

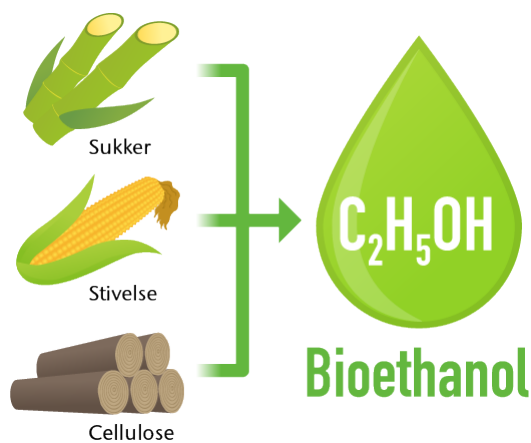


Øvelse: Fra halm til bioethanol

Af Lone Als Egebo

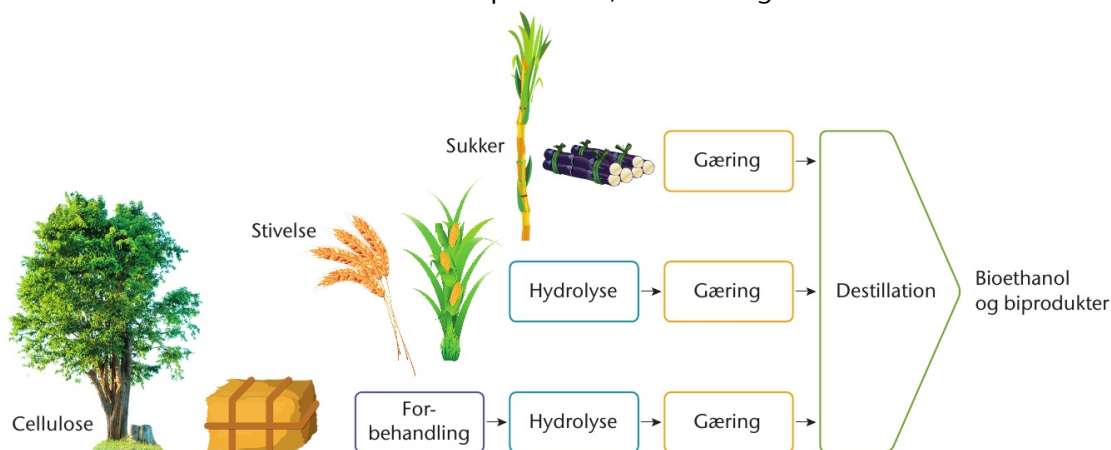
Baseret på siderne 109-130

Bioethanol er et CO₂-neutralt brændstof der fremstilles ud fra biomasse produceret ved fotosyntese. Råstofferne er forskellige carbohydrater, se figur 1. Man skelner mellem første og anden generations bioethanol. Første generations bioethanol produceres ud fra fx sukkerrør og sukkerroer der indeholder letomsættelige carbohydrater som sucrose, eller ud fra fx korn, majs og rodfrugter der indeholder polysaccharidet stivelse. Anden generations bioethanol produceres ud fra fx træ, halm og papir der indeholder svært omsættelige carbohydrater som fx polysaccharidet cellulose.



Figur 1. Tre typer af biomasse der kan omdannes til bioethanol. Kilde: metamorworks/Shutterstock.com.

Anden generations bioethanol anses for at være mere etisk forsvarligt at anvende da udgangsmaterialerne ikke kan anvendes som føde, og i mange tilfælde er affaldsprodukter. Produktion af bioethanol kræver en række procestrin, som vist i figur 2.



Figur 2. Procestrin ved produktion af bioethanol. Kilde: Figur 146, Bioteknologi A bind 1.

Fremstilles bioethanol ud fra fx halm, kræver det en forbehandling med kogning i syre under højt tryk, idet cellulose er bundet sammen med andre stort set ikke-nedbrydelige stoffer som hemicellulose og lignin fra cellevæggene i plantematerialet. Dernæst skal den frigivne cellulose nedbrydes til glucose ved hjælp af en hydrolase (enzymet Celluclast fra Novozymes). Så skal glucose fermenteres til bioethanol ved hjælp af gærceller, og endelig skal bioethanolen ved destillation oprenses til ca. 95 % ethanol hvilket er den højeste renhed, der kan opnås i et gymnasielaboratorium.



