

ŠOLSKI CENTER NOVO MESTO

Srednja elektro šola in tehniška gimnazija



Bioetanol

Raziskovalno področje: interdisciplinarno
(kemija in ekologija z varstvom okolja)

Raziskovalna naloga

Avtorji: Lara Kalin

Jakob Auersperger

Jan Kastelec

Mentorji: Goran Pešić, univ. dipl. inž.

dr. Kostja Makarovič, univ. dipl. kem.

Simon Vovko, dipl. inž. rač. in inf.

Novo mesto, 2022

KAZALO VSEBINE

1	ZAHVALA	1
2	POVZETEK.....	2
3	ABSTRACT	3
4	UVOD	4
5	TEORETIČNI DEL.....	5
5.1	OKOLJSKA PROBLEMATIKA 21. STOLETJA	5
5.2	BIOGORIVA.....	5
5.2.1	GENERACIJE BIOGORIV.....	5
5.3	BIOETANOL KOT BIOGORIVO	7
5.3.1	FIZIKALNE IN KEMIJSKE LASTNOSTI	8
5.3.2	SUROVINE ZA PROIZVODNJO	8
5.3.3	SVETOVNA PROIZVODNJA	9
5.4	BIOETANOL IZ KROMPIRJA	10
5.5	BIOETANOL IZ TRAVE	12
5.6	BIOETANOL IZ ODPADNE HRANE	16
5.7	DESTILACIJA.....	16
5.8	UPORABA STRANSKIH PRODUKTOV.....	17
5.9	UPORABA BIOETANOLA	17
5.10	DELOVANJE MOTORJEV	19
5.10.1	ŠTIRITAKTNI MOTOR	19
5.10.2	DVOTAKTNI MOTOR	19
6	EKSPEIMENTALNI DEL.....	20
6.1	HIPOTEZE.....	20
6.2	OPIS PRIPOMOČKOV	20
6.2.1	FERMENTACIJSKA APARATURA	20
6.2.2	DESTILACIJSKA APARATURA	22
6.2.3	KLASIČNA DESTILACIJA	24
6.3	POTEK EKSPEIMENTOV	25
6.3.1	Proizvodnja etanola iz krompirja (prvi poskus)	25
6.3.2	Proizvodnja etanola iz krompirja (drugi poskus).....	29
6.3.3	Proizvodnja etanola iz odpadne hrane (tretji poskus)	34
6.3.4	Proizvodnja etanola iz celulognega materiala (zelene trave).....	38

6.4	Uporaba proizvedenega etanola v motorjih na notranje izgorevanje.....	41
7	ZAKLJUČEK	43
8	BIBLIOGRAFIJA	44

KAZALO SLIK

Slika 1:	Generacije biogoriv	7
Slika 2:	Proizvodnja bioetanola po vsem svetu	8
Slika 3:	Struktura molekule amiloze	11
Slika 4:	Kemijska struktura amilopektina	11
Slika 5:	Kemijske formule celuloze, hemiceluloze in lignina	13
Slika 6:	Shematska pred-obdelava lignocelulozne biomase.....	14
Slika 7:	Plinomer s fermentacijsko posodo v ozadju	20
Slika 8:	Elektronska vezja.....	21
Slika 9:	Doma narejena destilacijska aparatura	22
Slika 10:	Zaslon merilnika temperature	22
Slika 11:	Doma narejen destilacijski hladilnik.....	23
Slika 12:	Laboratorijska destilacijska aparatura	24
Slika 13:	Kuhanje krompirja.....	25
Slika 14:	Uporabljeni encimi, kvasovke in vrelna sol.....	25
Slika 15:	Refraktometer.....	25
Slika 16:	Prikazane vrednosti refraktometra	26
Slika 17:	Temperaturni aerometer	27
Slika 18:	Destilat - nanga	27
Slika 19:	Reakcijska posoda po fermentaciji	28
Slika 20:	Dodajanje encimov krompirju.....	29
Slika 21:	Pripravljene kvasovke	30
Slika 22:	Zabeleženi dvigi plinomera	30
Slika 23:	Graf povprečne temperature skozi potek fermentacije v odvisnosti od časa	31
Slika 24:	Graf proizvedenega ogljikovega dioksida v odvisnosti od časa	32
Slika 25:	Pokrov fermentacijske posode.....	33
Slika 26:	Graf volumna ogljikovega dioksida brez puščanja v odvisnosti od časa.....	36
Slika 27:	Graf volumna ogljikovega dioksida s puščanjem v odvisnosti od časa	36
Slika 28:	Primerjava volumna ogljikovega dioksida s puščanjem in brez puščanja.	37
Slika 29:	Trava po encimski pretvorbi	38
Slika 30:	Benediktov reagent.....	39
Slika 31:	Pršilka z dvotaktnim motorjem.....	41
Slika 32:	Štiritaktni motor.....	41
Slika 33:	Štiritaktni motor z odstranjeno glavo	42

KAZALO TABEL

Tabela 1: Količina bioetanola iz različnih rastlin pridelanih na ha obdelovalne površine.....	9
Tabela 2: Primerjava kemijske sestave krompirjevih gomoljev, krompirjeve moke in krompirjeve lupine	10
Tabela 3: Primerjava hidrolize z razredčeno kislino in encimske hidrolize	15
Tabela 4: Delovanje motorjev glede na odstotek alkohola v gorivu.....	41

1 ZAHVALA

Največja zahvala gre mentorjem dr. Kostji Makarovič, profesorju Goranu Pešiću in profesorju Simonu Vovku, ki so nam raziskovanje približali na tak način, da smo ga še bolj vzljubili. Hvala vam za pomoč in spodbudo.

Prav tako se zahvaljujemo šolski laborantki Ireni Kernc Peterle, brez katere bi naše eksperimentalno delo trajalo občutno dlje, saj je pozorno spremljala potek različnih eksperimentalnih procesov.

Zahvaljujemo se Marku Pavlinu, ki nam je omogočil dostop do digitalnih senzorjev in omrežja LoRaWAN.

Velika zahvala gre tudi šoli, ki je z denarnimi sredstvi pripomogla, da smo svojo raziskovalno nalogu izvedli tudi eksperimentalno. To pa nam ne bi uspelo tudi brez nosilcev projekta SciDrom, ki so nam omogočili izvedbo eksperimenta v njihovih prostorih.

Zahvaljujemo se tudi profesorici Tini Cvijanović, ki je lektorirala raziskovalno nalogu.

Posebna zahvala velja našim staršem, ki nas spodbujajo in podpirajo že od začetka naše raziskovalne poti.

2 POVZETEK

V naši raziskovalni nalogi smo raziskovali pridobivanje biogoriv. Biogoriva so nefosilna goriva, proizvedena iz organske snovi rastlinskega ali živalskega izvora, kar imenujemo biomasa. Bioetanol je trajnostno in okolju prijazno gorivo, ki ga proizvajamo iz škrobine in lignocelulozne mase. Bioetanol ima kar nekaj prednosti: ima višje oktansko število, zmanjšuje raven trdnih delcev, je ogljično nevtralno gorivo, ima nižje cenovno proizvodnjo, lahko ga izdelamo doma in v okolje sprošča do 90 % manj toplogrednih plinov kot fosilna goriva.

V naši raziskavi smo pridobili etanol iz treh virov: krompirja, trave in odpadne hrane. Pri postopku smo uporabljali encimsko hidrolizo, fermentacijo in destilacijo. Z encimsko hidrolizo smo pridobili enostavne sladkorje, ki smo jih v procesu fermentacije pretvorili v bioetanol. Nastala mešanica je bila zmes alkohola in vode, zato smo jo z uporabo destilacije skoncentrirali na 90 % oziroma na koncentracije, ki so primerne za uporabo v motorjih.

V eksperimentu smo največ alkohola pridobili iz krompirja, nato riže, zanemarljive vrednosti pa iz trave. Nastali bioetanol smo uporabili za delovanje štiritaktnega motorja kosilnice in dvotaktnega motorja škropilnice. Testirali smo mešanice različnih koncentracij bioetanola in ugotovili, da je proizvedeni bioetanol primeren za uporabo v motorjih z notranjim izgrevanjem.

KLJUČNE BESEDE: bioetanol, biomasa, fermentacija, encimi, delovanje motorjev.

3 ABSTRACT

In this research paper, the extraction of biofuels was investigated. Biofuels are non-fossil fuels produced from organic substance of plant or animal origin, which is called biomass. Bioethanol is a sustainable and environmentally friendly fuel produced from starch and lignocellulosic mass. Bioethanol has several advantages: it has a higher octane number, reduces solid particles level, is a carbon neutral fuel, has lower cost production, can be made at home and releases up to 90 % less greenhouse gasses than fossil fuels.

In this study, ethanol from three sources was obtained: potatoes, grass, and food waste. Enzymatic hydrolysis, fermentation and distillation were used in the process. Enzymatic hydrolysis yielded simple sugars that were converted to bioethanol during the fermentation process. The resulting mixture was a mixture of alcohol and water, so it was concentrated by distillation to 90 % or to concentrations suitable for use in engines.

In the experiment, most alcohol was obtained from potatoes, followed by rice, and negligible values from grass. The resulting bioethanol was used to operate a four-stroke lawn mower motor and a two-stroke sprayer motor. Mixtures with different concentrations of bioethanol were tested and it was proved that the bioethanol produced was suitable for use in internal combustion engines.

KEY WORDS: bioethanol, biomass, fermentation, enzymes, engine performance.

4 UVOD

Začetek 21. stoletja je zaznamovalo globalno segrevanje. Eden izmed vzrokov za to so fosilna goriva. Njihovo obnavljanje traja milijone let, zato jih uvrščamo med neobnovljive vire. Povpraševanje po njih vsako leto narašča za 1,6 %. Po podatkih Mednarodne agencije za energijo (IEA) kar 80 % svetovne energije nastane s fosilnimi gorivi. V zadnjih letih večina razvitih držav uporablja več kot 90 % neobnovljivih goriv za proizvodnjo energije.

Toplogredni plin ogljikov dioksid in njegova koncentracija je domnevno povezana z gorenjem fosilnih goriv. Med zgorevanjem fosilnih goriv nastaja približno 73 % ogljikovega dioksida. Nekateri znanstveniki trdijo, da je posledica višjih koncentracij tudi višja temperatura in s tem manjša topnost tega plina v oceanih ter večja hitrost gnitja biomase na prej poledenelih območjih. Vendar v resnici za to ni edini krivec ogljikov dioksid, temveč tudi metan, žveplov dioksid in drugi toplogredni plini. (Mostofa, 2019)

Zanimalo nas je, kako bi lahko na enostaven, okolju prijazen in samooskrben način pridobili gorivo, ki bi poganjalo tako prevozna sredstva kot tudi vrtne pripomočke in druge stroje. Z motorji z notranjim izgorevanjem sicer ne preprečimo nastajanja dušikovih oksidov, ki nastanejo zaradi visokih temperatur v batih, zagotovo pa zmanjšamo emisije trdnih delcev in poskrbimo za obnovljiv vir goriva. Poleg tega je motorje z notranjim izgorevanjem mogoče reciklirati veliko lažje kot katerekoli druge naprave (npr. sončne celice, gorivne celice, akumulatorje, elektronska vezja), ki uporabljajo obnovljive vire energije.

5 TEORETIČNI DEL

5.1 OKOLJSKA PROBLEMATIKA 21. STOLETJA

Izgorevanje fosilnih goriv, kot so premog, nafta in zemeljski plin, se je začelo v času prve industrijske revolucije in od takrat imajo tovrstna goriva ključno vlogo pri globalni energetski oskrbi. Zaradi povečane industrializacije, populacije in urbanizacije je prišlo do večje potrebe po fosilnih gorivih in virih energije nasploh. Fosilna goriva so neobnovljiv vir energije, kar pomeni, da se količinsko zmanjšujejo. To lahko privede do njihovega izčrpanja, kar bi v bodočnosti pogojevalo iskanje novih virov, s katerimi bi energetsko oskrbovali cel svet. Z okoljskega vidika pa imajo fosilna goriva še eno ključno pomankljivost, saj povzročajo emisije toplogrednih plinov in s tem prispevajo k globalnemu segrevanju. Potencialna rešitev okoljske problematike 21. stoletja je nadomeščanje teh neobnovljivih virov energije z obnovljivimi. Poleg sončne, vetrne, hidro in geotermalne energije sem spadajo tudi biogoriva. (Khan, in drugi, 2021)

5.2 BIOGORIVA

Biogoriva so nefosilna goriva, proizvedena iz organske snovi rastlinskega ali živalskega izvora, kar imenujemo biomasa. Primeri biomase so gozdni ostanki, poljščine, kmetijski odpadki (kompost), živalski odpadki, vodne rastline, hitro rastoča drevesa, komunalni in industrijski odpad itd. (Bauen, Berndes, Junginger, Londo, & Vuille, 2012) Najdemo jih v plinastem, trdnem ali tekočem agregatnem stanju, najboljša alternativa pa so tekoča biogoriva, ki se uporabljajo za pogonsko gorivo v avtomobilski industriji in pomagajo dekarbonizirati vpliv prometa. Med vsemi biogorivi je trenutno najbolj globalno v uporabi bioetanol, ki predstavlja približno 80 % uporabe vseh tekočih biogoriv. (Khan, in drugi, 2021)

5.2.1 GENERACIJE BIOGORIV

Biogoriva so, glede surovin za njihovo proizvodnjo, razvrščena v štiri generacije. Namen vsake generacije biogoriv je izpolnjevati svetovno povpraševanje po energiji, hkrati pa zmanjšati vplive na okolje.

