

**DZIAŁ: OPERACJE JEDNOSTKOWE  
ĆWICZENIE 1 (F-D-R): Fermentacja alkoholowa  
Destylacja i rektyfikacja etanolu  
[WYKONANIE ĆWICZENIA]**

opracowanie: A.W.



----- ĆWICZENIE WYKONYWANE POD NADZOREM PROWADZĄCEGO -----

**CEL ĆWICZENIA:**

Wyznaczenie wydajności otrzymywania i czystości etanolu powstałego w fermentacji alkoholowej oraz oczyszczonego na drodze destylacji i rektyfikacji.

**ZAKRES OBOWIĄZUJĄCEGO MATERIAŁU:**

fermentacja alkoholowa, destylacja i jej rodzaje (prosta, wielostopniowa, frakcyjna, z parą wodną, pod obniżonym ciśnieniem), rektyfikacja, bilans materiałowy rektyfikacji, kwadrat jednostkowy, linia równowagi, linia operacyjna, liczba powrotu, powrót minimalny, półka teoretyczna, metody wyznaczania ilości pólki teoretycznych, sprawność kolumny, WRPT

**OMÓWIENIE NAJWAŻNIEJSZYCH ZAGADNIEŃ:**

**1. FERMENTACJA ALKOHOŁOWA**

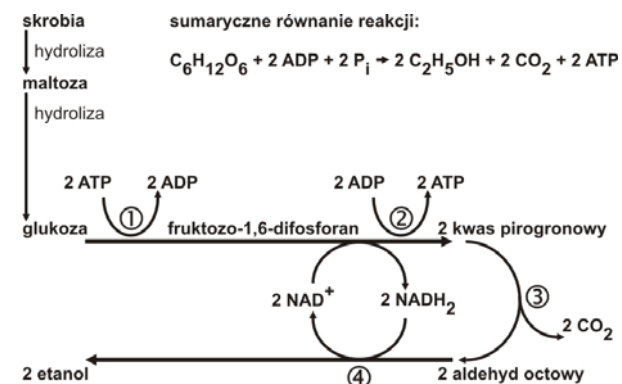
Fermentacja jest procesem oddychania beztlenowego, do którego zdolne są liczne bakterie a także niektóre grzyby. W fermentacji substrat oddechowy ulega rozbięciu i przekształceniu, przy czym jeden z produktów ulega utlenieniu, drugi zaś redukcji. Jest to zatem reakcja dysproporcjonacji, w której z substratu powstają i bardziej utlenione, i bardziej zredukowane produkty. Wynikiem fermentacji jest także energia zmagazynowana w ATP. W zależności od produktu końcowego mówimy o fermentacji mlekowej, masłowej, octowej, alkoholowej itp.

Fermentację alkoholową przeprowadzają drożdże, m.in. *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces uvarum*, *Kluyveromyces fragilis*, niektóre *Mucoraceae* (tzw. drożdże mukorowe), i bakterie, głównie *Zymomonas mobilis*, dla których naturalnym miejscem bytowania są rośliny (owoce, nektar kwiatów, wycieki soku). Drożdże fermentują heksozy i niektóre oligosacharydy, np. sacharozę, maltozę lub inulinę. Poprzez staranną selekcję otrzymano szereg ras i szczepów wykorzystywanych w gorzelnictwie, piwowarstwie, winiarstwie. O przydatności poszczególnych szczepów decyduje ich oporność na obniżone pH, czy produkty fermentacji. Na przykład *Saccharomyces cerevisiae* mogą wciąż rosnąć przy

stężeniu etanolu sięgającym 120 g/l, natomiast do prowadzenia fermentacji są zdolne aż do 200 g/l.

Podstawowym surowcem przemysłowej produkcji etanolu na potrzeby konsumpcyjne jest melasa, ziemniaki, zboża lub inne surowce pochodzenia roślinnego w zależności od warunków klimatycznych. Drożdże nie rozkładają skrobi czy celulozy, dlatego konieczna jest uprzednia hydroliza wymienionych wielocukrów. W tym celu używa się kwasów mineralnych lub częścię enzymów amylolitycznych wytwarzanych przez kiełkujące nasiona zbóż lub niektóre drobnoustroje.