Formål

- At fremstille bioethanol ud fra halm ved syrekogning, hydrolyse og gæring.
- At oprense bioethanol ved destillation.

Forbehandling af halm (Kogning og syrehydrolyse)

Delformål

- At nedbryde cellevæggens lignocellulose til lignin, hemicellulose og cellulose vha. af kogning under tryk samt syrehydrolyse.

Materialer pr. gruppe

Fælles: Vægt, autoklave

Til hver gruppe

- Sakse
- Bluecapflaske m. låg, 500 mL og 1L
- Bægerglas, 600 mL
- Målekolbe m. prop 500 mL
- pH-elektrode
- Magnetomrører + magnet
- Engangspipette
- Mikropipette + spids til 1000 µL
- Pc med Logger Pro
- Halm
- Koncentreret svovlsyre (læs H- og P-sætninger inden brug!)
- Citronsyre (læs H- og P-sætninger inden brug!)
- 2 Pufferopløsninger, fx pH 4 og 7.
- 2 M NaOH (læs H- og P-sætninger inden brug!)

Fremgangsmåde

1. Halm klippes i bittesmå stykker, og der afvejes 15 g.
2. En bluecapflaske fyldes med 300 mL hanevand, og der tilsættes forsigtigt 1,5 mL koncentreret svovlsyre.
3. Halmen overføres til 1 L bluecapflasken, og låget skrues løst på.
4. Flasken med indhold autoklaveres i 1 time ved 120 °C. Imens fremstilles 500 mL citronsyrepuffer.
5. Opløs 10 g citronsyre i demineraliseret vand til 500 mL. Opløs først med en del af vandet i et bægerglas, hæld indholdet i en målekolbe og fyld vand til 500 mL.
6. Hæld opløsningen tilbage i bægerglasset til justering af pH.
7. Start Logger Pro på en pc, og kalibrér pH-elektroden (to-punktskalibrering)
8. Anbring bægerglasset med opløsningen af citronsyre på en magnetomrører med en magnet.
9. Mål pH og indstil pH-værdien til 5 med 2 M NaOH (brug engangspipette).
10. Opløsningen gemmes til senere.



Enzymatisk hydrolyse

Delformål

- At nedbryde cellulose til glucose og hemicellulose til xylose vha. enzymblandingen Celluclast. (Lignin er ikke-nedbrydeligt).

Materialer pr. gruppe

- Fælles: Rystevandbad 50 °C
- pH-elektrode
- Magnetomrører + magnet
- Engangspipette
- Mikropipette + spids til 5000 µL
- Si
- Pc med Logger Pro
- Halm efter kogning og syrehydrolyse (fra dag 1)
- Citronsyrepuffer (fra dag 1)
- 2 Pufferopløsninger, fx pH 4 og 7
- 2 M NaOH (læs H- og P-sætninger inden brug!)
- Celluclast
- Glucose-strips

Fremgangsmåde

- Start Logger Pro på en pc, og kalibrér pH-elektroden (to-punktskalibrering).
- Anbring flasken med den kogte halmopløsning på en magnetomrører med en magnet.
- Mål pH og indstil pH-værdien til 4,8 med 2 M NaOH (Man kan roligt starte med at tilsætte 10 mL 2 M NaOH, derefter dråbevis med engangspipette).
- Det forbehandlede substrat (halmen) hældes nu gennem en fin si og skylles et par gange med vand for at fjerne salte og lignende.
- Den skyllede masse kommer tilbage i bluecapflaske (som også er skyllet!), og 500 mL citronsyrepuffer tilsættes.
- Tilsæt derefter 5 mL Celluclast og luk flasken. Ryst grundigt.
- Mål koncentrationen af glucose vha. en glucose-strip, $C_{\text{glucose før hydrolyse}}$. Brug procentværdien og omregn til g/L.
- Flaskerne placeres nu i rystevandbad ved 50 °C i mindst 4 døgn. Jo længere tid, jo bedre.
- Efter mindst 4 døgn måles koncentrationen af glucose vha en glucose-strip, $C_{\text{glucose efter hydrolyse}}$. Brug procentværdien og omregn til g/L.
- Beregn massen (m) af glucose der er dannet ud fra 15 g halm. Husk at opløsningens volumen (V) er 500 mL.