5.2.1.1 PRVA GENERACIJA

Prva generacija biogoriv je proizvedena s fermentacijo biomase, ki vsebuje veliko škroba (npr. pšenica, koruza, krompir, riž) oziroma sladkorja (npr. sladkorni trs, sladkorna pesa, sladki sirek) na podlagi uveljavljenih in poznanih tehnoloških procesov, kot so fermentacija, destilacija in transesterifikacija. Glavna goriva prve generacije so bioetanol, biodizel in

biometan (bioplín), ki se pridobiva z anaerobno razgradnjo biomase. (Khan, in drugi, 2021) Ta generacija je edina, ki se trenutno proizvaja v večjem obsegu in se uporablja za komercialne namene. Vendar pa je zaradi uporabe užitne biomase sporna, saj se zaradi povečane potrebe po surovinah zvišuje tudi cena hrane. (Sims, Taylor, Saddler, & Mabee, 2008)

5.2.1.2 DRUGA GENERACIJA

Druga generacija biogoriv se je razvila prav zaradi dvigovanja cen živil ter potrebe po večji energetski oskrbi in zmanjšanju toplogrednih plinov v ozračju. Pridobljena je iz lignocelulozne biomase, ki vsebuje kombinacijo lignina, celuloze in hemiceluloze. (Lee & Lavoie, 2013) To so lahko celotni deli rastlin, kot so listi, steblo, lubje, vključujejo lesno biomaso (žagovina, sekanci), različne vrste trav in agav, kmetijske odpadke (npr. riževa slama, koruzna slama), organske odpadke, gozdne in lesne odpadke. (Vasić, Knez, & Leitgeb, 2021) Tovrstno biomaso je mogoče že s sežiganjem izkoriščati za energijo, vendar imajo večji potencial tekoča biogoriva. Čeprav uporaba surovin proizvodnji hrane neposredno ne konkurira, pa surovine zahtevajo naprednejše tehnologije za proizvodnjo biogoriv, zato se druga generacija še ni komercialno uveljavila in se še vedno izboljšuje. (Porqueras, Rittman, & Herwig, 2012)

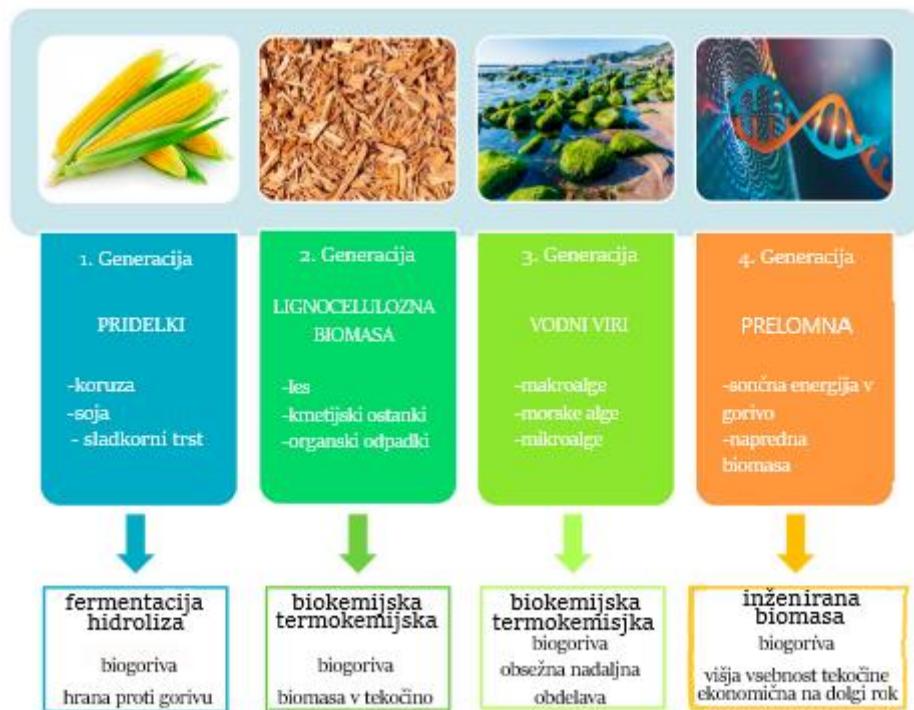
5.2.1.3 TRETA GENERACIJA

Biogoriva tretje generacije so proizvedena iz biomase alg. Uporaba alg za proizvodnjo biogoriv je koristna, saj lahko alge hitro absorbirajo ogljikov dioksid, se zlahka gojijo, ne vsebujejo lignina, rastejo hitro in potrebujejo manj zemlje kot kopenske rastline, vendar za rast zahtevajo velike količine vode in hranil. (Tse, Wiens, & Reaney, 2021) Vzgajajo jih v odprtih bazenih ali zaprtih fotobioreaktorjih, ki pa proizvajalcem predstavljajo velik strošek. (Lee & Lavoie, 2013) Poleg tega so alge zelo občutljive na temperaturna nihanja, slanost in kontaminacijski vsebujejo lipide, ki otežujejo procese proizvodnje biogoriv. Z namenom, da bi se tovrstna biogoriva komercialno uveljavila, še potekajo raziskave o vrstah alg, ki bi najbolj ustrezale pogoju proizvodnje. (Bibi, in drugi, 2017)

5.2.1.4 ČETRTA GENERACIJA

Popolnoma nova in še razvijajoča se je četrta generacija biogoriv, ki temelji na gensko spremenjenih organizmih (npr. kvasovkah, bakterijah in algah) v kombinaciji z izboljšanimi metodami fermentacije, kot je biomasa z nizko vsebnostjo lignina in celuloze. (Tse, Wiens, & Reaney, 2021)

Vsaka od generacij ima svoje prednosti in slabosti. Prva generacija ima najvišjo proizvodnjo biogoriv in energetsko učinkovitost, vendar je manj učinkovita pri zmanjšanju emisij toplogrednih plinov. Te vrednosti so najnižje pri tretji generaciji, katere proizvodnja pa je ekonomično potratnejša. (Aron, in drugi, 2020)



Slika 1: Generacije biogoriv. Vir: (Vasić, Knez, & Leitgeb, 2021).

5.3 BIOETANOL KOT BIOGORIVO

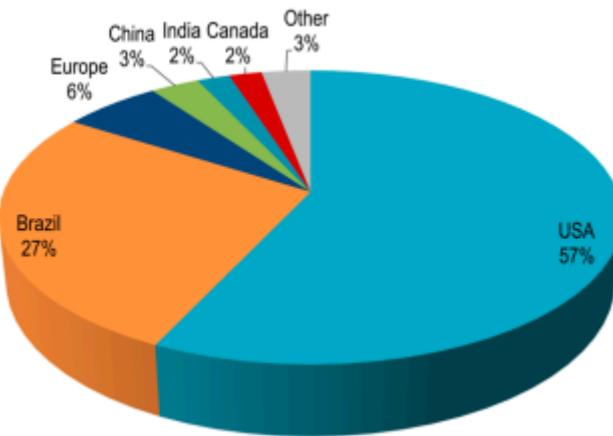
Bioetanol je mogoče proizvajati tako iz škrobne oziroma biomase na osnovi čistih sladkorjev kot tudi iz lignocelulozne biomase z biološkimi metodami in je eno izmed najbolj uveljavljenih biogoriv. Večinoma se uporablja kot dodatek bencinu, vse pogosteje pa se uporablja tudi čisti etanol. (Karimi & Chisti, 2017)

Bioetanol velja za trajnostno, obnovljivo in okolju prijazno gorivo, kar lahko pojasnimo s kroženjem ogljika. Ogljik se v naravi nahaja v različnih oblikah, rastline pa ga potrebujejo v obliki ogljikovega dioksida, ki ga med procesom fotosinteze s pomočjo svetlobne energije pretvorijo v sladkor, ki predstavlja vir ogljika za fermentacijske mikroorganizme. Ogljik se že med fermentacijo izloča v obliki ogljikovega dioksida, vendar ga nekaj ostane tudi v samem etanolu. Med njegovim zgorevanjem se zopet v okolje sprošča ogljikov dioksid, ki se reciklira nazaj v zelene dele rastlin. (Mostafa, 2019)

V primerjavi s fosilnimi gorivi ima bioetanol številne prednosti:

- ima višje oktansko število, kar izboljša zgorevanje goriva;
- zmanjšuje raven trdnih delcev, ki ogrožajo naše zdravje;
- je podoben bencinu, zato za njegovo uporabo v prometu ni potrebno spremnijati motorja;
- je obnovljivo in ogljično nevtralno gorivo, saj je poraba CO₂ pri proizvodnji goriva enaka izpuhu CO₂ pri sežigu;
- ima nižjo cenovno proizvodnjo kot fosilna goriva;

- je okolju veliko prijaznejše gorivo kot goriva iz naftnih derivatov, saj med drugim v zrak izpušča do 90 % manj toplogrednih plinov kot fosilna goriva (Lawson, 2017);
- lahko ga izdelamo doma;
- je topen v vodi, etrih, acetonu, benzenu in nekaterih drugih organskih topilih;
- ima funkcionalno skupino OH, zaradi katere se zlahka vključi v reakcije dehidracije, halogeniranja, tvorbe estrov in oksidacije. (Muhaji & Sutjahjo, 2018)



Slika 2: Proizvodnja bioetanola po vsem svetu. Vir: (Vasić, Knez, & Leitgeb, 2021).

5.3.1 FIZIKALNE IN KEMIJSKE LASTNOSTI

Etanol ima kemijsko formulo C_2H_5OH in vsebuje hidroksilno skupino OH, značilno za alkohole. Pri normalnih pogojih je brezbarvna tekočina z vreliščem pri 78,39 °C in tališčem pri -114,15 °C. Pri 20 °C ima gostoto 789 kg/m³. (Ritslaid, Küüt, & Olt, 2010) Gori s svetlomodrim plamenom in brez saj, kar so lastnosti idealnega goriva. Zelo dobro se meša z vodo in z večino organskimi snovmi. (Lawson, 2017)

5.3.2 SUROVINE ZA PROIZVODNJO

Za proizvodnjo bioetanola uporabljamo rastline, ki vsebujejo ogljikove hidrate (enostavne sladkorje, škrob ali celulozo). To so lahko žitarice in druge poljedelske rastline, les, lesni odpadki in kmetijski ostanki. (Lawson, 2017) Bioetanol je lahko gorivo prve, druge ali tretje generacije, trenutno pa je skoraj ves bioetanol proizведен iz surovin prve generacije. Proizvodnja bioetanola druge in tretje generacije je še vedno v fazi raziskav, ker ta glede na sedanje stroške bencina in bioetanola ekonomično ni izvedljiva.

Danes se v največji meri uporablja koruza v ZDA in slatkorni trs v Braziliji. (Qiao & Lü, 2021)

RASTLINA	PRIDELEK ton/ha/leto	KOLIČINA ETANOLA liter/tono	KOLIČINA ETANOLA liter/ha/leto
Sladkorni trs	50-90	70-90	3500-8000
Sladka koruza	45-80	60-80	1750-5300
Sladkorna pesa	15-50	90	1350-5500
Krmna pesa	100-200	90	4400-9350
Pšenica	4-6	340	1350-2050
Ječmen	2,7-5	250	675-1250
Riž	2,5-5	430	1075-2150
Koruza	1,7-5,4	360	600-1950
Sladki krompir	8-30	167	1330-5000

Tabela 1: Količina bioetanola iz različnih rastlin, pridelanih na ha obdelovalne površine. Vir: (Lawson, 2017).

Najugodnejši vir biomase za proizvodnjo biogoriv mora biti lahko dostopen, rastlina mora proizvesti velik delež biomase s primerno kemijsko sestavo, pridelava pa mora biti ugodna. Ključnega pomena so visoke koncentracije ogljika in vodika ter minimalne koncentracije kisika, dušika in drugih organskih komponent. Smiselno je tudi, da industrija pri proizvodnji biogoriv, proizvaja čim manj odplak in emisij ogljikovega dioksida. (Mohapatra, Mishra, Behera, & Thatoi, 2017)

5.3.3 SVETOVNA PROIZVODNJA

Bioetanol je največji vir obnovljive energije v svetovnem prometu. Proizvodnja bioetanola po vsem svetu naj bi presegla 13 milijard litrov na leto. (Tse, Wiens, & Reaney, 2021)

Brazilija je druga največja svetovna proizvajalka bioetanola s skupno količino 32 000 milijonov litrov v letu 2019, kar predstavlja približno 30 % svetovne proizvodnje. Že večino svoje zgodovine velja za glavno proizvajalko sladkorja oziroma sladkornega trsa, katerega polovico porabijo za proizvodnjo bioetanola. Brazilija je tudi pionirka na področju uporabe etanola. Leta 2007 so že na skoraj vseh bencinskih črpalkah med gorivi ponujali tudi čisti etanol ter mešanice etanola in bencina. (Tabak, 2009)

Najmasivnejše količine bioetanola na svetu proizvedejo ZDA. V letu 2019 je bilo proizvedenih 600 milijard litrov bioetanola, tam najbolj uporabljeni surovina pa je koruza. (Buckner, 2020)

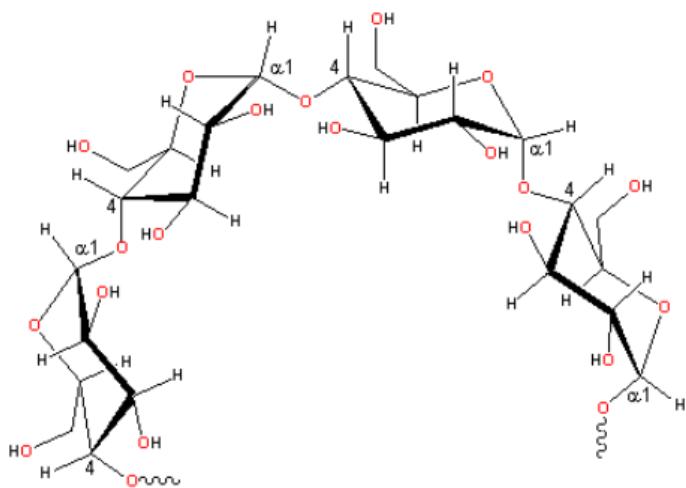
5.4 BIOETANOL IZ KROMPIRJA

Krompir je drugo najbolj uporabljano živilo na svetu. Za pridobivanje bioetanola je krompir poceni surovina, ker vsebuje veliko škroba in zahteva manj predobdelave v primerjavi z drugimi poljščinami. (Khan, in drugi, 2012) V živilski industriji za pridelavo prigrizkov, pirejev in drugih izdelkov iz krompirja nastanejo ogromne količine odpadnih olupkov krompirja, kar proizvajalcem predstavlja resen problem. Ti odpadki pa so lahko odličen vir ogljikovih hidratov za fermentacijo, saj krompirjeva lupina vsebuje veliko škroba, celuloze, hemiceluloze in lignina (Ojewumi, in drugi, 2018), poleg tega pa ji pripisujejo tudi antioksidativno delovanje. (Yamada, Shinomiya, Ohba, Sekikawa, & Oda, 2009) Za proizvodnjo bioetanola uporabljajo tudi gnil in zeleno obarvan krompir, pa tudi popolnoma užiten krompir, ki pa ga zaradi višanja cen hrane in pomanjkanja ne uporabljajo v ta namen. (Mostofa, 2019)

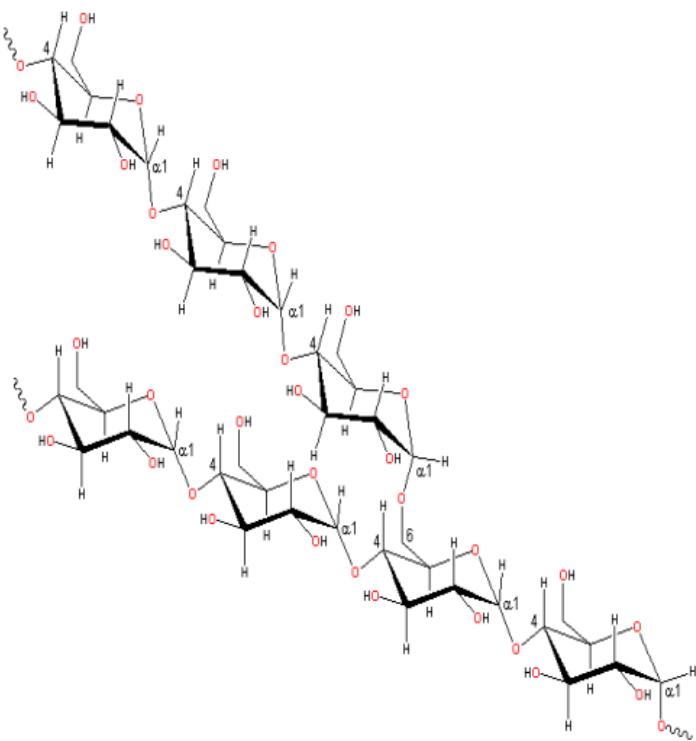
Parameter	Sestava (%)		
	Krompirjevi gomolji	Krompirjeva moka	Krompirjeva lupina
Vlažnost	80.28	8.12	85.06
Škrob	20.00	73.00	52.14
Beljakovine	2.19	10.86	8.00
Surova vlakna	0.85	1.65	-
Pepel	0.65	2.15	6.34
Sladkorji	0.41	0.91	1.00
Maščobe	0.12	1.00	2.60

Tabela 2: Primerjava kemijske sestave krompirjevih gomoljev, krompirjeve moke in krompirjeve lupine. Vir: (Mostofa, 2019).

