**UNIVERSITATEA ”POLITEHNICA” DIN TIMIŞOARA**

**FACULTATEA DE CHIMIE Şi INGINERIA MEDIULUI**

**Ing. MACARIE AMALIA CORINA**

**CERCETĂRI PRIVIND OBŢINEREA BIOETANOLULUI PRIN PROCEDEE INOVATIVE DE PRETRATARE ŞI HIDROLIZĂ A BIOMASEI LIGNOCELULOZICE**

**TEZĂ DE DOCTORAT**

**Conducător ştiinţific**

**Prof. Univ. Dr. Ing. Georgeta Burtica**

**TIMISOARA**

**2013**

REZUMATUL

TEZEI DE DOCTORAT

Poluarea reprezintă o problemă socio-economică deosebit de importantă, întrucât provoacă schimbări climatice, distrugerea stratului de ozon, care influenţează dezvoltări durabile ale sistemului natural şi socio-economic. Studiile efectuate asupra compoziţiei chimice a atmosferei au demonstrat că aceasta se modifică, în special datorită activităţilor umane care generează cantităţi semnificative de gaze poluante.

Cererea de biocarburanţi a înregistrat în ultimii ani creşteri semnificative, pentru că limitează emisiile poluante, astfel încât amestecarea lor cu carburanţii convenţionali atrage o combustie mai bună şi au un efect benefic prin reducerea particulelor poluante, monoxidului de carbon şi a altor poluanţi.

Bioetanolul se obţine dintr-o varietate mare de produse vegetale, cum ar fi cereale, porumb, fructe, sfeclă de zahăr, resturi vegetale, rumeguş de lemn , deşeuri de hârtie . Biomasa pe baza de lignoceluloză, cum ar fi reziduurile agricole (cocenii, paiele), rumeguşul de lemn, este un material atractiv pentru producţia de bioetanol, fiind cea mai abundentă resursă reproductibilă de pe pământ.

Biomasa lignocelulozică este alcătuită din trei compuşi principali: *celuloza* (40-50%), *hemiceluloza* (25-35%), *lignina* (15-20%) şi cantităţi mici de proteine, lipide (ceruri, uleiuri), acizi, săruri minerale. Din materialele lignocelulozice se obţine etanol prin celuloliză (hidroliză şi fermentare) sau prin intermediul unor procedee chimice: gazeificare şi fermentare sau reacţie catalitică. *Celuloza*, cum ar fi amidonul, este un polimer de glucoză. Cu toate acestea, spre deosebire de amidon, structura specifica de celuloză favorizează ordonarea lanţurilor de polimer, structuri extrem de cristaline, insolubile în apă şi rezistente la depolimerizare.
Cealaltă componentă este *hemiceluloza*, care în funcţie de specie este un polimer ramificat de glucoză sau xiloză, substituit cu xiloză, galactoză, manoză, glucoză,
sau acid glucuronic. *Lignina* este un compus chimic extrem de complex, în mod uzual fiind derivat din lemn şi de asemenea constituie partea integrală a pereţilor secundari ai celulelor plantelor. Lignina reprezintă 25-33% din masa uscată a lemnului. Este un biopolimer, foarte heterogen, iar structura primară a ei nu se cunoaşte cu certitudine.

 *Motivaţia* acestui studiu îl reprezintă stabilizarea concentraţiilor gazelor cu efect de seră (ecosistemele să se poată adapta natural, producţia alimentara să nu fie ameninţată, dezvoltarea economică să se poată desfăşura în mod durabil). Motivaţia producerii şi utilizării bioetanolului din biomasa lignocelulozică este: evitarea încălzirii globale şi reducerea gazelor cu efect de seră, până în anul 2020 cu 30% faţă de nivelurile înregistrate în 1990.

Cercetările abordate în teză au vizat în special pretratarea biomasei, întrucât această etapă este absolut esenţială pentru obţinerea bioetanolului, reprezentând aproximativ 30% din costul total al etanolului.

Teza de doctorat cu titlul “*Cercetări privind obţinerea bioetanolului prin procedee inovative de pretratare şi hidroliză a biomasei lignocelulozice*” are ca scop principal, studiul optimizării proceselor de pretratare şi hidroliză enzimatică a biomasei lignocelulozice, pentru obţinerea bioetanolului din a doua generaţie.

