

Bioetanol iz odpadnega kruha

Izvelek

V iskanju čistih in obnovljivih virov energije se je razvila druga generacija biogoriv, kot je bioetanol, ki se poskusno pridobiva iz različnih rastlinskih ostankov in lesne biomase. Bioetanol pridobivamo z razgradnjo kompleksnih ogljikovih hidratov do fermentabilnih sladkorjev in nato fermentacijo le-teh do etanola. Bogat vir ogljikovih hidratov je tudi odpadni kruh. Količina neprodanega kruha se giblje okrog 10 % in večina ga konča v bioplinarnah. Namen raziskave je bil ugotoviti, ali je škrob odpadnega kruha mogoče hidrolizirati do fermentabilnih sladkorjev z uporabo ječmenovega slada kot vira hidrolitskih encimov. V vsak vzorec, v katerem je bilo 80 g kruha in 500 ml vode, je bilo dodanega 10 g, 20 g, 30 g, 40 g in 50 g ječmenovega slada. Encimska hidroliza se je začela pri temperaturi 50 °C in končala pri temperaturi 80 °C. Dvema vzorcema so bili nakn adno dodani tehnični amilolitični encimi. Alkoholna fermentacija je potekala 7 dni pri sobni temperaturi s kvasovkami *Saccharomyces cerevisiae*. Povprečna koncentracija alkohola kruha v suspenziji je bila 4,2 vol. % oz. 319 g alkohola/kg suhega substrata. Po količini alkohola sta izstopala vzorca z dodanimi tehničnimi encimi, v katerih je bilo izmerjenega 7,6 vol. % alkohola kruha oz. 563 g alkohola/kg suhega substrata in 6,5 vol. % alkohola kruha oz. 512 g alkohola/kg suhega substrata.

Ključne besede: bioetanol, hidroliza, ječmenov slad, odpadni kruh, škrob

Bioethanol production from bread waste

Summary

*In search for pure and renewable sources of energy a second generation of biofuels has been developed; one of such biofuels is bioethanol, which is experimentally gained from different plant residues and wood biomass. Bioethanol is gained with breaking complex carbohydrates into fermentable sugars which are fermented into ethanol. Bread waste is also a rich source of carbohydrates. The amount of unsold bread is about 10 % and most of it ends up in biogas plants. The goal of the research was to find out if the starch in bread waste can hydrolyse into fermentable sugars with the use of barley malt as the source of hydrolytic enzymes. 10 g, 20 g, 30 g, 40 g, and 50 g of barley malt were added to every sample (80 g of bread and 500 ml of water). Hydrolysis started at the temperature of 50°C and ended at the temperature of 80 °C. Two samples also received technical amylolytic enzymes after that. Alcohol fermentation lasted for 7 days in a room temperature, with yeasts *Saccharomyces cerevisiae*. The average alcohol concentration of bread in the suspension was 4.2 vol % or 319 g of alcohol / kg of dry substrate. The samples which received technical enzymes stood out – they had 7.6 vol % of alcohol in bread or 563 g of alcohol / kg of dry substrate and 6.5 vol. % of alcohol in bread or 512 g alcohol / kg of dry substrate.*

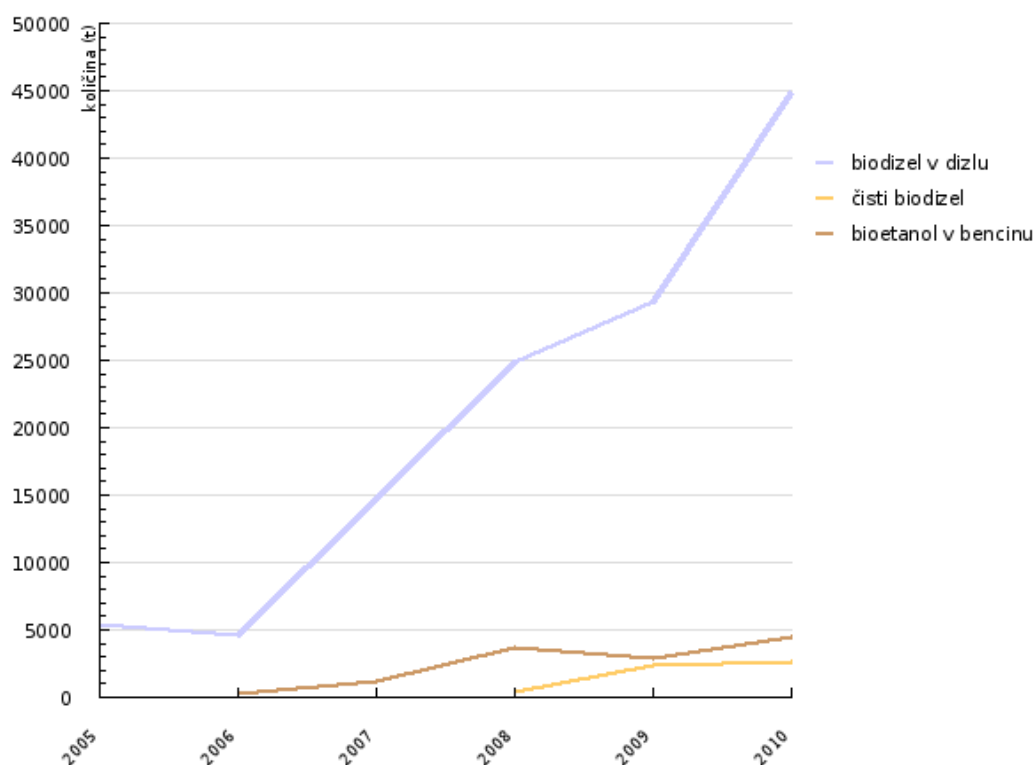
Key words: barley malt, bioethanol, bread waste, enzyme hydrolysis, starch