Surovine na osnovi enostavnih sladkorjev, kot je slatkorni trs, lahko fermentiramo direktno, medtem ko škrobne surovine, kot je krompir, predhodno potrebujemo pretvorbo v enostavne sladkorje. Škrob je namreč sestavljen iz dveh polisaharidov: 16-30 % amiloze in 65-85 % amilopektina. Amiloza je polimer molekul glukoze, v linearni verigi povezane z α -1,4 glikozidnimi vezmi. Amilopektin pa sestavlja enote glukoze povezane z α -1,4 glikozidnimi vezmi ali α -1,6 glikozidnimi vezmi, ki dajejo verigi značilno razvejano strukturo. (Hashem & Darwish, 2010)



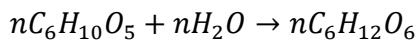
Slika 3: Kemijska struktura molekule amiloze. Vir: (Lipovac, 2016).



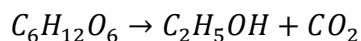
Slika 4: Kemijska struktura molekule amilopektina. Vir: (Lipovac, 2016).

Proces, ki omenjena polisaharida razcepi na monosaharide, se imenuje hidroliza, ki je lahko kislinska ali encimska. Oba postopka imata svoje prednosti in slabosti. Kislinska hidroliza zavira rast kvasovk, ki potrebujejo pred fermentacijo nevtralen pH, poleg tega pa je potrebna tudi kvalitetnejša in posledično višje cenovna oprema zaradi tveganja korozije. Po drugi strani pa encimska hidroliza potrebuje drage encime. Trenutno je za škrobovno biomaso primernejša encimska hidroliza, saj poteka pod nezahtevnimi pogoji, z minimalnim vložkom energije in količine vode, je enostavno biorazgradljiva, z dobrim izkoristkom in majhno količino stranskih produktov. (Mostofa, 2019) Proses poteka na temperaturah od 90 °C do 100 °C (Duhan, Kumar, & Kumar Tanwar, 2013), v treh korakih. Najprej redčenje z vodo in dodajanje amilaz

(α -amilaza, β -amilaza in glukoamilaza). Nato encimska saharifikacija z encimom amiloglukozidaze, ki dokonča proces prekinitve glikozidnih vezi. Nastanejo monomeri (glukoza), ki so potrebni za potek fermentacije. (Mostofa, 2019)



Za fermentacijo se zaradi cenovne ugodnosti najpogosteje uporablajo kvasovke *Saccharomyces cerevisiae*, ki heksoze pod anaerobnimi pogoji pretvorijo v etanol:



Fermentacijski mikroorganizmi so lahko tudi bakterije *Zymomonas mobilis*. (Izmirlioglu & Demirci, 2012)

5.5 BIOETANOL IZ TRAVE

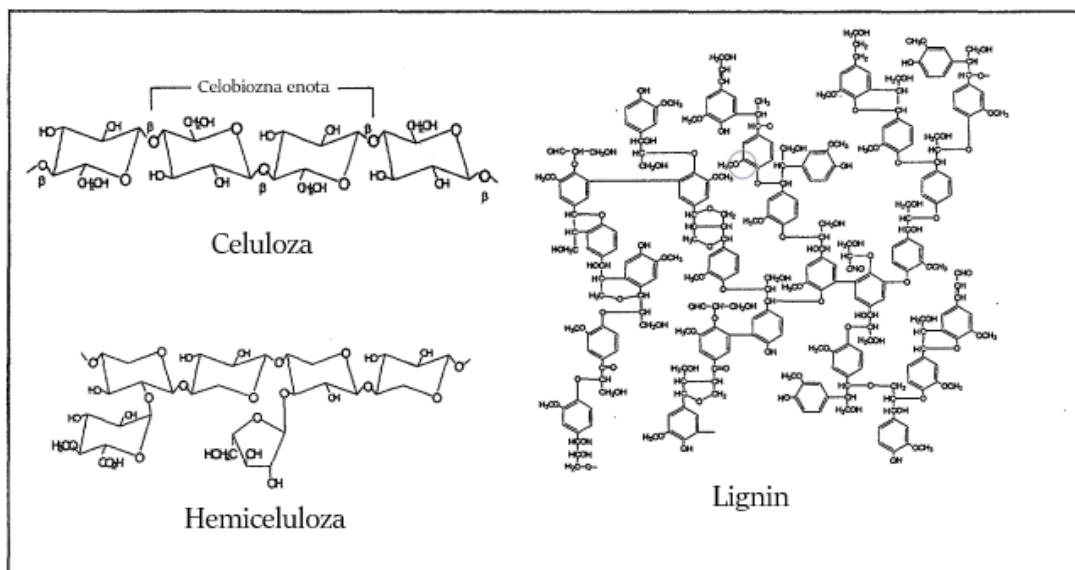
Na svetu je trenutno znanih 11369 vrst trav. Sestavljene so iz treh glavnih komponent: celuloze, hemiceluloze in lignina, skupaj z drugimi spojinami, kot so beljakovine, kisline, soli in minerali. Vsebnost ogljikovih hidratov ni v vseh travah enaka in se znatno razlikuje zaradi številnih dejavnikov, kot so vrsta trave, razvojna stopnja trave in klimatske razmere, v katerih je gojena. Znano je, da se z zrelostjo trave poveča količina struktturnih ogljikovih hidratov v celični steni (celuloza, hemiceluloza, lignin), medtem ko se delež ostalih celičnih sestavin (beljakovine, lipidi, sladkorji) zmanjša. (Mohapatra, Mishra, Behera, & Thatoi, 2017)

Trava je obetavna surovina za proizvodnjo bioetanola. Je najcenejša lignocelulozna biomasa, dostopna čez celo leto (tudi pozimi) ter ne potrebuje gnojenja in pesticidov. Poleg tega ni prehrambeni pridelek in ne ogroža človeške populacije. (Liong, Halis, Lai, & Mohamed, 2012) Še ena lastnost, zaradi katere je trava privlačna energetska rastlina, je potencial za povečanje shranjevanje ogljika. To velja predvsem za trave v tropskih predelih, saj v njih poteka učinkovitejša C4 fotosinteza. Takšne rastline, prilagojene visokim temperaturam in visoki ravni svetlobe, so sposobne absorbirati več ogljikovega dioksida, ki ga zadržujejo v specializiranih, mezofilnih celicah. Več kot je skladiščenega ogljika, manjše so emisije ogljikovega dioksida pri fermentaciji. Po drugi strani pa je glavna pomanjkljivost učinkovito odstranjevanje lignina in biokonverzija celuloze v fermentabilni sladkor. (Mohapatra, Mishra, Behera, & Thatoi, 2017)

Celuloza je linearna komponenta, sestavljena iz več tisoč monomerov β -D-glukopiradoze (D-glukoze), povezanih z β -1,4-glikozidnimi vezmi. Med hidroksilnimi skupinami in kisikovimi atomi se vzpostavijo van der Waalsove in vodikove vezi, ki tvorijo mikrofibrile. Ta vlakna tvorijo lignocelulozno matrico, zaradi katere je celuloza trdna in odporna struktura. (Moon, Martini, Simonsen, & Youngblood, 2011)

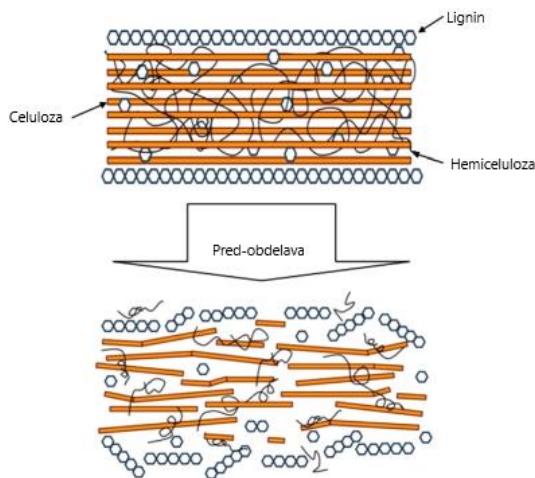
Hemiceluloza je heterogena struktura polimerov, ki vsebuje monosaharidne enote, kot so D-glukoza, D-manoza, D-galaktoza, D-ksiloza, L-arabinoza ter sladkorne kisline, kot sta D-galakturonska in D-glukuronska kislina. Struktura hemiceluloze je amorfna in ni fizikalno močna, zato jo hemicelulozni encimi zlahka hidrolizirajo.

Lignin je aromatski polimer, ki prispeva k togosti strukture in hidrofobnosti. Kot vezni del med celulozo in hemicelulozo v celičnih stenah ovira dostopnost encimov do celuloze. Najvišje vsebnosti lignina so v iglavcih (30-60 %), medtem ko imajo trave le okoli 10-30 % delež lignina. (Vasić, Knez, & Leitgeb, 2021)



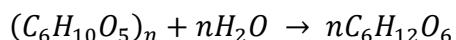
Slika 5: Kemijske formule molekul celuloze, hemiceluloze in lignina. Pridobljeno po: (Barisano, in drugi, 2001).

Tako strukturno zapletena lignocelulozna biomasa pred hidrolizo in fermentacijo zahteva še predhodno obdelavo. Ta predhodni korak je pomemben za prekinitev vodikovih vezi v kristalni strukturi celuloze, s tem povečanje poroznosti in površine celuloze za naknadno hidrolizo ter za razgradnjo z vlakni povezane matrice hemiceluloze in lignina. Obstaja več metod predobdelave, kot so fizikalne, kemične, fizikalno-kemijske, biološke in kombinacije le-teh. Poleg kompleksnosti je ekonomična potratnost še ena negativna lastnost teh procesov, zato se lignocelulozni bioetanol zaenkrat še razvija v laboratorijih. (Mood, in drugi, 2013)



Slika 6: Shematska predobdelava lignocelulozne biomase. Prirejeno po: (Mood, in drugi, 2013).

Sledi celulozna hidroliza, ki pomeni cepitev molekule celuloze z dodajanjem vode:



Izkoristek hidrolize brez predhodne obdelave je običajno pod 20 %, medtem ko s predobdelavo pogosto presega 91 %. V preteklih letih so se razvili številni postopki hidrolize celuloze. Žveplova kislina je bila cenejša od celulaznih encimov, vendar je njena največja pomanjkljivost, da pri visokih temperaturah (okoli 300 °C), potrebnih za hidrolizo celuloze, zlahka razgradi glukozo. (Balat, Balat, & Öz, 2008)

Hidroliza lignocelulozne biomase je zaradi kristalne strukture celuloze bistveno zahtevnejša od hidrolize škroba. (Quintero-Ramirez, 2014)

Reakcija hidrolize je lahko kislinska, za katero se uporablajo bodisi koncentrirane bodisi razredčene kisline. Običajno sta to kislini H_2SO_4 in HCl . Okolju prijaznejša metoda je encimska hidroliza izvedena z encimi (celulaza, ksilanaza, peroksidaza, lakaza, hemicelulaza, ligninaza...), ki jih lahko proizvedejo glive in bakterije. Poteka pod blagimi pogoji pri temperaturi 45-50 °C in pH 4,8, vendar pa v primerjavi z nekajminutno kislinsko hidrolizo, traja več dni. (Binod, Janu, Sindh, & Pandey, 2011) Prednost encimske hidrolize je tudi večji izkoristek glukoze, kar je najmanj 95 %, medtem ko je ta pri kislinski hidrolizi največ 70 %. (Quintero-Ramirez, 2014)

Primerjane spremenljivke	Hidroliza z razredčeno kislino	Encimska hidroliza
Blagi hidrolizni pogoji	Ne	Da
Visok izkoristek hidrolize	Ne	Da
Inhibicija produkta med hidrolizo	Ne	Da
Nastanek zaviralnih stranskih produktov	Da	Ne
Nizka cena katalizatorja	Da	Ne
Hiter potek hidrolize	Da	Ne

Tabela 3: Primerjava hidrolize z razredčeno kislino in encimske hidrolize. Prijeljeno po: (Taherzadeh & Karimi, 2007).

Poleg podatkov, navedenih v tabeli, je pomembno izpostaviti še to, da pri kislinski hidrolizi nastajajoči sladkorji ne zavirajo nadaljnje hidrolize, medtem ko pri encimski hidrolizi sladkorji delujejo kot inhibitorji. Da bi rešili ta problem, so razvili metodo istočasne saharifikacije in fermentacije (Simultaneous Saccharification and Fermentation-SSF), kjer se nastali sladkor takoj porabi z mikroorganizmi. Ta proces je cenejši in hitrejši, tudi tveganje bakterijske kontaminacije je nižje zaradi neprekrajene prisotnosti alkohola, anaerobnih pogojev in konstantnega odstranjevanja glukoze. Glavna težava je zaradi različnih temperaturnih pogojev med encimsko hidrolizo ($45\text{--}50^\circ\text{C}$) in fermentacijo ($28\text{--}35^\circ\text{C}$) izbrati optimalno temperaturo, zaradi česar se še vedno uporablja metoda ločene hidrolize in fermentacije (Separate Hydrolysis Fermentation-SHF). (Mari, Mari, Ferreira, Conceição, & Andrade, 2017)

Fermentacija lignocelulozne biomase zahteva organizme, ki fermentirajo tako heksoze (glukoza, manoza, galaktoza) kot tudi pentoze (ksiloza, arabinoza) ob prisotnosti inhibitorskih spojin, vključno s šibkimi kislinami, furaldehydi in fenoli. Pekovske kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* so odporne na inhibitorje, vendar niso sposobne fermentirati pentoznih sladkorjev. (Margeot, Hahn-Hagerdal, Edlund, Slade, & Monot, 2009)

Idealni organizem za fermentacijo lignocelulozne biomase mora imeti visok donos etanola, širok substratni obseg uporabe, odpornost na inhibitorje, nastale med hidrolizo in fermentacijo, potem je tu še toleranca na visoke koncentracije alkohola in sladkorja, višje temperature in nižjega pH ter minimalna nastajanja stranskih produktov. Na žalost te lastnosti le redko obstajajo v katerem koli organizmu, zato je razvoj organizma, ki bi delno izpolnjeval te pogoje, zelo potreben.