Obiectivul acestui studiu este eficientizarea procesului de solubilizare totală sau parţială a celulozei şi hemicelulozei din trei tipuri diferite de biomasă: lemn esenţă tare, moale şi biomasă de tip ierbos, prin designul, dezvoltarea şi optimizarea unor metode inovative de pretratare (a microundelor, prin liofilizare şi prin ultrasonare). De asemenea, s-au efectuat studii comparative asupra diferitelor procese fizice şi fizico-chimice, în vederea eficientizării acestei etape, reducerea consumului de reactivi chimici.

 Prin studii experimentale asupra mai multor tipuri de biomasă lignocelulozică (lemn esenţă moale, lemn esenţă tare şi biomasă ierboasă) s-a demonstrat că metodele de pretratare abordate prezintă următoarele avantaje:

* utilizarea exclusivă a unor reactivi ieftini;
* procesul se desfăşoară într-o singură etapă, într-un interval de timp foarte scurt;
* randamentul ridicat de obţinere a monozaharidelor (pentoze şi hexoze) din lignoceluloză.
* s-a constatat că hidroliza enzimatică a biomasei pretratate astfel, decurge cu un randament superior unei probe pretratate printr-un procedeu obişnuit.
* elimină necesitatea utilizării de echipamente speciale, anticorozive;
* ca materie primă se pot folosi mai multe tipuri de materiale lignocelulozice: biomasă ierboasă, lemn de esenţă moale, lemn de esenţă tare, în aceleaşi condiţii de reacţie (cantitate de reactivi, timp de reacţie, temperatură, presiune).

Teza de doctorat este structurată în nouă capitole şi cuprinde 165 pagini din care, prima parte (stadiul cunoaşterii) pe 56 de pagini ce reprezintă aproximativ o treime, iar cercetările proprii acoperă 109 pagini, reprezentând două treimi.

Lucrarea debutează cu prezentarea datelor de literatură în **primul capitol** şi anume “**Stadiul cunoaşterii în domeniu”** şi reprezintă o trecere succintă a biomasei, biocombustibililor şi a bioenergiei. Acest capitol cuprinde cinci subcapitole unde sunt prezentate tipurile de biocombustibili, surse de obţinere a acestora, bioetanolul celulozic şi metode de obţinere prin metoda celulolitică ( calea biologică).

**Capitolul al II-**lea intitulat “*Metode de pretratare a lignocelulozei* “ unde sunt cuprinse informaţii generale despre metode fizice de pretratare a biomasei lignocelulozice, metode chimice de pretratare a biomasei lignocelulozice, metodele combinate de pretratare şi metodele biologice.

**Capitolul III – “***Metode de hidroliză chimică”* este structurat în patru subcapitole şi este consacrat metodelor de scindare hidrolitică a celulozei. A doua etapă a procesului celulolitic de scindare a celulozei după etapa de pretratare utilizează o metodă de hidroliză chimică sau biologică.

Înlocuirea hidrolizei acide a celulozei cu o etapă de hidroliză enzimatică a reprezentat prima aplicaţie a enzimelor în procesul de obţinere a etanolului, din biomasa lignocelulozică.

Hidroliza enzimatică a biomasei lignocelulozice reprezintă cea mai avantajoasă metodă de zaharificare, fiind un procedeu foarte specific, care decurge fără reacţii secundare şi cu randament ridicat

**Partea a II-a a** tezei prezintă cercetările şi contribuţiile originale pornind de la motivaţie, scop şi obiectivele studiului, prezentate în **Capitolul IV.**

Tema părţii experimentale o reprezintă pretratamentul şi hidroliza enzimatică a biomasei lignocelulozice în vederea obţinerii bioetanolului.

**În capitolul V** “*Caracterizarea fizico-chimică a materiei prime*” sunt prezentate caracteristicile şi provenienţa materiilor prime folosite la efectuarea experimentelor şi metodele de analiză folosite pentru caracterizarea lor. În studiu s-au luat în considerare deşeuri de lemn (plop, stejar, salcâm, brad şi cânepa) care au rezultat din prelucrarea primară a lemnului de la fabricile de prelucrare a lemnului. S-a realizat caracterizarea biomasei, determinându-se: umiditatea, concentraţia metalelor în biomasa lignocelulozică,conţinutul de carbon organic total, morfologia şi compoziţia elementară a probelor.

