



## Fra halm til bioethanol

Bioethanol er et  $\text{CO}_2$ -neutralt brændstof der fremstilles ud fra biomasse produceret ved fotosyntese, se figur 1.

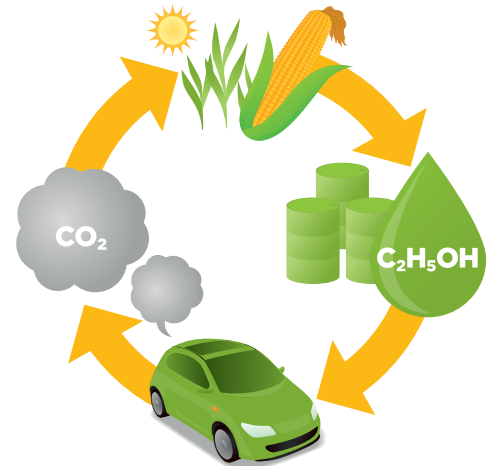
Råstofferne er forskellige carbohydrater. Der skelnes mellem første og anden generations bioethanol.

Første generations bioethanol produceres ud fra fx sukkerrør der indeholder let omsættelige carbohydrater som sucrose, eller ud fra fx korn, majs og rodfrugter, der indeholder carbohydratet stivelse.

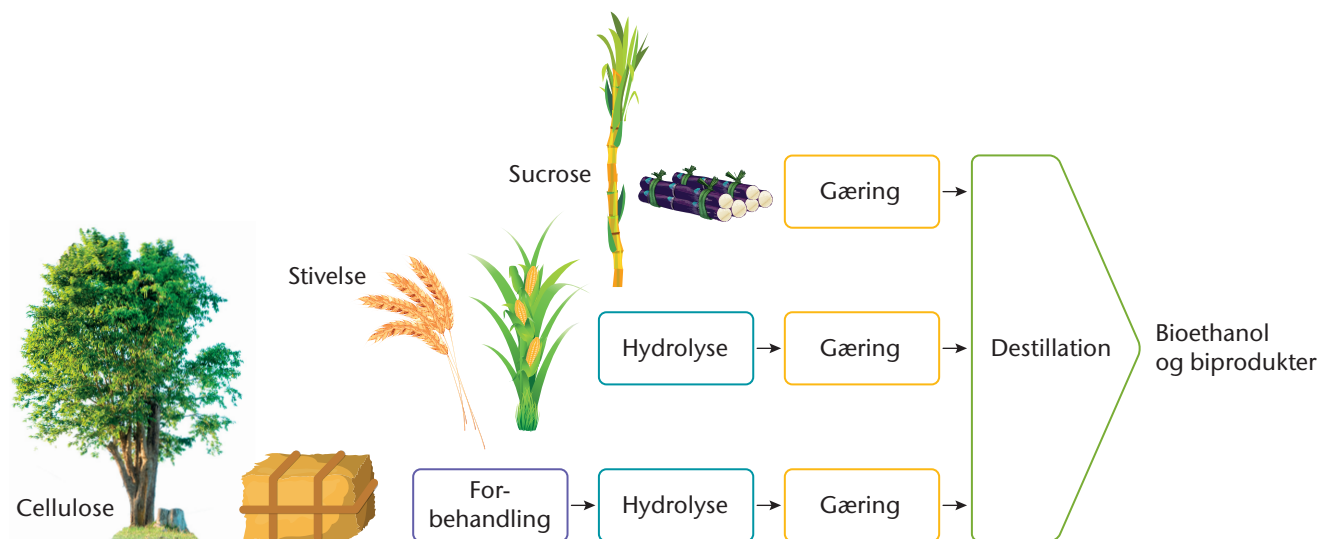
Anden generations bioethanol produceres ud fra fx træ, halm og papir, der indeholder svært omsættelige carbohydrater som fx cellulose.

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 1. Bioethanol er et  $\text{CO}_2$ -neutralt brændstof, idet carbonatomerne indgår i et hurtigt kredsløb.



Figur 2. Procestrin ved produktion af bioethanol.

I dette eksperiment fremstilles bioethanol ud fra halm i løbet af ca. 5 lektioner. I 1. lektion klippes halm i mindre stykker og koges 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. I 2. lektion nedbrydes den frigivne cellulose til glucose ved en reaktion med vand. Processen kræver medvirken af særlige stoffer der kaldes enzymer. I 3. lektion skal glucose fermenteres til bioethanol ved hjælp af gærceller, og endelig skal bioethanolen i 4. lektion oprenses til ca. 95 % ethanol ved



destillation, hvilket er den højeste renhed der kan opnås i et gymnasielaboratorium. I 5. lektion foretages beregninger på produktion af bioethanol i industriel skala.