Rysunek 1. przedstawia schemat hydrolizy skrobi i następującej po niej fermentacji alkoholowej glukozy.



**rys.1.** Hydroliza skrobi i fermentacja alkoholowa glukozy. Oznaczenia: 1 – fosforylacja glukozy, 2 – glikoliza, 3 – dekarboksylacja, 4 – redukcja aldehydu, P<sub>i</sub> – fosforan nieorganiczny, ATP – kwas adenozynotrifosforowy, ADP – kwas adenozynodifosforowy, NAD<sup>+</sup> – dinukleotyd nikotynamidoadeninowy (forma utleniona), NADH<sub>2</sub> – j.w. (forma zredukowana).

Pierwszy etap fermentacji polega na aktywowaniu substratu oddechowego – glukozy, która przekształcana jest do fruktozo 1,6-dwufosforanu w reakcji fosforylacji. Następnie sześciowęglowy związek rozpada się na łańcuchy trójwęglowe. Podczas reakcji glikolizy zredukowany zostaje nośnik wodoru – NADH<sub>2</sub>, a wydzielona energia jest akumulowana w ATP podczas fosforylacji substratowej. Kwas pirogronowy ulega dekarboksylacji, a powstający przy tym aldehyd octowy jest akceptorem wodoru przyjmowanego od NADH<sub>2</sub>. W tej reakcji zachodzi regeneracja utlenionej formy NAD<sup>+</sup>.

U *Saccharomyces cerevisiae* w procesie fermentacji z 1 g glukozy mogłoby powstać teoretycznie 0.51 g etanolu i 0.49 g CO<sub>2</sub>. W praktyce, ze względu na zużycie glukozy do syntezy składników materiału komórkowego oraz tworzenie produktów ubocznych, powstaje 0.46 g etanolu i 0.44 g CO<sub>2</sub>.

Fermentacja prowadzona w środowisku alkalicznym lub w obecności wodorosiarczanu (IV), wiążącego się z aldehydem octowym, prowadzi do utworzenia glicerolu. Przy zwiększonej dostępności tlenu powstaje kwas octowy. Wszystkie płyny powstające podczas fermentacji przeprowadzonej przez drożdże zawierają tzw. fuzle: propanol, 2-butanodiol, 2-metylopropanol, alkohol amyłowy (pentanol), alkohol izoamyłowy (3-metylobutanol). Są to produkty typowego metabolizmu fermentacyjnego u drożdży, głównie uboczne produkty przemian izoleucyny, leucyny i waliny. Oprócz wymienionych powyżej składników w mieszaninie występują także: metanol, kwasy bursztynowy, masłowy, mlekowy, pruski, oraz liczne aldehydy i estry.

2. DESTYLACJA – literatura

3. REKTYFIKACJA – literatura

#### LITERATURA OBOWIĄZKOWA:

1. Jacek Molenda „Technologia chemiczna”, WSiP, Warszawa 1997,
2. Edgar Bortel „Zarys technologii chemicznej”, WN PWN, Warszawa 1992
3. Wieńczysław Kuczyński „Podręcznik do ćwiczeń z technologii chemicznej”, PWN, Warszawa 1974

#### LITERATURA UZUPEŁNIAJĄCA:

- H.G. Schlegel „Mikrobiologia ogólna”, WN PWN, Warszawa 1996, 332-344,  
J. Emsley „Przewodnik po chemii życia codziennego”, Prószyński i S-ka, Warszawa 1996, 69-98,  
A. Chmiel „Biotechnologia. Podstawy mikrobiologiczne i biochemiczne”, WN PWN, Warszawa 1994, 96-105

