



ZOTKS

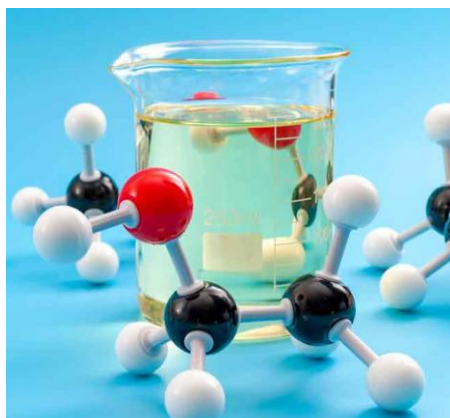
Zveza za tehnično kulturo Slovenije

SREČANJE MLADIH RAZISKOVALCEV SLOVENIJE

Naslov raziskovalne naloge

**PRIDOBIVNAJE BIOETANOLA IZ JAPONSKEGA
DRESNIKA (*Fallopia japonica L.*)**

Področje: Kemija in kemijska tehnologija



Avtorji naloge:

NIK BERLIČ, 9. r, OŠ Kungota

ŽAN REMŠAK, 9. r, OŠ Kungota

MAŠA ŽIŽEK, 9. r., OŠ Kungota

Mentorica: Zdenka Keuc, prof., OŠ Kungota

Zg. Kungota, februar 2025

Kazalo vsebine

1 UVOD	6
1.1 Cilji raziskovalne naloge	7
1.2 Hipoteze in razlaga hipotez	8
1.2 Uporabljen metodologija	8
2 PREGLED LITERATURE	8
2.1 Obnovljivi viri energije (OVE)	8
2.1 Biomasa kot energijski vir.....	9
2.2 Pridobivanje bioetanola.....	11
2.2.1 Uporaba (bio)etanola v mešanici z bencinom	14
2.3 Japonski dresnik (<i>Fallopia japonica L.</i>).....	17
2.3.1 Uporaba japonskega dresnika.....	18
3 PRAKTIČNI DEL	19
3.1 Nabiranje, sušenje in priprava vzorca	19
3.2 Kisla hidroliza celuloznega dela vzorcev	20
3.2.1 Pripomočki in kemikalije	20
3.2.2 Priprava raztopin	21
3.3 Kvalitativni testi z rezultati meritev	22
3.3.1 Ekstrakcija sladkorjev iz japonskega dresnika	22
3.3.2 Testiranje vzorcev na prisotnost enostavnih sladkorjev	23
3.4 Kvantitativni del z rezultati meritev	25
3.4.1 Sterilizacija in koncentracija raztopine japonskega dresnika	25
3.4.2 Fermentacija ekstrakta japonskega dresnika (alkoholno vrenje).....	25
4 REZULTATI IN RAZPRAVA	28
4.1 Destilacija etanola pridobljenega s fermentacijo.....	29
4.2 Sprememba sežigne entalpije bioetanola.....	32
4.2.1 Meritve	33
5 ZAKLJUČKI.....	34
6 VIRI.....	38

Kazalo slik

Slika 1. Vrste obnovljivih virov energije (Podgoršek in Vrtačnik, 2011)	9
Slika 2. Ob naraščanju temperature parni tlak mešanice etanola in bencina narašča hitreje kot pri čistem bencinu (Lin in Tanaka, 2006).....	13
Slika 3. Japonski dresnik (lasten vir).....	17
Slika 4. Molekuli glukoze, povezane z β -1,4- glikozidno vezjo (Tavzes, 2003).	18
Slika 5. Japonski dresnik (oleseneli deli in podzemna korenika) (lasten vir)	20
Slika 6. Japonski dresnik (lasten vir).....	22
Slika 7. Trenje japonskega dresnika (lasten vir).....	22
Slika 8. Drobljenje japonskega dresnika s pomočjo gospodinjskega mikserja (lasten vir).....	22
Slika 9. Kisla hidroliza celuloze s kontrolo temperature (lasten vir)	23
Slika 10. Filtrat po kisli hidrolizi japonskega dresnika (lasten vir).....	23
Slika 11. Uporaba Fehling I in Fehling II raztopine za dokaz pristnosti reducirajočih sladkorjev (levo na začetku; desno na koncu) (lasten vir)	24
Slika 12. Fehlingov kompleks (Hörner in Klüfers, 2016)	24
Slika 13. Ekonom lonec namesto avtoklava (lasten vir)	25
Slika 14. Pretvorba glukoze v etanol (encimska reakcija) (Ager s sod., 2019).....	26
Slika 15. Nastavitev poskusa (lasten vir)	26
Slika 16. Rezultat fermentacije Po 10 min (lasten vir).....	27
Slika 17. Rezultat fermentacije po 30 min (lasten vir)	27
Slika 18. Fermentacija v erlenmajerici (lasten vir).....	27
Slika 19. Fermentacija po 70 min (lasten vir)	27
Slika 20. Sproščanja CO ₂ v raztopino Ca(OH) ₂ (lasten vir).....	28
Slika 21. Fermentacija v termo steklenici (lasten vir).....	30
Slika 22. Destilacija fermentacije ekstrakta Japonskega dresnika in začetek destilacije etanola (lasten vir)	30
Slika 23. Alkohol pridobljen z destilacijo (lasten vir).....	31
Slika 24. Dokaz prisotni etanola s kislom raztopino K ₂ Cr ₂ O ₇ (prehod iz oranžne v zeleno barvo) (lasten vir)	31
Slika 25. Kapljice etanola v Liebigoem hladilniku (lasten vir).....	32
Slika 26: Določitev sežigne entalpije bioetnola.....	33

Kazalo preglednic

Preglednica 1. Energijski potencial rastlin (Taiz s sod., 1988)	11
Preglednica 2. Fizikalno-kemijske lastnosti mešanic bencina in etanola (povzeto po Bielaczyc s sod., 2016).....	14

Kazalo grafov

Graf 1. Emisijska produktivnost v obdobju 2005–2020 v Sloveniji in EU-28 (Vir: ARSO, SURS, IJS-CEU, 2020).....	6
--	---

Graf 2. Vire proizvodnje električne energije za september 2023 (SURs, 2024)	9
Graf 3. Pridelava biogoriv v Sloveniji od leta 2005 do 2020 (ARSO, 2022).....	15

Kazalo organigramov

Organigram 1. Načrt praktičnega dela.....	19
---	----

Okrajšave uporabljene v nalogi

Okrajšava	Pomen okrajšave
ΔH	Sprememba entalpije
ARSO	Agencija RS z okolje
CO ₂	Ogljikov dioksid
IJS	Institut Jožef Stefan
OVE	Obnovljivi viri energije
SURS	Statistični urad RS
TPG	Toplogredni plini
ZDA	Združene države Amerike
W	Watt (enota za moč $W = \frac{J}{s}$)

POVZETEK

Poskusi so potrdili, da stebila in korenine japonskega dresnika (*Fallopia japonica L.*) vsebujejo toliko ogljikovih hidratov, da jih preko kislinske hidrolize in encimske fermentacije lahko pretvorimo v bioetanol. Iz 1 kg rastline smo pridobili 22,0 mL etanola ($\pm 0,5$ mL), kar pomeni 22 L iz ene tone suhega japonskega dresnika. Končni produkt ni predstavljal povsem čist etanol, saj je bila sežigna entalpija 16% nižja kot pri čistem etanolu. Uporaba japonskega dresnika za proizvodnjo bioetanela bi lahko prispevala k trajnostnemu ravnanju z invazivno rastlinsko vrsto ter zmanjšala energetska odvisnost regij oz. področij, kjer se je japonski dresnik zelo razširil.

Ključne besede: japonski dresnik, bioetanol

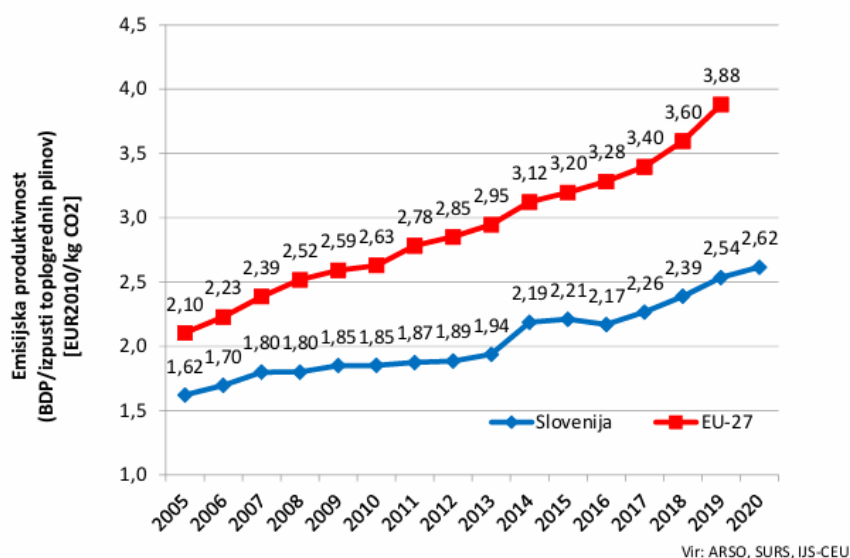
ABSTRACT

Experiments have confirmed that the stems and roots of Japanese knotweed (*Fallopia japonica L.*) contain enough carbohydrates to be converted into bioethanol through acid hydrolysis and enzymatic fermentation. From 1 kg of the plant, we obtained 22.0 mL of ethanol (± 0.5 mL), which amounts to 22 L from one ton of dry Japanese knotweed. The final product was not pure ethanol, as its combustion enthalpy was 16% lower than that of pure ethanol. The use of Japanese knotweed for bioethanol production could contribute to the sustainable management of this invasive plant species and reduce the energy dependency of regions or areas where Japanese knotweed has become widespread.

Keywords: Japanese knotweed, bioethanol

1 UVOD

Svet išče čista, obnovljiva in okolju prijazna goriva, da bi nadomestil okoljsko manj sprejemljiva fosilna goriva. Posledice prevelike uporabe teh goriv se kažejo v globalnem segrevanju, onesnaženju voda ter neželenih podnebnih spremembah, ki se odražajo v dvigu poprečne temperature na Zemlji, taljenju ledenikov, ekstremnih vremenskih pojavih (vročinski valovi, suše, poplave, orkani,...), spremembah v padavinskih režimih in posledično tudi v spremembah rastlinskih in živalskih vrst ter migracijah. O resnosti teh problemov govorijo tudi številne resolucije, med njimi tudi *Resolucija o Dolgoročni podnebni strategiji Slovenije do leta 2050* (Ur. L. RS št. 92/07 – uradno prečiščeno besedilo, 105/10, 80/13, 38/17, 46/20 in 105/21 – odl. US). S to resolucijo si je država Slovenija postavila zelo jasen cilj: Slovenija bo do leta 2050 podnebno nevtralna in na podnebne spremembe odporna družba, ki temelji na načelih trajnostnega razvoja. Za spremljanje tega cilja se uporablja kazalec imenovan **emisijska produktivnost**, ki primerja gospodarsko rast z rastjo emisij toplogrednih plinov (v nadaljevanju TGP). Emisijska produktivnost v Sloveniji je prikazana na grafu 1. Kot lahko vidimo je napredek, v primerjavi v drugimi državami EU, počasen (modra črta) in Slovenija zaostaja za povprečjem v Evropski uniji (rdeča črta).