1 Pregled objav

Po podatkih Evropske agencije za okolje (2011) je prometni sektor najhitreje rastoči energetske porabnik in to kljub izboljšanju energetske učinkovitosti vozil. Omejene zaloge, rastoče cene in negativen vpliv fosilnih goriv na okolje spodbujajo k neprestanemu iskanju čistejših in obnovljivih virov energije, ki so tudi ekonomsko upravičeni. Rezultat teh prizadevanj naj bi bilo postopno, a sistematično vzpostavljanje energetskega sistema z uporabo biogoriv.

Najbolj uveljavljeni motorni biogorivi sta biodizel in bioetanol. Oznaka bio zgolj poudari biološki izvor goriva. Prvi se lahko uporablja tako v mešanici z dizlom kot čisti ali 100 % biodizel. Tudi bioetanol se lahko uporablja ali v mešanici (oznaka E85 pomeni 85 % bioetanola in 15 % bencina) ali kot čisti bioetanol (Debeljak, 2008).

V Sloveniji ni rafinerij za proizvodnjo motornega bencina in se tudi ne izdeluje biogoriv, primernih za mešanje z motornim bencinom. Proizvodnja biodizla je v porastu. Z oljno ogrščico je bilo v letu 2010 v Sloveniji posejanih skoraj 3-krat več površin kot v letu 2005. Leta 2010 je bila posejana na 6.464 ha, kar je ob pridelku 15.518 ton omogočilo proizvodnjo dobrih 5.000 ton biodizla. Biodizel je proizvajal le en registrirani proizvajalec, ki je proizvedel 20.561 ton biodizla iz oljne ogrščice, pridelane na kmetijskih površinah v Sloveniji, poleg tega pa je bila uporabljena še uvožena surovina (ARSO, 2011).



Slika 1: Raba biogoriv v dizelskem gorivu in motornem bencinu v Sloveniji
Vir: Raba biogoriv v gorivih v transportnem sektorju v Republiki Sloveniji v letih 2005–2010, Agencija Republike Slovenije za okolje

Osnovna surovina za biodizel je olje, ki se pridobiva s hladnim stiskanjem oljne ogrščice ali sončnic. Kot alternativa se lahko uporabljajo še odpadna jedilna olja in maščobe živalskega porekla.

Bioetanol se pridobiva iz surovin, ki vsebujejo celulozo, škrob ali sladkor. V svetu se za predelavo v bioetanol največ uporabljajo različna žita, sladkorna in krmna pesa, sladkorni trs, krompir, itd. Vodilni svetovni proizvajalki sta ZDA in Brazilija, ki v bioetanol predelata milijone ton sladkorja. Predelava sladkornega trsa in sladkorne pese zaradi velike vsebnosti sladkorja predstavlja kar 87,1 % svetovne proizvodnje bioetanola v letu 2011 (Wikipedia).

Prva generacije biogoriv (agrogoriva) je sporna, saj ima negativne učinke na biotsko raznovrstnost, varstvo voda in prsti, globalne spremembe rabe tal, zviševanje cen hrane itd. Zato se raziskave usmerjajo na drugo generacijo biogoriv, za katere se kot surovina uporabljajo odpadki ter pridelovalni in predelovalni ostanki rastlin, kot so lesni odpadki, slama, trava, pogača po stiskanju sadja, netopen ostanek slada po varjenju piva, ipd. (Awolu et al., 2011). Uporaba teh surovin bo zmanjšala konflikte interesov, ki nastajajo ob uporabi kmetijskih površin za proizvodnjo biogoriv namesto za pridobivanje hrane in krme.

Proizvodnja bioetanola temelji na alkoholni fermentaciji sladkorja in čiščenju nastalega alkohola do koncentracije 96 vol. % s pomočjo kolonske destilacije. Postopek fermentacije je najpreprostejši z uporabo sladkor vsebujočih surovin kot so sladkorni trs, sladkorna pesa in melasa. Pri predelavi škrobnih surovin kot so žita in krompir pa škrob najprej s kislinsko ali encimsko hidrolizo razgradijo do sladkorja. Nastalo glukozo kvasovke z lahkoto fermentirajo do etanola. Za razliko od omenjenih dveh postopkov pa je pridobivanje bioetanola druge generacije bolj kompleksno. Lignocelulozna biomasa iz kmetijskih in lesnih rastlinskih ostankov je sestavljena tudi iz polimerov slabo fermentabilnih pentoz (ksiloz, arabinoza). Od skupne suhe snovi lignocelulozna biomasa vsebuje 50 – 80 % ogljikovih hidratov in od teh je kar 15 – 40 % pentoz. Raziskave potekajo v smeri iskanja učinkovitih encimov za razgradnjo lignoceluloze do fermentabilnih sladkorjev v manj ugodnih pogojih in iskanja mikrobioloških kultur, sposobnih proizvodnje alkohola tudi v industrijskem merilu. Biotehnološki proces, to je proces z uporabo encimov in mikroorganizmov, je v primerjavi s klasično kislinsko hidrolizo polimerov sladkorja učinkovitejši in prijaznejši do okolja (NEMO, 2012).