#### WYKONANIE ĆWICZENIA:

##### SPRZĘT I ODCZYNNIKI:

###### wypożyczyć:

2 kolby (500 ml) z rurkami fermentacyjnymi

###### kupić:

sacharoza – 200 g

drożdże – świeże: 40 g, suszone: 7g

(UWAGA: w obydwu odczynnikach należy zaopatrzyć się tydzień przed ćwiczeniami 1-D)

###### na stanowisku pomiarowym (sala 405):

cieplarka (sala 409)

wagi (pokój wagowy i sala 405)

elementy do zestawu do destylacji

elementy do zestawu do rektyfikacji

kolba stożkowa ze szlifem (~ 300 ml; do przechowania destylatu pomiędzy ćwiczeniami)

piknometr

butelka na przedgon

butelka na rektyfikat

###### na pracowni obowiązuje prowadzenie zeszytu laboratoryjnego

#### PRZEBIEG EKSPERYMENTU:

##### 0. PRZYGOTOWANIE SURÓWKI (NASTAWIENIE FERMENTACJI): 1-F

Do dwóch kolb o pojemności 500 ml przenieść po 100 g sacharozy, zalać 200 ml wody destylowanej. Zawartość mieszać aż do rozpuszczenia cukru. Do kolby dodać po 20 g świeżych drożdży lub po 3.5 g drożdży suszonych, dodać do 120 ml wody. \*Do mieszaniny można także dodać niewielką ilość pożywki (w zależności od ustalonego wcześniej planu w każdej grupie można stopniowo zwiększać ilość pożywki np. 0.1 g, 0.15 g, 0.2 g). Kolby szczelnie zatkać korkami zaopatrzonymi w rurki fermentacyjne (zalać parafiną). Po wypełnieniu rurek wodą (rys. 2.), kolby zważyć i pozostawić na tydzień w temperaturze pokojowej.



\*Dla zainteresowanych: postęp reakcji można śledzić ważąc (na wadze technicznej) kolby co kilkanaście godzin (należy zapisać datę, godzinę, masę oraz obserwacje np. ilość wody w rurce i inne podobne parametry, które mogą wpływać na dokładność wyznaczania masy).

Po zakończeniu fermentacji zważyć kolby.

rys. 2. Prawidłowo przygotowana kolba fermentacyjna.

**UWAGA!** Przed wykonaniem destylacji i rektyfikacji można zapoznać się z elementami aparatury i przećwiczyć na modelu budowę poszczególnych zestawów korzystając z arkusza udostępnionego w materiałach dodatkowych „SCHEMATY APARATURY”.

##### 1. DESTYLACJA PROSTA: 1-D

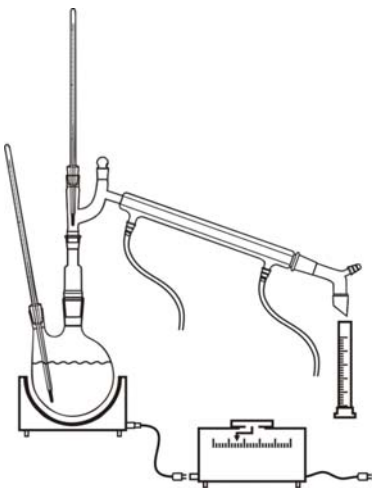
Na podstawie schematu (rys. 3.) złożyć zestaw do destylacji.

**UWAGA!** Przed połączeniem kolby z nasadką Claisena dodać świeże kamyczki wrzenne i oczyścić szlif!

Do kolby przenieść surówkę (zawartość obydwu kolb, w których prowadzona była fermentacja). Dopełnić wodą destylowaną do około połowy objętości kolby (do zaznaczonego poziomu). Ustalić przepływ wody przez chłodnicę. Podłączyć płaszcz grzejny do autotransformatora. Rozpocząć ogrzewanie mieszaniny przy ustawieniu 130 V.