Graf 1. Emisijska produktivnost v obdobju 2005–2020 v Sloveniji in EU-28 (Vir: ARSO, SURS, IJS-CEU, 2022)

Ker je Slovenija v letu 2020 dosegla zastavljen cilj le v 65 %, bo v prihodnosti potrebno še dodatno okrepiti povezavo med ukrepi za razvoj gospodarstva in ukrepi za zmanjšanje emisij TGP.

V nalogi izpostavljamo eno od možnih rešitev za večjo podnebno nevtralnost. Zmanjšanje emisij TGP na najnižjo možno raven je mogoče z uporabo trajnostnih praks in tehnologij, ki vključujejo uporabo obnovljivih virov energije oz. tehnologij, kjer so emisije toplogrednih plinov povsem izravnane z odstranitvijo teh plinov iz ozračja.

Problem fosilnih goriv je namreč prehitro sproščanje velikih količin ogljikovega dioksida (v nadaljevanju CO₂) v ozračje. V nafti ali premogu se je CO₂ vezal dolga tisočletja, sproščamo pa ga mnogo hitreje, kot ga preko fotosinteze ali sodobnih tehnologij lahko odstranimo iz ozračja. Koncentracije CO₂ so od časa pred prvo industrijsko revolucijo (druga polovica 18. stoletja) do danes narasle od 270 ppm na 450 ppm¹. Če se bodo zdajšnji trendi nadaljevali, lahko do konca stoletja presežejo koncentracije 800 ppm (0,08 %). Slednje lahko ogrozi obstoj človeške civilizacije, saj bi se temperaturni in padavinski vzorci ter ekstremni vremenski dogodki spremenili do te mere, da življenje, kot ga trenutno poznamo, ne bi bilo več mogoče (Podgoršek in Vrtačnik, 2011).

Eden od obnovljivih goriv je tudi (bio)etanol, ki se danes že uporablja kot mešanica h klasičnemu bencinu (običajno 10 % mešanica) (Podgoršek in Vrtačnik, 2011). Žal se trenutno v svetu veliko etanola pridelava iz koruze, pšenice in sladkornega trsa, ki so lahko vir prehrane za človeka. Zato smo iskali alternativni biološki vir, ki bi bil cenovno dostopen in bi reševal še kakšno dodatno okoljsko težavo. Izbrali smo divje rastočo rastlino japonski dresnik (*Fallopia japonica L.*), ki raste tudi ob potokih v naši občini. Gre za »invazivko«, ki nam dela vedno več preglavic.

1.1 Cilji raziskovalne naloge

Preučiti želimo ali je sestava japonskega dresnika (*Fallopia japonica L.*) takšna, da bi lahko služil kot okoljsko sprejemljiva alternativa za proizvodnjo (bio)etanola.

¹ ppm = delcev na milijon (opomba avtorjev)

1.2 Hipoteze in razlaga hipotez

Hipoteza 1. Japonski dresnik je vir ogljikovih hidratov, ki jih lahko razgradimo v enostavne ogljikove hidrate in s pomočjo fermentacije pridobimo etanol.

Hipoteza 2. Pridobljeni etanol bo imel sežigno entalpijo od 4 do 6% nižjo kot čisti etanol, saj z destilacijo ni možno doseči 100-odstotne čistosti etanola, ampak le do 95,7 %. Dobimo t.i. azeotropno zmes.

1.2 Uporabljena metodologija

V nalogi bomo najprej preučili obnovljive vire energije, s poudarkom na biomasi in možnostih, ki jih bioetanol ima. Sledil bo študij lastnosti japonskega dresnika (*Fallopia japonica L.*), invazivne rastline, ki jo najdemo praktično po celi Sloveniji ter možnostih njene uporabe za namen pridobivanja bioetanola.

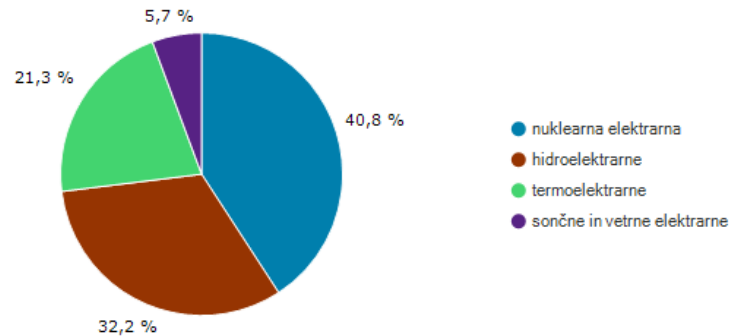
V eksperimentalnem delu bomo najprej izvedeli kvalitativne poskuse pridobivanja etanola iz japonskega dresnika, jih optimizirali in preko mase izločenega CO₂ in s pomočjo destilacije produkta fermentacije, določili potencial, ki ga posušena stebela in korenski del japonskega dresnika imata za proizvodnjo etanola. Cilj je izračun količine etanola, ki bi ga lahko pridobili iz 1 tone suhe mase japonskega dresnika. V zadnjem delu bomo sežigno entalpijo bioetanola primerjali s sežigno entalpijo čistega etanola.

2 PREGLED LITERATURE

2.1 Obnovljivi viri energije (OVE)

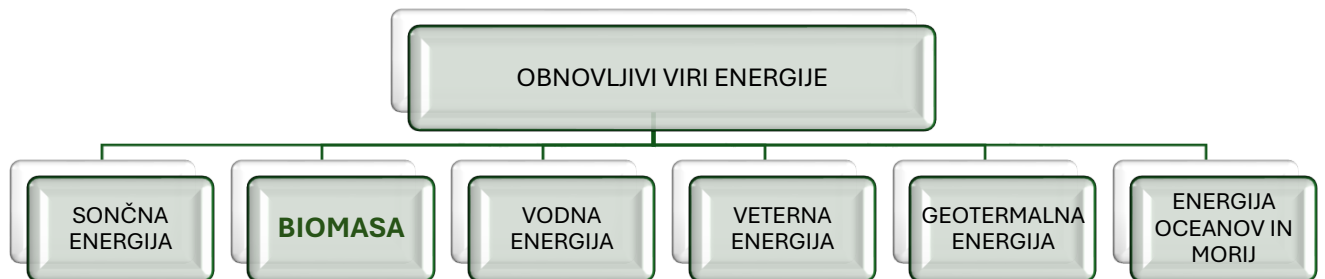
Zaradi naraščanja števila prebivalstva in s tem povečane porabe energije na prebivalca, človeštvo potrebuje vse več energije. Evropa ni izjema. Problem je dejstvo, da tri četrtine vseh potrebnih energentov uvozimo. Pri tem prevladuje uvoz neobnovljivih virov energije, kot so fosilna goriva in uran, katerih zaloge so končne (Podgoršek in Vrtačnik, 2011).

Tudi Slovenija ni izjema. Na grafu 2 vidimo slovenske vire proizvodnje električne energije za september 2023 (SURs, 2024). Termoelektrarna Šoštanj in nuklearna Krško dajeta skupaj več kot 61% vse električne energije.



Graf 2. Viri proizvodnje električne energije za september 2023 v Sloveniji (SURs, 2024)

Obnovljivi viri energije (v nadaljevanju OVE) se v naravi v celoti ali pretežno obnavljajo. Zato med obnovljive vire energije štejemo: energijo vodotokov, vetra, biomase, geotermalno in sončno energijo (Podgoršek in Vrtačnik, 2011). OVE predstavljamo na sliki 1.



Slika 1. Vrste obnovljivih virov energije (Podgoršek in Vrtačnik, 2011)

Ker se bomo v nalogi ukvarjali z biomaso, bomo v nadaljevanju podrobneje predstavili ta vir.

2.1 Biomasa kot energijski vir

Pod vplivom sončne svetlobe rastline preko procesa fotosinteze iz vode in CO₂ sintetizirajo ogljikove hidrate, obenem pa se sprošča kisik (enačba 1).



Pri uporabi biomase v sodobne energetske namene se sproščen ogljikov dioksid porabi za novo sintezo biomase in se sproti porablja. Zato pri uporabi biomase govorimo o zaključenem

ogljikovem krogu, saj je poraba enaka sproščanju (Babuder s sod., 2009). Biomasa nastaja s pomočjo sončne energije. Energija ostane vezana vse do razpada (biološki ali toplotni proces). Za proizvodnjo biomase se porabi le 0,01 % sončne energije, ki jo sprejme zemlja na vrhu atmosfere, vendar je to še vedno ena izmed najpomembnejših energetskih pretvorb (Barros s sod., 2000). Biomaso, kot energetski vir, predstavljajo predvsem les in leseni ostanki; z razvojem novih tehnologij pa se povečuje delež drugih oblik biomase kot so kmetijski ostanki (slama, živalski gnoj), energetske rastline in drugo.

Za uporabo in predelavo biomase v goriva poznamo štiri postopke (Podgoršek in Vrtačnik, 2011):

1. Gorenje. Gorljive snovi v biomasi oksidirajo v CO₂ in vodno paro ter pri tem oddajajo toploto.
2. **Biološka pretvorba** (npr. anaerobno vrenje, fermentacija).
3. Toplotno-kemična pretvorba (piroliza).
4. Utekočinjanje in uplinjanje (npr. biodizel in bioplín).

Goriva, ki jih z navedenimi postopki pridobimo iz biomase, lahko razvrstimo v tri skupine (Medved, 2009; Babuder s sod., 2009):

- **trdna** biomasa (lesna biomasa, kmetijske rastline, energetske rastline),
- **tekoča goriva** (bioetanol, biometanol, biodizel),
- **plin** (lesni plín, bioplín, odlagališčni plín).

V nalogi se bomo osredotočili na biološko pretvorbo biomase v tekoče gorivo – bioetanol, ki je med tekočimi gorivi eden najpomembnejših bioenergentov (Babuder s sod., 2009)².

Energetski potencial rastlin je različen, kar prikazuje preglednica 1 (Podgoršek in Vrtačnik, 2011).

² Najpomembnejše plinasto gorivo pa je bioplín. Med trdimi gorivi je močno v ospredju lesna biomasa, sledijo energetske rastline, kot so žita in koruza, uporabljajo pa se tudi žetveni ostanki (opomba avtorjev).

Preglednica 1. Energijski potencial rastlin (Chen s sod., 2026)

Vrsta rastlin	Pridelek (suha masa)	Energijski potencial (GJ/ha)
Enoletne C4 rastline (npr. koroza) ³	> 35	420
Drevesa (slabo rodovitna tla)	12 do 15	150 do 170
Grmičevje na obrobnih zemljiščih	8 do 10	100 do 130
Druge rastline (srednje rodovitna tla; npr. artičoke).	15 do 20	190 do 230

Leta 1875 je gozd poraščal 36,4 % površine Slovenije. Sledilo je dolgo obdobje zaraščanja, ki se je zaključilo ob koncu prvega desetletja 21. stoletja (Puschner, 2024). Po podatkih Zavoda za gozdove Slovenije je leta 2019 gozd prekrival 58,0 % Slovenije ali 1.176.754 ha (11.176 km²). Prevladujejo gospodarski gozdovi, ki so primarno usmerjeni v pridobivanje lesa (90,84 %). Gozdni rezervati predstavljajo 0,80 % površine gozdov oz. 9.508 ha, varovalni gozd pa zaseda 8,36 % delež oz. 98.762 ha. Zaključimo lahko, da imamo v Sloveniji relativno velik prirast lesa, zato lahko kot energent uporabljamo zlasti odpadke lesno-predelovalne industrije. Iz preglednice 1 pa vidimo, da z vidika energetske »zaloge« drevesa niso največji energetski potencial, ampak tudi druge rastline. Najbolj primerne so t.i. C4 rastline (npr. sladkorni trs), vendar tudi rastline, ki rastejo na manj rodovitnih tleh, ne zaostajajo veliko. Med netipično gozdnimi drevesi je zanimiva še vrba, ki potrebuje le tri do štiri letni cikel za prirast, ki že ima gospodarski učinek.

