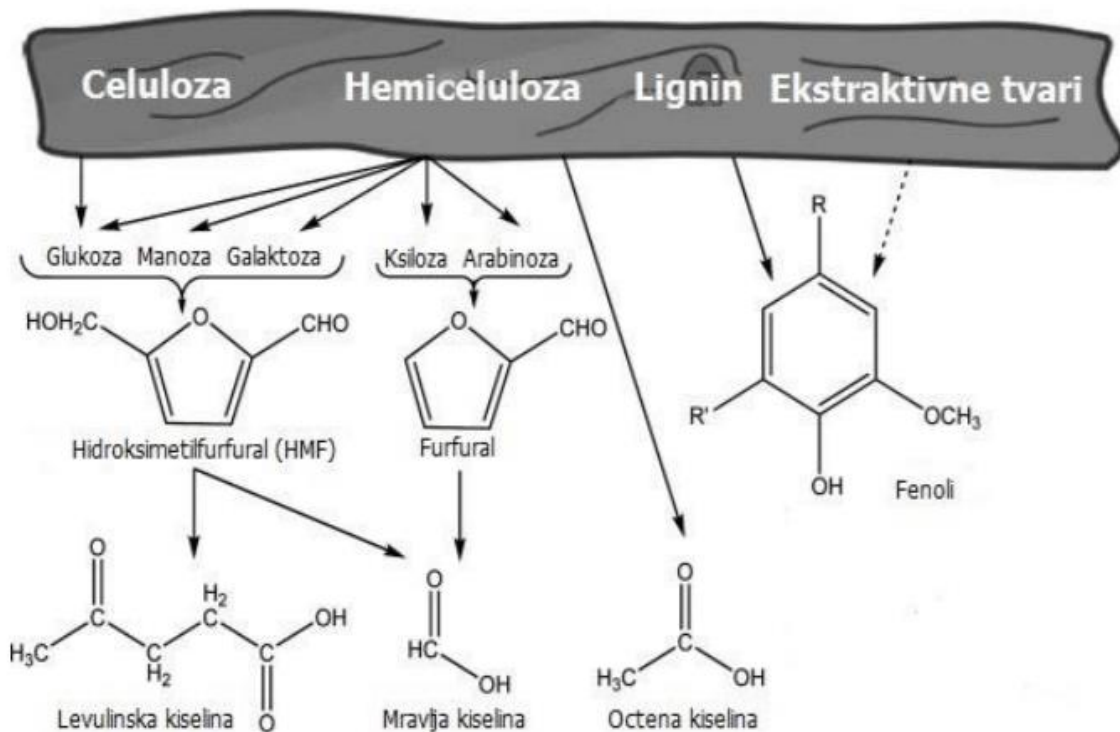
Slika 5. Struktura lignina u mekom drvetu (Adler, 1997).

2.1.4. Pepeo i ekstraktivne tvari

Pojam ekstraktivne tvari obuhvaća velik broj različitih spojeva koji mogu biti ekstrahirani iz drva. U užem smislu ekstraktivne tvari su oni spojevi koji su topljivi u organskim otapalima. Udio tvari topljivih u organskim otapalima različit je u različitim dijelovima drveta, npr. korijenju i srži drveta kao i u različitim vrstama drva kao što su meko i tvrdo drvo. Anorganske tvari drveta predstavljaju pepeo koji se određuje tako da se organski dio drveta spali na 600-850°C. Količina pepela se kreće između 0,2 i 0,5% u drvu koje potječe iz zone umjerene klime, dok je on često veći u drvu koje potječe tropskih klimatskih područja (Fengel i Wegener, 1983).

2.1.5. Inhibitori

U procesima predobrade lignoceluloznih materijala dolazi do nakupljanja inhibitora koji mogu negativno utjecati na daljnji proces iskorištavanja lignoceluloze. Ovisno o metodi predobrade koja se koristi za određenu biomasu, dolazi do nastanka različitih vrsta toksina i inhibitora. Inhibitori mogu biti derivati šećera, derivati furana, organske kiseline i fenolni spojevi. Njihov udio ovisi o intenzitetu predobrade, hidrolizi i vrsti biomase (Kim i sur., 2011). Na slici 6. prikazano je nastajanje inhibitora. Razgradnjom hemiceluloze nastaju glukoza, manoza, galaktoza, ksiloza i arabinoza. Razgradnjom celuloze nastaje glukoza, a fenoli nastaju iz lignina i ekstraktivnih tvari. Kada se primjene ekstremniji uvjeti predobrade, poput visoke temperature i tlaka, dolazi do razgradnje glukoze, manoze i galaktoze na hidroksimetilfurfural (HMF), a iz ksiloze i arabinoze nastaje furfural (Jönsson i sur., 2013). Pokazalo se da furfurali dovode do inaktiviranja replikacije stanica i prinos mase stanica po ATP-u, dok su inhibitori koji nastaju iz lignina toksični za fermentirajuće mikroorganizme, a uzrokuju pucanje i narušavanje membrane (Chandel i sur., 2011). S obzirom na to da inhibitori stvaraju probleme u samom procesu, pronađene su različite metode detoksikacije kojima se mogu ukloniti iz podloge.



Slika 6. Nastajanje inhibitora tijekom predobrade lignoceluloznih sirovina (Jönsson i sur., 2013)

2.2. Metode predobrade lignoceluloze

Dugoročni ekonomski i ekološki razlozi i problemi doveli su do velikoj broja istraživanja u području obnovljivih izvora energije koji bi zamijenili fosilna goriva. Tijekom istraživanja došlo se do novih mogućnosti iskorištavanja lignocelulozne biomase za biogoriva pri čemu dolazi i do smanjenja emisije CO₂ u atmosferu.

Predobrada lignoceluloznih materijala uključuju postupke kao što su mehaničko usitnjavanje, kiselinska hidroliza, eksplozija vlakana te izlaganje superkritičnim fluidima (McMillan, 1994). Ovi procesi služe kako bi se poremetila kristalinična struktura celuloze ili probio „zid“ lignina te omogućilo izlaganje supstrata hidrolitičkim enzimima, a time i povećanje prinosa (Zheng i sur., 1998).

2.2.1. Fizikalna predobrada

Fizikalne metode predobrade najčešće uključuju usitnjavanje materijala kako bi se smanjila kristaliničnost celuloze te kako bi se povećala dodirna površina za djelovanje enzima. Veličina materijala nakon rezanja iznosi 10-30 mm, dok nakon mljevenja 0,2-2mm. Za ovakvu metodu fizikalne predobrade troše se velike količine energije pa je zbog toga usitnjavanje skupo (Kumar i sur, 2009).

U fizikalne metode predobrade spada i piroliza. To je proces toplinske razgradnje organskog materijala pri povišenoj temperaturi u odsutnosti kisika. Kada se u procesu pirolize primjeni veća temperatura (300-500°) dolazi do naglih reakcija depolimerizacije. Budući da je hemiceluloza amorfna, za razliku od celuloze, pri relativno blagim (umjerenim) uvjetima može doći do njezine hidrolize. Lignin bi se mogao ukloniti selektivnom oksidacijom pri čemu ostaje kombinacija celuloze i hemiceluloze zvana holoceluloza. Također je moguće pirolizom razoriti veze u ligninu pa može biti uklonjen pomoću otapala pri visokim temperaturama (Shafizadeh, 1982).