Za pridobivanje bioetanola so ekonomsko upravičene tiste surovine, ki vsebujejo znaten delež sladkorja in/ali škroba, zato v svetu še vedno narašča delež kmetijskih površin namenjenih gojenju rastlin za pridobivanje biogoriv. Razvoj tehnologije in uporaba druge generacije biogoriv bo ne samo izboljšala razpoložljivost kmetijskih površin v prid gojenju rastlin za hrano in krmo, ampak bo dvignila tudi izkoristljivost rastline za pridobivanje bioetanola. Na primer sladkor, ekstrahiran iz sladkornega trsa, predstavlja dobrih 30 % kemične energije, shranjene v odrasli rastlini, ki se uporablja za prvo generacijo bioetanola. Predelovalni odpadek, ki po žetvi in po stiskanju sladkornega trsa sedaj ostane neizkoriščen, predstavlja skoraj 70 % oz. glavnino kemične energije, shranjene v obliki celuloze in hemiceluloze, ki ju je mogoče razgraditi do fermentabilnih sladkorjev (Ibeto et al., 2011). Etanol iz rastlinske biomase je zanimiv tudi zaradi nizkega ogljičnega odtisa. Koruzni etanol v zrak izpušča 22 % manj toplogrednih plinov kot bencin, etanol sladkornega trsa 56 % manj in etanol iz celuloze 91 % manj (ENERGAP, 2008).

Pridobivanje bioetanola druge generacije še ne poteka v komercialnem merilu, tehnološko pa je že v pilotni fazi (IEA, 2010). Najintenzivnejše raziskave tečejo v državah proizvajalkah bioetanola (ZDA, Brazilija, Mehika) in v tistih, kjer se srečujejo z velikimi količinami specifičnih rastlinskih predelovalnih odpadkov, kot je denimo 4 milijone ton koščic letno pri predelavi oliv v Španiji (Ibeto et al., 2011).

Raziskava, opravljena v Južni Koreji je pokazala, da je bioetanol mogoče pridobivati tudi iz ostankov hrane, ki sicer predstavljajo okoljski problem (Le Man et al., 2010). V Evropi se ostanki hrane večinoma predelujejo v bioplinarnah, kjer se skupaj z energetskimi rastlinami, rastlinskimi odpadki in odpadki živalskega izvora zmešajo z gnojivko v substrat, iz katerega med anaerobno fermentacijo nastaja bioplin (Navickas, 2007). Med ostanke hrane, ki se znajdejo v bioplinarnah, sodi tudi odpadni kruh, ki je v primerjavi s kuhinjskimi odpadki specifičen. Ker sodi med škrobna živila z znatno energijsko vrednostjo in možnostjo ločenega zbiranja, je smiselno preveriti njegovo uporabnost pri pridobivanju bioetanol.

Kruh ima pomembno mesto v vsakodnevni prehrani. Ima tudi simboličen pomen. Ravnanje s kruhom kaže na naš odnos do hrane. Dejstva o količinah neprodanega in pekarnam vrnjenega kruha govorijo o slabostih potrošniške družbe. Kuhar navaja (2011), da je po podatkih Sekcije za pekarstvo količina vrnjenega oz. neprodanega kruha iz trgovin 12.000, po nekaterih podatkih pa celo do 15.000 ton letno, kar lahko primerjamo z 1/3 doma pridelane pšenice ali do 1,5 meseca nepotrebnega dela v slovenskih pekarnah. Kruh je edino neprodano živilo, ki se v celoti vrača nazaj do proizvajalcev. Iz Gospodarske zbornice Slovenije poročajo, da se količina neprodanega kruha giblje okrog 10 % dnevne proizvodnje. S problemom vrnjenega kruha se ukvarjajo pekarnarje same. Rešujejo ga s prodajo po močno znižani ceni za krmo živalim, ostalega odvažajo v bioplinarne.

Industrija uporablja žitni škrob kot poceni surovino za pridobivanje etanola. Tudi suha snov kruha vsebuje precejšen delež škroba, saj ima kruh podobno kemijsko sestavo kot pšenična moka. Vendar se fizikalne in kemijske lastnosti škroba tekom izdelave kruha spremenijo. Med gnetenjem nastane beljakovinska mreža lepka, v katero se ujamejo škrobna zrna in ki amilolitičnim encimom preprečuje dostop do škroba. V skorji tekom Maillardove reakcije nastane kompleks sladkorjev, vezanih z aminokislinam in ti sladkorji so verjetno nedostopni kvasovkam. Po drugi strani pa se škrob med vzhajanjem testa že delno razgradi zaradi delovanja lastnih encimov. Med peko škrob zakleji in takšen je bolj občutljiv za hidrolizo kot nezaklejen (Ebrahimi et. al, 2008).

Namen raziskave je bil ugotoviti ali je škrob odpadnega kruha mogoče hidrolizirati do fermentabilnih sladkorjev z uporabo ječmenovega slada kot vira hidrolitskih encimov. Kruh je škrobno živilo z znatnim deležem ogljikovih hidratov in od tega majhnim deležem celuloze, če gre za bele ali polbele vrste kruha.

