

Hydrolyse af kartoffelstivelse

Jørgen Braad Jørgense/november 2003

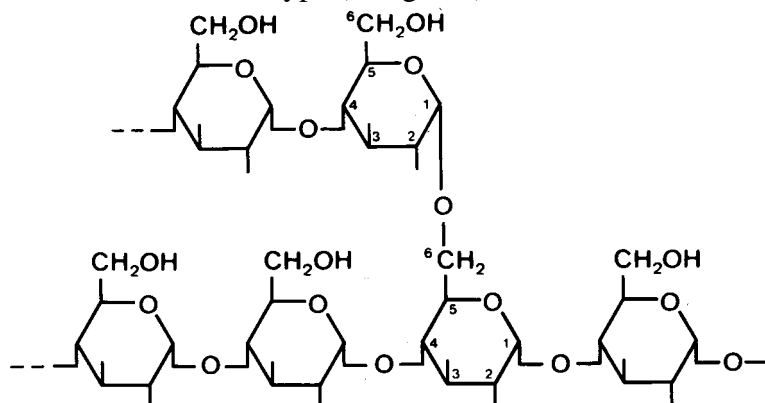
kartoffelstivelsehydrolyse.doc

Introduktion

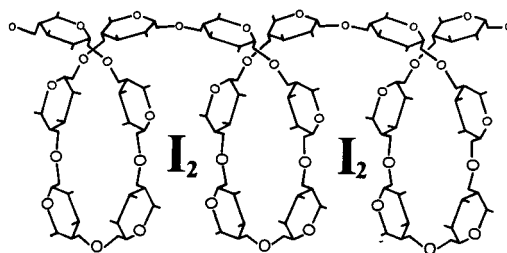
Projektet går ud på at omdanne stivelse fra planter fotosyntese til brændstof. Dette gøres ved at spalte stivelsen til frit glukose ved hjælp af enzymer fra NOVOZYMES, som derefter ved hjælp af gærceller omdannes til ethanol, der kan anvendes som brændstof i bilmotorer.

I projektet kan indgår en lang række kemiske metoder - præparative såvel som analytiske

Stivelse er planters vigtigste næringsreserve. Gode kilder til stivelse er f. eks kartofler, majs og hvede. 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 ∇ -type (se figuren).



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 bindes (se figur)



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 fordøjelskanalen:

∇ -amylase 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, som spalter glukosestumperne helt til frie glukosemolekyler. Dette enzym kræver pH 4,5 og arbejder bedst ved 60°C.

Næringsindhold pr. 100 g:		Energifordeling i varen		Anbefalet i dagskost
Energi	1390 kJ 330 kcal			
Protein	-g	0%	mindst	10%
Kulhydrat	82 g	100%	ca.	60%
heraf sukkerarter	-g			
Fedt	-g	0%	højest	30%
heraf mættede fedtsyrer	-g			
-enkeltumættede fedtsyrer	-g			
-flerumættede fedtsyrer	-g			
Kostfibre	-g		ca.	30 g
Natrium	-g			

Materialer

Kartoffelmel, CaCl_2 , 2M HCl, 2M NaOH, Termamyl 120L NOVO (α -amylase), AMG 300L NOVO (amyloglukosidase), I_2 -opløsning, glukosesticks.

Konisk kolbe (1 L), trefod, asbestnet, bunsenbrænder, store spatler, porcelænsplade med fordybninger, engangspasteurpipetter, termometer.

Fremgangsmåde

1. I en 1 L konisk kolbe blandes 100 g kartoffelstivelse, 500 mL ionbyttet vand, 0,11 g CaCl_2 (el. 0,22 g $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)
2. pH justeres til 6,5 med 2M HCl eller 2M NaOH (brug indikatorpapir til at tjekke pH)
3. Tilsæt 2 mL Termamyl 120L og varm op til 95 °C under konstant omrøring. Omrøring er vigtig, da blandingen let brænder på. Vær forsigtig med spatlen, da den varme kolbe let revner.
4. Følg hydrolysen af stivelsen ved at udtage et par dråber stivelsesopløsninger 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.
5. Undersøg også ved hjælp af glukosesticks om blandingen indeholder glukose efterhånden som hydrolyseprocessen skrider frem. Resultaterne af stivelsestest og glukosetest indføres i resultatskemaet.
6. 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)
7. Bring opløsningen i kog i ca 2 minutter.
8. Afkøl stivelseshydrosylatet til 60 °C (koldt vandbad).
9. pH justeres til 4,5 med 2M HCl (ca 1 ml). Brug en pasteurpipette og tilsæt syren dråbevis.
10. 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.
11. Med passende mellemrum undersøges indholdet af glukose i kolben med glukosesticks.

Påvisning af stivelse og glukose med I_2 -opløsning og glukosesticks.

Tid	Stivelsestest (farve)	Glukosetest (mM)
Før tilsætning af Termamyl 120L		
Efter tilsætning af Termamyl 120L		
Efter tilsætning af AMG 300L		

Resultatbehandling

1. Hvad er molarmassen for glukoseenhederne i stivelse? - bruttoformelen for stivelse er $[\text{C}_6(\text{H}_2\text{O})_5]_n$
2. Hvor mange mol glukose kan der dannes ud fra den hydrolyserede kartoffelstivelse? (ifølge varedeklarationen indeholder kartoffelmel 79% stivelse).
3. Ved gæringsprocessen omdannes glukose til ethanol efter følgende reaktionsligning
$$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \equiv 2\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + 2\text{CO}_2$$
4. Hvor mange mol ethanol kan dannes ud fra den hydrolyserede stivelse?
5. Hvor mange gram ethanol kan der teoretisk dannes ud fra den hydrolyserede stivelse?
6. Når du har fået resultaterne fra alkoholanalyserne af gæringsblandingen kan du beregne udbyttet af ethanolproduktionen:

$$7. \text{Udbytte}\% = \frac{\text{MåltUdbytte} \cdot 100}{\text{TeoretiskUdbytte}}$$

Masse af kartoffelmel	g
Masse af stivelse (se varedeklarationen på kartoffelmelpakken)	g
Stofmængde af glukoseenheder	mol
Stofmængde af ethanol	mol
Masse af ethanol (teoretisk udbytte)	g
Praktisk ethanoludbytte på baggrund af analyse	g
Praktisk ethanoludbytte i % af teoretisk udbytte	%

Diskussion

1. Hvordan passer det praktiske udbytte med det teoretiske udbytte?
2. Hvis udbyttet er mindre end 100%, hvad kan så være forklaringen på dette?