W odstępach 5 minut notować temperaturę cieczy [ $T_c$ ], pary [ $T_p$ ] i ilość odebranego destylatu [ $V$ ]. Szybkość destylacji ( $G$  równe około 100 kropli na minutę) regulować zmieniając napięcie [ $U$ ] (ustawienie autotransformatora).

Destylację zakończyć po osiągnięciu temperatury pary równej 98° C (wyłączyć zasilanie). Destylat przelać do kolby, przechować do kolejnej części ćwiczenia.



rys. 3. Zestaw do destylacji prostej stosowany w ćwiczeniu.



rys. 4. Piknometr napełniony cieczą i przygotowany do ważenia (schłodzony w łaźni lodowej do odpowiedniej temperatury, objętość cieczy wyregulowana do określonej wartości).

**TABELA POMIARÓW:**

t [min]	T <sub>c</sub> [° C]	T <sub>p</sub> [° C]	V [ml]	G [krople/min]	U [V]
0					
5 itd.					

Wymieszać destylat zebrany do odbieralnika. Za pomocą piknometu (rys. 4.) wyznaczyć gęstość względną  $d_{15}^{15}$  otrzymanej mieszaniny z dokładnością do 4 miejsc po przecinku. Z tablic Windischa odczytać odpowiadające danej gęstości mieszaniny stężenia etanolu wyrażone w g etanolu na 100 ml mieszaniny  $\left[ \frac{g}{100ml} \right]$  oraz w procentach objętościowych [% obj.]

**ZASADY BEZPIECZEŃSTWA, ODPADY:**

----- ĆWICZENIE WYKONYWANE POD NADZOREM PROWADZĄCEGO -----

Należy zachować ostrożność podczas ogrzewania surówki, zaleca się stosowanie okularów i odzieży ochronnej.

**2. REKTYFIKACJA: 1-R**

Na podstawie schematu (rys. 5.) przygotować zestaw do rektyfikacji.

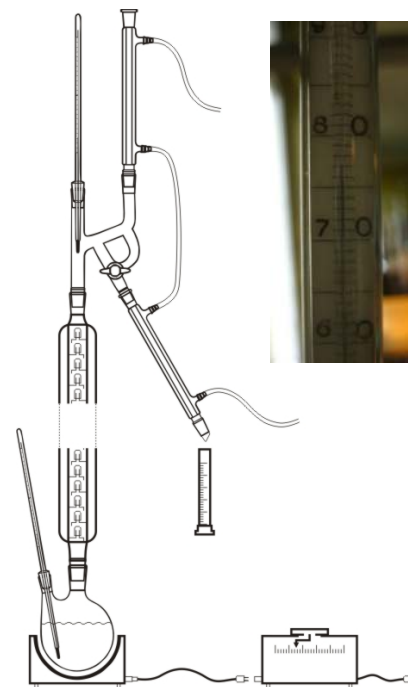
**UWAGA!** Przed połączeniem kolby z kolumną rektyfikacyjną dodać świeże kamyczki wrzenne i oczyścić szlif!

Do kolby przenieść otrzymany wcześniej destylat, dopełnić wodą destylowaną do około 2/3 objętości kolby (do zaznaczonego poziomu). Ustalić przepływ wody przez układ chłodnic. Podłączyć płaszcz grzewczy do autotransformatora. Rozpocząć ogrzewanie mieszaniny przy ustawieniu 130 V.

W odstępach 5 minut notować temperaturę cieczy [T<sub>c</sub>], pary [T<sub>p</sub>] i ilość odebranego rektyfikatu [V]. Szybkość rektyfikacji (G równe około 120 kropli na minutę), przy zamkniętej głowicy regulować zmieniając napięcie [U] (ustawienie autotransformatora).

Po ustaleniu G otworzyć głowicę (**lekko** uchylić kranik!) i ustalić szybkość odbierania rektyfikatu D [krople/min], tak aby R wynosiło 2 (lub nieznacznie więcej). D nie powinno przekraczać 50 kropli na minutę, aby uniknąć zalania kolumny. Zebrać i przenieść do przygotowanego pojemnika (PRZEDGON) pierwszą partię rektyfikatu zawierającą metanol – około 8 % całkowitej objętości destylatu. Do cylindra miarowego zebrać rektyfikat (spirytus).