2.2.2. Fizikalno-kemijska predobrada

Najčešće korištena metoda predobrade lignocelulozne biomase je eksplozija vlakana. U ovoj metodi, biomasa je tretirana parom visokog tlaka, a zatim se tlak naglo smanji zbog čega u materijalu dolazi do eksplozivne dekompresije. Postupak se najčešće provodi pri temperaturi od 160-260°C te pri tlaku 0,69-4,83 MPa. Trajanje procesa je od nekoliko sekundi do nekoliko minuta nakon čega se biomasa izloži atmosferskom tlaku. Tijekom procesa dolazi do degradacije hemiceluloze i transformacije lignina zbog visokih temperatura te se pritom povećava potencijal hidrolize celuloze. Uklanjanjem hemiceluloze iz mikrovlakana dolazi do izlaganja površine celuloze što omogućava veću učinkovitost enzima. Lignin nije moguće potpuno ukloniti ovom metodom, već se on uklanja samo djelomično. Faktori koji utječu na ovu metodu predobrade su vrijeme trajanja, temperatura, veličina materijala i količina vlage. Prednosti eksplozije vlakana su mala potrošnja energije, pogotovo u usporedbi s mehaničkim usitnjavanjem te nema nikakvih ekoloških troškova (Kumar i sur., 2009).

Uz metodu eksplozije vlakana postoji AFEX-metoda (engl. Ammonia Fiber Expansion, Ammonia Fiber Explosion). Specifično za ovu metodu je to da nema nastajanja nikakvih tekućina. Zbog toga je ova metoda drugačija od drugih i troškovi kao i problemi sa zbrinjavanjem otpada su manji (Bing-Zhi Li i sur., 2010.). Kod AFEX metode se lignocelulozna biomasa izlaže tekućem amonijaku pri visokoj temperaturi i tlaku te se nakon nekog vremena tlak naglo smanji. Tijekom postupka, samo se mali dio biomase prevede u tekući oblik, pri čemu ne dolazi do uklanjanja hemiceluloze i lignina (Kumar i sur., 2009).

Još jedna metoda fizikalno-kemijske predobrade je eksplozija ugljikovim dioksidom koja koristi superkritični CO₂. Metoda je razvijena jer je eksplozija vlakana trebala visoke temperature dok je AFEX metoda bila preskupa. Superkritični fluidi su definirani kao fluidi koji se nalaze u plinovitom obliku, ali su komprimirani na temperaturi iznad svoje kritične točke tako da im je gustoća takva kao da se radi o tekućini (Zheng i sur., 1998). CO₂ je jedan od najpogodnijih superkritičnih fluida jer nije toksičan, nije zapaljiv, ekološki je prihvatljiv i jeftin te mu je kritična temperatura niska (31°C) (Larson i King, 1986). Superkritični CO₂ radi na principu da se otopi u vodi i tako tvori ugljičnu kiselinu, koja nije jaka kiselina, ali je dovoljno da pomogne u hidrolizi celuloze i hemiceluloze s obzirom na to da su joj molekule dovoljno male da penetriraju unutar samih struktura celuloze i hemiceluloze. Kada se CO₂ dovede u superkritično stanje i kada dođe do eksplozije, struktura celuloze je narušena te je površina supstrata dostupnija hidrolitičkim enzimima (Zheng i sur., 1998).

2.2.3. Kemijska predobrada

Kemijska predobrada podrazumijeva obradu lignoceluloznih materijala pomoću kemikalija kako bi se modificirala kristalinična struktura celuloze i uklonila hemiceluloza i lignin.

Predobrada lužinom je jedna od metoda kemijske predobrade. Ona podrazumijeva procese koji uključuju korištenje otopina lužina kao što su NaOH, Ca(OH)₂ ili amonijak. Ova metoda je jedna od najefikasnijih metoda predobrade pogotovo za tvrdo drvo i poljoprivredne ostatke. Ova metoda povećava poroznost lignoceluloznih sirovina te se njenim korištenjem može ukloniti lignin i modificirati hemiceluloza. Problem je što je jako kompleksna. Uključuje različite reakcije kao što su razgradnja polisaharida te njihova hidrolizu. Ova vrsta obrade najčešće rezultira sa malim količinama zaostalog lignina te smanjenom kristaliničnosti strukture celuloze (Kumar i sur., 2013).

Kiselinska predobrada je metoda koja se pokazala visoko efikasnom jer remeti matriks lignoceluloze cijepanjem glukozidnih veza što dovodi do transformacije polisaharida u oligomerne ili monomerne šećere (Zheng i sur., 1998). Ona podrazumijeva korištenje razrijeđenih i koncentriranih kiselina pri relativno visokim temperaturama i uz miješanje. Glavni cilj kiselinske predobrade su visoki prinosi uz minimalnu razgradnju oslobođenih šećera.

Ozonoliza je jedan od načina kemijske predobrade koji smanjuje udio lignina u lignoceluloznom materijalu. Za razliku od drugih metoda, njenim korištenjem ne dolazi do nakupljanja toksičnih produkata, a postiže se povećana razgradljivost sirovine. Razgradnja ozonom se primarno odnosi na lignin, dok je utjecaj na hemicelulozu manji, a na celulozu ozon nema utjecaja. Velika prednost ozonolize je što se reakcije provode pri sobnoj temperaturi i atmosferskom tlaku, dakle ekstremni uvjeti nisu potrebni (Kumar i sur., 2009).

Neke od obećavajućih tehnologija kemijske predobrade su oksidativna delignifikacija te organosolv proces. Oksidativna delignifikacija je prihvaćena kao efikasna kemijska metoda predobrade lignoceluloznih sirovina, a njome dobivamo tamno smeđe obojen filtrat koji sadrži otopljeni lignin i njegove derivate (Rojith, 2012). Organosolv metoda se zasniva na ekstrakciji lignina iz lignocelulozne sirovine pomoću organskih otapala i njihovih vodenih otopina. Veliki problem ove metode je visoka cijena te jako visoka razina kontrole zbog iznimne nestabilnosti organskih kemikalija (Zhao i sur., 2009).

2.2.4. Biološka predobrada

Biološka predobrada lignoceluloznih sirovina zasniva se na korištenju mikroorganizama i/ili enzima te se provodi pri blagim uvjetima i nije energetski i kemijski zahtjevna pri čemu je smanjena količina inhibitora koja nastaje njenom primjenom. Većina bioloških metoda predobrade koristi sustav ligninolitičkih enzima što je zapravo skupina oksidoreduktaza koje mogu razgraditi lignin i time poboljšati razgradnju lignocelulozne biomase. Ova metoda uključuje lakaze i peroksidaze koje imaju visok redoks potencijal i koje direktno oksidiraju polimer lignina ili pomoću organskih molekula male molekulske mase koje mogu prodrijeti u pore stanične stijenke i narušiti strukturu lignina (Vasco-Correa i sur., 2016). Kod biološke predobrade koriste se gljive smeđeg, bijelog ili mekog truljenja. Gljive smeđeg truljenja najčešće utječu na strukturu celuloze, dok gljive bijelog i mekog truljenja napadaju i celulozu i lignin. Smatra se da su gljive bijelog truljenja najučinkovitija biološka metoda predobre lignoceluloznih sirovina (Kumar i sur., 2009).



Slika 7. Gljiva bijelog truljenja *Dichomitus squalens* (Anonimus 1, 2021).