Drevesa sekajo pozimi, saj je tedaj v njih najmanj vlage (okoli 20 %) (Podgoršek in Vrtačnik, 2011), zato sta »sečnja in izkopavanje« japonskega dresnika v pozni jeseni bila primeren trenutek za preizkus te rastline tudi za namen te raziskovalne naloge.

2.2 Pridobivanje bioetanola

Pridobivanje etanola je v glavnem vezano na biomaso, ki vsebuje večji delež enostavnih sladkorjev, ki jih preko fermentacije lahko pretvorimo v alkohol. Trije prevladujoči (tradicionalni) viri pridobivanja bioetanola so: koroza, pšenica in sladkorni trs.

³ C4 rastline so skupina rastlin, ki uporabljajo poseben fotosintetski mehanizem, imenovan C4 fotosinteza, za učinkovitejše zajemanje ogljikovega dioksida (CO₂) in zmanjševanje izgub zaradi fotorespiracije. Ta mehanizem jim omogoča boljše rast v toplih, suhih in sončnih okoljih (opomba avtorjev).

Druge žitarice, sladkorna pesa, krompirjevi odpadki in sirna vodo se za proizvodnjo tega goriva uporablja le redko (Podgoršek in Vrtačnik, 2011).

Postopek pridelave bioetanola iz koruze je običajno sledeč:

1. Biomaso najprej očistimo ter z njo napolnimo cisterne, kjer jo zmešamo z vodo in zmeljemo v redko kašo.
2. Ker je škrob v koruzi sestavljen iz mnogo kompleksnih sladkornih molekul, je treba te razbiti v preproste sladkorje (dekstrozo) ali monosaharide (glukozo), preden se vrenje sploh lahko začne. Zato se dodajo encimi, ki pri določenem pH in temperaturi sprožijo alkoholno vrenje.
3. Nastane mešanica, ki vsebuje ~10 % alkohola. Sledi destilacija, ki loči alkohol od vode in ostale biomase. Doseže se lahko 96 % čistost (etanol s 4 % vode)⁴, saj alkohol in etanol tvorita t.i. azeotropno zmes.⁵

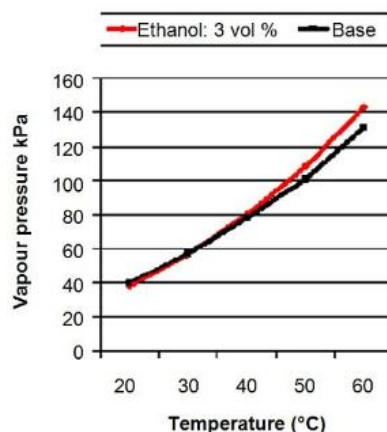
Pri opisanem procesu večina sestavin biomase ostane in se lahko uporabijo za nadaljnjo predelavo. Podgoršek in Vrtačnikova (2011) navajata, da iz 100 kg koruze dobimo: 19,4 L etanola, 2,9 kg koruznega olja, 5,4 kg beljakovinske hrane in 23,2 kg beljakovinske krme. Stranski proizvod je ogljikov dioksid.

Etanol je energetsko bogata tekočina. Je spojina, ki ne vsebuje aromatskih ogljikovodikov, nenasičenih ogljikovodikov in žvepla. Tako lahko etanol z redčenjem izboljša sestavo bencina. Oktanska števila alkoholov z nizko molekularno maso so visoka, zato jih lahko uporabljamo tudi kot ojačevalce oktanskega števila. Alkoholi običajno povečajo oktansko število na 100 do 106. To omogoča optimizacijo motorja za povečanje toplotnega izkoristka.

Etanol tvori azeotrope tudi z ogljikovodiki v bencinu, kar vpliva na hlapnost. Parni tlak čistega etanola je nizek, le 16 kPa (parni tlak vode je 100 kPa; parni tlak bencina 14 kPa). Ko se etanol doda bencinu, se parni tlak pri mešalnih razmerjih od 5 % do 10 % zmanjša. Pomembna značilnost parnega tlaka etanolskih mešanic je njegova hitrejša rast s temperaturo, v primerjavi z bencinom. Ta pojav je prikazan na sliki 2 (Lin in Tanaka, 2006).

⁴ Za pridobitev čistega, 100 % etanola, mora tako pridobljeni alkohol še skozi molekularno sito, ki odvzame še zadnje odstotke vode. V industriji čisti alkohol dobimo z oksidacijo etilena (opomba avtorjev).

⁵ Azeotropna zmes je posebna mešanica dveh ali več tekočin, ki zavre pri določeni temperaturi in ohranja stalno sestavo tako v tekoči kot v parni fazi.



Slika 2. Ob naraščanju temperature parni tlak mešanice etanola in bencina narašča hitreje kot pri čistem bencinu (Lin in Tanaka, 2006).

Energijska vsebnost etanola je nižja od energijske vsebnosti bencina, 45 MJ/kg. Kurilna vrednost etanola znaša približno 27 MJ/kg, v prostorninskih enotah okoli 21 MJ/L, kar je le 65 % energijske vsebnosti bencina. Zaradi tega je poraba goriva pri uporabi etanola večja v primerjavi z s čistim bencinom. Teoretično se poraba goriva poveča za približno 3,5 %, če primerjamo 10 % mešanico etanola z bencinom (Lin in Tanaka, 2006).⁶ Gostota etanola znaša 0,79 kg/L, kar je nekoliko več kot pri bencinu. Višja gostota dodatno izboljša izkoristek.

Etanol se lahko proizvaja iz fosilnih ali bioloških surovin. Biološka vsebnost mešanice se lahko določi na podlagi izjave prodajalca ali pa kemijsko, z merjenjem vsebnosti izotopa ¹⁴C, ki se uporabljajo tudi v arheoloških raziskavah. Ogljikov dioksid v atmosferi vsebuje nestabilni izotop ¹⁴C in stabilni izotop ¹²C v določenem razmerju, enako razmerje pa najdemo tudi v živih rastlinah in živalih. Razpolovna doba ¹⁴C je 5730 let, kar omogoča razlikovanje med fosilnim in obnovljivim ogljikom (Lin in Tanaka, 2006).

Liter etanola daje približno 6500 W energije, ostali stranski produkti pa še približno 1000 W. Podgoršek in Vrtačnik (2011) navajata, da za pridelavo 1L etanola iz koruze potrebujemo približno 1100 W energije, kar pomeni, da za pridelavo etanola porabimo približno 17 % energije, ki jo tako pridobljeni etanol lahko da. To pomeni, da za proizvodnjo etanola porabimo manj energije kot jo na koncu pridobimo. Kljub temu proizvodnja bioetanola iz odpadne

⁶ Vendar, če bi se izkoristila prednost visokega oktanskega števila alkoholov z zvišanjem kompresijskega razmerja motorja, bi energijska učinkovitost pri mešanici alkohola in bencina bila višja kot pri čistem bencinu (opomba avtorjev).

biomase v Sloveniji trenutno ni prisotna, zato menimo, da je naš prispevek lahko zanimiv tudi za širšo skupnost.

$$\text{Energetski izkoristek (\%)} = \frac{1100 \text{ W}}{6500 \text{ W}} \times 100 = 17 \%$$

Povezava med **vati (W)** in **jouli (J)** temelji na definiciji moči in energije:

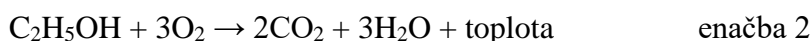
$$W = \frac{J}{s}$$

To pomeni, da en vat predstavlja moč, pri kateri se en joul energije porabi ali proizvede vsako sekundo.

2.2.1 Uporaba (bio)etanola v mešanici z bencinom

Biotenol, kot gorivo, je trenutno v široki uporabi na Kitajskem (3% celotne porabe goriv), Argentini, Indiji, Kanadi (2 % celotne porabe goriv) in v EU (5 % celotne porabe goriv) (Bielaczyc s sod., 2016).

Renewable Fuels Association, ZDA (2016) poroča, da je načrt ZDA, da do leta 2030 povečajo delež uporabe mešanice E85 (85 % etanol in 15 % bencina) na 37%. Etanol, proizveden iz biomase, je popolnoma biorazgradljiv in obnovljiv vir (Demirbas, 2009; Eyidogan s sod., 2010). Čeprav ima visoko oktansko število, se žal meša z vodo, kar predstavlja težavo pri shranjevanju. Poleg tega ima večjo gostoto in viskoznost kot bencin (Bielaczyc s sod., 2016), hkrati pa je na splošno bolj penetrativen skozi fizične ovire (Ando s sod., 2007). Pri popolnem izgorevanju etanola nastaja ogljikov dioksid in voda.



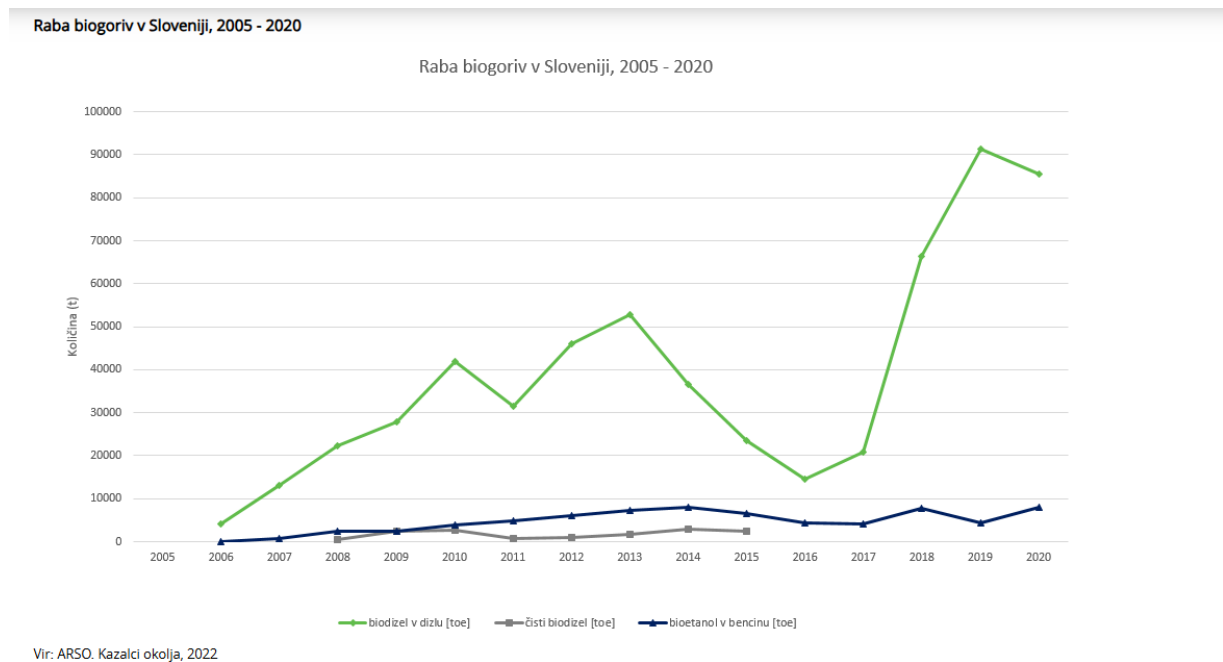
Mešanice etanol-bencin so prikazane v preglednici 2. Oznaka »E« predstavlja volumska razmerja med etanolom in bencinom.