Tabela1: Kemična sestava polbelega kruha v %

voda	beljakovine	maščobe	ogljikovi hidrati	celuloza	pepel	kcal / 100g
31,7	9,4	2,0	55,1	0,2	1,6	283

Vir: Nježić, 2010

Za encimsko hidrolizo škroba do fermentabilnih sladkorjev je bil izbran ječmenov slad, ker vsebuje cel paket potrebnih encimov za razgradnjo substrata do enostavnih molekul: celulaže, proteaze in amilaze. Encimska hidroliza substrata je potekla pri pogojih, ki zagotavljajo največjo encimsko aktivnost. Po končani razgradnji škroba so bile dodane kvasovke za alkoholno fermentacijo. Količina alkohola je bila izmerjena z laboratorijsko destilacijsko napravo.

2 Material in metode

2.1 Oprema in pripomočki

Vodna kopel za encimsko hidrolizo, refraktometer za določanje deleža topne suhe snovi, analitska tehtnica, steklene posode z gumijastim čepom in cevko za zagotovitev anaerobnih pogojev, pH meter, laboratorijska destilacijska naprava za destilacijo fermentiranega substrata in alkoholmeter $0 - 10 \pm 0,5$ vol %.

2.2 Vzorec

Vzorec je bil odpadni kruh iz šolske menze, posušen pri temperaturi $50\text{ }^{\circ}\text{C}$, nato zmlet in presejan.

2.3 Reagenti

Grobo mlet ječmenov slad (Chateau Pilsen 2RP), encimski dodatek za razgradnjo škroba SIHA Panzym F2, ki vsebuje amiloglukozidaze, encimski dodatek za utekočinjanje drozge SIHAZYM SupraMash, prehranski dodatek za kvasovke Siha vrelna sol PLUS, suhe kvasovke za destilate SIHA Aktiv 6, jodovica za ugotavljanje prisotnosti škroba, raztopina citronske kisline za uravnavanje pH.

2.4 Encimska hidroliza

V vsak vzorec s po 80 g kruha in 500 ml vode je bilo dodanega 10 g, 20 g, 30 g, 40 g in 50 g ječmenovega slada. Paralelkama vzorcev z 20 g in 40 g ječmenovega slada je bilo pred segrevanjem dodanega po 0,05g/kg encimskega pripravka SIHAZYM SupraMash. V kontrolnih vzorcih so bile enake količine ječmenovega slada in vode. Pred začetkom segrevanja je bila vsem vzorcem izmerjena topna suha snov v °brix. Encimska hidroliza je potekala pri temperaturah $50\text{ }^{\circ}\text{C}$, $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ in $80\text{ }^{\circ}\text{C}$, vsakič po 30 minut. Suha snov v °brix je bila izmerjena pri temperaturah $50\text{ }^{\circ}\text{C}$, $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ in $80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po hlajenju na $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ se je v vzorcih ugotavljala prisotnost škroba. Paralelki vzorca z 10 g ječmenovega slada je bilo dodanega 0,25 ml/l Panzyoma F2, paralelki vzorca s 50 g ječmenovega slada je bilo dodanega 0,05 g/kg encimskega pripravka SIHAZYM SupraMash in 0,25 ml/l SIHA Panzym F2.

2.5 Fermentacija

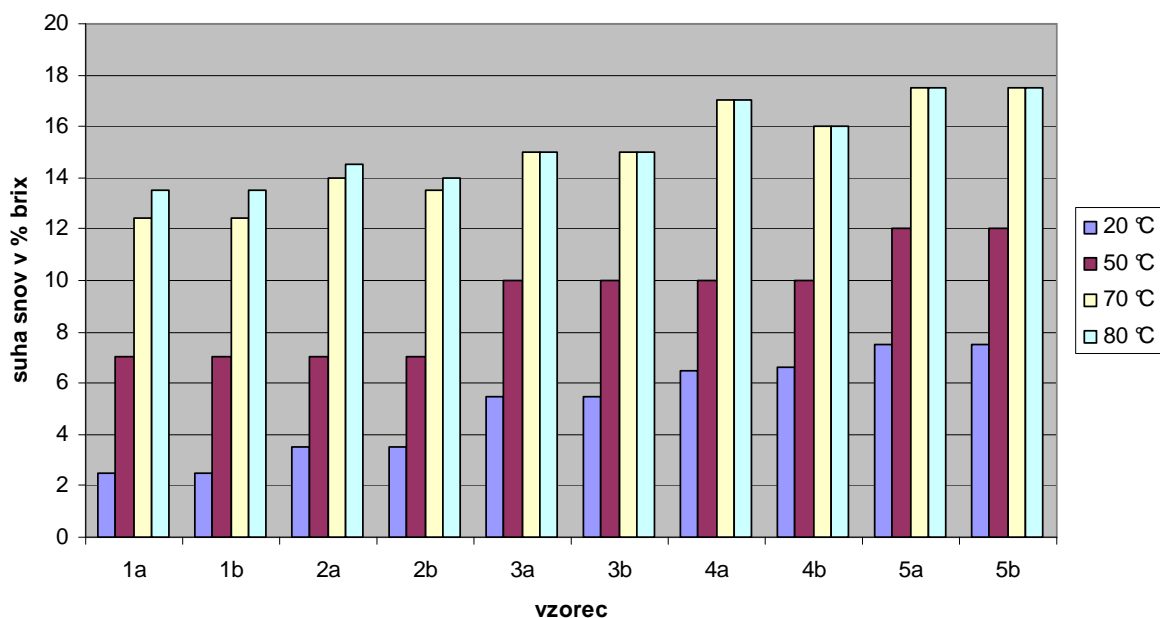
Vsem vzorcem je bil z raztopino citronske kisline pH uravnan na 4,5 – 5. Po navodilih proizvajalca so bile vzorcem dodane kvasovke v količini 0,25g/l in po navodilih proizvajalca predhodno aktivirane ter vrelna sol v količini 0,5 g/l.