Tablica 2. Prednosti i nedostaci pojedinih metoda predobrade

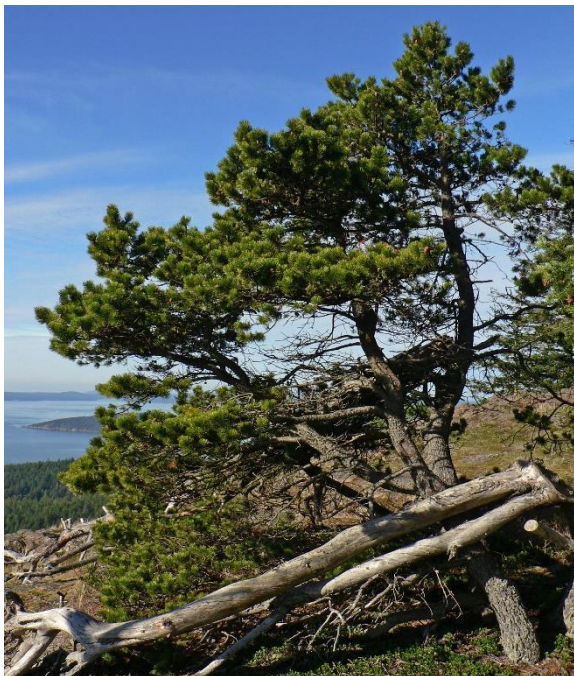
		PREDNOSTI	NEDOSTATCI
FIZIKALNE METODE	usitnjavanje	-povećana kontaktna površina za rad enzima	-potrošnja velike količine energije -slabi prinosi
	piroliza	-nastajanje plinovitih i tekućih proizvoda	-potreba za visokim temperaturama -spora hidroliza pri niskim temperaturama
FIZIKALNO-KEMIJSKE METODE	eksplozija vlakana	-potrošnja energije mala -smanjenje veličine čestica (veća kontaktna površina)	-ne uklanja lignin u potpunosti -potrebno je pranje biomase prije koraka korištenja enzima (pranje uklanja otopljene šećere) -nastaju inhibitori
	AFEX	-tijekom postupka ne nastaju otpadne tekućine	-jako loše uklanja lignin -cijena amonijaka -potrebne visoke temperature
	superkritični CO ₂	-provodi se pri niskim temperaturama -eksplozijom dolazi do narušavanja strukture matriksa i povećava se površina za djelovanje enzima -troškovi su manji nego za AFEX i eksploziju vlakana -ne nastaju inhibitori -ne izaziva degradaciju šećera zbog niskih temperatura	-manji prinosi u odnosu na AFEX
KEMIJSKE METODE	lužine	-dobri prinosi	-cijena kemikalija je visoka
	kiseline	-poboljšanje enzimске hidrolize	-koncentrirane kiseline su toksične, korozivne i opasne pa je iz tih razloga visoka cijena -neophodna regulacija pH
	ozonoliza	-učinkovito razara lignin -proces se odvija pri sobnoj temperaturi i atmosferskom tlaku -lako zbrinjavanje ozona nakon postupka	-slab utjecaj na hemicelulozu -na celulozu nema utjecaja -potrebne su velike količine ozona (može poskupiti proces)
BIOLOŠKE METODE		-ne zahtjeva puno energije i kemikalija -blagi uvjeti -ekološki prihvatljivi	-male brzine hidrolize -trajanje procesa je predugo za industrijsku primjenu

2.3. Primjeri predobrade i biotehnološke primjene mekog drveta

2.3.1. Meko drvo

Drvo je jedno od najstarijih i najčešće korištenih materijala na svijetu, a dobiva se iz biljaka koje imaju nadzemni dio visok najmanje 5 m, pri čemu se središnji dio drveta naziva deblo iz kojeg se grana krošnja (drvo. Hrvatska enciklopedija, 2021).

Jedno od mehaničkih svojstava drva je tvrdoća. Osnovna podjela po tvrdoći dijeli drva na tvrda i meka. Meka drva najčešće pripadaju golosjemenjačama dok tvrda pripadaju kritosjemenjačama. Neke vrste tvrdog drveta su hrast, bukva, tikovina i maslina, dok su primjeri mekog drveta jela, bor i tisa (drvo. Hrvatska enciklopedija, 2021).



a)



b)

Slika 8. a) meko drvo: bor (Anonimus 2, 2021); b) tvrdo drvo: hrast (Anonimus 3, 2021)

2.3.2. Jela kao predstavnik mekog drva

Obična jela (*Abies*) rod je crnogoričnog drveća iz porodice borova (*Pinaceae*). U Europi samoniklo rastu samo europska, obična i vitka jela (*Abies alba*), visoka od 40-65 m. Pripada mekom drvu, slabe do srednje čvrstoće (drvo. Hrvatska enciklopedija, 2021). Krošnja joj je u mladosti piramidalna dok u staroj dobi vrh postaje ravan. U mladosti je kora glatka i svijetlosive boje, a s godinama potamni i ispuca uzduž i poprijeko uglaste ljuske. Igljice jele su češljasto poredane u dva reda, a na licu su tamnozeleni i sjajni. Muški cvjetovi su žućkasto-smeđi, a ženski blijedo zeleni iz kojih se razvijaju češeri (Anonimus 5, 2021).

U Hrvatskoj areal obične jele obuhvaća područje Gorskog kotara te se preko Velebita proteže kroz cijeli Dinarski sustav. Najčešće raste u zajednici s bukvom. Ona je ekološki, tradicionalno i gospodarski najvažnija hrvatska četinjača (Paladinić i sur., 2011)



Slika 9. Meko drvo: jela (Anonimus 4, 2021)

2.3.3. Predobrada mekog drveta za biotehnološke procese

Meko drvo, kao i tvrdo, sadrži osnovne ugljikohidrate (celulozu i hemicelulozu) i lignin, ali njihova se količina u tim dvjema vrstama razlikuje. Iz tog razloga predobrada svakog drva nije ista jer im se kemijski sastav, odnosno udjeli pojedinih komponenata drveta, razlikuju.

Dominantni monomerni šećer u hemicelulozi mekog drveta je manoza, koja je jako acetilirana i sadrži bočne grupe galaktoze. Za razliku od mekog drveta, u tvrdom drvu je dominantni šećer ksiloza koja je slabije acetilirana. Zbog većeg udjela metilglukuronskih bočnih grupa, hidroliza ksilana u mekom drvu je puno teža nego u tvrdom drvu. Udio lignina je u mekom drvu također veći nego u tvrdom, pri čemu u mekom iznosi (25-40%), a u tvrdom (18-25%) (Karimi i sur.,2013).

2.3.3.1. Odabir metode predobrade mekog drveta

Pokazalo se da predobrada tvrdog drveta, kao i poljoprivrednih ostataka zahtjeva manje agresivan pristup nego predobrada mekog drveta. Razlog tomu je prisutnost većeg broja žilica u tvrdom drvu u odnosu na meko zbog čega je prijenos topline i mase u srž sirovine (do same celuloze, lignina i hemiceluloze) puno lakši. Općenito gledano, što kemikalije, molekule, enzimi i toplina lakše prodiru kroz materijal, to je predobrada blaža (Karimi i sur., 2013).