Rektyfikację zakończyć po przekroczeniu (różnica 1°C) temperatury pary równej 77° C – zamknąć kran głowicy i wyłączyć zasilanie.



rys. 5. Zestaw do rektyfikacji stosowany w ćwiczeniu.

**TABELA POMIARÓW:**

t [min]	T <sub>c</sub> [° C]	T <sub>p</sub> [° C]	V [ml]	G	D	O	R	U [V]
				[krople/min]				
0								
5 itd.								

Wymieszać rektyfikat zebrany do odbieralnika. Za pomocą piknometu wyznaczyć gęstość względną  $d_{15}^{15}$  otrzymanej mieszaniny z dokładnością do 4 miejsc po przecinku.

Z tablic Windischa odczytać odpowiadające danej gęstości mieszaniny stężenia etanolu wyrażone w g etanolu na 100 ml mieszaniny  $\left[ \frac{\text{g}}{100\text{ml}} \right]$  oraz w procentach objętościowych [% obj.]. Produkt zlać do przygotowanej butelki.

#### ZASADY BEZPIECZEŃSTWA, ODPADY:

----- ĆWICZENIE WYKONYWANE POD NADZOREM PROWADZĄCEGO -----

Należy zachować ostrożność podczas ogrzewania surówki, zaleca się stosowanie okularów i odzieży ochronnej.

#### OPRACOWANIE WYNIKÓW:

0. Sporządzić wykres zmian masy i stopnia przereagowania podczas fermentacji.
1. Sporządzić krzywe destylacji i rektyfikacji: zmianę temperatury cieczy i temperatury pary w funkcji czasu oraz w funkcji ilości odebranego destylatu/rektyfikatu.
2. Obliczyć wydajność otrzymywania etanolu na etapie
  - a) surówki,
  - b) destylacji,
  - c) rektyfikacji.

Wyjaśnić na czym polega niedokładność oznaczenia na każdym z etapów. Wyjaśnić jakie stężenie etanolu jest możliwe do osiągnięcia na etapie rektyfikacji i z czego wynika rozbieżność między tą wartością a otrzymanym wynikiem (gorsza jakość uzyskanego spirytusu).

Do opracowania wyników i przygotowania sprawozdania bezpośrednio na laboratorium wykorzystać arkusz kalkulacyjny udostępniony przez prowadzącego. Wersję demonstracyjną arkusza przedstawiono w materiałach dodatkowych: „arkusz wyników-PRZYKŁAD”.

#### TABELA WYNIKÓW:

etap otrzymywania etanolu	stężenie [g etanolu/100 ml]	stężenie [% obj.]	wydajność otrzymywania etanolu [%]
a)			
b)			
c)			

#### CZAS TRWANIA PRACOWNI (w zależności od sprawności wykonania):

0. przygotowanie surówki (1-F) – ok. 30 minut; wykonanie ważenia pomiędzy częścią 1-F i 1-D – nie więcej niż 5 minut,
1. destylacja (1-D) – montaż aparatury – nie więcej niż 20 minut; doprowadzenie surówki do wrzenia – ok. 20-30 minut; destylacja (odbieranie produktu) – 60-90 minut; oznaczenie gęstości względnej – 20-30 minut,
2. rektyfikacja (1-R) – montaż aparatury – nie więcej niż 20 minut; doprowadzenie surówki do wrzenia i napełnienie kolumny wrzącą mieszaniną – ok. 20-30 minut; regulacja szybkości – 10-20 minut; rektyfikacja (odbieranie produktu) – ok. 60-90 minut; oznaczenie gęstości względnej, sprząkanie stanowiska – 20-30 minut.

Sprawozdanie należy przygotowywać równolegle z odbieraniem produktu.