Alkoholna fermentacija je potekala 7 dni pri sobni temperaturi. Po končani alkoholni fermentaciji je bila v vzorcih izmerjena suha snov v % brix.

2.6 Določanje vsebnosti alkohola

V bučko destilacijske naprave se odmeri 50 ml na 20 °C temperiranega vzorca, doda 50 ml destilirane vode in destilira do minimalnega destilacijskega ostanka. Destilat se lovi v 100 ml merilno bučko in z destilirano vodo dopolni do oznake. Koncentracija alkohola v vol % je bila merjena z alkoholmetrom.

3 Rezultati in razprava



Slika 2: Vsebnost sladkorja pri različnih temperaturah encimske hidrolize

Slika 2 prikazuje naraščanje koncentracije topne suhe snovi v suspenziji med potekom hidrolize škroba v petih različnih vzorcih in njihovih paralelkah. Ječmenov slad v suspenziji še pred pričetkom hidrolize, to je pri 20 °C, s svojim sladkorjem že prikaže določeno vsebnost topne suhe snovi in sicer v vrednostih od 2,5 % pa do 7,5 % brix, odvisno od količine dodanega slada, to je 10 g, 20 g, 30 g, 40 g in 50 g slada na 80 g krušnih drobtin. Med samo hidrolizo, ki je potekala do temperature 80 °C, se razgradi še škrob ječmenovega slada, ki prav tako doprinese k skupni vsebnosti topne suhe snovi. Skupna topna suha snov, merjena v % brix in za katero se predvideva, da jo v večini predstavljajo fermentabilni sladkorji, je seštevek produktov encimske hidrolize tako slada kot tudi škroba iz odpadnega kruha. Skupna suha snov se po končani hidrolizi giblje od 13,5 do 17,5 % brix.

Tabela 2: Stopnja razgradnje škroba

Vzorec	1a	1b	2a	2b	3a	3b	4a	4b	5a	5b
Jodni test	+	+	±	±	±	±	-	-	-	-

Legenda:

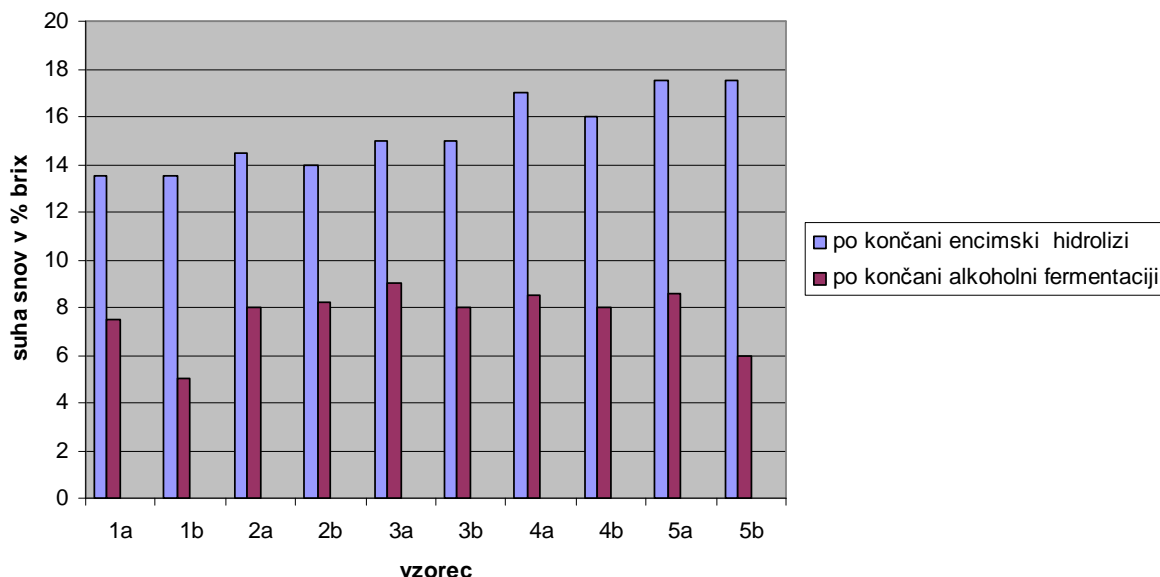
+ modro obarvanje, škrob je prisoten

± sledi modre barve, škrob je deloma razgrajen

- rumena barva jodovice, škrob je razgrajen

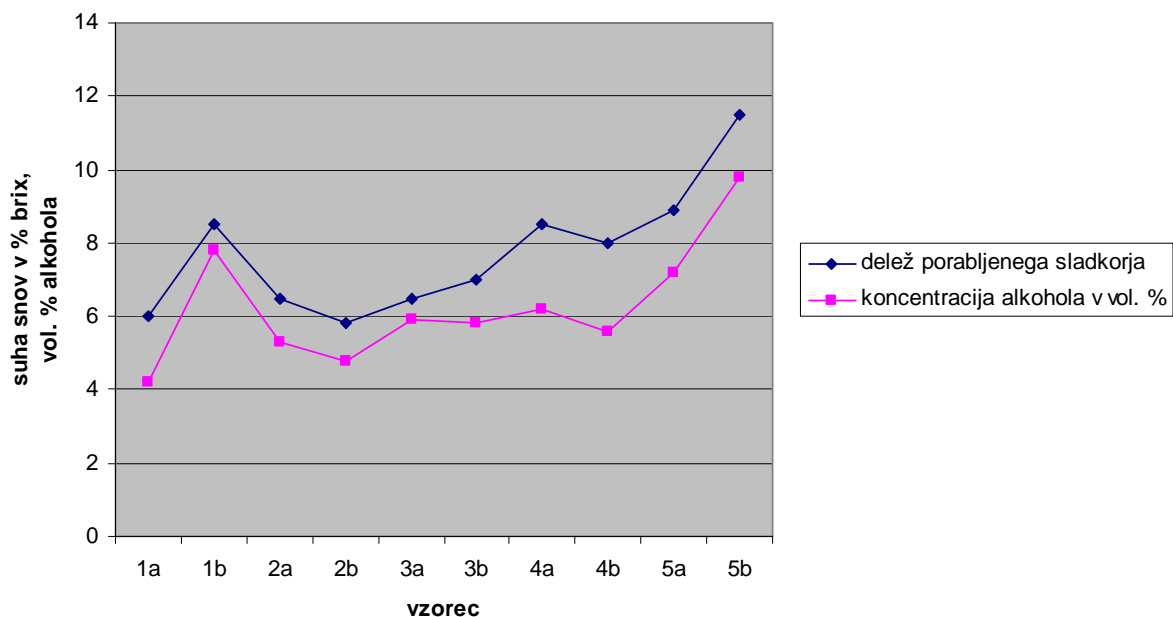
Jodni test je preprosta metoda dokazovanja prisotnosti škroba, pri katerem se škrob ob stiku z jodovico obarva modro. Encimska hidroliza je potekala pri temperaturah 50 °C, 60 °C, 70

°C in 80 °C, vsaki č po 30 minut istočasno v vseh vzorcih. Po končani encimski hidrolizi je jodni test pokazal, da je v vzorcih 1a in 1b škrob še prisoten. Vzorca sta imela najmanjši delež ječmenovega slada, to je 10 g na 80 g suhega kruha. Tudi v vzorcih od 2a do 3b je jodni test kazal na prisotnost delno razgrajenega škroba. V vzorcih 2a in 2b je bilo 20 g slada, v vzorcih 3a in 3b pa 30 g slada na 80 g suhega kruha. Delež dodanega ječmenovega slada je še vedno prenizek za popolno hidrolizo celokupnega škroba. V vzorcih od 4a do 5b je bil jodni test negativen, kar pomeni, da je bil škrob v celoti razgrajen. 40 g slada na 80 g suhega kruha je tista količina, ki zadošča za popolno razgradnjo škroba.



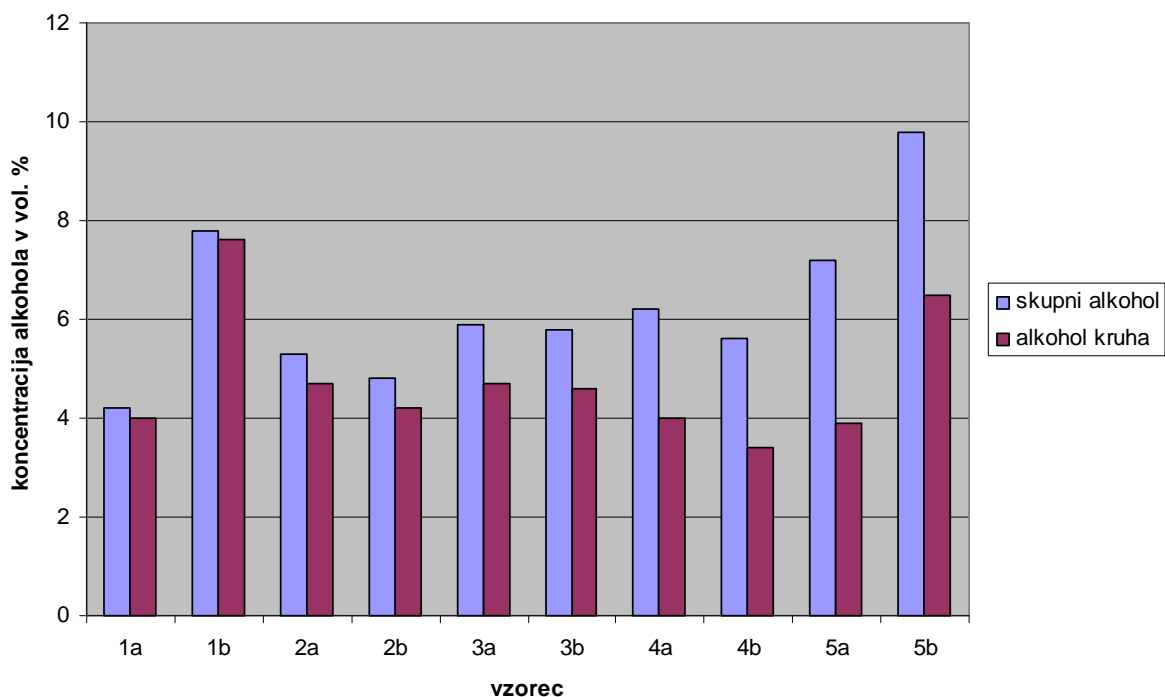
Slika 3: Vsebnost skupne topne suhe snovi po končani encimski hidrolizi in po končani alkoholni fermentaciji

