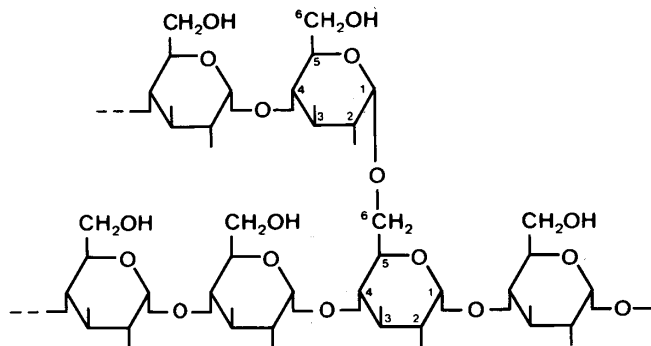


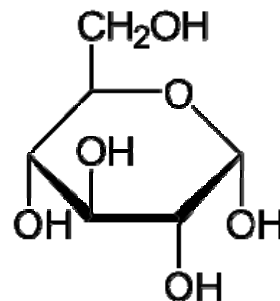
Fremstilling af bioethanol fra majs

Introduktion

Projektet går ud på at omdanne stivelse fra planters fotosyntese til brændstof. Dette gøres ved at spalte stivelsen til frit glukose ved hjælp af enzymer fra NOVOZYMES, som derefter ved hjælp af gærceller omdannes til ethanol, der kan anvendes som brændstof i bilmotorer.



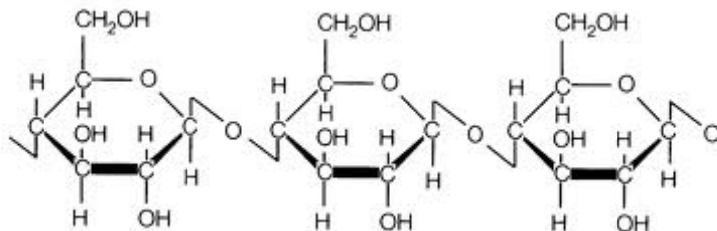
Stivelse



Glucose

Stivelse er planters vigtigste næringsreserve. Gode kilder til stivelse er f. eks kartofler, majs og hvede eller andre kornsorter (byg, havre, rug). Stivelse er et polysakkerid opbygget af lange forgrenede kæder af glukosemolekyler. Kæderne er opbygget af glykosidbindeinger mellem kulstof nr. 1 og 5 og mellem nr. 1 og 6 i glukose. Alle bindingerne er af den såkaldte α -type (se figur ovenfor).

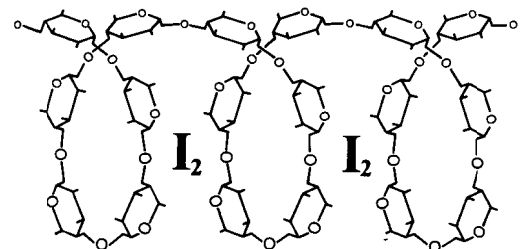
Planter indeholder også et andet kulhydrat – cellulose, som indgår i planters cellevæg og stængler. Cellulose er som stivelse opbygget af lange kæder af glukosemolekyler (figur herunder). Bindingerne mellem glukoseenhederne i cellulose er i modsætning til stivelse af β -typen. Undersøg figurene af stivelse og cellulose og se om du kan se forskel på bindingstypen



Figur 1 Cellulose

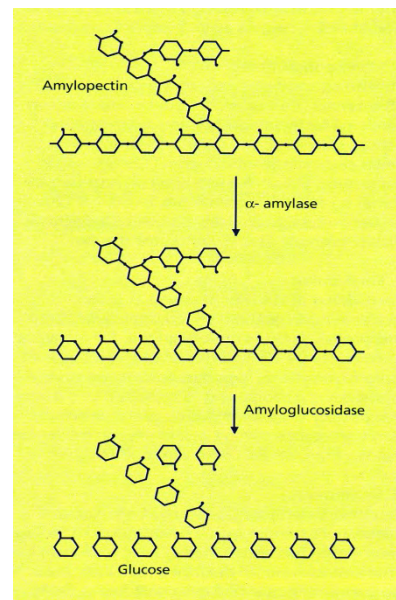
Den lille forskel i bindingerne hos stivelse og cellulose har dramatiske konsekvenser. Stivelse kan fordøjes af dyr og mennesker, mens cellulose kun kan nedbrydes af bakterier og svampe. Nogle dyr som køer, får, heste, kaniner og harer har i deres fordøjelsessystem udviklet et samarbejde med bakterier, som gør, at de kan leve af cellulose (græs, halm, hø). I dette projekt skal du undersøge, om plantemateriale fra majs kan omdannes til bioethanol vha. enzymer og gærceller.