Do sedaj se za fermentacijo lignoceluloze največkrat uporabljajo kombinacije bakterij, kvasovk in filamentoznih gliv. Med njimi so se za najprimernejše izkazale vrste *Escherichia coli*, *Z. mobilis*, *S. cerevisiae*, in *P. stipitis*. (Joshi, Walia, & Rana, 2012)

5.6 BIOETANOL IZ ODPADNE HRANE

Po vsem svetu v enem letu odvržemo kar 1,3 milijarde ton živilskih izdelkov in po ocenah Organizacije združenih narodov za prehrano in kmetijstvo (FAO) bo ta številka v prihodnosti še naprej rastla. Največ odpadnih živil na leto proizvede Azija, natančneje Kitajska (82,8 milijonov ton), Indonezija (30,9 milijonov ton), Japonska (16,4 milijonov ton) in kot kaže, so te vrednosti večje v državah z visokimi dohodki.

Da bi zmanjšali vpliv živilskih odpadkov na okolje, se uporablajo metode izsuševanja, sežiganja, kompostiranja, anaerobne razgradnje ali pa se jih preprosto uporablja kot krmo za živali. (Trzcinski, 2017) V mnogih azijskih državah pa živilske odpadke še vedno odlagajo na odlagališčih skupaj z drugimi gospodinjskimi odpadki in predstavljajo največji delež trdnih komunalnih odpadkov na odlagališčih. Ta praksa odlaganja povzroča številne težave v javnem življenju z neprijetnim vonjem, onesnaževanjem zraka in izpiranjem (tam se množijo podgane in druge živali). Znano je, da odlagališča proizvajajo ogljikov dioksid, metan in druge toplogredne pline. Padavine povzročijo izpiranje nezaželenih snovi. Poleg tega odlagališča zavzemajo veliko prostora, zemljišča v metropolitanskih mestih pa so zelo draga. Da bi se izognili tem težavam, je recikliranje odpadne hrane nujno, kar pa je lahko odličen vir surovine za pridobivanje bioetanola. (Karmee, 2015)

Heterogena odpadna hrana običajno vsebuje ogljikove hidrate, lipide, aminokisline, fosfate, vitamine in druge vire ogljika. Sestava je odvisna od prehranjevalnih navad glede na populacijo, območje in letni čas.

Proces proizvodnje bioetanola iz odpadne hrane se začne s predobdelavo, ki zaradi tveganja razgradnje živilskih odpadkov ne sme biti topotna. Pogosto je za preprečevanje mikrobne kontaminacije potrebno tudi avtoklaviranje. Sledi hidroliza s kombinacijo encimov, ki je odvisna od sestave odpadne hrane. Za pretvorbo škroba so dodane α -amilaza, β -amilaza in glukoamilaza. Hidrolizirani sladkorji so potem podvrženi fermentaciji, največkrat različnim vrstam kvasovk *Saccharomyces cerevisiae* (*Saccharomyces cerevisiae* H058, *Saccharomyces cerevisiae* K35, *Saccharomyces cerevisiae* var. *Bayanus*). (Panahi, in drugi, 2022)

5.7 DESTILACIJA

Zmes po končani fermentaciji vsebuje le 12-18 % etanola, ki ga lahko uporabimo kot gorivo, šele ko ga koncentriramo. Za to je potrebna destilacija, ki je najbolj razširjen postopek ločevanja v kemični industriji. Načrtovanje ekonomičnega procesa proizvodnje bioetanola je zelo pomembno, saj je energijsko najpotratnejši proces. Poleg tega z destilacijo ne moremo doseči popolnoma čistega etanola, običajno se dobljene koncentracije gibljejo okoli 95 %. Da bi dosegli minimalno čistost etanola (99 %), je potreben še proces dehidracije, ki se navadno uporablja z molekularnim sitom. (Amornraksa, Subsaipin, Simasatitkul, & Assabumrungrat, 2020)

5.8 UPORABA STRANSKIH PRODUKTOV

Stranski oziroma odpadni produkti pri procesu proizvodnje bioetanola se lahko uporabljajo kot gnojilo, saj so bogati z dušiki, kalijem in organskimi snovmi, vsebujejo tudi sledove fosforja, kalcija, magnezija in drugih mikrohranil. Izkoriščajo pa se tudi kot surovo gorivo za domače in komercialno ogrevanje. (Mostafa, 2019)

5.9 UPORABA BIOETANOLA

Bioetanol je svetovno znano ekonomično in okolju prijazno transportno biogorivo. Uporabljamo ga tudi v črnilih in premazih kot nosilec topila, v kozmetičnih pripravkih (pršila za utrjevanje las), v farmacevtskih izdelkih in izdelkih za osebno nego (ustne vodice) ter v detergentnih pripravkih. (Osei, 2021)

Kot pogonsko gorivo ga lahko uporabljamo v čisti obliki ali v mešanici z bencinom in drugimi ogljikovodiki v različnih razmerjih. Ta so odvisna od goriva in specifikacije vozila. Poznamo več mešanic: E85, 85 % etanola in 15 % bencina, E100, 100 % etanol z ali brez dodatkov za gorivo in kisikov dizel, ki je običajno mešanica 80 % dizelskega goriva, 10 % etanola ter 10 % aditivov in sredstev za mešanje. Čisti bioetanol se komercialno prodaja samo v Braziliji. (Demirbaş, 2005) Mešanice z do 20 % bioetanola lahko uporabljamo v obstoječih motorjih z notranjim izgorevanjem, goriva z večjimi koncentracijami bioetanola pa v prilagodljivih motorjih. Če bo bioetanol v celoti zamenjal bencin in postal glavno gorivo, se bodo emisije toplogrednih plinov zmanjšale za več kot 85 %. (M-P & S-H, 2018)

Uporaba etanola kot pogonskega goriva ima skoraj tako dolgo zgodovino kot avtomobili sami. Začelo se je v letu 1826, ko je Samuel Morey uporabil alkohol v prvem ameriškem prototipu motorja z notranjim zgorevanjem. Leta 1876 pa ga je v svoji izvedbi motorja uporabil znani nemški izumitelj Nicolaus Otto, ki je znan tudi po svoji iznajdbi štiritaktnega motorja in Ottovega cikla. Alkohol se je, kljub svojim dobrim lastnostim gorenja, v naslednjih stoletjih uporabljal večinoma le za razsvetljavo. Leta 1908 je Ford ustvaril prvi avto na alkohol, Ford model T. Etanol je dobil večji pomen v sedemdesetih letih, ko je prišlo do pomanjkanja goriv.

Fosilna goriva so postala draga, s tem pa se je povečalo zavedanje javnosti za okoljsko problematiko problemov. Pojavila se je potreba po bolj ekološkem gorivu, z enostavnejšo proizvodnjo in s podobnimi lastnostmi, kot jih ima bencin. Nastalo je povpraševanje po etanolu, številne države pa so začele izvajati študije za razvoj goriv iz razpoložljivih surovin. Prevladujoča surovin za proizvodnjo etanola je zaradi svoje razpoložljivosti in enostavne pretvorbe v alkohol postala koruza. Zvezne in državne subvencije za etanol so pomagale ohraniti proizvodnjo goriva, ko so cene etanola padle s cenami surove nafte in bencina v zgodnjih osemdesetih letih. Uporaba etanola kot oksigenata (spojina, ki jo uporabljamo kot dodatek za povečanje vsebnosti kisika) za nadzor emisij ogljikovega monoksida pa je spodbudila povečano proizvodnjo goriva naprej v devetdeseta leta. (Abebe, 2008)

Bioetanol je v 21. stoletju doživel ponovni razcvet kot posledica zmanjšanih proizvodnih stroškov, višjih cen nafte in uvedbe vozil s prilagodljivim pogonom, ki omogoča uporabo tako bencina kot tudi bioetanola.

Biogoriva so hitro razvijajoči se sektor bioenergije. Vendar pa danes predstavljajo le približno 1,5 % skupne porabe goriv v cestnem prometu ter približno 2 % celotne bioenergije. (Bauen, Berndes, Junginger, Londo, & Vuille, 2012)

5.10 DELOVANJE MOTORJEV

5.10.1 ŠTIRITAKTNI MOTOR

Postopek delovanja štiritaktnega motorja je sestavljen iz štirih stopenj.

1. Sesanje - V prvem taktu se bat motorja nahaja v zgornji točki cilindra in se začne pomikati navzdol, s tem ustvarja v cilindru podtlak. Medtem se vhodni ventil odpre in v cilinder vstopi sveža mešanica goriva in zraka.

2. Kompresija - Ko se bat nahaja v najnižji točki in se začne pomikati navzgor, se vhodni ventil zapre. Zaradi manjšanja prostornine se v cilindru ustvari pritisk. Ker je stiskanje tako hitro, je proces skoraj adiabaten, zato se plinska mešanica v batu segreje. (Cah, 2011)

3. Eksplozija - Malo preden bat doseže najvišjo točko, svečka naredi iskro ter vžge vnetljivo in segreto mešanico v motorju. Rahlo prehitevanje vžiga ublaži potovanje bata. Hitro razširjanje vročega plina požene bat navzdol. To je edini delovni takt motorja, kjer se ustvari energija.

4. Izpust - Po popolnem gorenju mešanice je cilinder poln izpušnih plinov. V zadnjem taktu motorja se cilinder sprazni in pripravi na ponovitev zaporedja. Bat se iz najnižje točke prične pomikati navzgor, medtem pa se odpre izpušni ventil, ki vodi do izpušnega lonca. Bat s pomikanjem navzgor iztisne izpušne pline iz cilindra. Po koncu takta se izpušni ventil zapre. Bat se ponovno nahaja v najvišji točki in cikel se ponovi. (Stone, 2012)

5.10.2 DVOTAKTNI MOTOR

V nasprotju s štiritaktnim motorjem mora dvotaktni motor vse štiri stopnje opraviti le v dveh taktih.

V cilindru se nahajajo izpušni plini iz prejšnjega taka in bat se medtem že pomika navzdol. Ko se odpre izpušna odprtina, so izpušni plini zaradi povečanega pritiska potisnjeni iz cilindra. (Škrjanc, 2018) Hkrati se v podbatnem prostoru povečuje tlak, ki povzroči, da ob odprtju prehodnega kanala (povezava med podbatnim prostorom in cilindrom) mešanica, shranjena v podbatnem prostoru, plane v cilinder, hkrati tudi potisne vse izpušne pline dokončno iz cilindra. Medtem se bat že pomika navzgor in stiska mešanico v cilindru, katere del uide skozi izpušno odprtino, kar je razlog za večje onesnaževanje oklice. Ko bat doseže najvišjo točko, se svečka sproži, mešanica se vžge in celoten cikel se ponovi. (Blair, 1989)

6 EKSPERIMENTALNI DEL

6.1 HIPOTEZE

1. V šolskem laboratoriju je iz materialov, ki vsebujejo škrob, mogoče proizvesti alkohol.
2. Alkohola ne bomo uspeli proizvesti iz celulognega materiala oziroma trave.
3. S proizvedenim alkoholom bomo lahko poganjali motorje z notranjim izgorevanjem.
4. Za reakcijske posode bomo brez težav večkrat uporabili pocinkano jeklo.

6.2 OPIS PRIPOMOČKOV

6.2.1 FERMENTACIJSKA APARATURA

Na sliki 7 je prikazana priprava za fermentacijo in merjenje količine ogljikovega dioksida. Fermentacija je potekala v pocinkanem vedru prostornine 20 litrov. Pokrov je pritrjen na posodo s preprostim zaklepom. Tesnjenje omogoča poliuretansko tesnilo ter silikonska tesnilna masa, ki smo jo nanesli pred zapiranjem posode.



Slika 7: Plinomer s fermentacijsko posodo v ozadju.

Da bi preprečili izgube toplote, ki nastane med fermentacijo, smo posodo izolirali s plastjo steklene volne. Na pokrov je preko 3D natisnjenega adapterja pritrjena prozorna cevka, premera 8 milimetrov. Ta vodi do plinomera, ki meri količino proizvedenega ogljikovega dioksida. Preprost plinomer smo izdelali sami iz osnovnega gradbeniškega materiala. Plinomer deluje po principu plinomera, ki ga je izumil William Murdoch v 18. stoletju v Franciji. Plinomer izkorišča vodo kot tesnilo med batom in cilindrom. Ko v plinomer prihaja plin, se bat dviguje, delovni pritisk pa je odvisen od obtežitve bata. Na pokrov smo montirali kovinski trak. Na

stojalo poleg plinomera pa smo montirali induktivno sondu, ki takoj ob zaznavi kovinskega traka pošlje signal za odpiranje mikrokontrolerju Arduino Nano, ki signalu zabeleži čas in aktivira rele, ki omogoči napajanje ventila. Podatki se beležijo na prenosniku v Excelovi datoteki. To omogoča dodaten program v programskem jeziku Python.



Slika 8: Elektronska vezja.

S pomočjo navedenega sistema smo beležili število dvigov, ki nam ob znanem volumenu enega dviga pove prostornino proizvedenega ogljikovega dioksida. Iz grafa je razviden čas največje aktivnosti kvasovk.

$$V_{končnega \text{ } CO_2} = \text{št. dvigov} \times V_{bata}$$

Spremljana je tudi temperatura okolice in reakcije v posodi, s temperaturnim senzorjem, ki je povezan na LoRaWAN omrežje. Pridobljeni podatki o temperaturi so bili spremljani na spletu.

6.2.2 DESTILACIJSKA APARATURA



Slika 9: Doma narejena destilacijska aparatura.

Na sliki 9 je doma narejena destilacijska aparatura. Navdih zanjo smo dobili pri kotlu za žganjekuho. Sestavljena je iz pocinkanega 20 litrskega vedra, v katerega smo nalili tekočino iz končanega fermentacijskega procesa. Segrevali smo ga na električni kuhalni plošči z močjo 1500 vatov. Temperaturo hlapov smo merili z merilnikom temperature LabQuest 2 (Vernier - ZDA).



Slika 10: Zaslon merilnika temperature.

Pokrov in bakreno cev, premera 10 milimetrov, povezuje kovinski adapter. Vse smo zatesnili z acetatno silikonsko tesnilno maso. Bakrena cev ima vlogo hladilnika in je zvita v spiralo, da uspešno oddaja toploto, zagotavlja pretok tekočine in zasede čim manj prostora. Cev se nahaja v hladilnem vedru, napolnjenim s hladno vodo. Po prvi destilaciji smo hladilnik še izboljšali, mu dodali vhod in izhod vode in tako omogočili pretok vode (gumijaste oranžne cevi).



Slika 11: Doma narejen destilacijski hladilnik.

V bakreni cevi hladilnika se nahaja tudi bombažna vrvica, ki omogoča lažje pretakanje destilata. Destilat, ki ga zbiramo po kapljicah, teče iz hladilnika v čašo.