Skupna topna suha snov je po alkoholni fermentaciji upadla za fermentabilni delež suhe snovi. Največja razlika med vsebnostjo topne suhe snovi po končani hidrolizi in po končani alkoholni fermentaciji je nastala pri vzorcih 1b in 5b. Samo tema dvema vzorcema so bili po končani hidrolizi dodani encimi amiloglukozidaze.



Slika 4: Razmerje med porabljenim sladkorjem in nastalim alkoholom

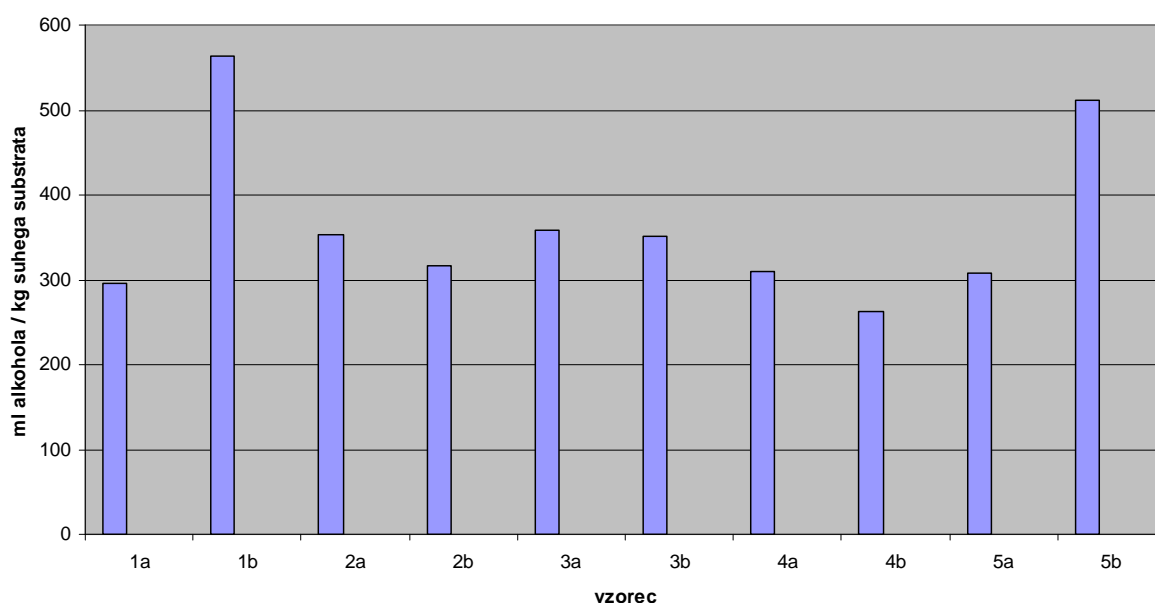
Največja koncentracija alkohola je bila ugotovljena v vzorcih 1b in 5b, katerima so bili dodani encimi amiloglukozidaze. Vzorec 1b je vseboval 7,8 vol. %, vzorec 5b pa 9,8 vol % alkohola.



Slika 5: Primerjava med skupnim alkoholom in alkoholom kruha

Ječmenov slad je bil dodan z namenom, da bi njegovi encimi škrob odpadnega kruha razgradili do sladkorjev. Pri tem se do sladkorjev razgradi tudi škrob, ki je v sladu. Da bi izvedeli, koliko alkohola doprinese škrob odpadnega kruha, je od skupnega alkohola potrebno odšteti alkohol ječmenovega slada. V primerjavi s skupnim alkoholom je absolutno in relativno največji pridobitek alkohola odpadnega kruha ugotovljen v vzorcu 1b. Vzorec 1b

se od vzorca 1a razlikuje le v dodatku amiloglukozidaz po končani hidrolizi z ječmenovim sladom. Test z jodovico je v vzorcih 1a in 1b, to je vzorcih z najmanjšim deležem slada, pokazal prisotnost škroba še po končani encimski hidrolizi. Delež ječmenovega slada v vzorcu je bil premajhen za popolno razgradnjo škroba. Dodani encimi so prisotni škrob v vzorcu 1b naknadno razgradili in s tem povečali vsebnost sladkorjev, ki so pripomogli k večji koncentraciji alkohola. Prav tako se tudi vzorec 5b od vzorca 5a razlikuje le v dodatku amiloglukozidaz po končani hidrolizi z ječmenovim sladom. Test z jodovico je pokazal, da škrob po encimski hidrolizi s sladom v nobenem od teh dveh vzorcev ni več prisoten, pa vendar je dodatek amiloglukozidaz poskrbel za večji delež fermentabilnih sladkorjev v vzorcu 5b, saj je bila po fermentaciji v njem izmerjena znatno večja koncentracija alkohola v primerjavi z vzorcem 5a.