Stivelse kan påvises ved hjælp af iodopløsning (I_2), som giver en blåsort farve med stivelse. Det skyldes, at stivelsesmolekylerne kan danne spiraler, hvori I_2 -molekylerne kan binde (se figur)



Prøv selv: Dit eget spyt indeholder stivelsesspaltende enzymer, og du kan teste dette ved at aflevere en ordentlig spytklat (brug gerne bidrag fra hele klassen) i en kolbe med opløst stivelse (3 mL 2 % stivelse tilsat 200 mL lunkent vand) tilsat nogle dråber iodopløsning. Opløsningen er blåsort i starten, men efterhånden som enzymerne fra dit spyt nedbryder stivelsen, forsvinder farven.

Bindingerne mellem glukosemolekylerne i stivelse kan spaltes under vandoptagelse (hydrolyse). Reaktionen katalyseres af to bakterielle enzymer, som minder om de enzymer, vi selv har i fordøjelseskanalen: **α -amylase** (Termamyl) spalter stivelsesmolekylet til mindre stumper bestående af 5-10 glukoseenheder. Enzymet kræver Ca^{2+} -ioner og pH 6,5. Enzymet stammer fra varmetolerante bakterier og arbejder bedst ved 95 °C. **Amyloglukosidase** (AMG), som spalter glukosestumperne helt til frie glukosemolekyler. Dette enzym kræver pH 4,5 og arbejder bedst ved 60°C.



Materialer

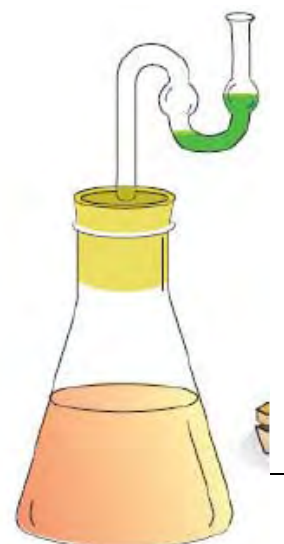
Majsplanter med kolber, majsmel, 0,2 M CaCl_2 , 2M HCl, 2M NaOH, Termamyl 120L NOVOZYMES (α -amylase), AMG 300L NOVOZYMES (amyloglukosidase), I_2 -opløsning,.

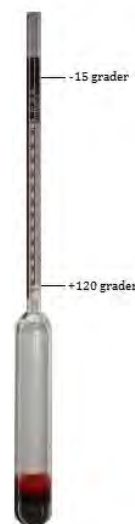
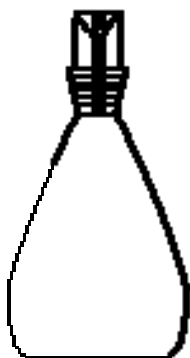
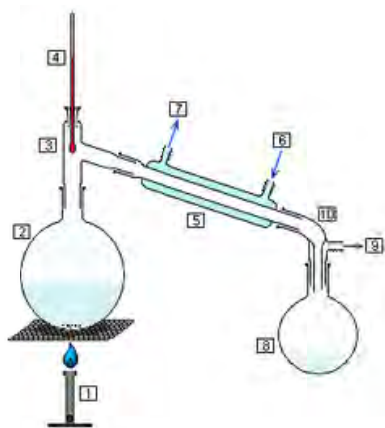
Bægerglas (1 L), litermål, trefod, mineraltrådned, bunsenbrænder, røreskeer af træ (evt. store spatler), porcelænsplade med fordybninger, autoklave (trykkoger), engangspasteurpipetter, termometer, plast teskeer, el-kedel.

Sikkerhed: Vær forsigtig ved kogning vand, så du undgår at blive skoldet. Brug evt. sikkerhedsbriller. Kun læreren må betjene autoklaven. Læs vejledning eller få grundig instruktion.