Glavni razlog predobrade lignoceluloznih materijala općenito je poboljšanje njihove sposobnosti biološke konverzije u samom bioprocessu. Predobrada narušava prirodnu strukturu lignoceluloze koja ograničava hidrolizu polisaharida celuloze i hemiceluloze. Sam izbor metode predobrade nije jednostavan te se mora uzeti u obzir kemijski sastav sirovine, podložnost pojedinih komponenata enzimskoj razgradnji i redoslijed razgradnje pojedinih komponenata u sirovini. Ako se ne odabere odgovarajuća metoda predobrade, može doći do nastanka prevelike količine toksičnih inhibitora, povećavaju se troškovi te dolazi do problema s izdvajanjem proizvoda (Yang i Wymann, 2008).

Provedena istraživanja pokazuju kako je obrada mekog drveta teža i ne donosi prinose kakve donose obrada tvrdog drva i ostalih poljoprivrednih ostataka. Kao što je već navedeno, taj problem proizlazi iz visokog udjela lignina koji sadrži meko drvo, a za koje je dostupan mali broj učinkovitih metoda predobrade. Kao jedna od relativno učinkovitih metoda predobrade pokazala se kiselinska predobrada sumpornom kiselinom (Nguyen i sur.,1998).

2.3.3.2 Primjer jednostupanjske predobrade mekog drveta razrijeđenom sumpornom kiselinom

Nguyen i suradnici (1998) proveli su istraživanje utjecaja obrade mekog drva pomoću razrijeđene sumporne kiseline te enzimske hidrolize na prinos etanola. Za predstavnika mekog drva uzeli su duglaziju (engl. Douglas fir). Drvo je usitnjeno pomoću drobilice u čips, koji je potom namočen u razrijeđenu sumpornu kiselinu (0,35-0,4% w/w) na 60°C pri 4 sata te ocijeđen do otprilike 40% s.tv. i ostavljen preko noći prije nego početka samog procesa predobrade. Nakon predobrade slijedila je enzimaska hidroliza.

Tablica 3. Iskorištenja šećera u tekućim frakcijama pri različitim temperaturama kod predobrade duglazije (Nguyen i sur., 1998)

temperatura (°C)	Vrijeme (s)	Iskorištenje (%)	Otopljene tvari (%)	Iskorištenje glukoze (%)	Iskorištenje ksiloze (%)	Iskorištenje HMF (%)	Iskorištenje furfurala (%)
201	125	93,4	30,9	6,8	35,0	0,5	2,7
201	305	88,0	32,4	20,9	61,7	1,6	7,1
230	305	60,2	60,3	29,0	12,8	4,9	10,2
231	125	70,2	59,0	40,8	30,2	4,7	11,2
216	215	83,0	44,2	33,2	43,0	3,1	9,4

Predobrada je bila provođena pri 5 različitih uvjeta (Tablica 3), pri čemu se temperatura kretala od 200-230°C i vrijeme zadržavanja 125-305 sekundi. Ovisno o vremenu i temperaturi, udio suhe tvari kretao se od 25-35%. Rezultati su pokazali da se pri ekstremnijim uvjetima predobrade iskorištenje suhe tvari smanjuje, a iskorištenje otopljenih tvari se povećava. Promatran je prinos ksiloze koji predstavlja hidrolizu hemiceluloze, a maksimalni prinos je bio pri 201°C uz vrijeme zadržavanja 305 sekundi. S porastom temperature, smanjivao se prinos ksiloze dok je prinos furfurala rastao što je bio indikator da je sirovina izložena prevelikim temperaturama. Uz pretpostavku da odnos manana i glukana u hemicelulozi iznosi 3:1, određen je prinos glukoze iz hemiceluloze koji je iznosi 8% mase drveta, a prinos glukoze veći od tog potječe iz celuloze. Bitno je napomenuti da prilikom prikupljanja navedenih podataka nije bila prikupljena i analizirana voda kojom je drvo nakon predobrade isprano. Provedena je i analiza sa vodom od ispiranja, sa uvjetima predobrade: 0,35% sumporna kiseline, 212°C pri 105 s. Kada je u obzir uzeta i voda, rezultati pokazuju da je preko 90% hemiceluloze prešlo u topivi oblik pri čemu su prinosi šećera u hemicelulozi iznosili 56-63%, osim arabinoze koja

stagnirala na 36%. 70% glukana je ostalo intaktno, pri čemu se 23% prevelo u otopljene šećere, a ostatak u HMF (hidroksimetil furfural).

Rezultati su pokazali da predobrada razrijeđenom sumpornom kiselinom uspješno prevodi većinu hemiceluloze iz jelovine u vodotopljivi oblik. Kako bi se iskorištenje hemiceluloze povećalo, a pritom smanjilo stvaranje inhibitora kao što su furfural i HMF, temperatura predobrade bi trebala biti manja nego korištena u ovom istraživanju (Nguyen i sur., 1998).

2.3.3.3. Primjer dvostupanjske predobrade mekog drveta razrijeđenom sumpornom kiselinom

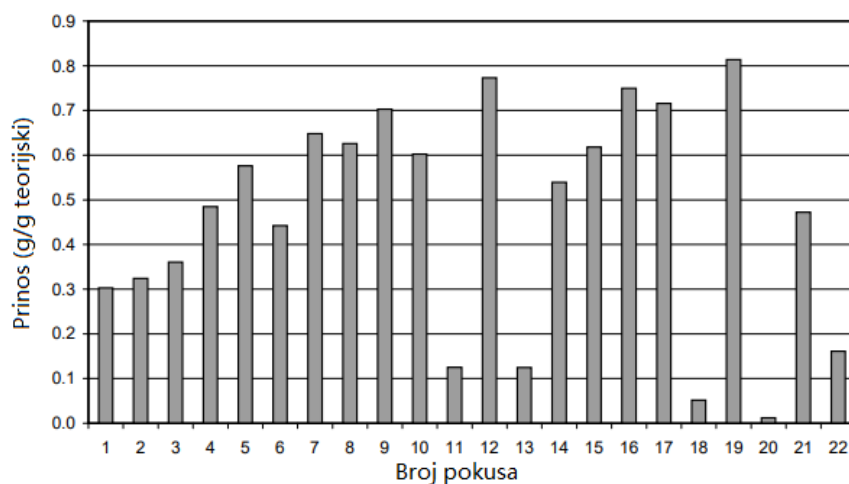
Söderström i suradnici (2003) istraživali su optimalne procesne parametre pri predobradi mekog drveta kako bi iz njega dobili što veće prinose bioetanola. Prvi korak predobrade izveden je pri umjerenim uvjetima (180°C / 10 minuta, 0,5% sumporna kiselina). Prvi korak služio je za optimizaciju hidrolize hemiceluloze. U drugom koraku je kruti materijal iz prvog koraka bio najprije ispran te je bio ponovno izložen sumpornoj kiselini. Drugi korak se razlikovao od prvog po tome što su uvjeti bili intenzivniji kako bi se omogućila djelomična hidroliza celuloze te kako bi celuloza bila dostupnija enzimima. Provedeno je optimiranje uvjeta pri čemu je raspon temperature je bio 180-220°C, vrijeme zadržavanja iznosilo je 2,5 odnosno 10 minuta, a koncentracije H₂SO₄ iznosile su 1% odnosno 2%. Kako bi se odredilo utjecaj predobrade nakon drugog koraka predobrade korištene su i enzimska hidroliza i simultana saharifikacija i fermentacija (engl. simultaneous saharification and fermentation, SSF).

