

HANDS ON BIOTECH

EKSPERIMENT 1

Produktion af bioplastik

LONE ALS EGEBO
LARS HAASTRUP PEDERSEN

TEORI
ELEVVEJLEDNING
LÆRERVEJLEDNING

EKSPERIMENT 1

Produktion af bioplastik

Hands on Biotech - Produktion af bioplastik

© Lone Als Egebo, Lars Haastrup Pedersen, Aalborg Universitet

Forfattere og faglig redaktion:

Lone Als Egebo og Lars Haastrup Pedersen

Illustrationer: Lotte Thorup

Kemiske strukturtegninger og reaktionsskemaer: Hanne Wolff

BioRender-illustrationer: se kildeliste

Omslag: Lotte Thorup

Shutterstock.com: Chokniti-Studio

Grafisk tilrettelægning: Lotte Thorup

1. udgave, 1. oplag 2023

ISBN: 978-87-89383-91-0

Udgivet af Aalborg Universitet – Institut for Kemi og Biovidenskab

Projektet er støttet af Novo Nordisk Fonden.

Kildeliste findes på projektets hjemmeside:

<https://www.bio.aau.dk/forskning/projekter/hands-on-biotech>

Dette hæfte er beskyttet i medfør af gældende dansk lov om ophavsret. Kopiering må kun ske i overensstemmelse med loven. Det betyder f.eks. at kopiering til undervisningsbrug kun må ske efter aftale med Copydan Tekst og Node.



Ege-Bøger



Indhold

FORORD	5
TEORI	7
Produktion af bioplastik ved hjælp af <i>K. xylinus</i>	8
Bakterielle biofilm	9
Quorum sensing	10
Anvendelse af bioreaktor	11
Arbejdsspørgsmål	11
ELEVVEJLEDNING	13
Formål	13
Flow	13
DEL A - FREMSTILLING AF VÆKSTMEDIER	14
Materialer	14
Fremgangsmåde	14
DEL B - PILOTFORSØG MED DYRKNING AF <i>K. xylinus</i>	16
Materialer	16
Fremgangsmåde	17
DEL C - HØST AF BIOPLASTIK	19
Materialer	19
Fremgangsmåde	19
Resultater	20
Efterbehandling	21
LÆRERVEJLEDNING	23
Læreplanen	23
Teori	23
Flow	24
Kommentarer til eksperimentet	24

Forord

Dette hæfte **Produktion af bioplastik** er skrevet i tilknytning til udviklingsprojektet 'Hands on Biotech', der er støttet af Novo Nordisk Fonden. Projektet er et samarbejde mellem Aalborg Universitet, Institut for Kemi og Biovidenskab, og konsulentfirmaet Ege-bøger.

Materialet er målrettet undervisningen i bioteknologi/biologi i gymnasiet.

I projektet har deltaget lærere fra følgende nordjyske gymnasier: Aalborg Katedralskole, Aalborghus Gymnasium, Frederikshavn Gymnasium, Hasseris Gymnasium, Hjørring Gymnasium og Thisted Gymnasium.

Fagområdet bioteknologi omhandler teknologisk udnyttelse af biologiske systemer. I 'Hands on Biotech' er der arbejdet med bioteknologien inden for tre hovedområder:

- Fermentering og cellen som fabrik
- Separation og oprensning
- DNA-analyser

Nærværende hæfte knytter sig til hovedområdet 'Fermentering og cellen som fabrik', og består af teori, elevvejledning og lærervejledning til forsøget **Produktion af bioplastik**.

En særlig tak skal rettes til Jørn Clausen, Aalborghus Gymnasium.

Susan Hove Hansen, Racika Kirshnakumar, Nicolai Sundgaard Bekker, Celine Petersen og Rasmus Hansen Kirkegaard, AAU.

Studertermedhjælpere: Anne Johansen, Anne Kalinka Sand Knudsen, Isabell Raahauge Eriksen, Marie Riisgaard-Jensen, Mikkel Lyng Berndorf, Rikke Brønnum Nielsen, Sofie Zachø Vestergaard, Søren Heidelberg.