Slika 6: Količina pridobljenega alkohola kruha v ml/kg suhega kruha

Povprečna koncentracija alkohola odpadnega kruha v suspenziji je 4,2 vol. %. Povprečna absolutna količina alkohola odpadnega kruha, pridobljenega s pomočjo encimov ječmenovega slada je 319 ml/kg oz. 252 g /kg suhega vzorca odpadnega kruha. Rezultat je sicer nižji, a še vedno primerljiv z rezultatom raziskave, o kateri poroča Ebrahimi (e tal., 2008). Za encimsko hidrolizo škroba iz odpadnega kruha so uporabili termostabilne α -amilaze in amiloglukozidaze in pridobili 350 g alkohola na kg suhega odpadnega kruha. Vzorca 1b in 5b, ki jima je bil dodan odmerek amiloglukozidaz, izstopata po količini nastalega alkohola. V vzorcu 1b je bilo izmerjeno 7,6 vol. % alkohola kruha oz. 563 ml/kg ali 445 g/kg suhega odpadnega kruha. V vzorcu 5b je bilo izmerjeno 6,5 vol. % alkohola kruha oz. 512 ml/kg ali 404 g/kg suhega odpadnega kruha. Povprečni pridobitek alkohola teh dveh vzorcev torej znaša 537 ml/kg ali 424 g/kg suhega odpadnega kruha in je za 68 % večji od povprečja ostalih vzorcev.

4 Zaključek

Rezultati raziskave kažejo, da je z ječmenovim sladom mogoče izvesti encimsko hidrolizo škroba, ki izvira iz odpadnega kruha. Za popolno encimsko hidrolizo škroba potrebujemo mešanico ječmenov slad : odpadni kruh v razmerju 1 : 2 v pogojih kot so bili določeni v

raziskavi. Povprečna koncentracija alkohola kruha v suspenziji je bila 4,2 vol. % oz. 319 g/kg suhega odpadnega kruha.

Po količini alkohola sta izstopala vzorca z dodanimi tehničnimi amiloglukozidazami. Pridobitek alkohola v teh dveh vzorcih v povprečju znaša 537 ml/kg suhega kruha in je za 68 % večji od povprečja ostalih vzorcev.

Kombinirana uporaba ječmenovega slada kot vira hidrolitičnih encimov za razgradnjo škroba in naknaden dodatek amiloglukozidaz ob začetku alkoholnega vrenja je prispevala k nepričakovano velikemu pridobitku alkohola, zato je smiselno nadaljevati z raziskavami na tem področju.

Literatura in viri

Agencija Republike Slovenije za okolje. Uvajanje alternativnih vrst goriv v promet. 2011. Dostopno na naslovu http://kazalci.arso.gov.si/?data=indicator&ind_id=424.

Awolu, O. in Ibileke, O.: Bioethanol production from brewer's spent grain, bread wastes and corn fiber. *African Journal of Food Science*, 2011, Vol. 5(3), pp. 148-155.

Debeljak, S. Energetski izzivi prihodnosti: Alternativna tekoča pogonska goriva. Ljubljana: Ekonomska fakulteta, 2008.

Ebrahimi F., Khanahmadi M., Roodpeyma S. in Taherzadeh M.J. Ethanol production from bread residues. *Biomass and Bioenergy*, 2008, 32 (4), 333–337.

Ethanol fuel. 2011. Dostopno na naslovu: http://en.wikipedia.org/wiki/Ethanol_fuel.

Evropski prometni sektor mora biti ambiciozen, da bo dosegel cilje. Evropska agencija za okolje, 2011. Dostopno na naslovu <http://www.eea.europa.eu/sl>.

Ibeto, C.N., Ofoefule, A.U. in Agbo, K.E. A Global Overview of Biomass Potentials for Bioethanol Production: A Renewable Alternative Fuel. *Trends in Applied Science Research*, 2011, 6: 410 – 425.

International Energy Agency: Sustainable Production of Second-Generation Biofuels, 2010.

Kuhar, A. Nekaj dejstev o vrnjenem oziroma neprodanem kruhu ter nadaljnjem postopanju z njim. Dostopno na naslovu: <http://www.nekdanji-pv.gov.si>.

Kuhar, A. Odnos do hrane je treba graditi, intervju, citirano 17.09.2011, dostopno na naslovu <http://www.times.si>.

Le Man H., Behera S. K. in Park H. S. Optimization of operational parameters for ethanol production from Korean food waste leachate. *Int. J. Environ. Sci. Tech.*, 2010, 7 (1), 157-164.

Navickas, K. Biogas for farming, energy conversion and environment protection. V: Mednarodni simpozij Bioplin, tehnologija in okolje, 2007, str. 25-30.

Nemo - novel high performance enzymes and micro-organisms for conversion of lignocellulosic biomass to bioethanol. 2012. Dostopno na naslovu <http://nemo.vtt.fi/nemo.htm>.

Nježić, Z.B., Živković, J. S. in Cvetković, B.R. Possibilities of Utilization of Leftover Bread. *Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly*, 2010, 16 (4), 399–403.

Pridobivanje bioetanola v energetske namene. Energetska agencija za Podravje, 2008. Dostopno na naslovu: http://www.energap.si/uploads/bioetanol_ok.pdf.