### Formål

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

## Lektion 1 – Forbehandling af halm (Kogning og syrehydrolyse)

### Delformål

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

Ved kogning under tryk opnås en højere kogetemperatur end 100 °C, og derved ødelægges cellevæggens struktur nemmere. Samtidig er der tilsat koncentreret svovlsyre, som medvirker som katalysator ved en såkaldt hydrolyse, der er en proces hvor store makromolekyler nedbrydes til mindre molekyler under optagelse af vand.

### Materialer pr. gruppe

- Fælles: Vægt, autoklave (en slags trykkoger – håndteres af læreren)
- Sakse
- Bluecapflaske med låg, 500 mL og 1L, se figur 3.
- Bægerglas, 600 mL
- Målekolbe m. prop 500 mL
- Tragt
- pH-elektrode med tilhørende dataopsamlingsprogram
- Puffere til kalibrering af pH-elektrode
- Magnetomrører + magnet
- Engangspipette
- Mikropipette + spids til 1000 µL
- Halm
- Koncentreret svovlsyre – H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(konc), (alvorlig ætsningsfare – håndteres af læreren)
- Citronsyre (s)
- 2 pufferopløsninger, fx pH 4 og 7
- 2 M NaOH (aq)



Figur 3. Bluecapflasker

### Sikkerhed

Undersøg inden anvendelse H- og P-sætninger for koncentreret svovlsyre (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), citronsyre (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>) og 2 M natriumhydroxid (NaOH).

Vigtigt! Den koncentrerede svovlsyre skal opmåles og tilsættes af læreren, da elever ikke må arbejde med svovlsyre i så høj en koncentration.



#### Fremgangsmåde

1. Halm klippes i meget små 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 stilles i autoklaven (sammen med de øvrige holds flasker), og autoklaveres i 1 time ved 120 °C. Imens fremstilles 500 mL citronsyrepuffer (en opløsning der kan holde surhedsgraden (pH) konstant under forsøget).
5. Opløs 10 g citronsyre i demineraliseret vand. Anvend 600 mL bægerglasset og ca. 300 mL demineraliseret vand. Overfør opløsningen til 500 mL målekolbe og efterfyld med demineraliseret vand til målestregen.
6. Hæld opløsningen tilbage i bægerglasset til justering af pH.
7. Start dataopsamlingsprogram og forbind pH-elektroden.
8. Kalibrér pH-elektroden ved hjælp af de to pufferopløsninger (to-punktskalibrering).
9. Anbring bægerglasset med opløsningen af citronsyre på en magnetomrører med en magnet.
10. Mål pH og indstil pH-værdien til 5 med 2 M NaOH (Brug engangspipette).
11. Opløsningen gemmes til senere.



## Lektion 2 – Enzymatisk hydrolyse

### Delformål

At nedbryde cellulose til glucose og hemicellulose til xylose under optagelse af vand (hydrolyse) vha. enzymløsningen Celluclast. (Lignin er ikke-nedbrydeligt).

### Materialer pr. gruppe

- Fælles: Rystevandbad 50 °C
- pH-elektrode med tilhørende dataopsamlingsprogram
- Puffere til kalibrering af pH-elektrode
- Magnetomrører + magnet
- Engangspipette
- Mikropipette + spids til 5000 µL
- Si
- Halm efter kogning og syrehydrolyse (fra dag 1)
- Citronsyrepuffer (fra dag 1)
- 2 M NaOH (aq) (læs H- og P-sætninger inden brug!)
- Celluclast
- Glucose-strips

### Fremgangsmåde

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

### Resultater

Enzymatisk hydrolyse	$c_{\text{glucose før hydrolyse}}$ (g/L)	$c_{\text{glucose efter hydrolyse}}$ (g/L)	$m_{\text{glucose efter hydrolyse}}$ (g)



### Lektion 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 nu op, 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.

#### Delformål

At fermentere til glucose til bioethanol vha. gærceller.

#### Materialer pr. gruppe

- Engangspipette
- Prop med gærrør
- Konisk kolbe (250 mL)
- Måleglas (100 mL eller 250 mL)
- Glucose-vand(1/1) –  $C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$  (s)
- Frisk bagegær
- Bromthymolblåt – BTB (aq) (påviser  $CO_2$ )

#### Fremgangsmåde

1. Afmål 120 mL vand i et måleglas.
2. Afvej 25,0 g glucose-vand(1/1) 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. Luk 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 og et par dråber BTB i gærrøret, sæt det i proppen.
6. Iagttag at fermenteringen begynder, og placer kolben i laboratoriet ved stuetemperatur til næste lektion (tidligst dagen efter).
7. Opskriv reaktionsskemaet for fermenteringen af glucose til ethanol.

