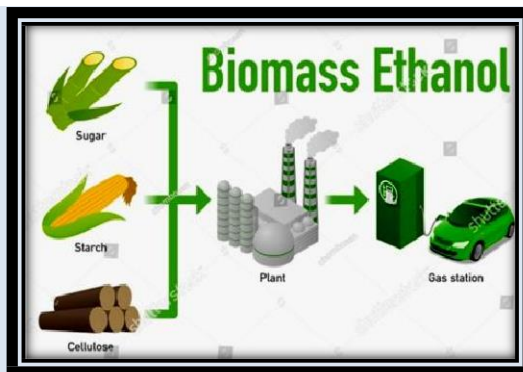


Module 1

Extractie van bio-ethanol uit oud papier



Inleiding

Tegenwoordig is de vervuiling door fossiele brandstoffen een van de grootste problemen in de wereld. Bovendien is het slechts een kwestie van tijd voordat de fossiele brandstoffen opraken. Een van de mogelijke manieren om het gebruik van fossiele brandstoffen, met name aardolie in benzine, te verminderen is door meer bio-ethanol te gebruiken (momenteel bevat gewone benzine ongeveer 10% bio-ethanol als additief). Speciale flex-fuel voertuigen kunnen E85 benzine gebruiken, wat voor 85% uit ethanol bestaat. Ethanol kan worden verkregen uit oud papier, houtafval, bouwafval, of GFT afval, waardoor minder CO₂ en andere broeikasgassen worden geproduceerd en grondstoffen kunnen worden gerecycled. Vrijwel al het groenafval met een hoog cellulosegehalte kan worden gebruikt als grondstof voor de productie van ethanol. In deze module wordt het geselecteerde cellulosehoudende materiaal, oud papier, voorbehandeld, verteerd met cellulase-enzym en vervolgens gefermenteerd met biergist. De vorming van ethanol kan worden gedetecteerd met een blaastest of met kaliumpermanganaat als indicator.



Benodigdheden



Reagentia	Formule		Hoeveelheid
Cellulase, enzymmengsel			2.0 ml
Kaliumpermanganaat	KMnO ₄		0.6 g
Azijnzuur (optioneel)	C ₂ H ₄ O ₂		Twee druppels

Lijst van materialen

- Veiligheidsbril en handschoenen
- Oud papier (2-3 A4-vellen)
- Kleine blender
- Plastic pipetten
- Plastic wegwerpspatel
- 11 injectieflacons (5-10 ml) met rubberen septa
- 10 lange injectienaalden
- 10 korte injectienaalden
- 2 bekers (250 ml)
- Kookplaat
- Oven/verwarming die een temperatuur van ongeveer 35 °C kan bereiken en behouden
- 1 ethanol sensor (in het geval dit de voorkeursmanier is om de vorming van ethanol te controleren; ethanol sensoren of ademhalingsmeters kunnen bijvoorbeeld via Amazon gekocht worden voor ongeveer € 40-95, afhankelijk van de nauwkeurigheid en opties).

Lijst van chemische stoffen

- Gedestilleerd water
- Cellulase-enzymmengsel (bijvoorbeeld verkrijgbaar op de website van Sigma Aldrich, artikelcode SAE0020-50ML, prijs € 100,00; NB: met 50 ml cellulase kan het hele experiment 25 keer worden herhaald. Het gegevensblad kan worden gedownload via de volgende link:
<https://www.sigmaaldrich.com/IT/it/product/sigma/sae0020?context=product>)
- Gewone biergist uit de supermarkt (gebruikt voor pizza of broodbereiding)
- OPTIONEEL: 2 druppels azijnzuur en lakmoesproef
- 0,6 g kaliumpermanganaat KMnO_4 (bijvoorbeeld op de website van Sigma-Aldrich, artikelcode 223468-25G, prijs 32€)

Lab procedure

- Draag een veiligheidsbril en handschoenen.
- Doe ongeveer 150 ml water in een bekersglas van 250 ml en zet het op een kookplaat. Verwarm het op tot het kookpunt op 100°C.
- Terwijl het water opwarmt, neem je 2-3 vellen oudpapier en scheur je ze met de hand in kleine stukjes.
- Doe het fijngesneden A4-papier in een kleine blender en voeg ongeveer 50 ml gedestilleerd water toe met behulp van een maatcilinder. Mix het mengsel tot je een soort puree krijgt.
- Breng met een spatel ongeveer 0,3 g van de papier- en waterpuree over in elk van de 5 flesjes.
- Voeg 5 ml gedestilleerd water toe aan elk flesje.