Lars Hastrup Pedersen,
Leder af projektet
Lektor, Ph.D.
Institut for Kemi og Biovidenskab
Aalborg Universitet

Lone Als Egebo,
Koordinator for projektet
Forfatter, Cand. Scient.
Ege-bøger – Formidling af naturvidenskab

EKSPERIMENT 1

Produktion af bioplastik

Plastik fremstilles af fossile carbonkilder, og det er et svært nedbrydeligt materiale, der anvendes overalt i samfundet, fx til emballage, husholdnings- og kontorartikler, møbler, transportmidler og elektriske apparater. Udledningen af klimagasser i forbindelse med udnyttelse og afbrænding af fossile carbonforbindelser er den væsentligste årsag til den globale opvarmning, der er sket gennem de sidste 60 år. Afbrænding af plastik bidrager således også til udledning af klimagasser.

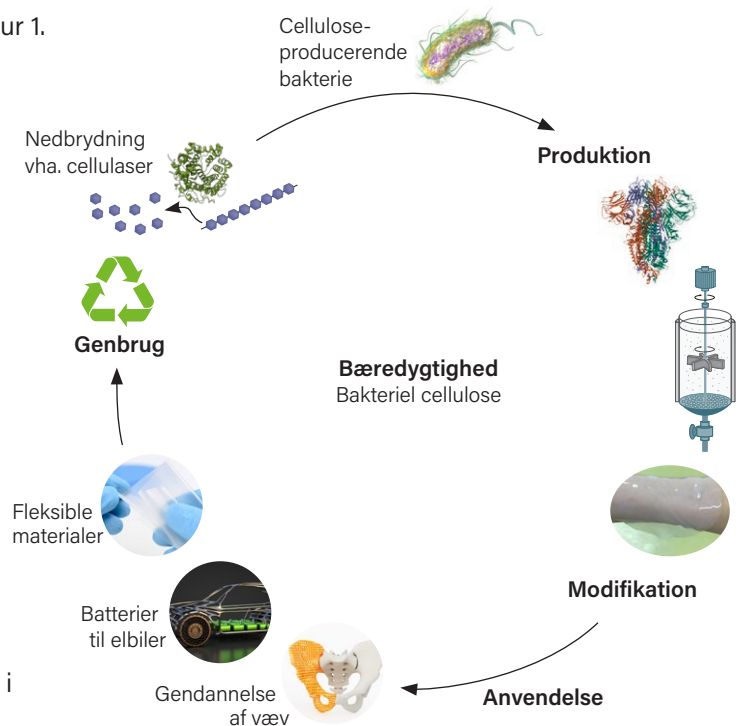
Plastikaffald, der ikke genanvendes eller afbrændes, ender ofte i naturen som mikro- eller makroplastik. Her indvirker det på flere af klodens økosystemer på land og i vand, fx ved at mikroplastik indtages af dyr i fødekæderne. Særligt i havet kan makroplastik true dyr, som enten æder eller vikles ind i plastikken. Derfor er der brug for et bæredygtigt alternativ til plastik.

En del af den plast vi bruger til emballage, kan erstattes med biobaserede alternativer så som bakterielt producerede polymerer. Visse bakterier er i stand til at producere og udskille bionedbrydelig cellulose, der både kan erstatte traditionelle plastikprodukter men også kan anvendes til nye formål. Der forskes i at anvende bakteriell cellulose som grobund for gendannelse af ødelagt cellevæv, samt som del af batterier til elektriske køretøjer og i dioder, se figur 1.

For at optimere produktion af bioplastik er det nødvendigt præcist at kende de celluloseproducerende bakteriers vækstkrav og undersøge under hvilke betingelser og i hvilken vækstfase, de danner mest cellulose. Denne viden opnås gennem kontrollerede dyrkningsforsøg i et laboratorium, hvor bakteriernes vækst følges under forskellige veldefinerede vækstbetingelser.

I eksperimentet 'Produktion af bioplastik' er formålet at dyrke den celluloseproducerende bakterie *Komagataeibacter xylinus* under forskellige vækstbetingelser med henblik på at optimere produktionen af cellulose. De mest optimale vækstbetingelser kan efterfølgende afprøves i en bioreaktor, så produktionen derved opskaleres.