6.2.3 KLASIČNA DESTILACIJA

Za ločevanje raztopin smo uporabljali destilacijo. Destilacija izkoristi temperaturno razliko dveh vreljšč različnih tekočin. Zmes segrevamo in najprej začne iz nje izhajati tekočina, ki ima najnižje vreljšče. Njene hlapa vodimo v destilacijski hladilnik, kjer se ta ohladi in kondenzira. Običajno je ohlajena s kroženjem tekočine okoli nje. Tekočino, ki priteče iz hladilnika, pa imenujemo kondenzat.

Za naš eksperiment smo uporabljali 2 litrsko bučko z okroglim dnom, ki je bila preko adapterja povezana z Liebigovim hladilnikom, hlajenim s konstantnim pretokom hladne vode. Z alkoholnim termometrom v bučki smo merili še temperaturo hlapov in na podlagi teh destilirali različne koncentracije alkohola. Na izhodu hladilne cevi se nahaja še čaša za zbiranje destilata. V primeru še neohlajenih hlapov alkohola smo na čašo dodali še aluminijasto folijo.



Slika 12: Laboratorijska destilacijska aparatura.

6.3 POTEK EKSPERIMENTOV

6.3.1 Proizvodnja etanola iz krompirja (prvi poskus)

6.3.1.1 Opis eksperimenta

V trgovini smo kupili 7,5 kilogramov najcenejšega krompirja. Neolupljenega smo razporedili v 3 lonce in dodali 1,5 litrov vode, toliko, da smo prekrili dno. Kuhali smo ga 60 minut. Po končanem kuhanju smo ga pretlačili ter stresli v fermentacijsko posodo. Nato smo dolili 5 litrov vode, da smo dosegli mešanico konsistence gostejše juhe, primerne za delovanje encimov.



Slika 13: Kuhanje krompirja.

Začeli smo s pripravo encimov. Pred pripravo encimov smo izračunali količino in prilagodili izbranemu času reakcije, kar je znašalo 1 gram. Optimalna temperatura je bila 55 °C, pH pa 5,5. Zaželen pH smo dosegli z ocetno kislino, ki smo jo dodali v fermentacijsko posodo. To je verjetno bila napaka, saj je ocetna kislina toksična za kvasovke in tudi njihov razpadni produkt. Ta je najprimernejša zaradi njene manjše agresivnosti. Encime smo raztopili v 500 mililitrih tople vode in jih dodali v fermentacijsko posodo. Temperatura v fermentacijski posodi je bila že v območju 55 °C za optimalno delovanje dodanih encimov.



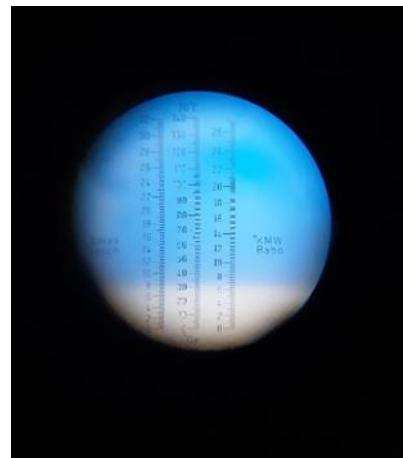
Slika 14: Uporabljeni encimi, kvasovke in vrelna sol.

Temperaturo smo spremljali in nadzorovali naslednje 4 ure. Temperatura ni naraščala, kljub temu, da je reakcija v teoriji eksotermna. Z refraktometrom smo konstantno merili tudi vsebnost monosaharidov, ki je s časom naraščala. To smo dokazali na dva načina, z refraktometrom in Benediktovim reagentom. Poskus je potekal 12 ur. Naslednji dan smo z refraktometrom odčitali končno vrednost 13 brixov. Ta vrednost je vprašljiva, saj nebistrost tekočin povzroči sipanje svetlobe in razširi prehod med belim in modrim območjem, zato lahko naredimo napako pri odčitavanju vzorca. Zato smo pri bodočih meritvah uporabljali bistrejše vzorce.



0

Slika 15: Refraktometer.



Slika 16: Prikazane vrednosti refraktometra.

Za fermentacijo smo uporabili kvasovke, namenjene uporabi v vinogradništvu, pivovarstvu in žganjekuhiji. Natehtali smo 10 gramov kvasovk in 10 gramov vrelne soli. Vrelna sol je čista hrana, namenjena prehrani kvasovk v težjih fermentacijskih pogojih, ki vsebuje diamonijev fosfat. Pred uporabo jo moramo raztopiti v soku, drozgi, moštu ali topli vodi ter z mešanjem enakoverno porazdeliti v vrelnem mediju. Nato smo vsebino iz reakcijske posode prenesli v fermentacijsko posodo ter dodali še raztopino vrelne soli. Fermentacija je potekala v Šolskem centru Novo mesto v makerspacu Scidrom, kjer smo imeli na voljo več opreme in prostora. Scidrom je okolje za multidisciplinarno sodelovanje odprtega inoviranja, v njem pa sodelujejo gospodarstvo, izobraževalna in raziskovalna sfera ter kreativni posamezniki in interesne skupine.

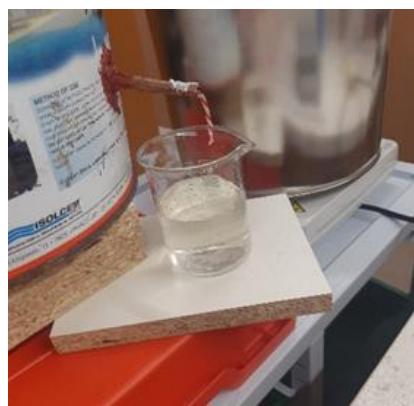
Zaradi težav z vzpostavitvijo opreme za digitalno nadzorovanje reakcije smo s fermentacijo začeli dva dni pozneje. Medtem smo postavili reakcijsko posodo na mraz, da bi upočasnili nezaželene predčasne reakcije. Ko so bili vsi sistemi za spremljanje fermentacije vzpostavljeni, smo dodali kvasovke in začeli s fermentacijo, ki je trajala 14 dni. Temperaturo zunanjosti in v fermentacijski posodi smo spremljali na računalniku preko spletja.

Po končani fermentaciji smo začeli z destilacijo. Zaradi negotovosti v uspeh eksperimenta smo najprej iz fermentacijske posode vzeli pollitrski vzorec vsebine, ki smo ga v laboratoriju destilirali. Zaradi manjše količine vsebine smo uporabili klasični stekleni destilacijski aparat. Rezultati so bili za prvi poskus obetavni, zato smo se odločili za nadaljnjo destilacijo. Koncentracijo alkohola smo izmerili z dvema metodama. Z refraktometrom, prilagojenim za merjenje koncentracije alkohola in potopnim areometrom.



Slika 17: Potopni aerometer.

Nadaljnja destilacija je potekala v našem destilacijskem aparatu, prilagojenemu za destiliranje večjih količin. Začeli smo z destilacijo vseh 10 litrov fermentiranega materiala. Iz aparata je priteklo 1,8 litra 15 % zmesi, ki jo imenujemo nanga (prvi destilat). Nadaljnje destilacije smo izvajali v klasičnem destilacijskem aparatu, dokler nismo dosegli željene koncentracije. Končni produkt destilacije je bil 430 mililitrov 65 % alkohola. Vrednost je bila izmerjena s potopnim aerometrom, zato je bila vrednost natančnejša kot z alkoholnim refraktometrom, saj bistrost tekočine nanj ne vpliva.



Slika 18: Destilat - nanga.

6.3.1.2 Analiza eksperimenta

Po končanem prvem poskusu smo identificirali kar nekaj napak. Že pred encimsko pretvorbo škroba v glukozo smo v zmes dodali manjšo količino ocetne kisline z namenom vzdrževanja optimalne pH vrednosti. Nismo pomislili na nadaljnji vpliv ocetne kisline na kvasovke, ki je lahko upočasnila njihovo delovanje. Poleg tega je dodana kislina povzročila veliko škode na

fermentacijski posodi. Nižji pH je pospešil rjavenje in raztapljanje cinkovega zaščitnega nanosa. Nastale cinkove soli pa lahko tudi toksično delujejo na kvasovke.



Slika 19: Reakcijska posoda po fermentaciji.

Naslednja napaka je bila nepripravljenost sistema za elektronsko nadzorovanje. Posledica tega je bila dvodnevni premor med končano encimsko pretvorbo in priklopom fermentacijskega sistema. V tem času se je mešanica nahajala na hladnem, da upočasnimo oziroma preprečimo nezaželene stranske reakcije. Kljub temu so se te v manjšem obsegu zagotovo zgodele. Predvidevamo, da so v zmesi že začele delovati divje kvasovke.

Prva verzija fermentacijske posode je zagotovo puščala. Vedro ima vgrajeno tesnilo in zaklep za katerega smo zmotno mislili, da tesni. To smo kasneje izboljšali z uporabo silikonskega tesnila brez acetatne osnove. To je imelo dve posledici, proizvedenega ogljikovega dioksida sistem ni mogel izmeriti. Poleg tega morda nismo zagotovili povsem anaerobnih pogojev, ki so potrebni za proizvodnjo etanola s kvasovkami. Kombinacija vseh teh napak je povzročila, da sistem ni zabeležil nobenega dviga. Kljub pomanjkanju zabeleženih dvigov je alkoholno vrenje poteklo, saj je končni produkt iz 7,5 kilogramov krompirja bil 430 mililitrov 65 % alkohola. V primerjavi s teoretičnimi izračuni je bil izkoristek relativno nizek.

Nizko število dvigov je po našem mnenju posledica večih napak pri eksperimentu. Prvi razlog je puščanje sistema za merjenje CO₂. Drugi razlog je pozen priklop fermentacijske posode na aparat in s tem neizpolnjevanje anaerobnih pogojev, potrebnih za zaželeno delovanje kvasovk. Menimo, da je fermentacija z divjimi kvasovkami potekla že pred začetkom načrtovane fermentacije.

6.3.2 Proizvodnja etanola iz krompirja (drugi poskus)

6.3.2.1 Opis eksperimenta

Zaradi napak v prvem eksperimentu smo se odločili še enkrat poskusiti s krompirjem. Tokrat smo ga kupili od kmetije Pršina. Količino krompirja smo povečali na 10 kilogramov. Krompir smo umili in ga zaradi večje količine razdelili v štiri lonce. V vsak lonec smo dodali toliko vode, da je prekrila dno oziroma skupno 2 litra. Čas kuhanja in način procesiranje je bil enak kot v prvem poskusu. Končna mešanica je vsebovala 10 kilogramov krompirja in 7 litrov vode. Količino encimov smo prilagodili večji količini krompirja in natehtali 1,5 grama amilaze, ki smo jo raztopili v 200 mililitrih tople vode. Zaradi ugotovitev iz prejšnjega poskusa smo proces encimske pretvorbe pustili trajati samo 8 ur od prejšnjih 12 ur. Refraktometer je ponovno pokazal 13 brixov, kar je potrdilo naša predvidevanja o nenatančnosti meritev v motni tekočini.



Slika 20: Dodajanje encimov krompirju.

V primerjavi s prvim poskusom smo tokrat pravilno pripravili kvasovke. 8 gramov kvasovk smo raztopili v 750 mililitrih tople vode in jim dodali 40 gramov sladkorja in 12 gramov vrelne soli. Po 30 minutah so se že močno razmnožile in tvorile »klobuk«. Poleg tega je bil sistem za fermentacijo že pripravljen, kar nam je omogočilo takojšnji začetek alkoholnega vrenja. Produkt encimske pretvorbe smo prelili v fermentacijsko posodo, dodali pripravljene kvasovke, premešali in pokrov zatesnili s silikonskim tesnilom. S tem je bila fermentacijska posoda pripravljena. Zagnali smo program in začeli zbirati podatke. Med potekom fermentacije smo spremljali nezaželeno puščanje sistema.



Slika 21: Pripravljene kvasovke.

Po 14. dnevu smo končali s fermentacijo in vsebino 13 litrov fermentacijske posode razredčili z 2,7 litra vode ter jo precedili skozi srednje fino najlonsko tkanino, da smo dosegli željeno teksturom. Nato smo jo prelili v doma narejen destilacijski aparat. Zaradi velike količine destilata (3 litri 8,4 %) po prvi destilaciji smo to ponovili v istem aparatu. Nato smo destilacije izvajali v klasičnem steklenem destilacijskem aparatu, dokler nismo dosegli željene koncentracije. Končni produkt je znašal 350 mililitrov 72 % alkohola.

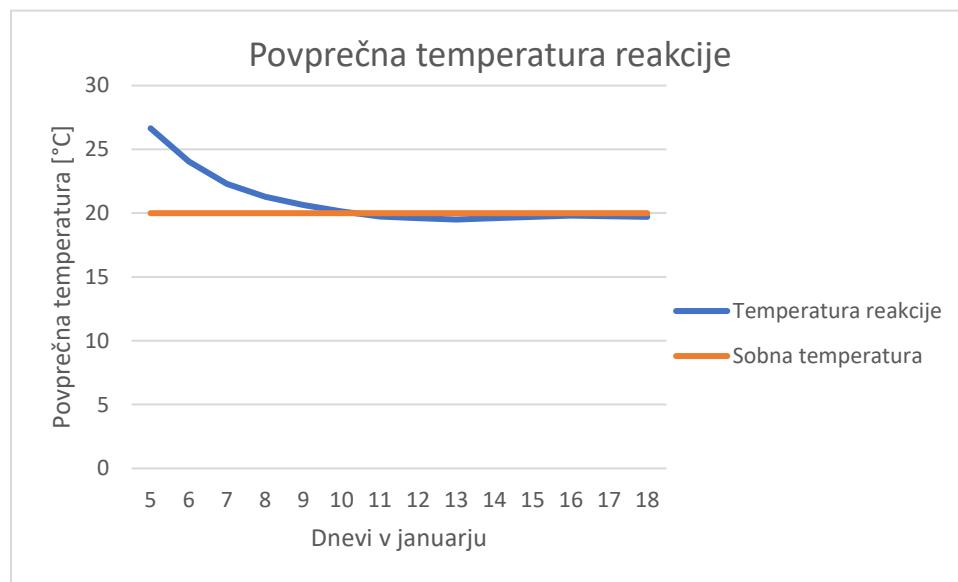
6.3.2.2 Analiza poskusa

Namen drugega poskusa je bil popraviti napake iz prvega. To nam je delno uspelo. V encimsko pretvorbo nismo dodali ocetne kisline, kar se je poznalo na manj agresivnem rjavenju posode in raztapljanju cinka. V primerjavi s prvim poskusom smo pravilno pripravili kvasovke, kar jim je omogočilo hitrejše in učinkovitejše delovanje. Fermentacijski aparat je bil tokrat pravočasno pripravljen. To je zagotovilo natančnejše merjenje proizvedenega ogljikovega dioksida. Vsi sistemi za beleženje podatkov so delovali.

```
C:\WINDOWS\py.exe
Vnesi port (COM1, COM2 ...:
05.01.2022 13:51:00
05.01.2022 21:02:43
06.01.2022 05:18:04
06.01.2022 21:16:31
07.01.2022 10:36:08
07.01.2022 19:37:40
08.01.2022 03:57:22
08.01.2022 11:23:24
08.01.2022 17:51:46
09.01.2022 00:00:56
09.01.2022 05:57:10
09.01.2022 11:41:53
09.01.2022 17:25:16
09.01.2022 23:24:38
10.01.2022 05:44:13
10.01.2022 12:15:19
```

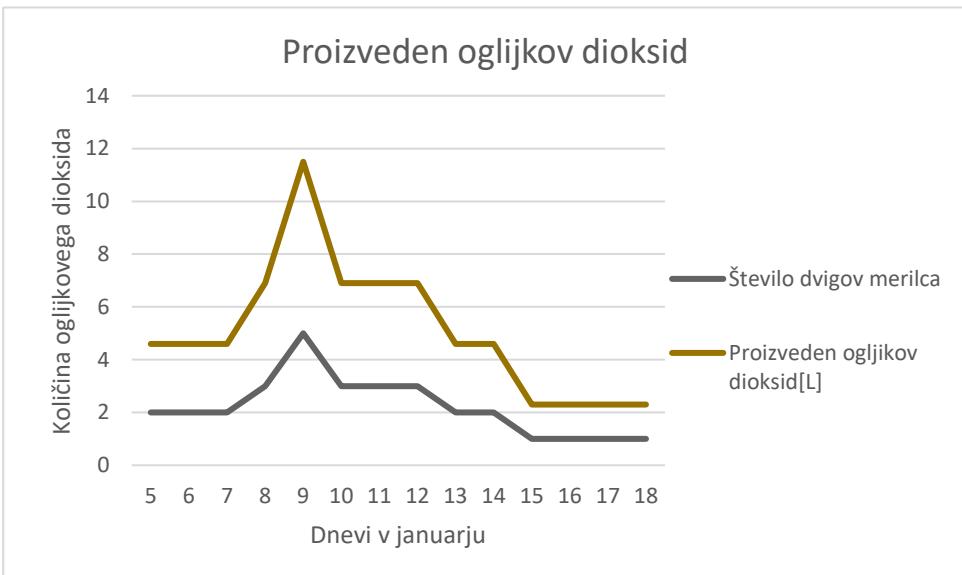
Slika 22: Zabeleženi dvigi plinomera.