Preglednica 2. Fizikalno-kemijske lastnosti mešanic bencina in etanola (povzeto po Bielaczyc s sod., 2016)

Parameter	Enota	E10	E50	E 85
Volumski odstotek	(V/V)	10 % etanol 90 % bencin	50 % etanol 50 % bencin	85 % etanol 15 % bencin
Kurilna vrednost	MJ/kg	41,2	33,7	30,4
Oktansko število	-	97	103	107
Razmerje C : H	-	0,51	0,44	0,36

Biogoriva bi lahko imela veliko večji tržni delež, vendar se zdi, da je močan zaviralni dejavnik dejstvo, da raba kmetijskih zemljišč ne bi smela biti namenjena proizvodnji goriv, temveč hrane. Iz tega vidika bi pridobivanje bioetanola iz invazivne rastline pomenilo veliko prednost.

Kot vidimo iz grafa 3 je proizvodnja biogoriv v Sloveniji v porastu (ARSO, 2022), vendar predvsem kot mešanica biodizla in »naftnega« dizla. Uporaba mešanice etanola v bencinu se zadnjih deset let ni bistveno spremenila in ostaja na količini pod 10.000 L/leto (ARSO, 2022).



Graf 3. Pridelava biogoriv v Sloveniji od leta 2005 – 2020 (ARSO, 2022)

Agencija RS za okolje (ARSO, 2022) za uporabo biogoriv navaja veliko prednosti. Med njimi velja izpostaviti naslednje:

- so iz obnovljivih virov in so (praviloma) netoksična;
- v čisti obliki in v mešanica s fosilnimi gorivi so primerna za vsa vozila;
- imajo zelo nizko vsebnost žvepla, zato proizvedejo 100 % manj žveplovega dioksida kot ga proizvede nafta;
- omogočajo manjše emisije toplogrednih plinov, manjše emisije SO₂ in CO,
- prispevajo k izboljšanju energetske varnosti, zmanjšanju odvisnosti od fosilnih goriv in uvoza nafte ter k trajnostnemu razvoju podeželja;
- njihova višja točka plamenišča omogoča varno skladiščenje,

- ob upoštevanju skupnih emisij toplogrednih plinov so biogoriva, v primerjavi s klasičnimi pogonskimi gorivi (nafta, zemeljski plin), »čistejša« oz. ekološko sprejemljivejša.

Vendar navajajo (ARSO, 2022) tudi pomanjkljivosti, med katerimi izpostavljamo:

1. Brez intenzivnega kmetijstva, z uporabo velikih količin umetnih gnojil, pesticidov in z visoko potrošnjo vode, ni mogoče proizvesti zadostnih količin surovin, ki bi bile ekonomsko zanimive za proizvodnjo biogoriv.
2. Omejene možnosti proizvodnje biogoriv v Sloveniji, saj so omejene površine za pridelavo kulturnih rastlin kot je npr. oljna ogrščica; ni obratov za proizvodnjo bioetanola.
3. Večletna uporaba biogoriv je pokazala, da s tehničnega vidika predstavljajo zelo zahtevno skupino proizvodov, ki morajo biti z vidika zagotavljanja kakovosti in razpoložljivosti skrbno nadzorovana, kar je povezano z velikimi vlaganji v opremo, procesi nadzorovanja in spremljanja kakovosti.
4. Z vidika ekonomike biogoriva težko konkurirajo fosilnim gorivom, saj jih trenutno »vzdržujejo« davčne olajšave.

Nasprotniki uporabe biogoriv v ospredje postavljajo dejstvo, da se zaradi proizvodnje surovin za biogoriv povečujejo cene hrane, ker se zmanjšuje delež razpoložljive zemlje za proizvodnjo hrane. Okoljevarstveniki se bojijo, da bo proizvodnja velikih pridelkov za biogoriva ogrozila biotsko raznovrstnost in močno obdavčila regionalne vodne vire (ARSO, 2022).

Kaj pa če za proizvodnjo uporabimo rastlino, ki nima prehranske vrednosti, ki raste na območjih, ki jih ne uporabljamo za pridelavo hrane, je invazivna (izpodrinja avtohtone vrste rastlin) in za katero ne potrebujemo umetnih gnojil, pesticidov in visoko potrošnje vode? Če kot vir uporabimo rastlino, ki se hitro razrašča in je zelo odporna, trdovratna in vsako leto porabimo več in več sredstev za njeno zatiranje? Rastlino, ki ji podnebne spremembe trenutno ne pridejo »do živega« in preko svojega podzemnega koreninskega sistema preživi tudi zelo hladne in sušne zime? To bi lahko bil japonski dresnik (*Fallopia japonica L.*).

2.3 Japonski dresnik (*Fallopia japonica* L.)

Japonski dresnik raste hitro, predstavlja zelo invazivno rastlinsko vrsto in ga zelo težko izkoreninimo. Kljub sečnji in čiščenju brežin potokov in rek, hitro zraste nazaj.

Vrsta izvira iz vzhodne Azije (Japonska, Koreja, Kitajska). Rastlina ima kolenčasto, členjeno in votlo steblo. Prezimijo le podzemni deli olesenele korenike (do 2 m globoko), ki spomladi zelo hitro poženejo (do 15 cm/dan). Japonski dresnik je, podobno kot številne druge invazivke (npr. žlezava nedotika, topinambur, deljenolistna rudbekija), pozno poleti cvetoča rastlina. Pri nas vzcveti konec julija. Rastlina ima bogata dišeča socvetja (Frajman, 2008).



Slika 3. Japonski dresnik (lasten vir)

Listi so na dnu široko ovalni in veliki od 5 cm do 15 cm. Kalivost semen je zelo dobra, vendar se v glavnem razmnožuje vegetativno. Zelo rada raste ob vodah, gozdnih robovih in se hitro širi tudi z deli korenik in stebel. Ker je uvrščena med najbolj trdovratne invazivne rastline, velja v Sloveniji prepoved sajenja v okrasne in druge namene. Strokovnjaki ocenjujejo, da je njena odstranitev izredno težavna, skoraj nemogoča. Kot metodo odstranjevanja, v primeru pojavljanja posameznih rastlin, se priporoča puljenje (izkopavanje) celih rastlin in nato večletni redni monitoring, večletna zelo pogosta košnja pred cvetenjem, rezanje poganjkov v kombinaciji z vbrizgom herbicida ali redna paša ovac (Frajman, 2008).

Japonski dresnik je bil konec 19. stoletja prenešen v Avstralijo in Novo Zelandijo, močno invaziven je v Severni Ameriki in Evropi. Danes je Japonski dresnik, z izjemo submediteranskega območja, razširjen po vsej Sloveniji. Najdemo ga zlasti ob rekah in potokih. Tudi v alpskem območju je vrsta manj pogosta, saj le redko doseže 1000 m nadmorske višine. Najhitreje poseli območja, kjer je zaradi človekovega delovanja prišlo do večjih premikov zemlje. Zato ga najdemo ob cestah, železniških progah, na zapuščenih obdelovalnih ali stavbnih zemljiščih, vendar se zaradi svoje izredne konkurenčnosti vse bolj vključuje v naravno rastje, kjer izpodriva avtohtone rastline (Frajman, 2008). Zaradi invazivnosti lahko hitro preraste tudi obdelovalne površine, zlasti travnike, ki jih ne kosijo redno.

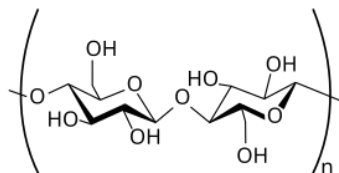
Kjer se razraste tvori goste sestoje, ki izpodriva naravno rastje. Zato japonski dresnik spreminja videz krajine in negativno vpliva na biotsko pestrost. Korenike japonskega dresnika lahko prodrejo skozi 5 cm debele plasti asfalta, zato ima lahko negativen vpliv tudi na stavbe in druge objekte, kot so ceste, nasipi, jezovi... (Frajman, 2008).

2.3.1 Uporaba japonskega dresnika

Kljub razširjeni prisotnosti v Evropi, je večina raziskav za to rastlino omejena na med, ki ga čebele proizvajajo na osnovi paše na socvetjih japonskega dresnika. Cucu s sod. (2024) poroča o medu z rjavo-karamelno barvo in intenzivnim okusom. Rezultati so pokazali, da ima med visoko vsebnost ogljikovih hidratov in sicer: fruktoza: 35,12–40,65 g/100 g; glukoza: 28,06–37,79 g/100 g ter tudi veliko vsebnost skupnih fenolnih spojin (89,87–120,08 mg/100 g medu) ter flavonoidov (18,13–39,0 mg /g medu).

Raziskovalci poročajo, da je delež polisaharidov, ki jih je mogoče ekstrahirati, 27,6 %, preostalo so celuloza, lignin, proteini in minerali. Vendar je ta raziskava vključevala predvsem liste japonskega dresnika, ne pa tudi stebel in podzemnih korenin. Raziskovalci poročajo tudi o visokih vrednostih fenolnih spojin v listih in podzemnih delih rastlin (Chen s sod., 2016; Hromadkova s sod. , 2010).