Sastav sirovine prije predobrade je prikazan u Tablici 4., a iz nje se vidi da se 62% suhe tvari sastoji od glukana i manana koji su bitni jer se oni mogu iskoristiti za proizvodnju etanola.

Tablica 4. Sastav sirovine prije i nakon prvog koraka predobrade

KOMPONENATA	SIROVINA (% suhe tvari)	NAKON 1. KORAKA PREDOBRADE (% s. tv.)
GLUKAN	49,9	53,7
MANAN	12,3	2,1
LIGNIN	28,7	38,4
KSILAN	5,3	1,6
GALAKTAN	2,3	0
ARABINAN	1,7	0,6

Drugi korak predobrade provodio se sa čvrstom ostatku zaostalom iz prvog koraka, a taj materijal je sadržavao primarno glukon (53,7%) i lignin (38,4%). Drugi korak predobrade sastojao se i od SSF i od enzimske hidrolize te je određen prinos etanola i glukoze.



Slika 10. Prinos etanola sa SSF pri različitim uvjetima drugog koraka predobrade (Söderström i sur., 2003)

Tablica 5. Uvjeti drugog koraka predobrade

Broj pokusa	Temperatura [°C]	Vrijeme [min]	% H ₂ SO ₄
1	180	5	1
2	180	10	1
3	190	2	1
4	190	5	1
5	190	10	1
6	200	2	1
7	200	5	1
8	200	10	1
9	210	2	1
10	210	5	1
11	210	10	1
12	220	2	1
13	220	5	1
14	190	10	2
15	190	2	2
16	200	5	2
17	200	10	2
18	200	2	2
19	210	5	2
20	210	10	2
21	210	2	2
22	220	5	2

Rezultati su pokazali najbolje prinose u pokusima broj 12, 16 i 19. Kod pokusa broj 12 temperatura je bila podešena na 220°C, u trajanju od 2 min uz 1% sumpornu kiselinu, u pokusu 16 temperatura je iznosila 200°C, kroz 5 minuta uz 2% sumpornu kiselinu dok su parametri u 19. pokusu namješteni na temperaturu od 210°C, 5 minuta i 2% sumporna kiselina. Pokazalo se da je dvostupanjska obrada sa razrijeđenom sumpornom kiselinom pokazala mnoge prednosti kao što su visok prinos etanol i bolje iskorištenje sirovine.

2.3.3.4. Primjer biološke predobrade mekog drva

Lee i sur. (2007) proučavali su utjecaje biološke predobrade na crveni bor (*Pinus densiflora*). Sirovina je bila izložena djelovanju trima gljivama bijelog truljenja: *Ceriporia lacerata*, *Stereum hirsutum* i *Polyporus brumalis*. Promatran je utjecaj na kemijski sastav, strukturne modifikacije i podložnost sirovine djelovanju enzima u samom procesu nakon biološke predobrade. Istraživanje je pokazalo da je gljiva *S. hirsutum* puno jače utjecala na razgradnju lignina nego što je imala učinak na hemicelulozu.

Tablica 6. Udio monosaharida i ukupnih šećera s biološkom predobradom i bez nje (Lee i sur., 2007)

IZVOR UGLJIK	Vrijeme (h)	Arabinoza (%)	Galaktoza (%)	Glukoza (%)	Ksiloza (%)	Manoza (%)	Prinos šećera (%)
CON - netretirani crveni bor	24	0,20	0,08	1,68	0,29	0,14	2,38
	48	0,87	0,44	6,70	1,18	1,15	10,34
	72	1,11	0,62	8,83	2,11	1,93	14,60
STH-crveni bor + <i>S. hirsutum</i>	24	0,38	0,13	7,67	1,48	0,42	10,07
	48	0,77	0,27	11,83	2,68	1,71	17,26
	72	1,01	0,41	13,56	3,26	2,77	21,01
POB - crveni bor + <i>P. brumalis</i>	24	0,45	0,14	6,23	1,01	0,33	8,16
	48	0,71	0,26	8,47	1,61	1,15	12,21
	72	0,95	0,43	9,68	1,96	1,90	14,91
CEL - crveni bor + <i>C. laceratom</i>	24	0,46	0,18	8,94	1,44	0,65	11,67
	48	0,53	0,25	9,91	1,70	1,22	13,61
	72	0,56	0,28	10,78	1,82	1,56	15,03

Iz rezultata dobivenih nakon enzimske saharifikacije vidljivo je da su dobiveni različiti prinosi kada je sirovina tretirana biološkom predobradom i bez tog tretmana. Pritom se kao najdjelotvornija gljiva bijelog truljenja pokazala *S. hirsutum* s najvećim prinosom šećera od 21,01% u vremenu od 72h i pri temperaturi od 50°C. Od svih dobivenih monosaharida, glukoza je imala najveće prinose. Udjeli ksiloze i manoze također pokazuju da je hemiceluloza u mekom

drvu, koje je biološki predobrađeno, uspješno razgrađena na jednostavnije šećere od strane gljiva bijelog truljenja.



Slika 11. *Stereum hirsutum* (Anonimus 6, 2021)

2.4. Bioetanol kao primjer biotehnološkog proizvoda dobivenog iz jelovine

Zbog velikog iscrpljivanja fosilnih goriva te problema sa globalnim zatopljenjem vezanim uz njih, zadnjih se godina provode mnoga istraživanja proizvodnje biogoriva i drugih kemikalija iz obnovljivih izvora energije od kojih je najpopularniji izvor lignocelulozna biomasa. U prošlom desetljeću, obnovljiva goriva i biogoriva su se proizvodila primarno iz prehrambenih kultura kao što su žitarice, šećerna trska i uljarice. Biogoriva proizvedena iz navedenih sirovina nazivaju se biogoriva prve generacije. Ona imaju veliku ekonomsku vrijednost, ali su problematični jer konkuriraju za zemlju koja se koristi za proizvodnju hrane te je trošak za proizvodnju i procesiranje velik. Zbog toga su počela istraživanja alternativnih sirovina te su velik interes pobudile lignocelulozne sirovine. Lignocelulozna biomasa je, kao i poljoprivredni ostaci, obnovljiv izvor energije te je također ugljično neutralan. S jedne strane, lignoceluloza je povoljnija jer ne konkuriira s tržištem hrane, dok s druge strane, zahtjeva skupocjenu

predobradu kako bi bila iskoristiva. Lignocelulozne sirovine mogu biti prevedene u više vrsta biogoriva kao što su bioplin, biovodik, bioulje i bioetanol (Putro i sur., 2016.).

Bioetanol je vrsta transportnog goriva te dodatak gorivima koji pokazuje visoku učinkovitost te pomaže u smanjenju stakleničkih plinova u zraku, posebice u odnosu na konvencionalna goriva. Za vrijeme njegove proizvodnje dolazi do minimalnog otpuštanja ugljikovog dioksida u atmosferu pri čemu doprinosi smanjenju globalnog zatopljenja (Wyman, 1996). Bioetanol je jedan od najpopularnijih vrsta biogoriva. Primarno se proizvodi iz šećerne trske, kukuruza, ali pronalazi se sve više načina kako proizvoditi bioetanol iz drvnih ostataka (Hernandez i Kafarov, 2009).

