



Biokraftstoffe Enzyme bei der Herstellung von Bioethanol

Lehrerhandbuch
und Schülerleitfaden



Überblick

In dieser Versuchsreihe untersuchen Schüler den Nutzen von Enzymen und Mikroben bei der Herstellung von Bioethanol-Kraftstoff. Die Schüler beobachten zunächst die Fähigkeit von Enzymen Stärke zu spalten. Die Schüler bauen ihr technisches Verständnis und kritisches Denkvermögen aus, indem sie um den Entwurf eines Apparates zur Messung der Gasproduktion während der Fermentation miteinander in Wettstreit treten. Sie demonstrieren ihr Wissen über Biokraftstoffe, Fermentation und Enzyme, indem sie Fragen beantworten und ihre Ergebnisse auswerten. Das Kit ist für 8 Gruppen mit bis zu 4 Schülern ausgelegt.

Lernziele

Die Schüler

- lernen etwas über alkoholische Gärung und die Bedeutung von Enzymen in diesem Prozess.
- untersuchen den Prozess der Ethanolherstellung.
- überlegen, wie sie einen Apparat entwerfen und bauen, mit dem die Gasproduktion während der Fermentation gemessen werden kann.

Zeitvorgabe

Tag 1

Vorbereitung Lehrer 30 Minuten

Tag 2

Versuchsvorbereitung Lehrer 30 Minuten
Versuchsdurchführung Lehrer 40 Minuten
Gruppenarbeit Schüler

Tag 3

Präsentationen Schülergruppen 30 Minuten

Material

Im Kit enthalten:

Pankreatinpulver	16 Päckchen Zucker
75 ml 1%-ige Stärkelösung	16 10-cm ³ Spritzen
3 Messlöffel	16 Endkappen für Spritzen
5 Messpipetten	16 Ballons
30 ml Jod-Jodkalium (Lugol'sche Lösung)	32 Plastik-Arzneibecher
20 15-ml Zentrifugenröhrchen	32 Holzrührstäbe
Päckchen Hefe	16 Plastiktüten
	Lehrerhandbuch und Schülerleitfaden

Notwendig aber nicht im Kit enthalten:

1 Wasserbad für ein 250-ml Becherglas mit 200 ml warmem Wasser (35-40°C)
1 Wasserbad für ein 250-ml Becherglas mit 200 ml heißem Wasser (80-90°C)
8 Thermometer
1-Liter Weithalsflasche mit Deckel
1000-ml Messzylinder
9 Permanentmarker
9 Kurzzeitwecker
400 ml warmes Leitungswasser (für die Hefesuspension)
Leitungswasser (für die Schüler während der Versuchsdurchführung)

Optional für die Versuchsdurchführung (nicht im Kit enthalten):

Waage (maßgenau bis 0,01 g)
8 Rollen transparentes Klebeband
Messzylinder
Wiegeboote

Sicherheit

Verwenden Sie dieses Kit nur unter Einhaltung der gängigen Sicherheitsvorschriften für Labortätigkeiten, sowie eine geeignete persönliche Schutzausrüstung.

Jod-Jodkalium-Lösung hinterlässt Farbflecken auf Haut und Kleidung.

Hintergrund

Hefezellen werden häufig bei der Herstellung von Bioethanol-Kraftstoff verwendet. Hefe baut Zucker ab und produziert Ethanol sowie Kohlensäure als Nebenprodukte. Dieser Prozess wird als Fermentation bezeichnet.

Einige Pflanzen speichern Energie in Form von Stärke. Zu den bekannten Beispielen gehören Mais, Kartoffeln, Reis und Weizen. Die chemische oder enzymatische Aufbereitung dieser Zuckerquellen macht sie als Rohmaterial für Hefe verfügbar. Amylase, ein Enzym, das in der Pankreasflüssigkeit vorkommt, dient in dieser Versuchsreihe als Model. Unter geeigneten Bedingungen spaltet Amylase Stärke in kleinere Zuckermoleküle.

Vorkenntnisse der Schüler

Bevor die Schüler mit der Versuchsdurchführung beginnen, sollten sie

- mit dem Versuchsaufbau vertraut sein,
- grundlegende Fragen im Hinblick auf die Umweltverträglichkeit fossiler Brennstoffe kennen,
- die Nebenprodukte der Hefefermentation kennen.