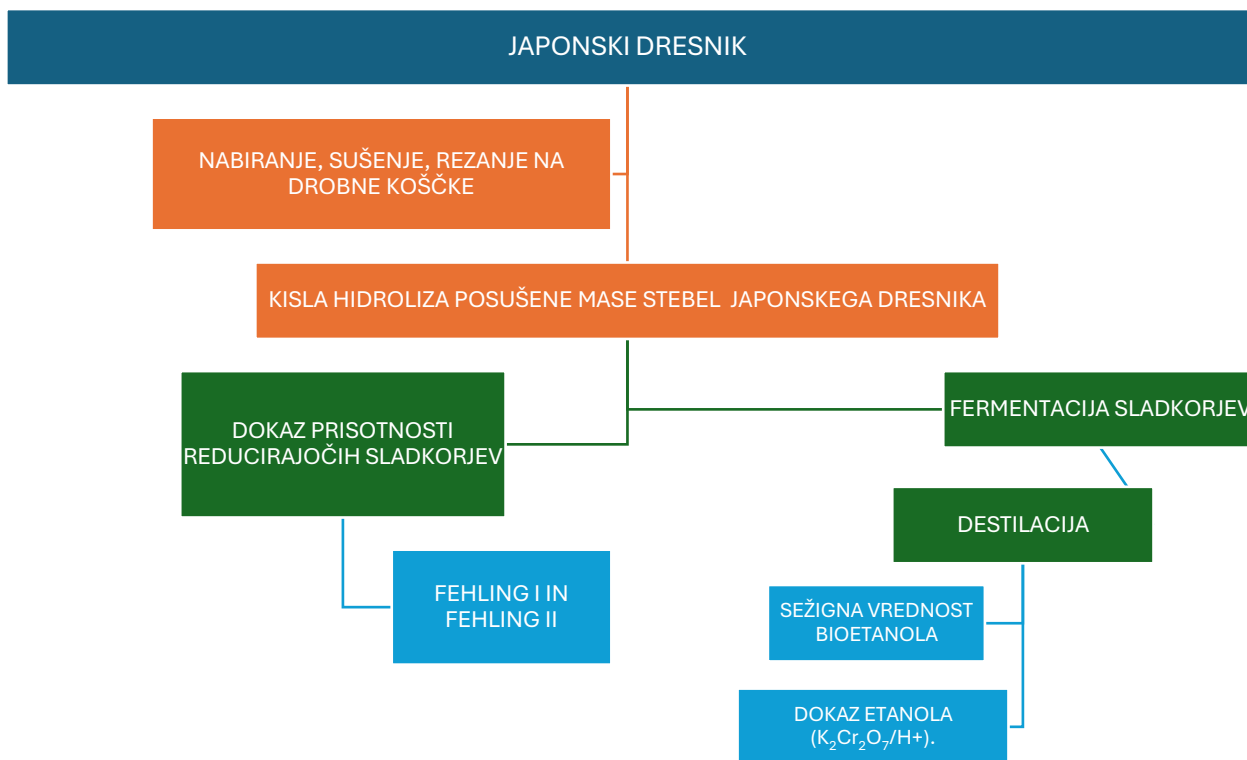
Glavna sestavina stebel japonskega dresnika je celuloza, ki predstavlja naraven polimer, ki spada med polisaharide. Sestavljajo jo molekule glukoze, ki so medsebojno povezane z β -1,4-glikozidnimi vezmi. V vodi je netopna. V močnih kislinah se pri povišani temperaturi lahko razgradi v posamezne molekule glukoze (Tavzes, 2003).



Slika 4. Molekuli glukoze, povezane z β -1,4- glikozidno vezjo (Tavzes, 2003).

3 PRAKTIČNI DEL

Vsebina praktičnega dela je predstavljena na organigramu 1.



Celotno eksperimentalno delo smo razdelili v dva dela. V prvem delu smo **kvalitativno spremljali rezultate kislinske hidrolize**. Na osnovi zaključkov smo celoten poskus zastavili še kvantitativno. Preko sproščene količine CO₂ smo izračunali količino etanola, ki jo lahko dobili iz 1 kg suhe mase japonskega dresnika ter preko eksperimenta praktično dokazali nastanek etanola.

3.1 Nabiranje, sušenje in priprava vzorca

Rastline japonska dresnika smo nabirali konec septembra 2024. Vzorci so bili nabrani ob Svečinskem potoku (občina Kungota) na dveh različnih lokacijah:

- ob Svečinskem potoku v vasi Svečina in
- ob starem hruškovem drevoredu (Zg. Kungota).

Nabrali smo nadzemne in podzemne dele rastline. Vzorce smo očistili in jih shranili v suhem prostoru (sobna temperatura). Vzorci so predstavljali olesenele dele rastline, rjave barve. Z vrtnarskimi škarjami smo jih razrezali na manjše kose (slika 5).



Slika 5. Japonski dresnik (oleseneli deli in podzemna korenika) (lasten vir)

3.2 Kisla hidroliza celuloznega dela vzorcev

3.2.1 Pripomočki in kemikalije

Pripomočki

- | | |
|---|--|
| • Oster kuhinjski nož ali alfa nož | • Balončki (navadni) |
| • Vrtnarske škarje | • 1-krat merilna bučka 100 mL |
| • Terilnica s pestilom | • Filter papir |
| • Kuhinjski mikser | • Lij za filtriranje |
| • Trinožno stojalo z mrežico | • Ekonom lonec (2 L) |
| • Steklene palčke | • Večje kuhinjsko cedilo in bombažna krpa |
| • Termometer, 250°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) | • 2-krat merilni valj 100 mL ($\pm 0,5$ mL) |
| • 10-krat 100 mL čaše | • Čaša 500 mL |
| • Tehtnica Kern ($\pm 0,001$ g) | • pH meter (Vernier) |
| • Pasteurjeve kapalke | • posoda za vodno kopel |
| • Več erlenmajeric (250 ml; 50 mL) | |
| • Aparatura za navadno destilacijo | |

- termometer (100 °C; 250 °C)
- 5 mL pipeta ($\pm 0,05$ mL)

Kemikalije

- 36% HCl (Honeywell)
- Deionizirana voda (šol. laboratorij)
- Fehling I in Fehling II (Honeywell)
- $K_2Cr_2O_7$ (Honeywell)
- Sveži kvas (Fala)
- $Ca(OH)_2$ (aq)
- NaOH (Merck)
- Konc. HCl (Merck)
- Kon. H_2SO_4 (Merck)

3.2.2 Priprava raztopin

Priprava 2M HCl

100 mL 2M HCl smo pripravili iz koncentrirane, 36% raztopine, z gostoto 1,18 g/mL. Prostornino koncentrirane HCl smo izračunali kot:

$$V(\text{konc. HCl}) = \frac{c \times M \times V}{w} = \frac{2 \text{ mol} \times 36,5 \text{ g} \times 0,1 \text{ L}}{1,18 \text{ g/mL} \times 0,36} = 20,3 \text{ mL}$$

V 100 mL merilno bučko smo do polovice nalili deionizirano vodo, z merilno pipeto dodali 20,3 mL konc. HCl in potem do oznake deionizirano vodo.

Priprava 0,1 M NaOH

V ta namen smo natehtali 0,40 g NaOH in ga dodali v 100 mL merilno bučko, kjer smo prej do $\frac{1}{2}$ dolili deionizirano vodo. Po dodatku NaOH smo do oznake dolili deionizirano vodo.

Izračun: $m(\text{NaOH}) = c \times M \times V = 0,10 \text{ mol/L} \times 40,0 \text{ g/mol} \times 0,10 \text{ L} = 0,40 \text{ g}$

Priprava $K_2Cr_2O_7/H^+$ (aq)

Zatehtali smo 2 g kalijevega dikromata(VI) in ga raztopili v 80 mL deionizirane vode. Nato smo s kapalko počasi dodajali 10 mL koncentrirane žveplove kisline.

3.3 KVALITATIVNI TESTI Z REZULTATI MERITEV

3.3.1 Ekstrakcija sladkorjev iz japonskega dresnika

Stebla japonskega dresnika smo razrezali z vrtnarskimi škarjami in alfa nožki na rezine velikosti enega centimetra.



Slika 6. Japonski dresnik (lasten vir)

1. Surovo rastlinsko maso smo razdelili na kupčke po 20 gramov in vsakemu dodali 10 mL deionizirane vode ter v terilnici poskušali streti v še manjše koščke.



Slika 7. Trenje japonskega dresnika (lasten vir)

2. Z uporabo kuhinjskega mešalnika smo vsako serijo zdrobili v gosto pasto.



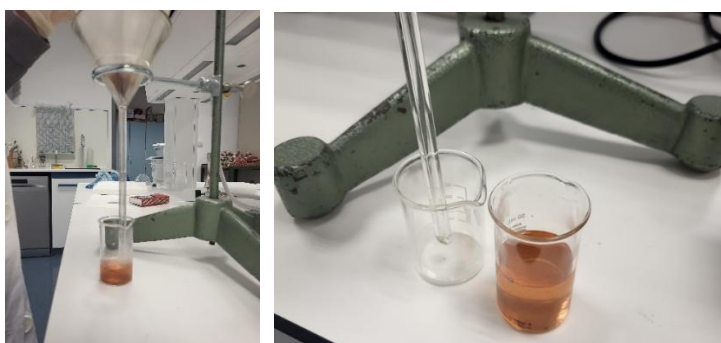
Slika 8. Drobljenje japonskega dresnika s pomočjo gospodinjskega mikserja (lasten vir)

Mešanici smo nato previdno dodali 30 mL 2M HCl in segreli na 200 °C. Pustili smo, da 5 min vre in nato ohladili na sobno temperaturo.



Slika 9. Kisla hidroliza celuloze s kontrolo temperature (lasten vir)

3. Z navadno filtracijo smo ločili tekoči in trdni del. Trdni del smo dali med biološke odpadke, tekoči del smo zadržali za nadaljnjo analizo.



Slika 10. Filtrat po kisli hidrolizi japonskega dresnika (lasten vir)

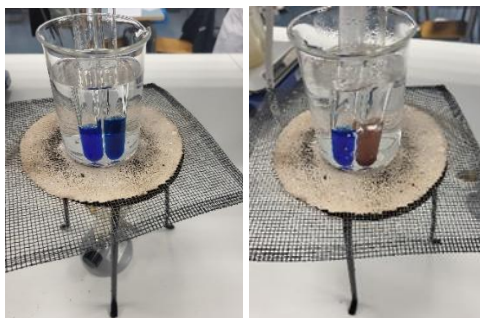
Kot vidimo na sliki 10 smo dobili transparentno svetlo rjavo obarvano tekočino. Sledilo je testiranje filtrata na prisotnost sladkorjev. To smo naredili s Fehlingovo raztopino.

3.3.2 Testiranje vzorcev na prisotnost enostavnih sladkorjev⁷

1. V 50 mL čaši smo zmešali 5 mL Fehling I in 5 mL Fehling II raztopine. Dobili smo temno modro raztopino -FH.
2. Uporabili smo dve epruveti. V prvo smo dali FH raztopino, v drugo pa 5 mL FH raztopine in 1 mL ekstrakta japonskega dresnika, pridobljenega v prejšnjem koraku.

⁷ Alternativa: 1 ml Benediktove raztopine + 1 ml ekstrakta. Benedictova raztopina – Benedictov test se uporablja za prepoznavanje preprostih ogljikovih hidratov

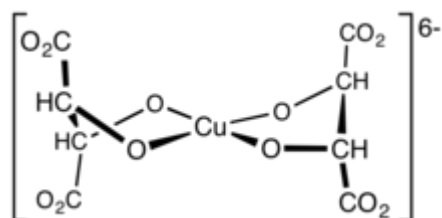
3. Obe epruveti smo dali v vročo vodo in pustili, da se mešanica segreje. Opazovali smo spremembo barve.



Slika 11. Uporaba Fehling I in Fehling II raztopine za dokaz pristnosti reducirajočih sladkorjev (levo na začetku; desno na koncu) (lasten vir)

Na sliki 11 (levo) vidimo testno in kontrolno epruveto na začetku segrevanja. Čez dobro minuto smo opazili barvni prehod iz modre v rdečo, kar je dokaz prisotnosti reducirajočega sladkorja (npr. glukoze). To je bil dokaz, da je kislá hidroliza uspela. Zaključili smo da iz stebel japonskega dresnika lahko pridobimo sladkorje, ki bi jih v nadaljevanju lahko uspešno fermentirali v alkohol.