Dan i sur. (2015.) proizveli su bioetanol iz otpada drva jele (*Albies alba*) te su proveli analize uzorka kako bi dobili podatke o sastavu produkata. Odabrali su jelu kao sirovinu jer ona sadrži otprilike 70% ugljikohidrata zbog čega je iznimno pogodna za proizvodnju bioetanola. Također je analiziran sastav same sirovine i rezultati analize pokazali su da se sirovina sastoji od 46% celuloze, 24% hemiceluloze, 28,4% lignina, 0,3% pepela i 1,3% ekstraktivnih tvari. Koristili su paralelno dvije metode te su istraživali razliku u sastavu bioetanola dobivenog jednom i drugom metodom. Prva metoda koju su koristili bila je simultana saharifikacija i fermentacija (SSF), a druga je kiselinska hidroliza nakon koje slijedi fermentacije kiselinskog hidrolizata.

Drvo jele najprije je prošlo poredobradu autohidrolizom. Kruti materijal je pomiješan s vodom u reaktoru od 1L uz dodatak deionizirane vode tako da omjer krutina:voda iznosi 1:7. Takva smjesa povrgnuta je temperaturi od 190°C na tlak od 60bar na vrijeme od 10 minuta. Nakon autohidrolize slijedi korak delignifikacije. Proces se provodio pri temperaturi od 70°C, 2h i to je ponovljeno tri puta. Suspenzija je zatim profiltrirana, isprana s vodom i acetonom do neutralnog pH. Materijali koji su prošli korak delignifikacije su zatim hidrolizirani sa razrijeđenom kiselinom nakon čega je slijedila fermentacija ili ako je korištena druga metoda, materijali koji su prošli korak delignifikacije su bili direktno podvrgnuti simultanoj saharifikaciji i fermentaciji (SSF). Nakon autohidrolize, udio celuloze je iznosio 57,8%, a lignina 37,8% te samo mali dio hemiceluloze 3,3%. Zbog potrebe za smanjenjem udjela lignina, korak delignifikacije je bio neophodan te je nakon njega, količina lignina u smjesi bila neznatna.

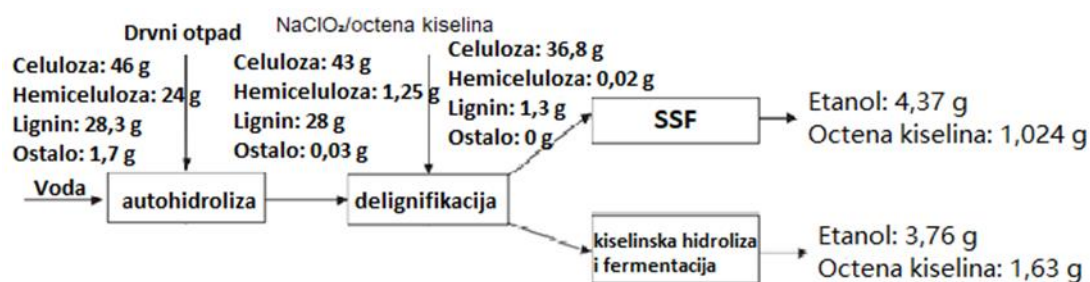
Prva metoda sadrži 2 dijela: hidroliza razrijeđenom kiselinom koju slijedi fermentacija. Kiselinska hidroliza je provodena sama u 2 koraka: obrada materijala 2% H₂SO₄ pri temperaturi od 100°C kroz 60 min i, obrada materijala 15% H₂SO₄ pri 100°C kroz 90 min.

Nakon hidrolize, tekuće frakcije su odvojene od krutih nakon čega je slijedila fermentacija. Fermentacija je provedena u tikvici od 1L u koju je preneseno 700 mL hidrolizata, 70 mL otopine hranjivih tvari te 70 mL inokuluma uz regulaciju pH=5 dodatkom NaOH. Ovaj dio procesa proveden je pri temperaturi od 30°C (zbog kvasca) kroz 72h. Najveći prinos metodom kiselinske hidrolize sa H₂SO₄ dobiven je pri korištenju 2% kiseline, 60 minuta i korištenjem 15% kiseline, 90 minuta, dok je temperatura u oba slučaja iznosila 100°C.

Druga metoda je simultana saharifikacija i fermentacija (SSF) koji je proveden u Erlenmayerovoj tikvici od 500 mL u anaerobnim uvjetima i tako je smješten na tresilicu. U tikvici za fermentaciju nalazilo se 20 mL hranjive podloge, 20 mL inokuluma pomiješanog sa puferom i enzimom Accellerase 1500 uz pH=4,8. Svi dijelovi SSF procesa provedeni su pri 45°C kroz 96 sati. Najveći prinos u SSF metodi dobiveno je pri provođenju procesa na 45°C u 94h.

Glavne komponente sirovog bioetanola su etanol i octena kiselina te niske koncentracije raznih alkohola, kiselina, estera i aldehida su prisutne. Općenito gledano, proces proizvodnje bioetanola uključuje 4 koraka: predobradu, hidrolizu, fermentaciju i destilaciju. Preodobrada autohidrolize komprimiranom vodom se provodi radi depolimerizacije hemiceluloze, dok se hidroliza celuloze provodi enzimskim putem. Zaključili su da je kiselinska hidroliza puno brža od enzimske hidrolize što predstavlja ekonomsku prednost zbog cijene kemikalija. Druge studije pokazale su kako razrijeđena kiselina znatno poboljšava hidrolizu celuloze, ali je problematična jer zahtjeva visoke temperature i neutralizaciju. Cijepanjem celuloze i hemiceluloze nastaju šećeri koji se dalje fermentiraju u etanol.

Rezultati koje su dobili pokazali su da je koncentracija etanola viša u SSF procesu (43,69 g/L) u odnosu na kiselinsku hidrolizu (37,35 g/L). Za razliku od etanola, octena kiselina pokazuje veće koncentracije kod kiselinske hidrolize (16,36 g/L) nego SSF metode (10,24 g/L).



Slika 12. Materijalne bilance proizvodnje bioetanola iz drva jele (Dan i sur., 2015)

Osim korištenja bioetanola kao gorivo, Hernandez i Kafarov (2009) istražili su nove ideje za primjenu bioetanola i to za proizvodnju električne energije. Rezultati njihovog

istraživanja pokazali su veliku efikasnost (52,6%) u odnosu na idealnu efikasnost kod korištenja tradicionalnih izvora električne energije.

2.5. Ostale mogućnosti primjene jelovine

Provedena su istraživanja o primjeni mekog drva za dobivanje proizvoda kao što su bioulje i biougljen.