Vorbereitung Lehrer

Tag 1

1. Kopieren Sie für jeden Schüler das Blatt "Zusammenhänge Biokraftstoffe".
2. Fertigen Sie für jede Schülergruppe (oder jeden Schüler) eine Kopie des "Schülerleitfadens Versuchsdurchführung" an.
3. Stellen Sie zwei Wasserbäder mit jeweils einem 250-ml Becherglas bereit.
4. Stellen Sie das Material für den Versuchsansatz zusammen:

Pankreatinpulver	30 ml Jod-Jodkalium
75 ml 1%-ige Stärkelösung	4 Thermometer
3 Messlöffel	Permanentmarker
4 15-ml Zentrifugenröhrchen	Kurzzeitwecker
5 Messpipetten	

Tag 2

Versuchsvorbereitung

1. Bevor der Unterricht beginnt, bereiten Sie ein Wasserbad mit 35-40°C warmem Wasser und ein Wasserbad mit 80-90°C heißem Wasser vor. Für jedes Wasserbad ist ein 250-ml Becherglas mit 200 ml Wasser ausreichend.
2. Hydrieren Sie die Hefe 15 bis 30 Minuten bevor die Schüler mit ihren Versuchen beginnen.
 - a. Füllen Sie 400 ml warmes Leitungswasser (35-40°C) in eine 1 L Weithalsflasche. Achtung: Temperaturen über 40°C zerstören die Hefe.
 - b. Geben Sie die Hefe dazu.
 - c. Verschließen Sie die Flasche. Nach 15-maligem vorsichtigem Schütteln sollte die Hefe gut gemischt und gleichmäßig in der Suspension verteilt sein.
3. Schütteln Sie die Hefe nochmals und füllen anschließend sofort für jede Schülergruppe 25 ml Hefesuspension in einen Plastik-Arzneibecher. Übrig gebliebene Hefe kann zur weiteren Verwendung während des Unterrichts aufgehoben werden. Nach dem Unterricht sollte überschüssige Hefesuspension in den Abfluss geschüttet werden.
4. Teilen Sie an jeden Schüler das Blatt "Zusammenhänge Biokraftstoffe" aus.

Versuchsdurchführung

1. Lassen Sie die Schüler jeden der folgenden Schritte beobachten bzw. dabei assistieren.
2. Kennzeichnen Sie vier 15-ml Zentrifugenröhrchen jeweils mit A, B, C und D.
3. Schlüsseln Sie jede Lösung folgendermaßen an der Tafel auf:
 - A. Stärke 35°C
 - B. Stärke + Pankreatin 35°C
 - C. Stärke 80°C
 - D. Stärke + Pankreatin 80°C
4. Schütteln Sie die 75 ml 1%-ige Stärkelösung kräftig.
5. Geben Sie 5 ml Stärkelösung in jedes Versuchsröhrchen.
6. Stellen Sie die unverschlossenen Röhrchen A und B in das 35-40°C warme Wasserbad.
7. Stellen Sie die unverschlossenen Röhrchen C und D in das 80-90°C heiße Wasserbad.
8. Erwärmen Sie die Stärkelösung etwa 5 Minuten. Nutzen Sie diese Zeit, um über die Bedeutung von Enzymen bei chemischen Reaktionen zu sprechen. Erklären Sie, dass Pankreatin aus dem Verdauungstrakt von Säugetieren, auch bei Menschen, isoliert wird. Pankreatin enthält Amylase, ein Enzym, das Stärke aufspaltet. Vielleicht möchten Sie auch darauf hinweisen, dass die Körpertemperatur des Menschen ca. 37°C beträgt, und dass bei hohen Temperaturen die Enzyme zerfallen oder denaturiert werden können.
9. Stellen Sie in jedes Röhrchen ein Thermometer, um sicherzustellen, dass alle Proben im richtigen Temperaturbereich liegen. Geben Sie bei Bedarf heißes Wasser in die Bechergläser hinzu.
10. Geben Sie einen gestrichenen Messlöffel Pankreatinpulver in Röhrchen B und D.
11. Verschließen Sie alle vier Röhrchen und schütteln Sie jedes einzelne mehrmals, damit sich der Inhalt vermischt. Öffnen Sie die Röhrchen wieder. Stellen Sie jedes Röhrchen wieder in das entsprechende Wasserbad zurück.
12. Lassen Sie weitere 5 Minuten Reaktionszeit zu.
13. Während die Reaktion andauert, erklären Sie, dass Jod ein Stärkeindikator ist. Wenn die Probe sich dunkelbraun oder violett färbt, ist Stärke vorhanden. Ist die Lösung gelb oder klar, ist keine Stärke vorhanden.
14. Geben Sie mit Hilfe einer Pipette drei Tropfen Jod-Jodkalium in jedes Röhrchen.
15. Die Schüler beobachten die Veränderungen bei jeder Probe.
16. Diskutieren Sie die Reaktivität von Jod mit Stärke. Die komplexen Zuckermoleküle wurden in kleinere Zucker gespalten, die nicht mit Jod reagieren. Bei hohen Temperaturen wird das Pankreatin denaturiert und hat keine enzymatische Wirkung.