Fehlingov reagent je kemijski reagent, ki se uporablja za razlikovanje med vodotopnimi ogljikovimi hidrati in ketonskimi funkcionalnimi skupinami in kot test za nereducirajoče in reducirajoče sladkorje. Test je leta 1849 razvil nemški kemik Hermann von Fehling (Fehling, 1849). Aldehidi se oksidirajo, kar daje pozitiven rezultat, ketoni pa ne reagirajo, razen če gre za α -hidroksiketone. Bistartratokupratni(II) kompleks oksidira aldehyd do karboksilatnega aniona, Cu^{2+} ioni v kompleksu pa se reducirajo do Cu^{1+} ionov. Rdeč bakrov(I) oksid se nato obori iz reakcijske zmesi, kar kaže na pozitiven rezultat, torej je redoks reakcija potekla (to je isti pozitivni rezultat, kot ga daje Benediktov reagent).



Slika 12. Fehlingov kompleks (Hörner in Klüfers, 2016)

3.4 KVANTITATIVNI DEL Z REZULTATI MERITEV

3.4.1 Sterilizacija in koncentracija raztopine japonskega dresnika

Za ta poskus smo predhodno ponovili poskus kisle hidrolize celuloze opisan pod točko 3.3 (Ekstrakcija sladkorjev iz japonskega dresnika). Tokrat smo poskus izvedeli z večjimi količinami. V ekonom lonec (2 L) smo zatehtali 220 g (± 1) na drobno narezanega japonskega dresnika, s pomočjo 100 mL merilnega valja dodali 110 mL deionizirane vode in 320 mL 2 M HCl. Pustili smo, da je mešanica 10 min vrela, nato smo jo ohladili na sobno temperaturo in s pomočjo kuhinjskega cedila ter bombažne krpe ločili trdni preostanek od filtrata. Ponovno smo dobili svetlo rjavo tekočino (Slika 10).

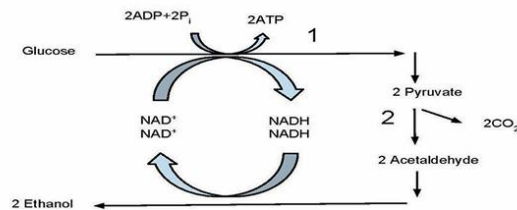


Slika 13. Ekonom lonec namesto avtoklava (lasten vir)

Med procesom se je prostornina tekočine zmanjšala za približno polovico; iz cca. 440 mL na 200 mL. Segrevanje je uničilo glive, bakterije in spore, ki bi lahko zavirale fermentacijo. Postopek hkrati koncentrira raztopino japonskega dresnika, ki vsebuje sladkorje. Pričakovali smo, da smo (ponovno) uspešno izvedeli kislno hidrolizo celuloze.

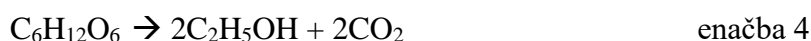
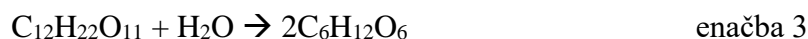
3.4.2 Fermentacija ekstrakta japonskega dresnika (alkoholno vrenje)

Alkoholno vrenje je proces, ki ga povzročajo kvasovke. Najpomembnejša je *Saccharomyces cerevisiae*. Za to reakcijo mora celica glive kvasovke vložiti energijo v obliki dveh molekul ATP, nujno prisotno pa je tudi »gorivo« - glukoza ali fruktoza. Ko se glukoza aktivira, je prva snov, ki nastane iz glukoze, piruvat (Slika 14). Iz ene molekule glukoze nastaneta dve molekuli piruvata (glikoliza). Od vsakega piruvata se odcepi CO_2 , ki zapusti celico in pri tem nastane etanol, $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$. V aerobnih pogojih fermentacija lahko poteče do konca, v anaerobnih se ustavi na stopnji alkohola (Boyer, 2005).



Slika 14. Pretvorba glukoze v etanol (encimska reakcija) (Ager s sod., 2019)

Enačbi kemijskih reakcij 3 in 4 prikazujeta proces razgradnje disaharida v monosaharid in fermentacijo monosaharida do etanola in CO₂.



Ker encimi, ki služijo kot katalizatorji in pomagajo pri razgradnji saharoze v monosaharide (C₆H₁₂O₆) najboljše delujejo do 30°C (Pivec, 2005) in pH med 4 do 6, smo najprej preverili pH raztopine. Z dodatkom 0,1 M NaOH smo pH zvišali na 5.

Izvedba poskusa

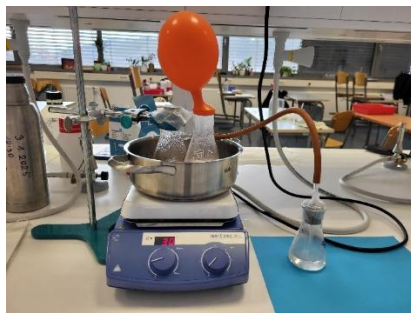
1. V 250 mL erlenmajerico smo odmerili 100 mL filtrata japonskega dresnika in dodali ½ kocke svežega kvasa.
2. Nato smo celotno zmes razdelili v dve 50 mL erlenmajerici. Prvo erlenmajerico smo opremili z balonom, drugo pa preko steklene cevke povezali s tretjo erlenmajerico, v katero smo predhodno nalili apnico (Ca(OH)₂(aq)). Tretjo erlenmajerico smo previdno zaprli s plastjo vate.
3. Prvo in drugo erlenmajerico smo potopili v vodno kopel (30°C) in opazovali dogajanje.
4. Po dveh urah smo opazovali barvo v 3. erlenmajerici ter balon na prvi erlenmajerici.



Slika 15. Nastavitev poskusa (lasten vir)



Slika 16. Rezultat fermentacije Po 10 min (lasten vir)



Slika 17. Rezultat fermentacije po 30 min (lasten vir)



Slika 18. Fermentacija v erlenmajerici (lasten vir)

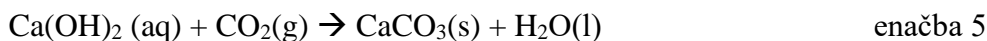


Slika 19. Fermentacija po 70 min (lasten vir)



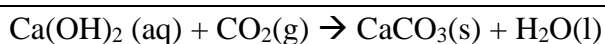
Slika 20. Sproščanja CO₂ v raztopino Ca(OH)₂ (lasten vir)

V 3. erlenmajerici je potekala naslednja reakcija:



4 REZULTATI IN RAZPRAVA

Raztopino v 3. erlenmajerici smo po končanem poskusu prefiltrirali skozi stehtan filter papir, pustili, da sta se oborina in filter papir posušila in vse ponovno stehtali. Količino sproščenega CO₂ smo izračunali iz mase oborine, CaCO₃.



$$n(\text{CO}_2) = n(\text{CaCO}_3)$$

$$m(\text{filter papir}) = 1,082 \text{ g } (\pm 0,001 \text{ g})$$

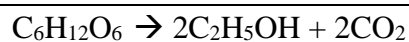
$$m(\text{filter papir} + \text{oborina}) = 1,644 \text{ g } (\pm 0,001 \text{ g})$$

$$m(\text{oborine}) = 0,562 \text{ g } (\pm 0,002 \text{ g})$$

Na tej osnovi smo izračunali množino kalcijevega karbonata, ki je identična množini sproščenega CO₂.

$$n(\text{CO}_2) = \frac{m(\text{CaCO}_3)}{M(\text{CaCO}_3)} = \frac{0,562 \text{ g} \times \text{mol}}{100,09 \text{ g}} = \mathbf{0,0056 \text{ mol}}$$

Pri fermentaciji enega mola glukoze nastaneta dva mola etanola in dva mola CO₂. Ker poznamo množino ogljikovega dioksida, lahko izračunamo množino in maso etanola.



$$n(\text{CO}_2) = n(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH})$$

$$m(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}) = n \times M = 0,0056 \text{ mol} \times 46 \text{ g/mol} = \mathbf{0,258 \text{ g}}$$

Dobljena masa etanola je bila določena v 100 mL filtrata in predstavlja polovico skupne mase, pridobljene iz cca. 220 g japonskega dresnika. Predpostavili smo, da bi v celoti lahko pridobili 0,258 g x 2 ~ **0,51 g etanola**. Če preračunamo to maso na 1000 g vzorca (1kg), dobimo:

$$m(\text{etanol})/1000 \text{ g vzorca} = \frac{1000 \text{ g} \times 0,51 \text{ g}}{220 \text{ g}} = \mathbf{2,3 \text{ g}}$$

Izračun pokaže, da bi iz 1000 g (1 kg) japonskega dresnika lahko pridobili 2,3 g etanola. Če to preračunamo v mililitre:

$$\rho = \frac{m}{V} \rightarrow V(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}) = \frac{m}{\rho} = \frac{2,3 \text{ g}}{0,78 \text{ g/mL}} = \mathbf{2,9 \text{ mL}}$$

Zaključimo lahko, da bi iz 1 tone japonskega dresnika lahko pridobili 2,3 kg etanola oz. 2,9 L etanola.

Če to primerjamo z izkoristkom iz koruze je to veliko manj. Iz 1 tone koruze naj bi bilo mogoče pridobiti 194 L etanola (Podgoršek in Vrtačnikova, 2011).

V zadnjem delu raziskave smo fermentirano raztopino japonskega dresnika še destilirali in teoretično izračunano prostornino etanola, poskusili dobiti še praktično.

4.1 Destilacija etanola pridobljenega s fermentacijo

Fermentacijo smo izvajali v termo steklenici (slika 21). Vanjo smo odmerili 100 mL filtrata japonskega dresnika (~ 30°C) ter dodali ½ kocke svežega kvasa (17,8 g). Pustili smo da fermentacija teče dve uri. Vmes smo termo steklenico večkrat odprli, da je CO₂ lahko izšel iz steklenice. Po dveh urah to ni bilo več potrebno.



Slika 21. Fermentacija v termo steklenici (lasten vir)

1. Fermentirano raztopino japonskega dresnika smo dali v bučko s prostornino 100 cm³ in jo priključili na destilacijsko aparaturo (slika 22).
2. Cev za dotok vode smo povezali z vodovodno pipo, izhodno cev za vodo pa usmerili v umivalnik.
3. Odprli smo dotok vode, da je voda začela teči skozi hladilnik.
4. S pomočjo gorilnika smo segrevali bučko s fermentiranim produktom.
5. Pri temperaturi 78 °C (± 1 °C) je etanol začel izparevati, v hladilniku je kondenziral.
6. Destilat smo zbirali v 50 mL čaši in po končani destilaciji z merilno pipeto tekočino posrkali iz čaše in tako izmerili prostornino pridobljenega etanola.
7. Za preverjanje prisotnosti etanola smo uporabili test s $K_2Cr_2O_7/H^+$ (aq).

Rezultati destilacije alkoholnega vrenja

Na sliki 22 je destilacijska aparatura uporabljena v tej raziskavi. Etanol je destiliriral med 77 °C do 78 °C.



Slika 22. Destilacija fermentacije ekstrakta Japonskega dresnika in začetek destilacije etanola (lasten vir)

Pridobili smo tekočino, ki je bila nekoliko motna, vendar z vonjem po alkoholu (slika 23).