Figur 1. Livscyklus for bakteriell cellulose.



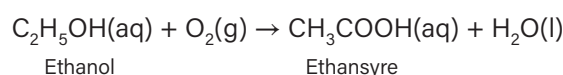
Alle eksperimenter og den tilhørende teori i 'Hands on Biotech' forholder sig til FN's verdensmål for bæredygtig udvikling. I nærværende case bringes følgende verdensmål i spil, se figur 2:



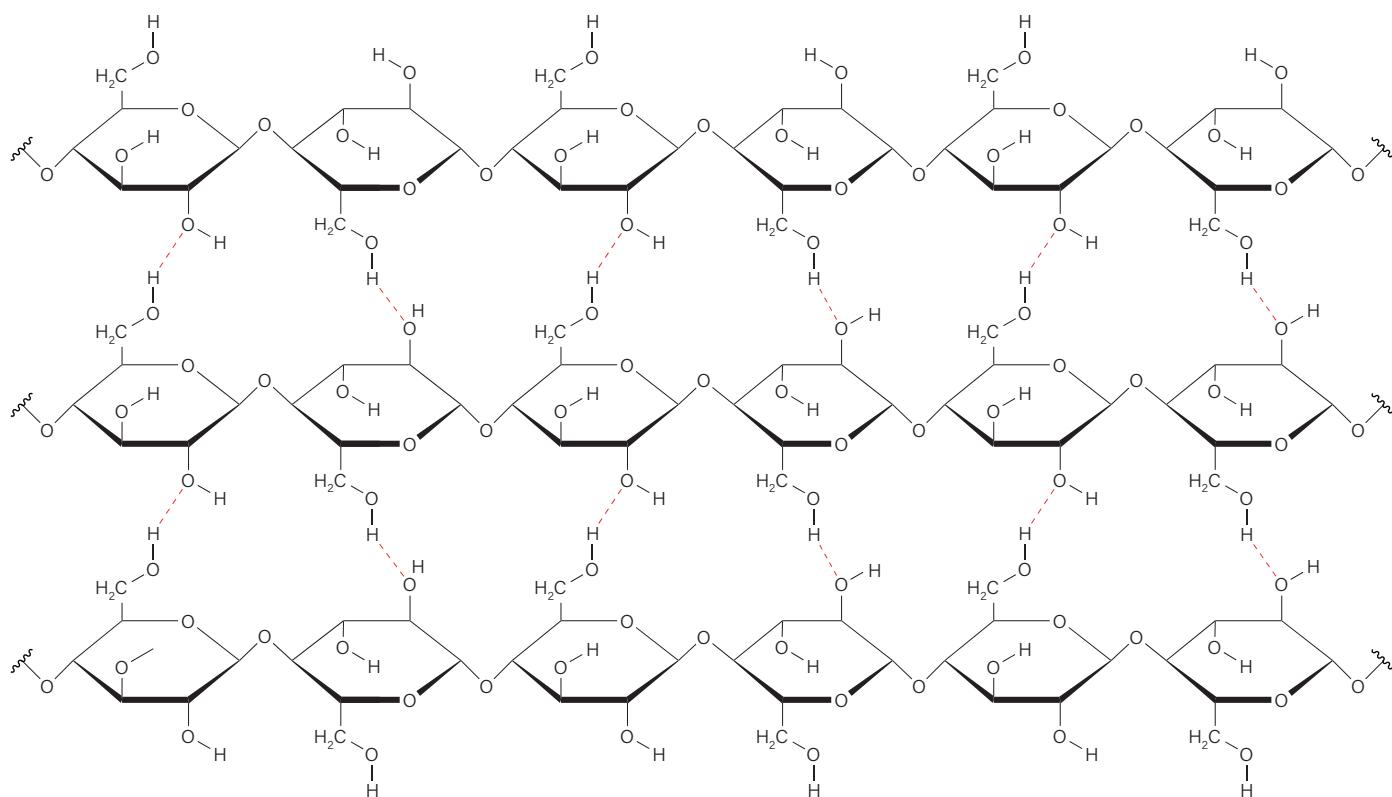
Figur 2. FN-verdensmål der er relevante i forhold til eksperimentet 'Produktion af bioplastik'

Produktion af bioplastik ved hjælp af *K. xylinus*

Komagataebacter xylinus tilhører en gruppe af bakterier, der kaldes eddikesyrebakterier. De producerer eddikesyre (ethansyre) ved en aerob omsætning af ethanol:



K. xylinus kan derudover omsætte glucose til bakteriel cellulose, der er et polysaccharid, se figur 3. Cellulosen dannes extracellulært, det vil sige udenfor cellen.