Fremgangsmåde

- Som kilde til kulhydrat afvejes friske majs Korn fra 1-2 majs kolber (ca. 150 g), 150 g af den øvrige del af majsplanten blade/stængel (frisk dele) eller 100 g majsmel.
- Hvis du anvender plantemateriale, overføres det til en 250 mL konisk kolbe, som dækkes med alufolie og autoklaveres i ca. 5 min ved 15 psi. Herved "åbnes" den kemiske struktur af majs, så stivelsen lettere kan gå i opløsning.
- I et 1 L bægerglas blandes 150 g majs eller finthakket plantemateriale med 400 mL kogende vand og 5 mL 2M CaCl_2 . Hvis du i stedet anvender 100g majsmel opslømmes det blot i 400 mL koldt vand.
- Lad blandingen stå ca. 5 min, hvorefter den blendes i stød til en nogenlunde ensartet masse. NB: Det er ikke nødvendigt at blende, hvis du anvender majsmel.
- Tilsæt 2 mL Termamyl 120L og varm op til 95 °C under konstant omrøring. Omrøring er vigtig, da blandingen let brænder på, ligesom kolben let revner. Følg spaltningen af stivelse ved at udtage et par dråber af blandingen og blande dem med I_2 -opløsning på en porcelænsplade med fordybninger. Stivelse giver en blåsort farve med I_2 -opløsning. Farvenuancen ændres gradvist til en rødbrun farve, når gennemsnitskædelængden er mindre end 50 glukoseenheder for til sidst blot at give iodopløsningens egen gule farve, når kædelængden er mindre end 10 glukoseenheder.
- Temperaturen holdes på ca 95 °C indtil farvereaktionen med I_2 -opløsningen er gul eller gulbrun (det vil normalt være tilfældet nogle få minutter efter at temperaturen er nået op på 95 °C)
- Bring opløsningen i kog i ca 2 minutter.
- Afkøl blandingen til 60 °C (koldt vandbad).
- pH justeres til 4,5 med 2M HCl (ca 1 ml). Brug en pasteurpipette og tilsæt syren dråbevis. Tjek pH med indikatorpapir.
- Tilsæt 1 mL AMG 300L (amyloglukosidase), Bland og dæk kolben til med alufolie. Anbring kolben i varmeskab ved 60 °C i min 2 døgn. Nu starter den sidste del af nedbrydningen af stivelse til glukose.
- Justér pH til 7 med 2M NaOH. Tjek med indikatorpapir.
- Start gæringsprocessen ved at tilsætte 25 (halv pakke) bagegær. Kolben tildækkes med alufolie og stilles lunt (evt. varmeskab 30 °C). Ved gæringen dannes ethanol (sprit) og små bobler af kuldioxid (CO_2). NB: blandingen kan evt. overføres til en 1 L konisk kolbe monteret med et gæringsrør, således at gæringen kan følges.
- Efter nogle (2-3) dage er gæringen tilendebragt og blandingen filtreres i køkkensigte.
- Filtratet kan nu destilleres. Forsøgsopstillingen demonstreres af læreren. Tilsæt et par dråber antifoam (Sigma).
- Undersøg om destillatet kan brænde og bestem koncentrationen af destillatet ved hjælp af en flydevægt eller et pyknometer (demonstreres).





Efterbehandling

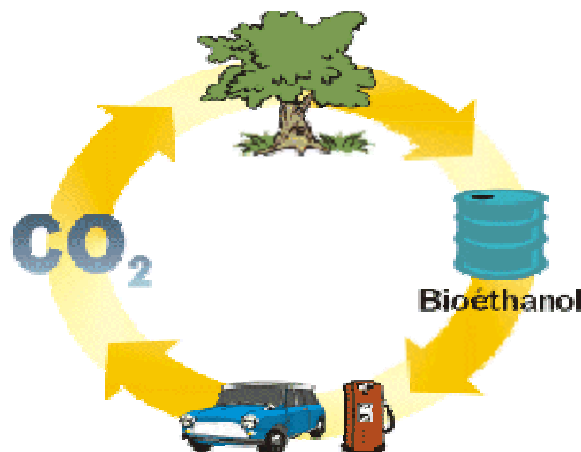
- Undersøg udbyttet af sprit fra de tre forskellige kilder af kulhydrat. Majs-korn, blade/stængel, majs-mel. Forklar forskellene i udbyttet. Anfør resultater og beregninger i nedenstående skema:

2. Hvilket rumfang har det sprit, du fik fremstillet?	L
3. Hvilken alkoholprocent (volumenprocent) havde dit sprit)	vol %
4. Beregn udbyttet af sprit fra en majs-kolbe. Du kan beregne udbyttet ved at gange alkoholprocenten (vol.%) med rumfanget af dit sprit (L).	L
5. Hvor mange majs-kolber var der i gennemsnit pr plante?	stk
6. Hvor meget sprit kan der i gennemsnit fremstilles fra en hel majs-plante (vi talte i gennemsnit to majs-kolber pr plante).	L
7. Hvor mange majs-planter var der på hver kvadratmeter?	stk
8. Hvor meget sprit kan fremstilles fra 1 ha (10.000 m ²) majs-mark).	L
9. Undersøg, hvor langt biler kan køre på en liter sprit.	km/L
10. Beregn hvor langt en bil kan køre på en ha majs-mark	km

Rapportkrav

I din opgave skal følgende delemler behandles:

- Forklar hvordan du omdannede plantemateriale til bioethanol med dine egne ord og en lille tegneserie (flow (flow diagram), der trin for trin viser din fremgangsmåde.
- Beregning af udbyttet af sprit på en majs-mark o beregning af hvor langt man kan køre i bil på sprit fra én ha majs-mark (jfr. skemaet ovenfor)
- I din beskrivelse skal indgå en beskrivelse af de stoffer (formler), kemiske reaktioner (reaktionsligninger) og de organismer, der indgår i fremstilling af bioethanol.
- Hvordan kan man se, at der ved gæringsprocesser dannes kuldioxid (CO₂)?
- Hvordan kan man påvise, at der ved gæringsprocesser dannes sprit (ethanol)?
- Hvad er forklaringen på, at man kan adskille vand og ethanol ved destillation?
- Hvilke teknologiske og samfundsmæssige udfordringer kan der være forbundet med produktion af bioethanol i stor skala i sammenligning med dit frugtekspertiment
- Man taler om at produktion af brændstof fra bioethanol er CO₂ neutral. Hvad er forklaringen på dette udsagn?
- Hvorfor er man interesseret i at begrænse udledningen af CO₂?



Studieopgaver til fremstilling af bioethanol

1. Undersøg gærceller i mikroskop og tegn en skitse af en gærcelle.
2. Undersøg omhyggeligt mange gærceller og find ud af hvordan gærceller formerer sig.
3. Tegn en skitse af en gærcelle, der er i færd med at formere sig og formuler en hypotese om, hvordan gærceller deler sig.
4. Antallet af gærceller udvikler sig efter følgende talrække:

Generation	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	n
Antal celler	1	2	4	8	16						

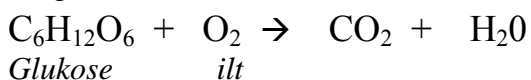
5. Fortsæt talrækken til 9. generation
6. Afsæt i et koordinatsystem antallet af gærceller som funktion af antallet af generationer.
7. Når man skal afgøre, hvilke tal der skal sættes på X-aksen og Y-aksen, gælder det at det, der afsættes på Y-aksen, skal afhænge af det, der afsættes på X-aksen. Passer dette med antallet af gærceller og generationsnummer i dit plot?
8. Formuler en matematisk model (hypotese), der beskriver antallet af gærceller i generation nummer n
9. En gærcelle kan dele sig en gang hvert 30. min. Hvor mange gærceller kan der teoretisk dannes i løbet af et døgn?
10. Diameteren af en gærcelle er ca. 0,01 mm. Hvor mange centimeter er det?
11. Beregn rumfanget af en gærcelle i mL (cm^3), Når man antager at gærceller har kugleform og rumfanget (V) af en kugle er givet ved formlen:

$$\text{Rumfang af en kugle} = V = \frac{4}{3} \cdot \pi \cdot r^3, \text{ hvor } \pi = 3,1415 \text{ og } r = \text{radius af kuglen}$$

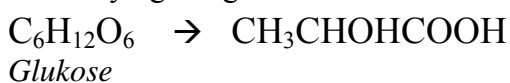
12. Beregn rumfanget af de gærceller, der teoretisk kan dannes efter et døgn
13. Massefylden af en gærcelle er blevet målt til 1,33 g/mL. Beregn massen af de gærceller, der teoretisk kan dannes efter et døgn.
14. Hvor mange elever i 1.g svarer denne masse til?
15. Hvad kan forklaringen være på, at der i dit gæringsforsøg ikke blev dannet så mange gærceller, som det teoretisk er muligt?
16. Som det fremgår af øvelsesvejledningen danner gærceller ethanol ved følgende afstemte reaktion:
$$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \rightarrow 2\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + 2\text{CO}_2 + \text{energi}$$

Glukose *ethanol* *kuldioxid*
17. Som vist bruger gærceller denne reaktion til at skaffe energi til vækst. I din egen krop kan glukose også bruges til at skaffe energi til vækst og bevægelse. Den ene proces kaldes respiration og kræver ilt, mens den anden kaldes mælkesyre-gæring og foregår ligesom gærcellers alkoholgæring uden ilt.
18. Reaktionsligningerne med formler er skrevet herunder. For at reaktionsligningerne er helt færdige, skal de afstemmes. Dvs. at antallet af grundstoffer skal være det samme på venstre og højre side af reaktionspilen (ved kemiske reaktioner forsvinder der ikke grundstoffer og der dannes heller ikke nye). Du afstemmer reaktionsligningen ved at sætte koefficienter foran formlerne, således at antallet af grundstoffer bliver det samme på venstre og højre side

19. Respiration



20. Mælkesyre-gæring:



21. Alkohol (ethanol) kan erstatte benzin som brændstof i biler. Ved forbrænding af ethanol bruges ilt (oxygen) og der dannes vand og kuldioxid. Formlerne for alle disse stoffer kan du finde ovenfor. Prøv selv vha. oplysningerne ovenfor at skrive en afstemt reaktionsligning for forbrænding af ethanol.