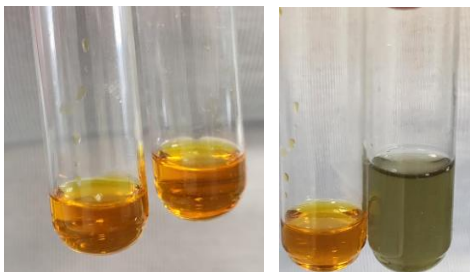


Slika 23. Alkohol pridobljen z destilacijo (lasten vir)

$V(\text{etanola}) \text{ po destilaciji} = 2,20 \text{ mL } (\pm 0,05 \text{ mL})$

Napaka meritev: $\frac{0,05 \text{ mL}}{2,20 \text{ mL}} \times 100 = 2,3\%$

Sledil je kvalitativen dokaz nastanka etanola s kislom raztopino kalijevega dikromata (VI). Kot vidimo iz slike 24 je prišlo v reakciji med alkoholom in $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7/\text{H}^+$ (aq) do značilne spremembe barve, ki je posledica spremembe Cr^{+6} (oranžna barva) v Cr^{+3} (zeleno barva).



Slika 24. Dokaz prisotni etanola s kislom raztopino $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (prehod iz oranžne v zeleno barvo) (lasten vir)

2,20 ($\pm 2,3\%$) mL je rezultat, ki je presenetil, saj je bil skoraj 10-krat višji kot izračun narejen na osnovi izločene oborine CaCO_3 . Predvidevamo, da smo v erlenmajerici ujeli le del izločenega CO_2 in je bila uporabljena metoda s kvalitativnega vidika ustrezna, iz kvantitativnega pa veliko manj.

Če predpostavimo, da je bilo izhodišče 100 g suhe mase japonskega dresnika, smo iz te mase s fermentacijo uspeli pridobiti 2,2 mL etanola. Iz barve destilata sicer lahko sklepamo, da produkt ni bil povsem čist, saj je bil destilat rahlo motna tekočina (Slika 25 – kondenzacija etanola v Liebigovem hladilniku).



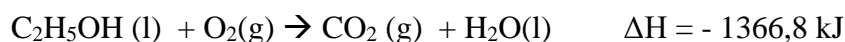
Slika 25. Kapljice etanola v Liebigovem hladilniku (lasten vir)

Napaka meritev je sicer majhna, vendar predvidevamo, da bi morali destilacijo vsaj še enkrat ponoviti, da bi etanol res očistili, kar pa z 2,20 mL produkta ni bilo mogoče, saj je bilo produkta premalo.

Vendar, preračun na 1000 g (1 kg) pokaže, da bi bilo mogoče iz te mase japonskega dresnika pridobiti 22 mL etanola in iz 1000 kg 22 L etanola. Preostanek predstavlja biomaso, ki jo s sušenjem še vedno lahko uporabimo kot gorivo (lesna biomasa). Če slednje primerjamo z možnostmi, ki jih dajejo koruzna zrna (~194 L), je to še vedno veliko manj, vendar predstavlja količino, ki ni več zanemarljiva.

4.2 Sprememba sežigne entalpije bioetanola

Za preizkus čistosti bioetanola smo v šol. laboratoriju izvedeli poskus določitve sežigne entalpije. Reakcijo lahko ponazorimo z naslednjo enačbo:⁸



Da bi določili sežigno vrednost bioetanola smo predhodno opisan poskus večkrat ponovili in produkt destilacij zbirali. Ko smo zbrali cca. 50 mL produkta, smo poskus zastavili tako, da smo v očiščene manjše alkoholne gorilnike s stenom nalili:

A – destilat fermentacije filtrata japonskega dresnika.

B – čisti etanol.

Nad gorilniki smo vpeli erlenmajerice z 100 mL deionizirane vode (Slika 26). S termometrom smo izmerili začetno temperaturo vode (20 °C) in segrevali toliko časa, da je termometer

⁸ Vir podatkov:

https://chem.libretexts.org/Courses/Widener_University/Widener_University%3A_Chem_135/06%3A_Thermochemistry/6.04%3A_Enthalpy-Heat_of_Combustion#:~:text=For%20example%2C%20the%20enthalpy%20of%20combustion%20of%20ethanol%2C,products%20also%20at%2025%20C%20and%201%20atm. Povzeto: 19. 3. 2025

pokazal 60 °C. Med segrevanjem smo vodo v erlenmajerici ves čas mešali. Ko smo dosegli 60 °C, smo gorilnik zopet pokrili s pokrovom in ga ponovno stehali.



Slika 26. Določitev sežigne entalpije bioetnaola (lasten vir)

4.2.1 Meritve

Začetek:

$$m_A \text{ (posoda + bioetanol (A))} = 212,410 \text{ g } (\pm 0,001 \text{ g})$$

$$T_{\text{začetna}} = 20,0 \text{ } ^\circ\text{C}$$

$$m_B \text{ (posoda + etanol (B))} = 210,540 \text{ g } (\pm 0,001 \text{ g})$$

$$T_{\text{začetna}} = 20,0 \text{ } ^\circ\text{C}$$

Konec:

$$m_A \text{ (posoda + bioetanol (A))} = 211,111 \text{ g } (\pm 0,001 \text{ g})$$

$$T_{\text{končna}} = 60,0 \text{ } ^\circ\text{C}$$

$$m_B \text{ (posoda + etanol (B))} = 209,790 \text{ g } (\pm 0,001 \text{ g})$$

$$T_{\text{končna}} = 60,0 \text{ } ^\circ\text{C}$$

Sprememba mase gorilnika:

$$m_A \text{ (posoda + bioetanol)} = 212,410 \text{ g} - 211,111 \text{ g} = 1,299 \text{ g } (\pm 0,002 \text{ g})$$

$$m_B \text{ (posoda + etanol)} = 210,540 \text{ g} - 209,450 \text{ g} = 1,090 \text{ g } (\pm 0,002 \text{ g})$$

Izračun vrednosti sežigne entalpije (ΔH)

$$Q = - c \times m \times \Delta T \quad \rightarrow \quad Q = 4,2 \frac{\text{kJ}}{\text{kg K}} \times 0,100 \text{ kg} \times 40 \text{ K} = - 16,8 \text{ kJ}$$

$$n(\text{bioetanol}) = \frac{m}{M} = \frac{1,299 \text{ g}}{46 \text{ g/mol}} = 0,0282 \text{ mol} \quad n(\text{etanol}) = \frac{m}{M} = \frac{1,090 \text{ g}}{46 \text{ g/mol}} = 0,237 \text{ mol}$$

$$\Delta H(\text{bioetanol}) = \frac{Q}{n} = \frac{-16,8 \text{ kJ}}{0,0282 \text{ mol}} = -595,7 \text{ kJ/mol}$$

$$\Delta H(\text{etanol}) = \frac{Q}{n} = \frac{-16,8 \text{ kJ}}{0,237 \text{ mol}} = -708,9 \text{ kJ/mol}$$

Če eksperimentalno pridobljene vrednosti primerjamo s teoretičnimi, je izkoristek reakcije nizek. Teoretična vrednost sežigne entalpije⁹ za etanol je – 1366,8 kJ, kar pomeni, da smo pri čistem etanolu imeli izkoristek **51,8 %** ((-708,9 kJ) : (-1366,8 kJ) = 0,518) in pri bioetanolu še nekoliko nižjega, **43,5 %**. Nizek izkoristek je predvsem posledica velikih toplotnih izgub, ki jih takšna izvedba določitve sežigne entalpije ima. Vendar, tudi če bi poskrbeli za bistveno boljšo izolacijo (simulacijo kalorimetra), bi se težko približali teoretičnim vrednostim. Profesionalni kalorimeter pa ni bil dosegljiv. Če predpostavimo, da smo v obeh poskusih naredili eksperimentalno napako v istem velikostnem razredu, lahko zaključimo, da bioetanol, ki smo ga pridobili, ni bil čist. Razlika v obeh izračunanih spremembah entalpije je ~16 %. To je deloma posledica tega, da pri destilaciji dobimo azeotropno zmes, v kateri je vsaj 4-5% vode in deloma posledica primesi, ki bi jih s ponovno destilacijo produkta lahko prečistili.

5 ZAKLJUČKI

Japonski dresnik (*Fallopia japonica L.*) je zelo invazivna rastlina, ki se hitro širi in povzroča škodo številnim ekosistemom. V nalogi smo preučevali možnost njegove uporabe za proizvodnjo bioetnola, saj bi s tem rešili dva problema: zmanjšali bi problema hitrega razraščanja invazivne rastline in ponudili nov vir biogoriva, ne da bi s tem odvzemali obdelovalna zemljišča, ki so potrebna za pridelavo hrane.

Ker japonski dresnik uspeva brez potrebe po dodatnem gnojenju in zaščiti pred škodljivci, so stroški njegove pridelave nizki v primerjavi s tradicionalnimi »energetskimi«⁹ rastlinami. Realno jih ni. Poleg tega lahko raste na degradiranih tleh, kjer druge kulture ne uspevajo.

⁹ Standardna sežigna entalpija je enaka spremembi entalpije pri popolnem sežigu 1 mola snovi pri standardnih pogojih (25oC in 100 kPa)

S poskusi smo dokazali, da posušena stebila in korenine japonskega dresnika (*Fallopia japonica* L.) vsebujejo toliko sladkorjev, da je njihova pretvorba v bioetanol, s pomočjo fermentacijskih procesov, mogoča. Uporaba japonskega dresnika za proizvodnjo etanola bi zmanjšala potrebo po kemičnih ali mehanskih metodah za njegovo odstranjevanje, hkrati pa bi ustvarila dodano vrednost kot obnovljiv vir energije. Ker japonski dresnik raste v mnogih delih Slovenije, bi se njegova uporaba lahko razvila v lokalne projekte, ki bi prispevali k manjši energetski neodvisnosti regij, kjer ga odstranjujejo.

Iz 100 g japonskega dresnika smo pridobili 2,2 mL etanola, torej bi iz ene tone lahko pridobili 22 L etanola. In zdaj ključno vprašanje. Je to veliko ali malo? Odvisno s čim primerjamo. Iz ene tone koruznih zrn lahko pridobimo 194 L etanola. Torej japonski dresnik ni ravno vrhunski. Vendar z eno tono koruze lahko nahranimo vsaj 1000 ljudi, iz ene tone japonskega dresnika pa težko enega človeka, saj so užitni le zgodnje spomladanski mehki poganjki.

Poskus določitve sežigne entalpije je pokazal, da bi bioetanol morali še dodatno prečistiti, saj je bil izkoristek cca. 16 % nižji kot pri čistem etanolu.

Seveda se zavedamo, da nabiranje invazivnih rastlin poteka razpršeno, v različnih ekosistemih. Zato je njihovo zbiranje lahko logistično in stroškovno zahtevno. Naš predlog rešitve je razvoj **mobilnih predelovalnih enot za zbiranje in predelavo invazivnih rastlin na terenu**, s čimer bi zmanjšali stroške logistike. Menimo, da smo kot družba trenutno tehnološko že toliko razviti, da to ne bi smel biti problem.

In na koncu še dodatek o izkoristkih. Če povzamemo po virih, bi za proizvodnjo bioetanola porabili približno 17 % energije, ki jo bioetanol lahko daje. Iz tega zornega kota bi se pridelava seveda izplačala, saj nam 83 % ostane.