Næste lektion:

8. Iagttag at gæringen er ophørt, ellers ventes til det er sket. Vej igen kolben med prop ( $m_{\text{efter gæring}}$ ). Lad være med at ryste kolben, og husk også at gærrøret ikke skal vejes med.

#### Resultater

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



### Efterbehandling

1. Beregn hvilken masse af ethanol og  $\text{CO}_2$ , der ifølge reaktionskemaet teoretisk set kan dannes ud fra 25 g glucose (teoretisk udbytte).
2. Beregn kolbens masseændring, og forklar hvad masseændringen skyldes.
3. Beregn ud fra kolbens masseændring, hvor meget glucose der er omdannet, og hvor meget ethanol der kan forventes at være dannet (praktisk udbytte).
4. Beregn det forventede ethanolindhold i volumenprocent, idet ethanols densitet er 0,789 g/mL, og det antages at der ikke sker en ændring af voluminet når ethanol og vand blandes (hvilket ikke er korrekt).
5. Beregn udbytteprocenten.
6. Udbyttet bliver mindre end 100 %, forklar hvad det kan skyldes.



## Lektion 4 – Destillation

### Delformål

At oprense ethanol fra blandingen ved hjælp af destillation.

### Forarbejde

Forklar princippet i en destillation, og hvorfor det er muligt at oprense ethanol ved denne metode.

### Materialer pr. gruppe

- Destillationsudstyr, se figur 4
- Stativ + klemmer
- Bunsenbrænder
- Pimpsten
- Termometer
- Målekolbe + prop (25 mL)
- Måleglas (100 mL)
- Opløsning med fermenteret halm (dag 3)



Figur 4. Destillationsopstilling.

### 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. Forlagskolben er den afvejede målekolbe. Få opstillingen godkendt af din lærer.
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 og vej den med prop,  $m_{\text{efter destillation}}$ .

### Resultater

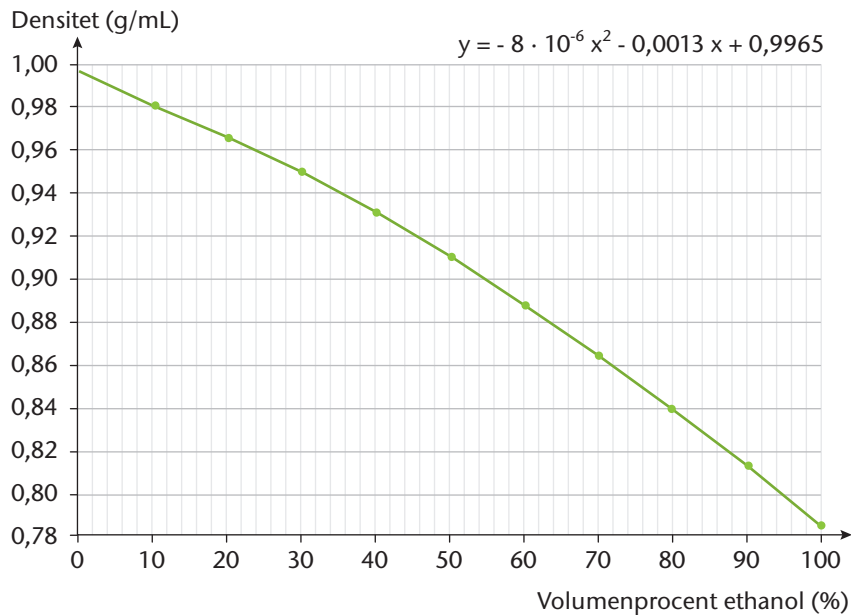
Destillation	$m_{\text{før destillation}}$ (g)	$m_{\text{efter destillation}}$ (g)



### Efterbehandling

Beregn densiteten af ethanol/vand-blandingen.

Figur 5 illustrerer en matematisk model der viser sammenhængen mellem densitet af en ethanol/vandblanding og volumenprocent ethanol ( $c_{\%v}$ ). Forskriften for modellen er også vist i figuren.



Figur 5. Sammenhæng mellem densitet af ethanol/vand-blanding og volumenprocent ethanol ved 25 °C.

1. Brug forskriften vist i figur 5 til at bestemme indholdet af ethanol i volumenprocent i ethanol/vand-blandingen. Hvis typen af funktion (andengradsligning) er ukendt, så aflæs på grafen.
2. Beregn indholdet af ethanol i volumenprocent den fermenterede flaske.
3. Sammenlign det forventede indhold af ethanol i volumenprocent beregnet før destillation med det beregnede indhold i den fermenterede flaske i punkt 3.
4. Forklar årsager til afvigelse.



### Lektion 5 – Beregninger i forhold til en bigballe

Figuren nedenfor viser en bigballe halm, som vejer ca. 550 kg.



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. Vurder potentialet i fremstilling af bioethanol ud fra halm.