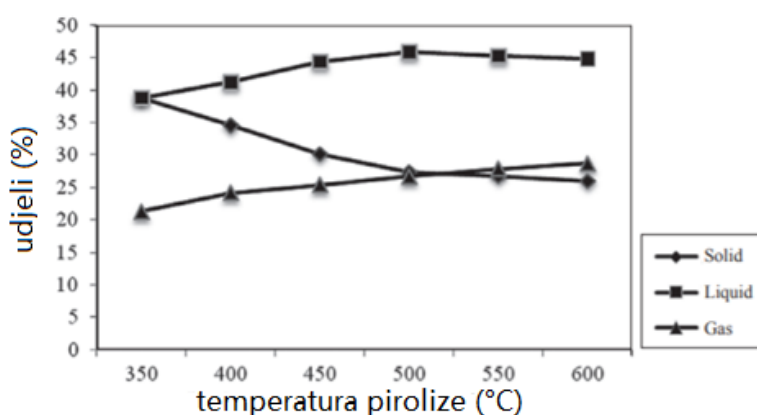
2.5.1. Bioulje

Biomasa uključuje razne prirodne materijale kao što su drvene i biljne kulture, otpadi iz drve industrije, poljoprivredni ostatci, komunalni i životinjski otpad itd. Problem nastaje jer dolazi do nagomilavanja takvih materijala pa se traže novi načini zbrinjavanja takve vrste otpada. Našao se način kako se takvi ostaci mogu iskoristiti i to za proizvodnju energije, za gorivu i kemikalije. Tako je jedna od najčešće upotrebljivanih metoda za preradu biomase u gore navedene svrhe, piroliza. Procesom pirolize dobivaju se tri glavna proizvoda: plin, bioulje i biougljen (Krička i sur., 2017).

Bioulje je homogena mješavina organskih spojeva (75-80%) i vode (20-25%). Ono se najčešće definira kao pirolizirana tekuća biomasa. To je tekućina, tamno smeđe boje s oštrim ili dimnim mirisima. Bioulje je složena smjesa spojeva dobivenih depolimerizacijom celuloze, hemiceluloze i lignina. Njegov sastav određuje više čimbenika kao što su vrsta biomase korištena za dobivanje bioulja, način predobrade te biomase, uvjeti pirolize. Bioulja se primijenjuju u kotlovima, diesel motorima, za proizvodnju električne energije te čak mogu zamijeniti i fosilna goriva (Krička i sur., 2017).

Özbay (2013) je istraživao postupak proizvodnje bioulja sporom pirolizom jelove piljevine u fiksnom reaktoru. Istraživao je koji temperaturni raspon tijekom pirolize daje najbolji prinos bioulja. Prije početka same pripreme određeni su udjeli vlage i pepela te kemijski sastav sirovine. Nakon pripreme uzoraka slijedi toplinska analiza te zatim slijedi sama piroliza. Temperatura u reaktoru je bila regulirana PID regulatorom te je bila mjerena svake minute. Uzorak od 50 g smješten je u reaktor te je počelo zagrijavanje pri čemu je početna temperatura iznosila 350, 400, zatim 450, 500, 550 i do 600°C zagrijavajući 15°C/min. Kondenzat i ugljen sakupljani su za vaganje. Prinos plina je izračunat iz razlike. Kao što je prikazano na slici 10., temperatura je imala utjecaj na kvantitativni sastav produkata pirolize (bioulje, plin i ugljen). Pri 350°C udio biougljena je dosegao maksimalnu vrijednost (38,8%) dok je sa porastom temperature prinos biougljena pada (26,5% pri 600°C). Udio bioulja je pri najnižoj temperaturi

iznosio 39,9%, a maksimalno je iznosi 46% pri temperaturi od 500°C te je pri temperaturi od 600°C došlo do pada udjela bioulja na 44,8% zbog sekundarne reakcije visokomolekularnih spojeva u pari nastaloj pirolizom koja postane aktivna na temperaturama višim od 500°C. Rezultati su pokazali da je najviša temperatura (500°C) donjela najveći prinos od 45,9%. Analiza je pokazala da su kemijska svojstva bioulja dobivena od jelove piljevine idealna za alternativna goriva te se biougljen može koristiti kao izvor energije i aktivni ugljen. Bitan parametar kod procjene kvalitete bioulja je udio kisika koji se manji u bioulju (31,23%) u odnosu na originalnu sirovinu (46,63%) što je znak da se može koristiti kao gorivo.



Slika 13. Udjeli proizvoda pirolize (Özbay, 2013.)

Tablica 7. Elementarni sastav bioulja

Komponenta	% C	% H	% O	H/C	O/C
Vrijednost	61,93	6,84	31,21	1,31	0,37

2.5.2. Biougljen

Biougljen, kao i bioulje, nastaje pirolizom. On je krutima sa visokim udjelom ugljika, a s obzirom da taj ugljik potječe iz atmosferskog ugljikovog dioksida, njegova primjena na tlu znatno pridonosi smanjenju koncentracije CO₂ kao i smanjenju emisije stakleničkih plinova kao što su N₂O i CH₄. Toplinska vrijednost biougljena dobivenog pirolizom može se usporediti s onom dobivenom iz lignita ili koksa (Krička i sur., 2017). Kao i kod bioulja, prinos i karakteristike proizvedenog biougljena ovise o načinu predobrade te samim karakteristikama korištene biomase.

3. ZAKLJUČAK

Na temelju činjenica iznesenih u ovom teorijskom radu mogu se donijeti sljedeći zaključci:

1. Lignocelulozni materijali imaju veliki potencijal za raznorazne proizvode, ali treba biti svjestan da se svakoj vrsti sirovine trebaju prilagoditi uvjeti predobrade koji su nužni za cjelokupni proces. O uvjetima predobrade ovise konačni prinosi i iskorištenje samih procesa konverzije tako da je nužno optimiranje.
2. Odabir same metode predobrade je jedan od najvažnijih parametara koje je potrebno postaviti kako bi se uspješno provodili procesi biokonverzije te kako bi se smanjili troškovi ukupnog procesa.
3. S obzirom na to da je meko drvo teško za obrađivanje, smatra se da je kemijska kiselinska predobrada sumpornom kiselinom jedna od boljih metoda, uz napomenu da se gotovo uvijek kao prvi korak koristi fizikalna obrada (usitnjavanje).
4. Bioulje i biougljen se uspješno mogu dobiti iz jelove sirovine sporom pirolizom u fiksnom reaktoru. Uspješno je dokazano da se tako dobiveno bioulje može koristiti kao gorivo.
5. Jela je jako dobra sirovina za proizvodnju bioetanola zbog velikog udjela ugljikohidrata koji se mogu fermentirati u etanol. Za proizvodnju bioetanola postoji više metoda dobivanja. SSF (simultana saharifikacija i fermentacija) i kiselinska hidroliza i fermentacija su obje uspješne metode za dobivanje bioetanola, dok se SSF pokazala malo uspješnijom od kiselinske hidrolize i fermentacije.

4. LITERATURA

Abigail Gregory, G.Paul Bolwell, 3.17 - Hemicelluloses, Comprehensive Natural Products Chemistry, Pergamon, 1999, Pages 599-615

Anonimus 1 (2021.) <https://en.wikipedia.org/wiki/Dichomitus_squalens> Pristupljeno 10.9.2021.

Anonimus 2 (2021.)

<https://en.wikipedia.org/wiki/Pinus_contorta#/media/File:Pinus_contorta_28263.JPG>

Pristupljeno 2.9.2021.

Anonimus 3 (2021.)

<https://en.wikipedia.org/wiki/Quercus_alba#/media/File:Keeler_Oak_Tree_-_distance_photo,_May_2013.jpg> Pristupljeno 2.9.2021.

Anonimus 4 (2021.)

<https://en.wikipedia.org/wiki/Abies_alba#/media/File:Abies_alba_Wis%C5%82a_1.jpg>

Pristupljeno 2.9.2021.

Anonimus 5 (2021.) < <https://prirodahrvatske.com/2020/03/22/jela-kraljica-planinskih-suma/>> Pristupljeno 2.9.2021.