Kljud izkušnjam smo ponovno storili nekaj napak. Za drugi poskus smo izbrali drugo vrsto krompirja. Izkazalo se je, da imajo različne vrste krompirja različno vsebnost škroba. Na začetku temu nismo pripisovali večjega pomena, po analizi se zavedamo, da smo s tem eksperimentu dodali dodatno spremenljivko. Obe vrsti krompirja sta nam neznani, a predvidevamo, da je imel krompir iz trgovine bele barve večjo vsebnost škroba. Posledično smo iz sicer večje količine krompirja in natančnejše izvedenega eksperimenta dobili manj alkohola kakor v prvem poskusu. Tokrat med reakcijo encimske pretvorbe ni bilo dodanega nobenega pufra, kar je otežilo delovanje encimov.



Slika 23: Graf povprečne temperature skozi potek fermentacije v odvisnosti od časa.

Kljud temu smo dobili kvalitetne rezultate. Zgornji graf prikazuje povprečno temperaturo v fermentacijski posodi in sobno temperaturo. Dnevno povprečno temperaturo smo izračunali iz zabeleženih meritev na LoraWan omrežju. Izračunali smo jo iz štirih podatkov, enakomerno porazdeljenih čez dan. Temperatura vsebine je eksponentno padala, dokler ni doseglja sobne temperature. To dokaže, da kljud temu, da je reakcija eksotermna, ta ni potekala dovolj intenzivno, da bi preprečila ohlajanje vsebine fermentacijske posode. Nihanje sobne temperature smo zanemarili, saj je bil prostor enakomerno ogrevan in zračen v rednih intervalih.



Slika 24: Graf proizvedenega ogljikovega dioksida v odvisnosti od časa.

Na grafu je prikazana aktivnost alkoholnega vrenja. Reakcija je rabila 4 dni, da je dosegla vrh aktivnosti, nato pa je ta enakomerno padala. Meritve so nam povedale število dvigov, iz katerih smo nato izračunali prostornino proizvedenega ogljikovega dioksida.

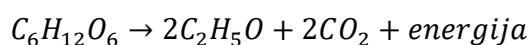
$$V_{CO_2} = N_{dvigov} \times V_{bata}$$

Volumen proizvedenega ogljikovega dioksida je produkt števila dvigov in volumna bata. Volumen bata je znašal 2,3 litre, kar smo izračunali z uporabo formule za volumen valja. Število dvigov je vsota dvigov vseh dni. Povečanje realnega volumena ogljikovega dioksida zaradi rahlo večjega pritiska, ki ga je povzročala masa bata in ventila na njem smo zanemarili, saj so izračuni pokazali, da je sprememba zanemarljiva.

$$V_{bata} = \pi \times r_{polmer\ bata}^2 \times l_{premik\ bata}$$

Volumen bata je definiran kot zmnožek števila π , kvadrata notranjega polmera bata in dolžine premika bata od nevtralne do maksimalne pozicije, kjer se sproži ventil.

Skupno število dvigov je bilo 31, kar pomeni, da je prostornina proizvedenega ogljikovega dioksida 71,3 litra. S tem podatkom bomo poskušali izračunati maso etanola in ta podatek primerjali z rezultatom destilacije.



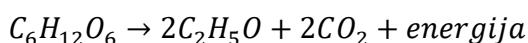
$$m_{etanol} = \frac{V_{CO_2} \times \rho_{CO_2} \times M_{etanol}}{M_{CO_2}}$$

S pomočjo kemijske enačbe alkoholnega vrenja smo vzpostavili razmerje med množinama ogljikovega dioksida in etanola. Druga enačba predstavlja izračun za maso etanola. Izračunan volumen ogljikovega dioksida množimo z gostoto ogljikovega dioksida pri standardnih pogojih (1 bar, 15 °C) ter z molsko maso etanola. Produkt vseh treh delimo z molsko maso ogljikovega dioksida. Rezultat računa je masa etanola v gramih. Teoretično količino etanola smo primerjali s količino destilata. Teoretična vrednost znaša 140 gramov 100 %, praktična pa 199 gramov 100 % alkohola. Rezultati izračunov so nas presenetili, saj smo pričakovali ravno obratno situacijo, kjer bi bil teoretični izračun večji od praktičnega izkoristka. Če pogledamo zgornjo enačbo, vidimo, da je večina vrednosti konstant, edina spremenljivka pa je volumen ogljikovega dioksida. Po tem sklepamo, da je imel naš sistem za merjenje ogljikovega dioksida napako. Predvidevamo, da je sistem kljub dodanemu tesnilu še zmeraj puščal. Ocenujemo, da je ogljikov dioksid puščal s pretokom 90 mililitrov/uro. Vrednost nas je presenetila, saj smo mislili, da smo sistem dobro zatesnili. Potencialna mesta puščanj so 3D natisnjen adapter za cev, elektronski ventil in spoj za temperaturni senzor.



Slika 25: Pokrov fermentacijske posode.

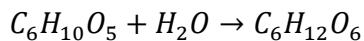
Zanimala nas je tudi efektivnost encimske pretvorbe. Da so bili izračuni možni, smo predvidevali popolno fermentacijo vseh sladkorjev, proizvedenih iz škroba. To pomeni, da so kvasovke pretvorile vse monosaharide v alkohol.



S pomočjo enačbe alkoholnega vrenja smo postavili razmerje med množinami etanola in glukoze. Nato smo jih preoblikovali v spodnjo formulo.

$$m_{glukoza} = \frac{M_{glukoza} \times m_{etanol}}{2 \times M_{etanol}}$$

Z upoštevanjem te formule smo izračunali maso glukoze, ki se je pretvorila v alkohol. Masa pretvorjene glukoze znaša 398 gramov.



Zgornja enačba predstavlja reakcijo hidrolize škroba, ki smo jo izvedli z encimom amilazo, kar pa ni edini način, saj bi lahko uporabili tudi kislino. Zaradi ekološkega vidika naloge in trajnostnega razvoja smo se odločili za encime. V spodnji enačbi z uporabo prej izračunane mase glukoze in konstantami izračunamo maso pretvorjenega škroba.

$$m_{škrob} = \frac{M_{škrob} \times m_{glukoza}}{M_{glukoza}}$$

Rešitev enačbe oziroma količina pretvorjenega škroba znaša 358 gramov. Razmerje med pretvorjeno maso škroba in skupno začetno maso krompirja je 1:28 oziroma 3,6 %. Povprečna vsebnost škroba v krompirju je od 9 % do 30 %. To pomeni, da je bila encimska pretvorba relativno neuspešna. Izračunali smo še koeficient efektivnosti prvega eksperimenta, ki znaša 5,3 %, kar pomeni, da je kljub slabšim pogojem prvi eksperiment potekal uspešneje.

6.3.3 Proizvodnja etanola iz odpadne hrane (tretji poskus)

6.3.3.1 Opis eksperimenta

Dober vir škroba je lahko tudi odpadna hrana. Zaradi zakonodaje nismo uspeli pridobiti realnega primerka odpadne hrane iz šolske kuhinje, zato smo v laboratoriju naredili primer letete. Skuhali smo 2 kilograma riža, vanj dodali še koščke mesa in kuhanje zelenjave. Mešanico smo nadalje kuhalili še 210 minut, da bi se čim bolj razkuhalila, kar bi encimom omogočilo lažje delovanje. Ker je v procesu riž nabreknil in vsrkal vodo, smo v proces kuhanja dodali še 5000 mililitrov vode. Končna tekstura mešanice je bila podobna gosti juhi. Nato smo v 600 mililitrih tople vode raztopili 1 gram amilaze. Amilaza je delovala 18 ur. Mešanica je skozi proces encimske pretvorbe postajala vse manj viskozna zaradi pretvorbe netopnega škroba v vodo topne monosaharide. Po končani encimski pretvorbi smo preverili vsebnost sladkorjev z refraktometrom, ki je pokazal 12 brix. Kljub dodani zelenjavi in mesu mešanica ni imela neprijetnega vonja in težav s pretvorbo. Po uspešni encimski pretvorbi smo se lotili priprave kvasovk. V 300 mililitrov vode smo raztopili 5 gramov kvasovk, 25 gramov sladkorja in 5

gramov vrelne soli. Po 60 min razmnoževanja kvasovk smo te dodali mešanici in vse prelili v fermentacijsko posodo. Vzpostavili smo sistem za zbiranje podatkov in pustili fermentacijo trajati samo štiri dni. V tem času je fermentacija že dokončno potekla.

Po končanem alkoholnem vrenju smo mešanico destilirali v domačem destilacijskem aparatu in dobili 1000 mililitrov 21 % alkohola. Sledila je še navadna destilacija v steklenem destilacijskem aparatu. Končni produkt je bil 250 mililitrov 83 % alkohola.

6.3.3.2 Analiza eksperimenta

V primerjavi s prejšnimi eksperimenti je ta trajal manj časa in veliko učinkoviteje. V primerjavi z začetno količino materiala smo imeli tudi zelo velik izkoristek. Kljub odličnemu rezultatu pa je bil eksperiment neuspešen, saj smo zaradi napake v sistemu izgubili vse podatke.

Zato bomo v analizo vključili izkušnje iz prejšnjih eksperimentov in poskusili z enačbami določiti potek eksperimenta.

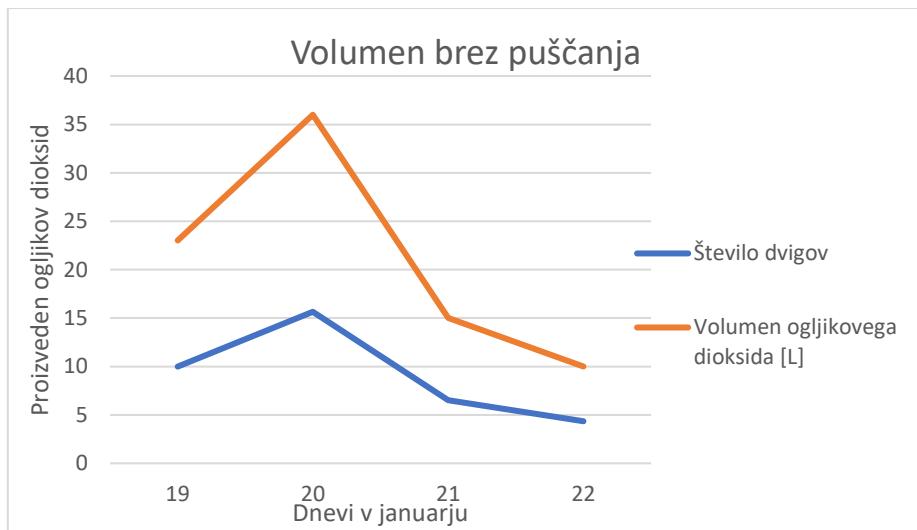
Da bi izračunali količino ogljikovega dioksida, bomo preuredili enačbo iz prejšnjega eksperimenta.

$$V_{CO_2} = \frac{M_{CO_2} \times m_{ethanol}}{M_{ethanol} \times \rho_{CO_2}}$$

Iz mase destiliranega etanola in ostalih konstant lahko izračunamo skupen volmen proizvedenega ogljikovega dioksida. Prostornina znaša 85 litrov. To ni realna vrednost volumna, ki nam bi jo podal sistem, saj je le-ta puščal. Upoštevali smo, da je pretok puščanja enak kot pri prejšnjih eksperimentih oziroma 90 mililitrov/h, ki smo ga izračunali iz teoretičnih podatkov in naših meritev.

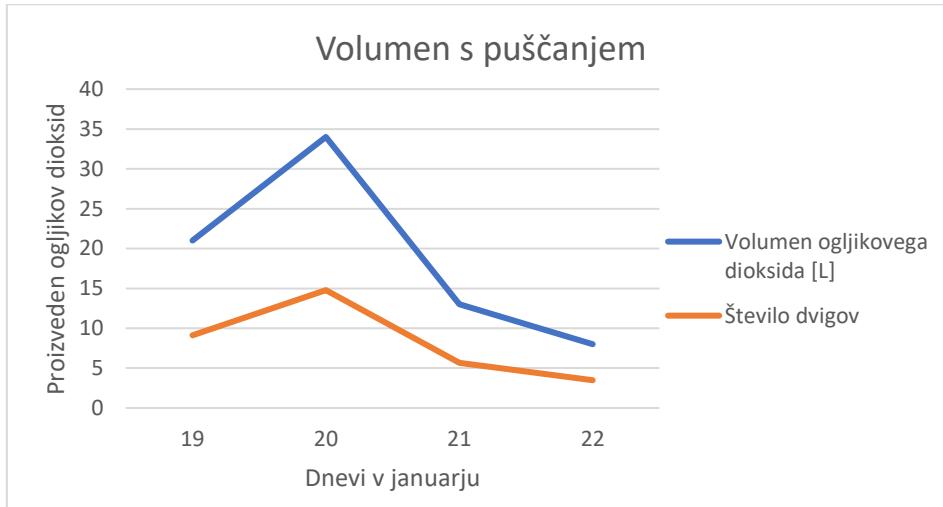
$$V_{CO_2} = Q_{puščanja} \times t_{eksperimenta} + V_{bata} \times N_{dvigov}$$

Z zgornjo enačbo lahko izpostavimo število dvigov, pri čemer dobimo število 33. Volumen nezabeleženega ogljikovega dioksida bi bil 8,6 litra.