Figur 3. Bakteriel cellulose holdes sammen af hydrogenbindinger og kan binde og oplagre store mængder vand.

Bakterielle biofilm

Bakterien vokser og danner en biofilm. *Biofilm* ses som tynde hinder eller belægninger af bakterier forbundet i et netværk af organiske polymerer (her cellulose), som bakterierne udskiller, se figur 4. Biofilmen har stor betydning for bakteriernes overlevelse i naturen, fordi den tætvedede struktur beskytter mod antibiotika, giftige stoffer og påvirkning af uv-lys. Den danner også en barriere mod at blive udnyttet som føde eller vasket ud.



Figur 4. Mikroskopi af biofilm med *K. xylinus* i et netværk af cellulose.

Bakteriel cellulose har teknologisk vist sig at have andre egenskaber end cellulose fra planter, selv om de er kemisk identiske. Bakteriel cellulose har en finere netværksstruktur og en længere kædelængde, hvilket giver en overlegen mekanisk styrke. Da den har en god kemisk stabilitet men trods alt er bionedbrydelig, forventes den at kunne udnyttes i fremtidens bioteknologiske produktioner til erstatning for nogle typer af plastik (deraf navnet bioplastik), som vist i figur 1, side 7.

Figur 5 viser et billede af biofilmen på makroskopisk niveau.



Figur 5. Mikrobiel cellulose anvendt til hud- eller sårpleje.

Når der både tilsættes ethanol og glucose til vækstmediet, udnytter bakterierne ethanol som energikilde, mens glucosen omdannes til cellulose.

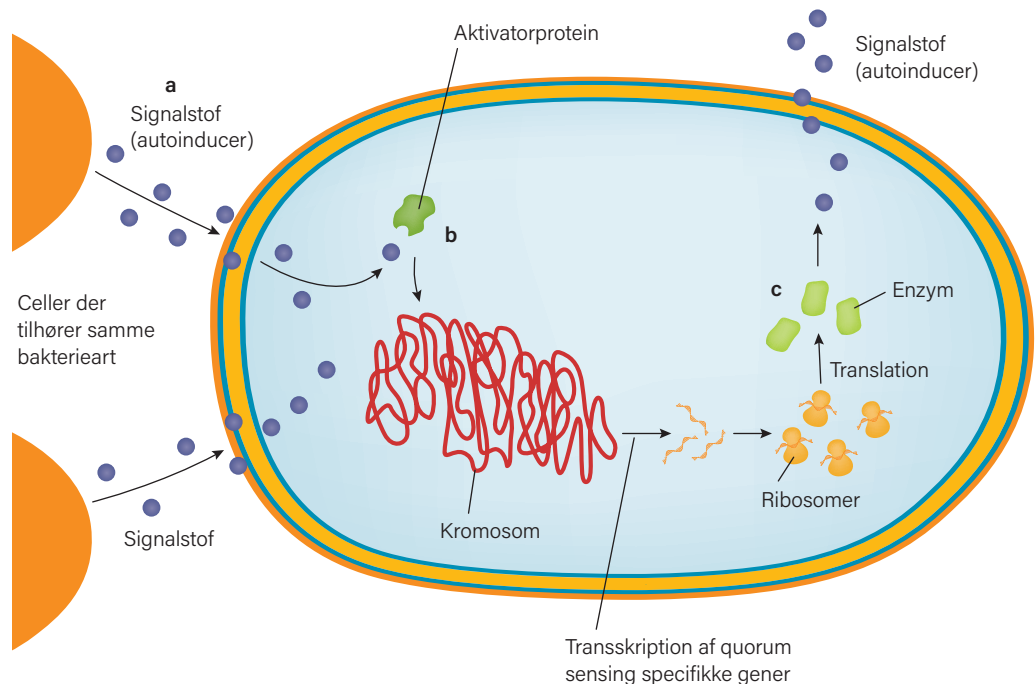
Bakterielle biofilm er meget forskellige. De kan bestå af mange bakterieceller, som ligger tæt samlet i en matrix klæbet sammen af slim dannet af en enkelt type polymer. Det kan