Studenten Kaart

Bio-ethanol uit oud papier

- Sluit de buisjes af met een dop met septum en steek een injectienaald in elk flesje. Dit voorkomt dat de flesjes onder druk komen te staan.
- Dompel alle flesjes onder in het bekglas dat op de kookplaat is geplaatst en laat 45 minuten zachtjes koken.
- Maak een bekglas van 250 ml klaar, gevuld met ongeveer 150 ml koud water.
- Breng de flesjes na 45 minuten over in het bekglas met koud water en laat in 5 minuten afkoelen tot kamertemperatuur.
- Doe de 5 flesjes met de papierpuree in een flesjeshouder en voeg respectievelijk toe:
 - Flesje 1: 0,5 ml cellulase en 0,5 g biergist.
 - Flesje 2: 0,5 ml cellulase.
 - Flesje 3: 0,5 g biergist.
 - Flesje 4: 0,5 ml cellulase, wacht 2 uur en voeg de biergist toe.
 - Flesje 5: **OPTIONELE STAP:** 2 druppels azijnzuur (controleer met een lakmoesproef of de PH ongeveer 5 is), voeg dan 0,5 ml cellulase en 0,5 g biergist toe.
- Sluit de flesjes af met een rubberen tussenschot en steek een injectienaald in elk flesje.
- Bekijk de flesjes gedurende de eerste 10 minuten om de verschillen te controleren, afhankelijk van de verschillende toegevoegde reagentia.
- Zet de flesjes in een oven/verwarmer op 35°C en laat ze minstens 24 uur op deze temperatuur staan.
- Haal de flesjes uit de verwarming en laat ze afkoelen tot kamertemperatuur.

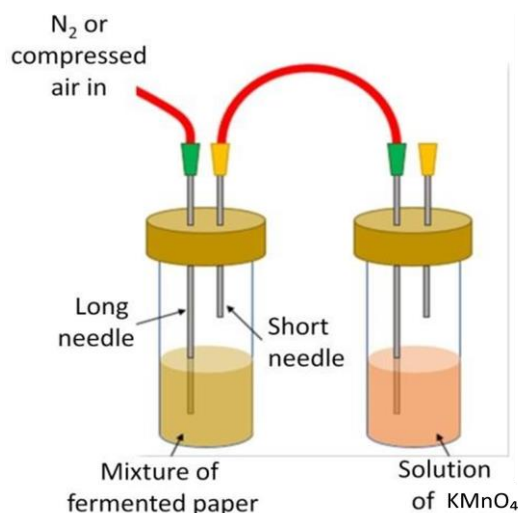
CONTROLE VAN DE VORMING VAN BIO-ETHANOL DOOR ETHANOLSENSOR OF ADEMTESTAPPARAAT

- Meet met een ethanolsensor of blaastest de ethanolconcentratie in de flesjes 1- 4/5 (zie onderstaande afbeelding).



MONITORING VAN DE VORMING VAN ETHANOL DOOR KALIUMPERMANGANAAT

- ❖ Maak 6 schone flesjes en doe in elk flesje 0,1 g kaliumpermanganaat en 3 ml water. Los het kaliumpermanganaat zoveel mogelijk op in het gedestilleerde water.



- ❖ Maak voor elk paar flesjes de opstelling zoals aangegeven in de onderstaande figuur met behulp van kleine plastic buisjes en injectienaalden; blaas vervolgens gedurende 10 minuten stikstof of perslucht in het paar flesjes.
- ❖ Haal aan het eind van de 10 minuten de opstelling uit elkaar en plaats deze weer terug voor het volgende paar flesjes.

Doe hetzelfde voor alle paren flesjes. Houd alle KMnO_4 flesjes die bij de vorige tests zijn gebruikt apart en maak een laatste kleurvergelijking tussen deze flesjes om uit te zoeken welke combinatie van reagentia het gunstigst is voor de ethanolvorming. Gebruik het zesde flesje als kleurreferentie.

Vragen

- 1) Hoe kan cellulose worden gebruikt als grondstof voor de productie van ethanol?
- 2) Waarom is het interessant om cellulose te gebruiken als grondstof voor de productie van ethanol?
- 3) Welke parameters moeten in de gaten worden gehouden om het fermentatieproces te optimaliseren?
- 4) Hoe kan KMnO_4 gebruikt worden om de aanwezigheid van ethanol aan te tonen?