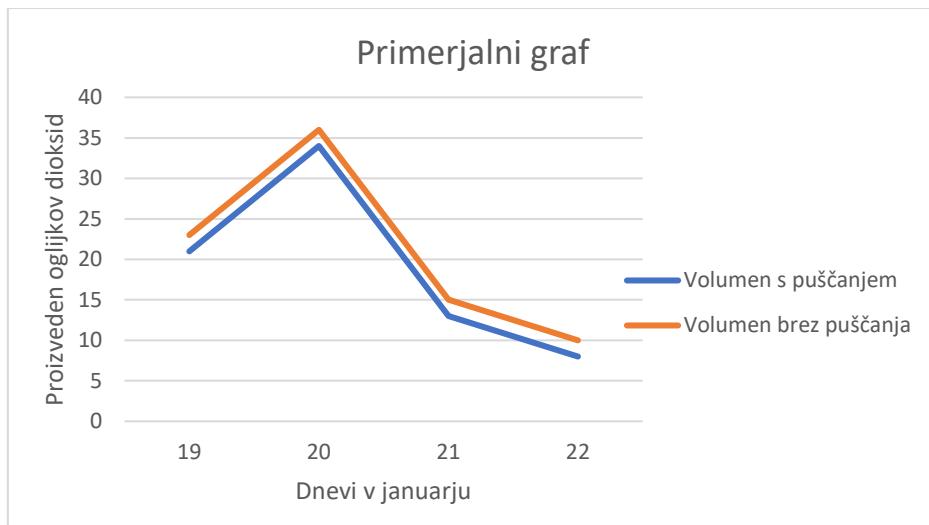
Slika 26: Graf volumna ogljikovega dioksida brez puščanja v odvisnosti od časa.

Na grafu je prikazano idealno število dvigov plinomera in volumen proizvedenega ogljikovega dioksida brez izgub zaradi puščanja.



Slika 27: Graf volumna ogljikovega dioksida s puščanjem v odvisnosti od časa.

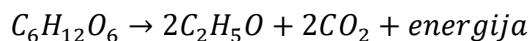
Na grafu je prikazano realno število dvigov plinomera in volumen proizvedenega ogljikovega dioksida z upoštevanjem izgub zaradi puščanja.



Slika 28: Primerjava volumena ogljikovega dioksida s puščanjem in brez puščanja.

Na grafu je prikazana razlika med realnimi in idealnimi vrednostmi.

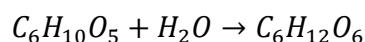
Zanima nas tudi izkoristek reakcije pretvorbe škroba v etanol. Kilogram kuhanega belega riža vsebuje 260 gramov škroba, kilogram suhega oziroma nepripravljenega pa 730 gramov. Iz 1 kilograma surovega riža nastane približno 3 kilograme kuhanega. Masa skuhanega riža uporabljenega v eksperimentu je bila 2 kilograma. To pomeni, da je bilo v reakciji prisotnih 520 gramov škroba. Za izračun izkoristka celotnega procesa potrebujemo še podatek o masi škroba, ki je bila pretvorjena v etanol. Po zadnji destilaciji smo ostali z 250 mililitri 83 % alkohola.



Kot v prejšnji analizi smo s pomočjo enačbe alkoholnega vrenja postavili razmerje med množinami etanola in glukoze. Nato smo jih preoblikovali v spodnjo formulo.

$$m_{\text{glukoza}} = \frac{M_{\text{glukoza}} \times m_{\text{etanol}}}{2 \times M_{\text{etanol}}}$$

Z upoštevanjem te formule smo izračunali maso glukoze, ki se je pretvorila v alkohol. Masa pretvorjene glukoze znaša 328 gramov. V primerjavi s prejšnjim poskusom je to le 70 gramov manj.



Zgornja enačba predstavlja reakcijo hidrolize škroba, ki smo jo izvedli z encimom amilazo. V spodnji enačbi z uporabo prej izračunane mase glukoze in konstantami izračunamo maso pretvorjenega škroba.

$$m_{\text{škrob}} = \frac{M_{\text{škrob}} \times m_{\text{glukoza}}}{M_{\text{glukoza}}}$$

Ta znaša 299 gramov škroba. Razmerje med maso kuhanega riža in pretvorjenega škroba je 1:6,7, kar je 14,9 %. Razmerje med maso suhega oziroma nepripravljenega riža in pretvorjenega škroba pa je 44,8 %.

Skupna vsebnost škroba v kuhanem rižu je 26 %, v nepripravljenem pa 73 %.

V eksperimentu z rižem smo dosegli 57 % pretvorbo teoretične vrednosti škroba v alkohol.

6.3.4 Proizvodnja etanola iz celuloznega materiala (zelene trave)

6.3.4.1 Opis eksperimenta

Z rotacijsko kosilnico smo pokosili 5,5 kilograma trave. Da bi povečali površino na kateri učinkujejo encimi, smo travo še dodatno zmleli. Razdelili smo jo v dve posodi in ji dodali 14 litrov, 7 litrov na posodo. Z namenom razgradnje celične stene smo travo kuhalili 7 ur na električnem kuhalniku. Za pretvorbo celuloze v glukozo smo uporabili encim cellulaza. 10 mililitrov kupljene predpripravljene raztopine smo razredčili v enem litru vode. To smo nato enakomerno dodali obema posodama in pet ur vzdrževali optimalno temperaturo za delovanje encimov. Nato smo encime pustili delovati še 72 ur.



Slika 29: Trava po encimski pretvorbi.

Koncentracija sladkorjev pred delovanjem encimov je bila 2 brix, po delovanju pa 3 brix. Kljub manjšim vrednostim sladkorja v raztopini smo nadaljevali s poskusom. V fermentacijsko

posodo smo prefiltirali le tekočo vsebino, trdne delce trave pa smo zavrgli. Ostali smo s 15 litri tekočine. Nato smo v enem litru tople vode raztopili 35 gramov sladkorja, 10 gramov vrelne soli in 10 gramov kvasovk. Po 45 minutah so kvasovke že naredile »klobuk« in so bile pripravljene za fermentacijo. Raztopino kvasovk smo dodali fermentacijski posodi in jo zatesnili kot v prejšnjih poskusih. Po priklopu plinomera in vzpostavitvi merilnega sistema smo fermentacijo izvajali 14 dni. Potem smo vzeli litrski vzorec in ga destilirali, da bi preverili vsebnost alkohola. Zaradi slabih rezultatov smo tu poskus zaključili.

6.3.4.2 Analiza eksperimenta

Po destilaciji prvega vzorca smo dobili 20 mililitrov 0,5 % alkohola. Zaradi rezultatov, ki niso obetali, z destilacijo nismo nadaljevali, saj smo sklepali, da je količina alkohola v tekočini zanemarljiva. Po razmisleku smo našli več vzrokov za neuspeh poskusa. Po razmisleku smo ugotovili, da je predpriprava celuloznih vlaken pred dodajanjem encimov zelo pomembna. Razgradnje celuloze smo se lotili z temperaturno obdelavo oziroma kuhanjem. Razlika med travo pred kuhanjem in po kuhanju ni bila očitna. Spremembra je bila le v vsebnosti vode in v teksturi trave.

Za encimsko pretvorbo celuloze v glukozo se uporablajo kombinacije večih encimov. Mi smo za encimsko pretvorbo uporabili le celulazo, kar bi lahko pojasnilo nizko vsebnost monosaharidov po končani pretvorbi. Kljub slabi pretvorbi so monosaharidi bili prisotni v raztopini, kar smo dokazali z benediktovim reagentom. Med procesom encimske pretvorbe smo opazili, da se je pričel naravni postopek siliranja trave oziroma razmnoževanje mlečnokislinskih bakterij. Ta pojav je večkrat uporabljen v kmetijstvu za konzerviranje krme za živino – silaža. Vpliv siliranja na potek encimske pretvorbe je kompleksen in nam neznan.



Slika 30: Benediktov reagent.

Vzrok za majhno količino proizvedenega alkohola je kombinacija prej opisanih problemov. V primeru ponovitve eksperimenta bi spremenili določene procese. Bolj bi se posvetili predpripravi celuloznega vira, saj brez pravilno pripravljene trave to encimi težko pretvorijo v

želene produkte. Sama temperaturna razgradnja trave ni bila dovolj, zato bi uporabili še močne baze.

Zaradi nepripravljene trave encim celulaze ni mogel pretvoriti celuloze v glukozo, kar se je poznalo v ekstremno nizki količini alkohola. Za učinkovitejši proces encimske pretvorbe bi tudi mi uporabili kombinacijo različnih encimov.

Zaradi neuspešne encimske pretvorbe je bilo v tekočini zanemarljivo malo glukoze, zato tudi alkoholno vrenje ni poteklo v želenem obsegu. Posledično je nastala zelo majhna količina ogljikovega dioksida, kar je v povezavi z rahlim puščanjem povzročilo, da nismo zabeležili nobenega dviga.

6.4 Uporaba proizvedenega etanola v motorjih na notranje izgorevanje

Odstotek alkohola v gorivu [%]	Dvotaktni motor	Štiritaktni motor
0	Normalno delovanje, visoki in nizki obrati, ohranja prosti tek.	Normalno delovanje, visoki in nizki obrati, ohranja prosti tek.
25	Ni spremembe v delovanju.	Ni spremembe v delovanju.
50	Ne vzdržuje visokih obratov, ohranja prosti tek.	Normalno delovanje, potrebno prilagajanje mešanice goriva in zraka.
75	Ohranja prosti tek, ugasne pri visokih obratih.	Ne ohranja prostega teka, normalno delovanje v visokih in srednjih obratih.
100	Ohranja prosti tek, ugasne pri srednjih in visokih obratih.	Ne ohranja prostega teka, optimalno delovanje v srednjih obratih, deluje tudi v visokih.

Tabela 4: Delovanje motorjev glede na odstotek alkohola v gorivu.

Za dvotaktni motor smo uporabili staro vinogradniško pršilko češkega proizvajalca s 60 kubičnimi centimetri delovne prostornine in 2,2 kW moči.



Slika 31: Pršilka z dvotaktnim motorjem.

Gorivo je bilo mešanica standardnega goriva za dvotaktne motorje (50:1, bencin:olje) in etanola z dodanim ricinusovim oljem (50:1, etanol:olje), ki je eno izmed redkih olj, ki se topi v etanolu. Dvotaktni motorji za svoje delovanje nujno potrebujejo mešanico olja in goriva. Prosti tek motorja ob uporabi alkohola ni bil spremenjen, sprememba se je kazala pri delovnih obratih. Višja kotjer bila koncentracija alkohola v primerjavi z bencinom, nižje obrate je lahko

vzdrževal motor, ne da bi vmes ugasnil. To pomeni, da ni mogel delovati pri višjih obratih. To pripisujemo napačnemu razmerju med gorivom in zrakom, ki bi ga morali še dodatno prilagoditi na uplinjaču motorja. Ker je uplinjač prilagojen delovanju na bencin, pa tega nismo mogli pravilno nastaviti. Naše predvidevanje je, da je bilo v razmerju preveč zraka oziroma premalo goriva. Opazili smo tudi, da so bili izpušni plini manj agresivni in da se je iz izpušnega sistema veliko manj kadilo. Poleg tega je bil vonj veliko manj agresiven in rahlo sintetičen. Naše predvidevanje je, da je bilo v razmerju preveč zraka oziroma premalo goriva. Etanol bi deloval v dvotaktnem motorju, a bi mešanica goriva in zraka morala biti pravilno nastavljeni. To omogoča bolj ekološko uporabo raznih vsakodnevnih orodij in vozil, kot so motorne žage, mopedi, kosilnice, vinogradniške pršilke in podobno.

Štiritaktni motor je izviral iz popravljene rotacijske kosilnice. Proizvajalec motorja je Kawasaki, ima 180 kubičnih centimetrov delovne prostornine in 3,5 kW moči.



Slika 32: Štiritaktni motor.



Slika 33: Štiritaktni motor z odstranjeno glavo.

Gorivo je bilo mešanica bencina in etanola, saj za štiritaktne motorje ne rabimo mešati olja v gorivo, kar je velika prednost teh motorjev. Štiritaktni motor ni mogel vzdrževati prostega teka pri višjih koncentracijah alkohola v gorivu. Za razliko od dvotaktnega motorja pa je normalno deloval pri srednjih oziroma višjih obratih, kar lahko pripišemo temu, da smo na tem motorju lahko prilagodili razmerje med gorivom in zrakom. Zanimivo je bilo, da je motor postal veliko tišji v primerjavi s čistim gorivom. Tudi vonj izpušnih plinov je bil povsem drugačen. Vonj je bil manj oster in bolj sintetičen. Uporaba etanola v štiritaktnih motorjih je zelo obetavna, več držav na svetu ga že ponuja kot nadomestek za uporabo v avtomobilih. Etanol je tudi dodan bencinu, evropski standard 5 ali 10, kar pomeni, da je v bencinu 5 ali 10 % bioetanola.

7 ZAKLJUČEK

Prvo hipotezo smo žeeli potrditi z dvema poskusoma pretvorbe škrobnih živil v etanol. Prvi poskus s krompirjem ni izpolnil naših pričakovanj, medtem ko je z odpadno hrano močno presegel naša pričakovanja. S tem lahko prvo hipotezo potrdimo, saj nam je uspelo iz škrobnih živil proizvesti alkohol.

Drugo hipotezo smo potrdili, saj nam iz trave s izbranimi metodami in encimi, ki smo jih imeli na voljo, ni uspelo proizvesti etanola. V primeru ponovne izvedbe poskusa bi uporabili kombinacije encimov in agresivnejšo predobdelavo celuloznih vlaken, kar bi povečalo naše možnosti za uspeh.

Tretjo hipotezo smo potrdili, saj nam je s proizvedenim alkoholom uspelo poganjati štiritaktne kot tudi dvotaktne motorje. Zanimivo bi bilo raziskati kakšen je vpliv uporabe etanola na sestavo izpušnih plinov, zvočno onesnaževanje in moč motorja v primerjavi z uporabo bencina.

Četrto hipotezo lahko po večkrat opravljenih poskusih ovržemo, saj se je zaščitni cinkov nanos ob stiku s kislimi raztopinami raztopil, kar je povzročilo hitro oksidacijo jeklene posode.