Anonimus 6 (2021.)

<https://en.wikipedia.org/wiki/Stereum_hirsutum#/media/File:False_turkey-tail_-_Stereum_hirsutum_-_02.jpg> Pristupljeno 11.9.2021.

Badal C Saha, Hemicellulose bioconversion, Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, Volume 30, Issue 5, 1 May 2003, Pages 279–291

Boerjan, W., Ralph, J., & Baucher, M. (2003). Lignin biosynthesis. Annual review of plant biology, 54(1), 519-546.

celuloza. Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje. Leksikografski zavod Miroslav Krleža, 2021. Pristupljeno 15. 9. 2021.

Dan, M., Senila, L., Roman, M., Mihet, M., & Lazar, M. D. (2015). From wood wastes to hydrogen—Preparation and catalytic steam reforming of crude bio-ethanol obtained from fir wood. Renewable Energy, 74, 27-36.

drvo. Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje. Leksikografski zavod Miroslav Krleža, 2021. Pristupljeno 15. 9. 2021.

- Fengel, D., & Wegener, G. (1984). Wood: chemistry, ultrastructure. *Reactions*, 613, 1960-1982.
- French, A. D., Pérez, S., Bulone, V., Rosenau, T., & Gray, D. (2002). Cellulose. *Encyclopedia of polymer science and technology*, 1-69.
- Hatfield, R., & Vermerris, W. (2001). Lignin formation in plants. The dilemma of linkage specificity. *Plant physiology*, 126(4), 1351-1357.
- Janušić, V., Ćurić, D., Krička, T., Voća, N., & Matin, A. (2008). Predtretmani u proizvodnji bioetanola iz lignocelulozne biomase. *Poljoprivreda*, 14(1), 53-58.
- Jönsson, L. J., Alriksson, B., & Nilvebrant, N. O. (2013). Bioconversion of lignocellulose: inhibitors and detoxification. *Biotechnology for biofuels*, 6(1), 1-10.
- Karimi, K., Shafiei, M., & Kumar, R. (2013). Progress in physical and chemical pretreatment of lignocellulosic biomass. In *Biofuel technologies* (pp. 53-96). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Kim, Y., Ximenes, E., Mosier, N. S., & Ladisch, M. R. (2011). Soluble inhibitors/deactivators of cellulase enzymes from lignocellulosic biomass. *Enzyme and Microbial Technology*, 48(4-5), 408-415.
- Krička, T., Voća, N., Jurišić, V., Matin, A., Bilandžija, N., Antonović, A., & Slipčević, D. (2017). Pretvorba poljoprivrednih ostataka i energetskih kultura u energiju i proizvode dodane vrijednosti–bioulje i biougljen. *Zbornik radova*, 52, 659-663.
- Kumar, P., Barrett, D. M., Delwiche, M. J., & Stroeve, P. (2009). Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production. *Industrial & engineering chemistry research*, 48(8), 3713-3729.
- Larson, K. A., & King, M. L. (1986). Evaluation of supercritical fluid extraction in the pharmaceutical industry. *Biotechnology Progress*, 2(2), 73-82.
- Lebo Jr, S. E., Gargulak, J. D., & McNally, T. J. (2002). Lignin. *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*, 3.
- Lee, J. W., Gwak, K. S., Park, J. Y., Park, M. J., Choi, D. H., Kwon, M., & Choi, I. G. (2007). Biological pretreatment of softwood *Pinus densiflora* by three white rot fungi. *Journal of microbiology*, 45(6), 485-491.

- Li, B. Z., Balan, V., Yuan, Y. J., & Dale, B. E. (2010). Process optimization to convert forage and sweet sorghum bagasse to ethanol based on ammonia fiber expansion (AFEX) pretreatment. *Bioresource technology*, 101(4), 1285-1292.
- M.M. Alam, M. Maniruzzaman, M.M. Morshed, 7.10 - Application and Advances in Microprocessing of Natural Fiber (Jute)–Based Composites, Elsevier, 2014, Pages 243-260,
- Marchessault, R. H. (1983). PR Sundararajan in *Cellulose, The Polysaccharides*.
- McMillan, J. D. (1994). Pretreatment of lignocellulosic biomass.
- Mussatto, S. I., & Teixeira, J. A. (2010). Lignocellulose as raw material in fermentation processes.
- Nguyen, Q. A., Tucker, M. P., Boynton, B. L., Keller, F. A., & Schell, D. J. (1998). Dilute acid pretreatment of softwoods. *Applied biochemistry and biotechnology*, 70(1), 77-87.
- Özbay, G. (2015). Pyrolysis of Firwood (*Abies bornmülleriana* Mattf.) Sawdust: Characterization of Bio-Oil and Bio-Char. *Drvna industrija*, 66 (2), 105-114.
- Paladinić, E., Štimac, D., Marjanović, H., Balenović, I., & Ostrogović, M. Z. (2011). Sušenje obične jele (*Abies alba* Mill.) s proizvodnog stajališta na primjeru nekolicine bukovo-jelovih sastojina. *Šumarski list*, 135(13), 248-260.
- Putro, J. N., Soetaredjo, F. E., Lin, S. Y., Ju, Y. H., & Ismadji, S. (2016). Pretreatment and conversion of lignocellulose biomass into valuable chemicals. *RSC advances*, 6(52), 46834-46852.
- Rezić, T., Ivančić Šantek, M., Andlar, M., Pavlečić, M., & Šantek, B. (2016). Usporedba različitih tehnika proizvodnje bioetanola iz lignoceluloznih sirovina. *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam*, 11(1-2), 6-17.
- Rojith, G., & Singh, I. B. (2012). Delignification, cellulose crystallinity change and surface modification of coir pith induced by oxidative delignification treatment. *Int. J. Environ. Bioene*, 3(1), 46-55.
- Saha, B. C. (2003). Hemicellulose bioconversion. *Journal of industrial microbiology and biotechnology*, 30(5), 279-291.
- Shafizadeh, F. (1982). Introduction to pyrolysis of biomass. *Journal of analytical and applied pyrolysis*, 3(4), 283-305.

- Söderström, J., Pilcher, L., Galbe, M., & Zacchi, G. (2003). Two-step steam pretreatment of softwood by dilute H₂SO₄ impregnation for ethanol production. *Biomass and bioenergy*, 24(6), 475-486.
- Sun, Y., & Cheng, J. (2002). Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource technology*, 83(1), 1-11.
- Vasco-Correa, J., Ge, X., & Li, Y. (2016). Biological pretreatment of lignocellulosic biomass. In *Biomass fractionation technologies for a lignocellulosic feedstock based biorefinery* (pp. 561-585). Elsevier.
- Wyman, C. (1996). *Handbook on bioethanol: production and utilization*. CRC press.
- Zhao, X., Cheng, K., & Liu, D. (2009). Organosolv pretreatment of lignocellulosic biomass for enzymatic hydrolysis. *Applied microbiology and biotechnology*, 82(5), 815-827.
- Zheng, Y., Lin, H. M., & Tsao, G. T. (1998). Pretreatment for cellulose hydrolysis by carbon dioxide explosion. *Biotechnology progress*, 14(6), 890-896.

Zadnja stranica završnog rada

(uključiti u konačnu verziju završnog rada u pdf formatu, kao skeniranu potpisanu stranicu)

Izjava o izvornosti

Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mog rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Nika Peti

ime i prezime studenta