Versuchsdurchführung Gruppenarbeit

1. Bilden Sie acht Gruppen mit bis zu 4 Schülern und teilen Sie an jede Gruppe (oder jeden Schüler) den "Schülerleitfaden Versuchsdurchführung" aus.
2. Erläutern Sie die Zielsetzung bei dem Entwurf ihres Apparates. Zeigen Sie den Schülern das Material, mit dem sie arbeiten werden und das Material, das von allen Gruppen gemeinsam zu benutzen ist. Weisen Sie auf die Materialliste im Schülerleitfaden hin. Allen Gruppen sollte das gleiche Material zur Verfügung stehen.

25 ml Hefesuspension in einem Becher	4 Holzhührstäbe
2 Päckchen Zucker	2 Plastiktüten
2 15-ml Zentrifugenröhrchen	Leitungswasser
2 10-cm ³ Spritzen	Permanentmarker
2 Endkappen für Spritzen	transparentes Klebeband
2 Ballons	Kurzzeitwecker
2 Plastik-Arzneibecher	Thermometer

3. Helfen Sie den Schülern beim Entwurf ihres Apparates und bei der Planung der Fermentationsbedingungen, einschließlich der Menge Hefelösung und Zuckerlösung, die sie verwenden werden.
4. Begleiten Sie die Schüler gegebenenfalls bei ihren Entwurfsvorschlägen, indem Sie die Verdrängung einer Flüssigkeit durch ein Gas oder die Methode der Volumenmessung durch Verdrängung erklären. Beispiele für Fermentationsapparate sind im Folgenden dargestellt.
5. Weisen Sie die Schüler an, ihre Entwurfspläne abzuschließen und abzugeben.

Beispiele für Fermentationsapparate

Option 1

Material

Zentrifugenröhrchen, Arzneibecher, Hefe, Zucker, Wasser, Kurzzeitmesser

Vorgehensweise

1. Füllen Sie das Zentrifugenröhrchen vollständig mit einer Mischung aus Hefesuspension und Zuckerlösung.
2. Stülpen Sie den Arzneibecher über das Röhrchen.
3. Drehen Sie Becher und Röhrchen schnell um, so dass der Becher auf dem Tisch stehen kann. Das Röhrchen sollte innerhalb des Bechers umgedreht werden. Im Röhrchen erscheint eine kleine Blase.
4. Verwenden Sie 10 ml Hefesuspension und 7 ml der 10-20%-igen Zuckerlösung, kommt es innerhalb von 15 Minuten zur Gasbildung.
5. Die Schüler können die Menge des entstandenen Kohlendioxids an den Teilstrichen auf dem Röhrchen ablesen.

Option 2

Material

Plastiktüte, Permanentmarker, transparentes Klebeband, Hefe, Zucker, Wasser, Kurzzeitwecker, Messzylinder (optional)

Vorgehensweise

1. Kleben Sie die Tüte an einem Ende zu, um Auslaufen zu verhindern.
2. Füllen Sie Hefesuspension und Zuckerlösung in die Tüte.
3. Entfernen Sie überschüssige Luft und kleben Sie das offene Ende der Tüte zu.
4. Verwenden Sie 10 ml Hefesuspension und 7 ml der 10-20%-igen Zuckerlösung, kommt es innerhalb von 15 Minuten zur Gasbildung.
5. Messen Sie das Gasvolumen, indem Sie die Veränderung des Volumens in der Tüte beobachten. Wenn die Schüler erstmalig die Flüssigkeit hinzufügen, machen Sie einen Strich auf der Tüte, um das Anfangsvolumen in der Tüte anzuzeigen. Sobald die Fermentation erfolgt, machen Sie alle 5 Minuten einen Strich, um das gesamte Gasvolumen in der Tüte zu kennzeichnen. Ermitteln Sie die Differenz zwischen Anfangs- und Endvolumen und teilen Sie die Differenz durch die abgelaufene Zeit, dann erhalten Sie die Fermentationsrate.