8 BIBLIOGRAFIJA

- Abebe, M. (2008). History of Ethanol. *Journalism & Mass Communications: Student Media*. Pridobljeno iz <https://digitalcommons.unl.edu/journalismstudent>
- Amornraksa, S., Subsaipin, I., Simasatitkul, L., & Assabumrungrat, S. (2020). Systematic design of separation process for bioethanol production from corn stover. *BMC Chemical Engineering*. Pridobljeno iz <https://doi.org/10.1186/s42480-020-00033-1>
- Aron, N. S., Khoo, K. S., Chew, K. W., Show, P. L., Chen, W.-H., & Nguyen, H. P. (2020). Sustainability of the four generations of biofuels – A review. *International Journal of Energy Research*, 9266-9282. Pridobljeno iz <https://doi.org/10.1002/er.5557>
- Balat, M., Balat, H., & Öz, C. (2008). Progress in bioethanol processing. *Progress in Energy and Combustion Science*, 551–573. Pridobljeno iz <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.473.7591&rep=rep1&type=pdf>
- Barisano, D., De Bari, I., Viola, E., Zimbardi, F., Braccio, G., Cantarella, M., & Gallifuoco, A. (2001). *State of the art on bioethanol production*. ENEA. Pridobljeno iz https://inis.iaea.org/collection/NCLCollectionStore/_Public/33/015/33015096.pdf
- Bauen, A., Berndes, G., Junginger, M., Londo, M., & Vuille, F. (2012). *Bioenergy - a Sustainable and Reliable Energy Source*. International Energy Agency. Pridobljeno iz https://www.researchgate.net/publication/48326680_Bioenergy_-_A_Sustainable_and_Reliable_Energy_Source
- Bibi, R., Ahmad, Z., Imran, M., Hussain, S., Ditta, A., Mahmood, S., & Khalid, A. (2017). Algal bioethanol production technology: A trend towards sustainable development. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 976-985. Pridobljeno iz <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2016.12.126>
- Binod, P., Janu, K., Sindhu, R., & Pandey, A. (2011). Hydrolysis of Lignocellulosic Biomass for Bioethanol Production. *Biofuels*, 229-250. Pridobljeno iz <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385099-7.00010-3>
- Blair, G. (1989). *Two Basic Design of Two-Stroke Engines*. Society of Automotive Engineers, Inc. Pridobljeno iz <https://dokumen.tips/documents/basic-design-of-two-stroke-engines.html>
- Buckner, C. (2020). *U.S. fuel ethanol production capacity increased by 3% in 2019*. U.S. Energy Information Administration. Pridobljeno iz <https://www.eia.gov/todayinenergy/detail.php?id=45316>
- Cah, R. (junij 2011). Motorji z notranjim izgorevanjem. Ljubljana, Ljubljana, Slovenija. Pridobljeno iz https://bb.si/f/docs/diplomska-dela/cah_romeo-motorji_z_notranjim_izgorevanjem_1.pdf
- Demirbaš, A. (2005). Bioethanol from Cellulosic Materials:A Renewable Motor Fuel from Biomass. *Energy Sources*, 327-337. doi:10.1080/00908310390266643

- Duhan, J. S., Kumar, A., & Kumar Tanwar, S. (2013). Bioethanol production from starchy part of tuberous plant (potato) using *Saccharomyces cerevisiae* MTCC-170. *African Journal of Microbiology Research*, 5253-5260. doi:10.5897/AJMR2013.6122
- Grazina Juodeikiene, e. a. (2014). *Combined fermentation for increasing efficiency of bioethanol production from Fusarium sp. contaminated barley biomass*. Elsevier. Pridobljeno iz <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2013.09.028>
- Hashem, M., & Darwish, S. M. (2010). Production of bioethanol and associated by-products from potato starch residue stream by *Saccharomyces cerevisiae*. *Biomass and Bioenergy*, 953-959. Pridobljeno iz <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.02.003>
- Hossain, N., Zaini, J. H., & Mahlia, T. (2017). A review of bioethanol production from plant-based waste biomass by yeast fermentation. *International Journal of Technology*, 5-18. Pridobljeno iz <https://doi.org/10.14716/ijtech.v8i1.3948>
- Izmirlioglu, G., & Demirci, A. (2012). Ethanol Production from Waste Potato Mash by Using *Saccharomyces Cerevisiae*. *Applied Sciences*, 738-753. doi:10.3390/app2040738
- Joshi, V., Walia, A., & Rana, N. (2012). Production of Bioethanol from Food Industry Waste: Microbiology, Biochemistry and Technology. *Biomass Conversion*, 251-311. Pridobljeno iz https://doi.org/10.1007/978-3-642-28418-2_9
- Juodeikiene, G., Cernauskas, D., Vidmantiene, D., Basinskiene, L., Bartkiene, E., Bakutis, B., & Baliukoniene, V. (2014). Combined fermentation for increasing efficiency of bioethanol production from *Fusarium* sp. contaminated barley biomass. *Catalysis Today*, 108-114. Pridobljeno iz <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2013.09.028>
- Karimi, K., & Chisti, Y. (2017). Bioethanol Production and Technologies. *Encyclopedia of Sustainable Technologies*, 273-284. Pridobljeno iz <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.10111-3>
- Karmee, S. K. (2015). Liquid biofuels from food waste: current trends, prospect and limitation. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 945–953. Pridobljeno iz <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.09.041>
- Khan, M., Bonifacio, S., Clowes, J., Foulds, A., Holland, R., Matthews, J., . . . Shallcross, D. (2021). Investigation of Biofuel as a Potential Renewable Energy Source. *Atmosphere*. Pridobljeno iz <https://doi.org/10.3390/atmos12101289>
- Khan, R. A., Nawaz, A., Ahmed, M., Khan, M. R., Dian, F., Azam, N., . . . Khan, N. (2012). Production of bioethanol through enzymatic hydrolysis of potato. *African Journal of Biotechnology*, 6739-6743. doi:10.5897/AJB11.2791
- Lawson, H. (2017). *Pridobivanje bioetanola v energetske namene*. Pridobljeno iz <https://silo.tips/download/pridobivanje-bioetanola-v-energetske-namene>
- Lee, R. A., & Lavoie, J.-M. (April 2013). From first- to third-generation biofuels: Challenges of producing a commodity from a biomass of increasing complexity. *Animal Frontiers*, 6-11. Pridobljeno iz <https://doi.org/10.2527/af.2013-0010>

- Liong, Y. Y., Halis, R., Lai, O. M., & Mohamed, R. (2012). Conversion of lignocellulosic biomass from grass to bioethanol using materials pretreated with alkali and the white rot fungus, *Phanerochaete chrysosporium*. *Bioresources*, 5500-5513. Pridobljeno iz https://ojs.cnr.ncsu.edu/index.php/BioRes/article/view/BioRes_07_4_5500_Liong_Conversion_Lignocellulosic_Biomass_Bioethanol/1799
- Lipovac, T. (2016). *Škrob: struktura i utjecaj na kvalitetu prehrambenih proizvoda*. Osijek. Pridobljeno iz <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:009117>
- Margeot, A., Hahn-Hagerdal, B., Edlund, M., Slade, R., & Monot, F. (2009). New improvements for lignocellulosic ethanol. *Current Opinion in Biotechnology*, 372–380. Pridobljeno iz <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2009.05.009>
- Mari, M. V., Mari, J. M., Ferreira, M. C., Conceição, W., & Andrade, C. (2017). Bioethanol Production Power Plants from Sugarcane: First and Second Generation. *10th international conference on sustainable energy and environmental protection: Bioenergy and biofuels* (str. 201-208). Bled: University of Maribor Press. Pridobljeno iz <https://doi.org/10.18690/978-961-286-048-6.20>
- Mohapatra, S., Mishra, C., Behera, S., & Thatoi, H. (2017). Application of pretreatment, fermentation and molecular techniques for enhancing bioethanol production from grass biomass – A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 1007-1032. Pridobljeno iz https://www.researchgate.net/publication/316890023_Application_of_pretreatment_fermentation_and_molecular_techniques_for_enhancing_bioethanol_production_from_grass_biomass_-_A_review
- Mood, S. H., Golfeshan, A. H., Tabatabaei, M., Jouzani, G. S., Najafi, G. H., Gholami, M., & Ardjmand, M. (2013). Lignocellulosic biomass to bioethanol, a comprehensive review with a focus on pretreatment. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 77-93. Pridobljeno iz https://www.researchgate.net/publication/329076395_Conversion_of_Lignocellulosic_Biomass_to_Bioethanol_An_Overview_with_a_Focus_on_Pretreatment
- Moon, R., Martini, A., Simonsen, J., & Youngblood, J. (2011). Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. *Chemical Society Reviews*, 3941–3994. Pridobljeno iz https://www.researchgate.net/publication/51121512_ChemInform_Abstract_Cellulose_Nanomaterials_Review_Structure_Properties_and_Nanocomposites
- Mostofa, M. (2019). An Introduction to Bioethanol and Its Prospects in Bangladesh: A Review. *Journal of Energy Research and Reviews*, 1-12. doi:10.9734/JENRR/2019/46018
- M-P, J. J., & S-H, J. G. (2018). Alternative Schemes for the Purification of Bioethanol: A Comparative Study. *Recent Advantages in Petrochemical Science*. Pridobljeno iz <http://dx.doi.org/10.19080/RAPSCI.2018.04.555631>
- Muhaji, & Sutjahjo. (2018). The characteristics of bioethanol fuel made of vegetable raw materials. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. doi:10.1088/1757-899X/296/1/012019

- Naik, S., Goud, V., Rout, P., & Dalai, A. (2010). Production of first and second generation biofuels: a comprehensive review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 578-597. Pridobljeno iz <https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.10.003>
- Nunez, C. (15. julij 2019). *Biofels, explained*. Pridobljeno iz National Geographic: <https://www.nationalgeographic.com/environment/article/biofuel>
- Ojewumi, M. E., Job, A. I., Taiwo, O. S., Obanla, O. M., Ayoola, A. A., Ojewumi, E. O., & Oyeniyi, E. A. (2018). Bio-Conversion of Sweet Potato Peel Waste to Bio-Ethanol Using *Saccharomyces Cerevisiae*. *International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research*, 46-54. Pridobljeno iz <http://eprints.covenantuniversity.edu.ng/id/eprint/11318>
- Osei, J. A. (2021). *Utilization of Agricultural Food Waste Products for Bioethanol Generation, Kiambu County, Kenya*. Pridobljeno iz <http://ir-library.ku.ac.ke/handle/123456789/22573>
- Panahi, H., Dehhaghi, M., Guillemin, G., Gupta, V. K., Lam, S. S., Aghbashlo, M., & Tabatabaei, M. (2022). Bioethanol production from food wastes rich in carbohydrates. *Current Opinion in Food Science*, 71-81. Pridobljeno iz https://www.researchgate.net/publication/356110199_Bioethanol_production_from_food_wastes_rich_in_carbohydrates
- Porqueras, E. M., Rittman, S., & Herwig, C. (2012). Biofuels and CO₂ neutrality: an opportunity. *Biofuels*, 413-426. doi:10.4155/bfs.12.25
- Qiao, Z., & Lü, X. (2021). Industrial bioethanol production: status and bottlenecks. *Advances in 2nd Generation of Bioethanol Production*, 213-227. Pridobljeno iz <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818862-0.00003-0>
- Quintero-Ramirez, ., R. (2014). Hydrolysis of Lignocellulosic Biomass. *Sugarcane bioethanol – R&D for Productivity and Sustainability*, 717-732. Pridobljeno iz http://dx.doi.org/10.5151/BlucherOA-Sugarcane-SUGARCANEETHANOL_60
- Ritslaid, Küüt, & Olt. (2010). State of the Art in Bioethanol Production. *Agronomy Research*, 236-254. Pridobljeno iz <https://agronomy.emu.ee/vol08Spec1/p08s127.pdf>
- Sims, R., Taylor, M., Saddler, J., & Mabee, W. (2008). *From 1st- to 2nd-Generation Biofuel Technologies: An overview of current industry and RD&D activities*. International Energy Agency. Pridobljeno iz http://environmentportal.in/files/2nd_Biofuel_Gen.pdf
- Škrjanc, S. (2018). Merilni sistemi za določitev izkoristka dvotaktnega motorja. Ljubljana, Ljubljana, Slovenija. Pridobljeno iz <http://pefprints.pef.uni-lj.si/5170/>
- Stanbury, P., Whitaker, A., & Hall, S. (1995). *Principles of Fermentation Technologies*. Oxford, U.K. ; Tarrytown, N.Y., U.S.A.: Pergamon. Pridobljeno iz https://books.google.si/books?hl=sl&lr=&id=CW8vBQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=fermentation&ots=iYfGkqnWTy&sig=AKpmWn8egJ0Flv4DdLkZz5UtdsE&redir_esc=y#v=onepage&q=fermentation&f=false

- Stone, R. (2012). *Introduction to Internal Combustion Engines*. Palgrave Macmillan. Pridobljeno iz https://books.google.si/books?id=afYcBQAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=sl&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- Sumsozas, A., Martín-Sampedro, R., Ibarra, D., Eugenio, M., Iglesias, R., Manzanares, P., & Moreno, A. (2020). Process Strategies for the Transition of 1G to Advanced Bioethanol Production. *Processes*. doi:<https://doi.org/10.3390/pr8101310>
- Swain, M. R., & Mohanty, K. S. (2018). Bioethanol Production From Corn and Wheat: Food, Fuel and Future. *Bioethanol Production from Food Crops: Sustainable Sources, Interventions and Challenges*, 45-59. Pridobljeno iz https://www.researchgate.net/publication/327338684_Bioethanol_Production_From_Corn_and_Wheat_Food_Fuel_and_Future
- Tabak, J. (2009). *Biofuels*. New York: Infobase Publishing. Pridobljeno iz https://books.google.si/books?id=lecig9F_pBIC&printsec=frontcover&hl=sl&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- Taherzadeh, M., & Karimi, K. (2007). Enzymatic-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: A review. *BioResources*, 707-738. Pridobljeno iz <https://www.diva-portal.org/smash/record.jsf?dswid=401&pid=diva2%3A870387>
- Trzcinski, A. P. (2017). *Biofuels from food waste : applications of saccharification using*. Taylor & Francis Group. Pridobljeno iz <https://doi.org/10.1201/9781315104690>
- Tse, T., Wiens, D., & Reaney, M. (2021). Production of Bioethanol - A Review of Factors Affecting Ethanol Yield. *Fermentation*. Pridobljeno iz <https://doi.org/10.3390/fermentation7040268>
- Vasić, K., Knez, Ž., & Leitgeb, M. (2021). Bioethanol Production by Enzymatic Hydrolysis from Different Lignocellulosic Sources. *Molecules*. Pridobljeno iz <https://doi.org/10.3390/molecules26030753>
- Vršič, K. (2015). Sinteza procesov za proizvodnjo bioetanola. Maribor, Slovenija. Pridobljeno iz <https://core.ac.uk/download/pdf/67597148.pdf>
- Wyman, C. (1996). *Handbook on Bioethanol: Production and Utilization*. Washington DC: Taylor and Francis. Pridobljeno iz https://books.google.si/books?id=KziEzu-D7oC&pg=PR3&hl=sl&source=gbs_selected_pages&cad=2#v=onepage&q&f=false
- Yamada, S., Shinomiya, N., Ohba, K., Sekikawa, M., & Oda, Y. (2009). Enzymatic Hydrolysis and Ethanol Fermentation of By-Products from Potato Processing Plants. *Food Science and Technology Research*, 653-658. Pridobljeno iz <https://doi.org/10.3136/fstr.15.653>