Resultater

	$C_{\text{glucose før hydrolyse}}$	$C_{\text{glucose efter hydrolyse}}$	$m_{\text{glucose efter hydrolyse}}$
Enzymatisk hydrolyse			



Dag 3 Fermentering

Ud fra 15 g halm har man typisk fået et udbytte af glucose på 3-5 g. Da det er en meget lille mængde at fermentere, skaleres op nu, og til sidst i forsøgsrækken beregnes hvor meget glucose og dermed hvor meget ethanol, der kan dannes ud fra en bigballe halm med en vægt på 550 kg, se figur 5.

Delformål

- At fermentere glucose til bioethanol vha. gærceller.

Materialer pr. gruppe

- Engangspipette
- Prop med gærrør
- Konisk kolbe (250 mL)
- Måleglas (100 mL eller 250 mL)
- Glucose monohydrat ($C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$)
- Gær
- BTB

Fremgangsmåde

1. Afmål 120 mL vand i et måleglas.
2. Afvej 25,0 g glucose monohydrat, og opløs det i de 120 mL vand i en 250 mL konisk kolbe.
3. Tilsæt 10 g gær som smuldres noget inden tilsætningen.
4. Forsyn kolben med prop og aftør det hele udvendigt, så det er helt tørt. Vej dette system så nøjagtigt som muligt ($m_{\text{før gæring}}$).
5. Hæld vand + en smule BTB i gærrøret, sæt det i proppen og placer kolben i laboratoriet ved stuetemperatur til næste lektion.
6. Iagttag at gæringen begynder, og følg processen indtil gæringen ophører.

Næste lektion

1. Vej igen kolben med prop ($m_{\text{efter gæring}}$). Undlad at ryste kolben og husk også at gærrøret ikke skal vejes med.

Resultater

	$m_{\text{før gæring}}$ (dag 3)	$m_{\text{efter gæring}}$ (dag 4)
Fermentering		



Efterbehandling

1. Beregn hvilken masse af ethanol og CO₂ der ifølge reaktionsskemaet for ethanolgæring teoretisk set kan dannes ud fra 25 g glucose (teoretisk udbytte).
2. Beregn kolbens vægtændring og forklar hvad vægtændringen skyldes.
3. Beregn ud fra kolbens vægtændring hvor meget glucose der er omdannet, og hvor meget ethanol man derfor kan forvente der er dannet (praktisk udbytte).
4. Beregn det forventede ethanolindhold i vol %. (Ethanol's densitet er 0,789 g/mL)
5. Beregn udbytteprocenten.
6. Udbyttet bliver mindre end 100 %. Forklar hvad det kan skyldes.

Destillation

Delformål

- At oprense ethanol fra blandingen ved hjælp af destillation

Materialer pr. gruppe

- Destillationsudstyr
- Stativ + klemmer
- Bunsenbrænder
- Pimpsten
- Termometer
- Målekolbe + prop (25 mL)
- Måleglas (100 mL)
- Opløsning med fermenteret halm (dag 3)



Figur 3. Destillationsopstilling.
Foto: Hanne Wolff.