Alternativ können die Schüler das Volumen der Tüte und ihres Inhalts ermitteln, indem sie die Verdrängung von Wasser in einem Messzylinder messen. Tauchen Sie die Tüte in einen Messzylinder und zeichnen Sie den Wasserstand ein. Die Verdrängung kann zu Beginn und am Ende gemessen werden, oder die Tüte kann während der gesamten Fermentationszeit untergetaucht bleiben.

Option 3

Material

Spritze, Spritzenendkappe, Hefe, Zucker, Wasser, Kurzzeitmesser

Vorgehensweise

1. Geben Sie Hefesuspension und Zuckerlösung in die Spritze und entfernen Sie überschüssige Luft. Die Flüssigkeitsmenge in der Spritze sollte unter 8 ml betragen, so dass die Schüler die Gasproduktion messen können.
2. Setzen Sie die Endkappe fest auf die Spritze.
3. Halten Sie die Spritze seitlich oder mit der Spitze nach unten, so dass sich der Kolben bewegt, wenn Druck in der Spritze aufgebaut wird.
4. Verwenden Sie 5 ml Hefesuspension und 3 ml der 10-20%-igen Zuckerlösung, kommt es innerhalb von 15 Minuten zur Gasproduktion.
5. Messen sie das Anfangsvolumen in der Spritze und wiederholen Sie die Messung in bestimmten zeitlichen Abständen. Die Schüler können dann anhand dieser Daten die Fermentationsrate berechnen.

Option 4

Material

Zentrifugenröhrchen, Ballon, Hefe, Zucker, Wasser, Kurzzeitwecker

Vorgehensweise

1. Füllen Sie das Zentrifugenröhrchen vollständig mit einer Mischung aus Hefesuspension und Zuckerlösung.
2. Vergewissern Sie sich, dass keine Luft im Ballon ist. Stülpen Sie den Ballon über das Röhrchen.
3. Sobald die Fermentation eintritt, füllt sich der Ballon mit Gas.
4. Messen Sie das Luftvolumen in dem Apparat, indem Sie den Ballon und das Röhrchen umdrehen und anschließend an den Teilstrichen zu Beginn und in bestimmten zeitlichen Abständen ablesen. Die Schüler können anhand dieser Daten die Fermentationsrate berechnen.
5. Verwenden Sie 10 ml Hefesuspension und 7 ml der 10-20%-igen Zuckerlösung, kommt es innerhalb von 15 Minuten zur Gasbildung.

Tag 2 Gruppenarbeit

Versuchsdurchführung (Fortsetzung)

1. Genehmigen Sie zunächst den Entwurfplan jeder Gruppe und überprüfen Sie ihn auf Sicherheit, bevor Sie der Gruppe erlauben mit dem Aufbau und der Erprobung ihres Apparates zu beginnen.
2. Stellen Sie jeder Schülergruppe einen Becher mit Hefesuspension zur Verfügung.
3. Assistieren Sie bei Bedarf beim Aufbau des Apparates und bei der Erprobung.
4. Geben Sie den Schülern 30 Minuten Zeit, um ihr Gerät zu testen. Es ist ausreichend Material vorhanden, so dass die Schüler zwei Apparate bauen und diese gleichzeitig ausprobieren können. Geben Sie den Schülern eine Startzeit und einen Endzeitpunkt vor.
5. Moderieren Sie den Wettstreit zwischen den Schülergruppen.
6. Lassen Sie ihre Schüler die restlichen Fragen beantworten.

Tag 3 Gruppenarbeit

Präsentationen der Gruppenergebnisse

Antworten auf Fragen im Schülerleitfaden

Fragen über Zusammenhänge

1. Was ist ein Biokraftstoff?

Ein Biokraftstoff ist ein Energieträger, der aus Pflanzenmaterial, wie z.B. Getreide, oder aus einer anderen faserigen Biomasse hergestellt wird.