Na osnovi laboratorijskega poskusa ocenjujmo, da je trenuten odnos do proizvodnje biogoriv v Sloveniji zelo dvoličen. Na državni ravni zagovarjamo določene vrednote, vendar si premalo prizadevamo, da bi jih uresničili. Elektrifikacija na vseh področjih človekovega življenja in dela na prvi pogled predstavlja čist vir energije, vendar moramo biti realni in se vprašati: »*Katere obnovljive energijske vire in koliko njih Slovenija dejansko lahko izkorišča za proizvodnjo električne energije?*« Pri današnji proizvodnji elektrike obnovljivi viri predstavljajo le četrtno vseh energijskih virov. To ni podnebno nevtrarno.

S primerom smo pokazali, da pridelava biogoriv ni nujno povezana s krčenjem gozdov, izgubo plodne zmelje in tudi ni nujno konkurenca pridelavi hrane in s tem ne ogroža prehranske

varnosti. Lahko jih pridobivamo tudi iz invazivnih rastlin in s tem hkrati rešujemo dva problema – zmanjšujemo gospodarsko škodo, ki jo povzročajo te rastline, in pridobivamo obnovljiv vir energije.

Če povzamemo:

- 1) v **hipotezi ena** smo predpostavili, da japonski dresnik, tako kot vse rastline, vsebuje celulozo, ki jo z močnimi kislinami lahko razgradimo v enostavne ogljikove hidrate in s pomočjo fermentacije pridobimo etanol. To **hipotezo lahko potrdimo**. Iz 1 kg Japonskega dresnika lahko pridobimo 22,0 mL etanola ($\pm 0,5$ mL).
- 2) v **hipotezi 2** smo predpostavili da bo bioetanol pridobljen iz japonskega dresnika imel med 4 % do 6% nižjo sežigno entalpijo kot čisti etanol. To hipotezo **nismo potrdili**. V tem vidimo tudi glavno slabost te raziskave. Zaradi omejenosti z aparaturami, smo delali poskuse z majhnimi količinami materiala in posledično pridobili manjše količine produkta, ki jih nismo dodatno prečistili. Poudariti moramo, da so olesenela stebila izjemno močna in je bilo drobljenje (fizično) zelo naporen proces. Za večje količine bi potrebovali mlin.

Izboljšave, ki jih predlagamo so:

- končni produkt je potrebno določiti (okarakterizirati) z vidika sestave.
- bioteanol bi lahko uporabili v mešanicah z bencinom in preverili ali je primeren kot pogonsko gorivo.
- japonski dresnik bi lahko nabirali v različnih vegetacijskih obdobjih in na ta način preverili ali je katera druga oblika rastline (zgodaj pomadi, v polnem cvetenju, ko so listi še zeleni ali pa pozno jesenska rastlina) bolj primerna za proizvodnjo bioetanola.
- potrebno bi bilo izmeriti količino emisij, ki nastanejo pri uporabi tako dobljenega etanola v primerjavi s čistim bencinom.
- poskus ponoviti z bistveno večjimi količinami rastlinskega materiala in pridobiti bolj zanesljive podatke meritev.
- izračunati dejanski energijski vložek za proizvodnjo bioetanola iz japonskega dresnika v primerjavi z energijo, ki jo (lahko) pridobimo.

Stroške proizvodnje etanola iz japonskega dresnika je težko oceniti. V izračun bi morali vzeti naslednje elemente cene:

- 1) Nabiranje japonskega dresnika in sušenje na zraku.

- 2) Mletje v maso, ki jo podvržemo kislinski hidrolizi.
- 3) Kislinska hidroliza v avtoklavu (znižan tak).
- 4) Fermentacija.
- 5) Destilacija.
- 6) Analiza kvalitete produkta.
- 7) Pakiranje.
- 8) Prevozni stroški/distribucija.
- 9) Drugi stroški dela.

Z raziskavo bomo nadaljevali v smeri preučevanja v kateri vegetacijski dobi japonskega dresnika je izkoristek pridobivanja etanola največji. Verjamemo, da je uporaba odpadnih ali neželenih rastlin za proizvodnjo energije ključna za trajnostno družbo. V želji, da bi ta laboratorijski poskus bil ena od možnosti za praktično rešitev okoljskih in energetskih izzivov sodobne družbe, nalogo zaključujemo.

6 VIRI

Ando, N. s sod. (2007). The Permeation Effect of Ethanol-containing Fuels on Fluoropolymers. SAE Technical Paper 2007-01-2035, DOI:10.4271/2007-01-2035.

ARSO (2022). Biogoriva. Dostopno na: <https://www.trajnostnaenergija.si/Trajnostna-energija/Ohranite-okolje-%C4%8Disto/Energetika-in-promet/Biogoriva> Uporabljeno: 2. 1. 2025.

Babuder, M., Beravs, F., Kopač, J., Lah, T., Merše, S., Nemac, F., Stojanovič, B., Svoljšak, M., Škornik, S., Volfand, J., Tebeljan, D. (2009). Obnovljivi viri energije (OVE) v Sloveniji. Celje: Fit media, 2009.

Bielaczyc, P. (2016). The Usage of Fuels Containing Ethanol to Power Automotive Spark Ignition Engines (Zastosowanie paliw zawierających alkohol etylowy do zasilania silników samochodowych o zapłonie iskrowym). Wyd. Politechniki Poznańskiej, Poznań, 2016, in press.

Boyer, R. (2005). Temelji biokemije. Študentska založba. ISBN 961-242-041-6.

Cucu, A.A, Bobiș, O., Bonta, V., Moise, A.R (2024). Unraveling the Physicochemical, Nutritional and Antioxidant Properties of the Honey Produced from the *Fallopia japonica* Plant. Foods. 2024 Jun 21;13(13):1959. doi: 10.3390/foods13131959. PMID: 38998468; PMCID: PMC11240986.

Demirbas, A. Emission Characteristics of Gasohol and Die sohol (2009).. Energy Sources, Part A, 31:str. 1099-1104.

Eyidogan, M. et al. (2010). Impact of alcohol–gasoline fuel blends on the performance and combustion characteristics of an SI engine. Fuel 2010,89:str. 2713-2720, DOI:10.1016/j.fuel.2010.01.032.

Fehling. H. (1849). »Die quantitative Bestimmung von Zucker und Stärkmehl mittelst Kupfervitriol«. Annalen der Chemie und Pharmacie. Zv. 72, št. 1. str. 106–113. doi:10.1002/jlac.18490720112

Frajman B., 2008. Japonski dresnik Fallopia japonica, Informativni list 1. Projekt Thuja. Dostopno na: <https://www.tujerodne-vrste.info/wp-content/uploads/2018/05/INF1-japonski-dresnik.pdf> Datum dostopa: 2. 1. 2025

Hörner, T. G.; Klüfers, P. (2016). "The Species of Fehling's Solution", European Journal of Inorganic Chemistry 2016, 2016, 1798-1807. DOI: [10.1002/ejic.201600168](https://doi.org/10.1002/ejic.201600168)

Hromádková, Z., Hirsch, J., Ebringerová, J. (2010). Chemical evaluation of Fallopia japonica L. species leaves and antioxidant properties of their non-cellulosic polysaccharides. Chemical Papers 64 (5); str. 663–672 (2010). DOI: 10.2478/s11696-010-0054-2

KGZ Celje: <https://www.kmetijskizavod-celje.si/aktualno/ali-prepoznate-invazivno-rastlino-1-del-2022> Povzeto 1. 2. 2025.

Kunst, V. (2022). Ali prepoznate invazivno rastlino? Dostopno na: <https://www.kmetijskizavod-celje.si/aktualno/ali-prepoznate-invazivno-rastlino-1-del-2022-11-21> Uporabljeno: 2.1. 2025

Lin Y., Tanaka, S. (2006). Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects. Appl Microbiol Biotechnol 69:627 - 642

Medved, S., Arkar, C. (2009). Energija in okolje: obnovljivi viri energije. Ljubljana: Zdravstvena fakulteta, Projekt Concerto Remining-Lowex, 2009.

Ministrstvo za okolje in prostor (2022). Podnebno ogledalo 2022 Več sektorski ukrepi. Strokovne podlage za izpolnitev nacionalnih, evropskih in mednarodnih obveznosti poročanja ter pripravo stališča s področja blaženja podnebnih sprememb. Dostopno na: https://podnebnapot2050.si/wp-content/uploads/2022/05/PO2022_Zvezek6_Vecsektorski_Osutek_2022-05-11_P1.pdf?utm_source=chatgpt.com Povzeto. 2. 1. 2025

Juvančič, L. s sod. (2021). Od gozdne in kmetijske biomase do inovativnih tehnoloških rešitev. Zaključno poročilo CRP V4-182. Dostopno na: https://www.gov.si/assets/ministrstva/MKGP/PODROCJA/NOVICE/CRP-V4-1824-Bridge2Bio-Zakljucno-porocilo-stisnjeno.pdf?utm_source=chatgpt.com Povzeto: 2. 1. 2025.

Pivec, A. (2005). Kontrolirana fermentacija vinskega mošta na osnovi vrednosti redoks potenciala. Doktorska disertacija, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo.

Podgoršek, J., Vrtačnik, Š. (2011). Tehnologije obnovljivih virov energije [Elektronski vir] : gradivo za 1. ali 2. letnik / Jože Podgoršek, Špela Vrtačnik. - El. knjiga. - Ljubljana : Zavod IRC, 2011. - (Višješolski strokovni program Naravovarstvo / Zavod IRC) Dostopno na: https://www.skupnost-vss.si/impletum/docs/Skriti_dokumenti/Tehnologije_obnovljivih_virov_energije-Podgorsek_Vrtacnik.pdf?utm_source=chatgpt.com Povzeto: 2. 1. 2025.

Puscner, M. (2024). Površina gozdov. Dostopno na: <https://www.gozdes.com/slovenski-gozdovi/statistika-gozdov/povrsina-gozdov> Povzeto: 2. 1. 2025.

Renewable Fuels Association (ed.). (2016). Ethanol Industry Outlook, RFA. Dostopno na: www.ethanolrfa.org/wp-content/uploads/2016/02/Ethanol-Industry-Outlook-2016.pdf
Povzeto: 14. 11. 2024

Renewable Fuels Association (ed.). Ethanol facts: Environment, Last updated March 2015, RFA. Dostopno na: <http://www.ethanolrfa.org/pages/ethanol-facts-environment>.
Povzeto: 14. 11. 2024

Santana, R. C., Barros, N. F. (2000). Above-Ground Biomass, Nutrient Content, And Nutrient Use Efficiency Of Eucalypt Plantations Growing In Different Sites In Brazil. Paper presented at IEA Bioenergy Task 18 "Conventional Systems for Bioenergy" Workshop, Charleston, S.C., 19-25 September 1999. New Zealand Journal of Forestry Science 30(1/2): 225-236 (2000).

SURS (2024). Slovenija dosegla ciljni delež energije iz obnovljivih virov. Dostopno na: <https://www.stat.si/StatWeb/News/Index/13208> Povzeto 4. 1. 2025

Tavzes, Č. (2003). Proučevanje encimskih in neencimskih procesov razgradnje lesa. Doktorska Disertacija, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, 2003

Ur. L. RS št. 92/07 – uradno prečiščeno besedilo, 105/10, 80/13, 38/17, 46/20 in 105/21 – odl. US. Dolgoročna podnebna strategija Slovenije do leta 2050 (ReDPS50).