Fremgangsmåde

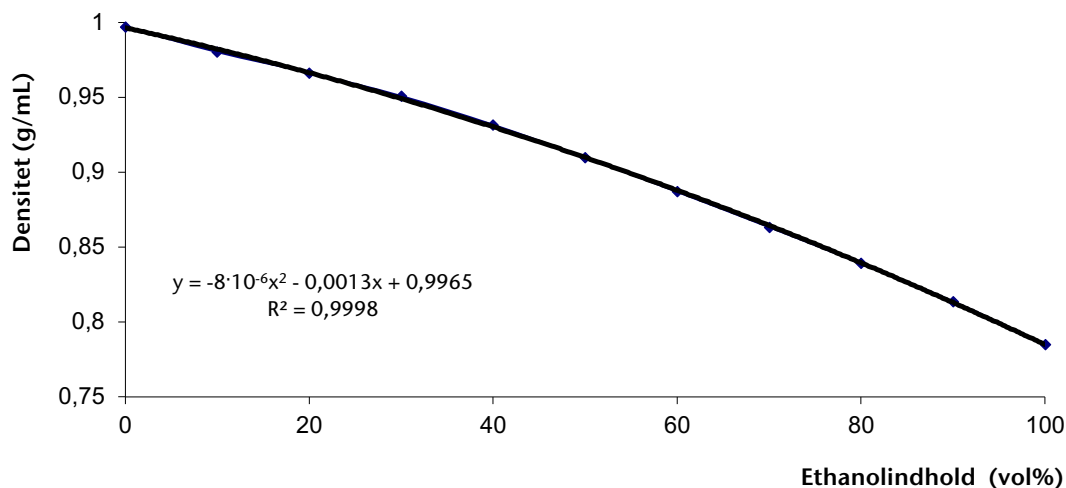
1. Vej en 25 mL målekolbe med prop, $m_{\text{før destillation}}$
2. Afmål præcis 100 mL af den fermenterede blanding til en rundkolbe.
3. Tilsæt pimpsten og saml destillationsopstillingen. Få den godkendt af læreren.
4. Start destillationen. Når temperaturen er steget til ca. 98 °C, kan man regne med at alt ethanol er destilleret over, og destillationen afbrydes.
5. Fyld målekolben helt op til stregen med demineraliseret vand. Vej den med prop, $m_{\text{efter destillation}}$.

Resultater

	$m_{\text{før destillation}}$	$m_{\text{efter destillation}}$
Destillation		

**Efterbehandling**

1. Beregn densiteten af ethanol/vand-blandingen.
2. Brug forskriften i figur 4 til at bestemme indholdet af ethanol i vol % i ethanol/vand-blandingen.



Figur 4. Beregning af densitet i vol % i en ethanol/vandblanding.

3. Beregn indholdet af ethanol i vol % i den fermenterede flaske.
4. Sammenlign det forventede indhold af ethanol i vol% (beregnet før destillation) med det beregnede indhold i den fermenterede flaske i punkt 3.
5. Forklar årsager til afvigelse.



Beregninger i forhold til en bigballe



Figur 5. En bigballe halm vejer ca. 550 kg. Kilde: zakob337/Shutterstock.com.

1. Beregn ved hjælp af resultaterne fra den enzymatiske hydrolyse, massen af glucose der kan dannes efter kogning, syrehydrolyse og enzymatisk hydrolyse af en bigballe halm.
2. Beregn ved hjælp af resultaterne fra fermenteringen, hvilken masse af glucose man kan forvente efter fermentering af en bigballe (praktisk udbytte), idet det antages at den procentvise forskel mellem teoretisk og praktisk udbytte er den samme som i jeres forsøg.
3. Beregn hvor stor en masse ethanol det vil svare til.
4. Beregn hvor mange liter ethanol der således kan produceres ud fra en bigballe på 550 kg.
5. Vurdér potentialet i fremstilling af bioethanol ud fra halm.



Rapportskrivning – Produktion af bioethanol

Der skal i grupper eller enkeltvis afleveres en rapport over databehandlingen i forsøgsrækken.

Rapporten skal indeholde følgende overskrifter:

Indledning

Her præsenteres gæringsprocessen kort, samt hvad formålet med destillationen er.

Efterbehandling fermentering

Her skal være et resultatskema, samt beregninger som angivet i efterbehandlingen. Til sidst diskuteres resultaterne under inddragelse af fejlkilder.

Efterbehandling destillation

Her skal være et resultatskema, samt beregninger som angivet i efterbehandlingen. Til sidst diskuteres resultaterne under inddragelse af fejlkilder.

Konklusion

Her tages stilling til om formålet (At fremstille bioethanol ud fra halm ved syrekogning, hydrolyse og gæring + At oprense bioethanol ved destillation) er opfyldt, og jeres resultater præsenteres her.

Beregninger i forhold til en bigballe

Her vises beregninger som beskrevet, og potentialet i fremstilling af bioethanol ud fra halm i større skala vurderes.