2. Welche Aspekte sind maßgeblich für die Erforschung des Einsatzes von Biokraftstoffen anstelle von oder als Ergänzung zu fossilen Brennstoffen?

Es herrscht Besorgnis über die abnehmenden Reserven fossiler Brennstoffe, bei denen es sich um nichterneuerbare Rohstoffquellen handelt. Darüber hinaus verursacht die Produktion und Nutzung fossiler Brennstoffe eine Vielzahl von Umweltproblemen, sowohl Luft-, Land- und Wasserverschmutzung. Biokraftstoffe werden aus potentiell erneuerbaren Energieträgern hergestellt und belasten weniger die Umwelt.

3. Beschreibe zwei mögliche Nachteile des Einsatzes von Ethanol als Biokraftstoff in großem Umfang?

Zu den Problemen gehören der Verlust von forstwirtschaftlich genutzten Flächen, da diese in Ackerland umgewandelt und zum Anbau von Rohstoffen genutzt werden, zunehmende Bodenerosion, vermehrter Einsatz von Pestiziden und Herbiziden sowie Artensterben. Die Großproduktion von Ethanol kann ebenfalls zum Rückgang bestimmter Lebensmittel (z.B. Mais) führen, da auf demselben Feld wo Rohstoffe angebaut werden, auch Lebensmittelkulturen wachsen könnten.

Fragen zu den Versuchen

1. (Versuchsansatz) In welchem Teströhrchen kam es zum Aufschluss von Stärke? Woher weiß man das?

Der Stärkeaufschluss fand in Röhrchen B statt. Stärke ist nicht vorhanden, was durch die fehlende Blau/Schwarzfärbung in dem Röhrchen angezeigt wird. Daher muss sie abgebaut worden sein.

2. (Versuchsansatz) Welcher Temperaturbereich eignete sich besser für den Aufschluss der Stärke? Warum ist das so?

Der niedrigere Temperaturbereich, 35-40°C eignet sich besser für den Aufschluss der Stärke, weil er dem Verdauungstrakt der Säugetiere am ähnlichsten ist, wo das Enzym naturgemäß vorkommt. Amylase spaltet Stärke bei 40° wirksam auf, und die Körpertemperatur beträgt ca. 37°C. Bei Temperaturen von 60°C und darüber, wie in dem Heißwasserbad, wird Amylase denaturiert und spaltet Stärke nicht mehr auf.

3. (Versuchsdurchführung) Beschreibe die Bedingungen unter denen du die Hefefermentation durchgeführt hast.

Unterschiedliche Antworten sind möglich.

4. (Versuchsdurchführung) Wie würdest du den Apparat oder die Bedingungen für die Fermentation verändern, um die Fermentation weiter zu optimieren und mehr Kohlendioxid zu produzieren?

Unterschiedliche Antworten sind möglich.

5. (Versuchsdurchführung) Wie glaubst du unterscheiden sich dein Apparat und deine Fermentationsbedingungen von industrieller Massenproduktion von Ethanol?

Biokraftstoffe können aus einer Vielzahl von Rohmaterialien hergestellt werden. Maisstärke ist ein beliebtes Ausgangsmaterial, das wir als Model in der Demonstration verwendet haben. Bei der Versuchsdurchführung wurde Hefe zur Aufspaltung von Glukose und Produktion von Ethanol in einer Reaktionskammer verwendet, doch die in unserem Versuch produzierte Menge war sehr klein im Vergleich zu dem Produktionsumfang in der Industrie.

6. (Versuchsdurchführung) Angenommen eine 20 ml Lösung mit 0,5 g Hefe und 3 g Saccharose produziert 6% oder 1,2 ml Ethanol. Wie viel Hefe und Saccharose würde für die Produktion von einem Liter (1.000 ml) Ethanol benötigt?

Ermittle zunächst den Faktor, um 1,2 ml Ethanol in 1.000 ml Ethanol umzurechnen:

$$1.000/1,2 = 833,33$$

Berechne anschließend die benötigte Hefemenge:

$$0,5 \text{ g Hefe} \times 833,33 = 416,67 \text{ g Hefe.}$$

Berechne abschließend die benötigte Saccharosemenge:

$$3 \text{ g Saccharose} \times 833,33 = 2.499,99 \text{ g Saccharose}$$