**Capitolul VI** “*Pretratarea biomasei lignocelulozice*„ este structurat în cinci subcapitole unde sunt prezentate metodele de pretratare a biomasei lignocelulozice : pretratarea combinată cu acid şi microunde a biomasei celulozice, pretratarea combinată cu acid/bază şi liofilizare a biomasei celulozice, ultrasonarea biomasei celulozice şi hidroliza acidă. Aceste medode reprezintă tehnici inovative care prin simplitate şi eficienţă au condus la rezultate care influenţează în mod semnificativ configuraţia ulterioară a procesului tehnologic. S-a realizat caracterizarea biomasei, determinându-se: conţinutul total de solide, conţinutul de lignină şi hidraţi de carbon, compoziţia în zaharuri totale. Prima etapă în bioconversia lignocelulozei la bioetanol este reducerea mărimii şi pretratamentul. Scopul este de a distruge sau îndepărta piedicile structurale şi de compoziţie ce pot fi implicate în procesul de hidroliză, precum şi de a îmbunătăţi viteza de hidroliză a enzimelor şi de a mări randamentul de obţinere a zaharurilor fermentabile din celuloză sau hemiceluloză. Pretratamenul alterează structura celulozică a biomasei pentru a facilita accesul enzimei la conversia carbohidraţilor polimeri în zaharuri fermentabile şi de a facilita producţia de microorganisme de către celulază.

În etapa de pretratament trebuie să se urmărească atingerea următoarelor cerinţe:

* îmbunătăţirea formării zaharurilor sau a abilităţii obţinerii ulterioare a zaharurilor prin hidroliză;
* evitarea degradării sau pierderii carbohidraţilor;
* evitarea formării subproduşilor ce pot inhiba hidroliza ulterioară şi procesele de fermentare;
* eficienţa costurilor.

**Capitolul VII** “*Hidroliza enzimatică***”** este structurată în opt subcapitole. Un alt aspect ce este luat în considerare îl reprezintă hidroliza enzimatică. Cercetările desfăşurate au urmărit atât studii în care au fost atinse metode convenţionale cât şi elaborarea şi dezvoltarea unei metode inovatoare de hidroliză, în care s-a *utilizat pentru prima dată un consorţiu de microorganisme complet nou, ce reprezintă gradul de noutate al acestei teze de doctorat*. Rezultatele analizei comparative a demonstrat eficienţa crescută a noului consorţiu microbian, randamentul obţinut fiind mai bun decât în cadrul metodelor convenţionale. *Un alt grad de noutate* al acestei teze de doctorat este dat de Utilizarea enzimelor obţinute din microorganisme din rumen

Microorganismele utilizate pentru inocularea mediilor de cultură au fost: *Trichoderma reesei*, *Zymomonas mobilis* şi *Butyrivibria fibrisolvens*. Obţinerea enzimelor de degradare a celulozei şi hemicelulozei din culturi de microorganisme în condiţii anaerobe cât şi aerobe. Mediile de cultură, pentru a fi corespunzătoare, trebuie să îndeplinească câteva condiţii: *s*ă *con*ţ*in*ă *substan*ţ*e plastice* ş*i energetice* necesare cultivării microbului însămânţat, adică să asigure surse de azot, de hidraţi de carbon, de săruri minerale, de apă, de vitamine şi factori de creştere necesari dezvoltării şi reproducerii celulelor bacteriene, *s*ă *satisfac*ă *cerin*ţ*ele de aerobioz*ă *sau anaerobioz*ăale agentului, ţinând cont de faptul că în timp ce bacteriile aerobe pot folosi oxigenul molecular, cele anaerobe nu se pot dezvolta în prezenţa oxigenului liber, *s*ă *aib*ă *o concentra*ţ*ie de ioni de hidrogen* (pH) optimă şi *s*ă *fie sterile*, pentru a permite izolarea în cultură pură a germenului respectiv. Metabolizarea compuşilor organici macromoleculari la nivelul celulei microbiene constă în descompunerea celulozei şi hemicelulozei, degradarea substanţelor pectice, descompunerea lipidelor, degradarea acizilor nucleici, degradarea chitinei şi transformarea protidelor. Capacitatea enzimelor de a creşte de până la 1014 ori viteza unei reacţii, condiţiile blânde de acţiune, specificitatea şi posibilitatea de reglare a activităţii, constituie un avantaj major al acestora.

Pentru hidroliza celulozei au mai fost utilizate două enzime: Accelerase 1000 de la Genencor şi Celluclast 1.5L de la Novozyme. Au fost investigaţi parametrii care influenţează reacţia de hidroliză: tipul de biomasă, raportul enzimă, substratul, temperatura şi pH-ul.

*Studiul comparativ asupra eficienţei tipurilor de pretratare a biomasei lignocelulozice* a fost efectuat în scopul de a îmbunătăţi eficienţa hidrolizei enzimatice a biomasei lignocelulozice. Liofilizarea în mediu alcalin a biomasei îmbunătăţeste semnificativ randamentul de zaharuri libere şi trebuie privită ca un element-cheie în transformarea biochimica a lignocelulozei. *Mărimea particulelor* are o influenţă semnificativă asupra reacţiei de hidroliză enzimatică.

**În capitolul VI „** *Studiu economic”* prezintă importanţa procesului de pretratare care influenţează în mod semnificativ eficienţa şi configuraţia ulterioară a procesului tehnologic.

Etapa de pretratare este esenţială pentru obţinerea bioetanolului prin fermentarea biomasei, întrucât aceasta reprezinţă aproximativ 30% din costul total al etanolului. O pretratare eficientă este caracterizată de mai multe criterii. Se evită astfel nevoia de a reduce dimensiunea particulelor de biomasă, păstrează fracţiuni de pentose (hemiceluloză), limitează formarea produşilor de degradare care inhibă creşterea de microorganisme fermentative, minimizează cererile de energie şi a costurilor. Rezultatele pretratării trebuie să fie în balanţă cu impactul acestora asupra costului etapelor de prelucrare şi de compromis între cheltuielile de funcţionare, costurile de capital, precum şi costurile de biomasă.

În cazul tehnologiilor de producere a bioetanolului din biomasa celulozică, trebuie luate în considerare şi cheltuielile legate de achiziţionarea enzimelor necesare în procesele de hidroliză. Cu toate acestea, costurile reale sunt estimate pentru că există o strânsă dependenţă de tipul materiei prime utilizate.

În elaborarea strategiilor pentru biocombustibili este necesar să se ţină seama însă şi de *ameninţări şi oportunităţi*. Ca ameninţări, mai importante se consideră: incertitudini pe termen lung privind cererea şi preţul ofertei, atât pentru biomasă cât şi pentru biocombustibili, dezvoltarea unor opţiuni potenţial concurente pentru transport (vehicule electrice, cele propulsate cu hidrogen etc).

Costurile aferente producerii etanolului pot fi estimate, datorită unei mari varietăţi de materie primă, tipul tehnologiei de producere şi practicile din agricultură, fiind determinate în mare măsură de costul materiei prime, care poate constitui până la 50-80% din costul final.

Încurajând folosirea bioetanolului, economia rurală va primi un sprijin pentru creşterea recoltelor necesare. Bioetanolul este biodegradabil şi mult mai puţin toxic decât combustibilii fosili. În plus, prin folosirea bioetanolului în motoarele mai vechi se poate reduce cantitatea de monoxid de carbon produs de vehicule, astfel îmbunătăţindu-se calitatea aerului.

Alt avantaj al bioetanolului este uşurinţa cu care poate fi integrat în sistemul combustibililor pentru transportul rutier existent. În cantităţi mai mari de 5%, bioetanolul poate fi amestecat cu combustibili convenţionali, fără să fie nevoie de modificări ale motoarelor.

Obţinerea bioetanolului din surse vegetale regenerabile, de natură celulozică, utilizat ca adaos în combustibili, se află în concordanţă cu preocupările existente în prezent pe plan internaţional, privind înlocuirea combustibililor clasici.

În cadrul fiecărui capitol sunt prezentate concluziile parţiale , iar în **Capitolul IX** se regăsesc concluziile finale asupra problematicii dezbătute în teza de doctorat. Concluziile argumentează îndeplinirea obiectivelor propuse şi deschiderea unor noi perspective de cercetare în domeniul biochimiei, dar şi conexe.