også være en matrix lavet af en blanding af ekstracellulært DNA, proteiner, lipider og store mængder polysaccharider. Denne matrix kan både stamme fra bakterierne selv eller fra en inficeret vært. Der er flere grunde til, at der er forsket meget i biofilm de sidste årtier. Bakterielle biofilm kan være et stort problem i kliniske sammenhænge såvel som i industrielle produktioner. I industrien kan biofilmdannelse resultere i store økonomiske tab, fx når biofilm tilstopper rør og slanger, eller når bakterier fra biofilm kontaminerer produktionen i fødevarevirksomheder. At fjerne biofilm fra sådanne systemer kan være utroligt svært, da biofilm kan modstå størstedelen af almindeligt anvendte rensmidler.

Quorum sensing

Bakteriers dannelse af biofilm skyldes, at de reagerer på tilstedeværelsen af individer (celler) fra samme art i deres omgivelser. Tætheden af celler fra samme art får indflydelse på reguleringen af flere af deres gener. At bakterierne på denne måde kan 'sans' hinandens tilstedeværelse, kaldes *quorum sensing*, idet quorum betyder 'et tilstrækkeligt antal'. Bakterierne anvender quorum sensing til at sikre, at der er et tilstrækkeligt antal celler til at igangsætte aktiviteter. Det kan fx være at udskille stoffer, så der dannes en biofilm, eller for patogene bakteriers vedkommende at udskille toxiner. Bakterierne kommunikerer med hinanden ved at udsende et bestemt signalstof, der kaldes en *autoinducer* (en 'selvigangssætter'), se figur 6a. Signalstoffet vil ved diffusion bevæge sig ud og ind gennem celledemembranen. Kun hvis der er mange celler i nærheden, der samtidigt producerer den samme autoinducer, vil signalstoffet forekomme i høje koncentrationer i cellerne. I cytoplasmaet bindes autoinduceren til en transskriptionsfaktor (et aktivatorprotein), se figur 6b, som får cellen til at producere mere autoinducer, se figur 6c.

Aktiviteten af andre gener reguleres også, fx så der dannes biofilm.



Figur 6. Princippet i quorum sensing.

Anvendelse af bioreaktor

Anvendelse af en *bioreaktor* til produktion af bakteriel cellulose ved hjælp af *Komagataeibacter xylinus* er en stor udfordring på grund af dannelsen af biofilm. Det betyder nemlig, at transport af ilt og næringsstoffer vil være meget forskellig alt efter hvor cellerne befinder sig i biofilmen. Derfor kan der ikke forventes de samme ensartede vækstbetingelser, som for bakterier der har planktonisk vækst, dvs. celler der vokser enkeltvis suspenderet i vækstmediet. Det udfordrer anvendelsen af bioreaktorer, se figur 7, som normalt kan udnyttes til at skabe veldefinerede vækstbetingelser.



Figur 7. En bioreaktor i et laboratorium.

Arbejdsspørgsmål

1. Hvorfor er det ønskeligt at fremstille alternativer til almindeligt plastik?
2. Hvilke produkter forventes det, at der kan fremstilles ud fra bakteriel cellulose?
3. På hvilken måde adskiller bakteriel cellulose sig fra cellulose produceret af planter?
4. Hvilke fordele har bakterier af at danne og vokse i biofilm?
5. Forklar begrebet quorum sensing og hvilken betydning det har for bakteriers vækst og overlevelse. Inddrag figur 6.
6. Hvilke fordele og ulemper er der ved at dyrke en mikroorganisme i en bioreaktor?

EKSPERIMENT 1

Produktion af bioplastik

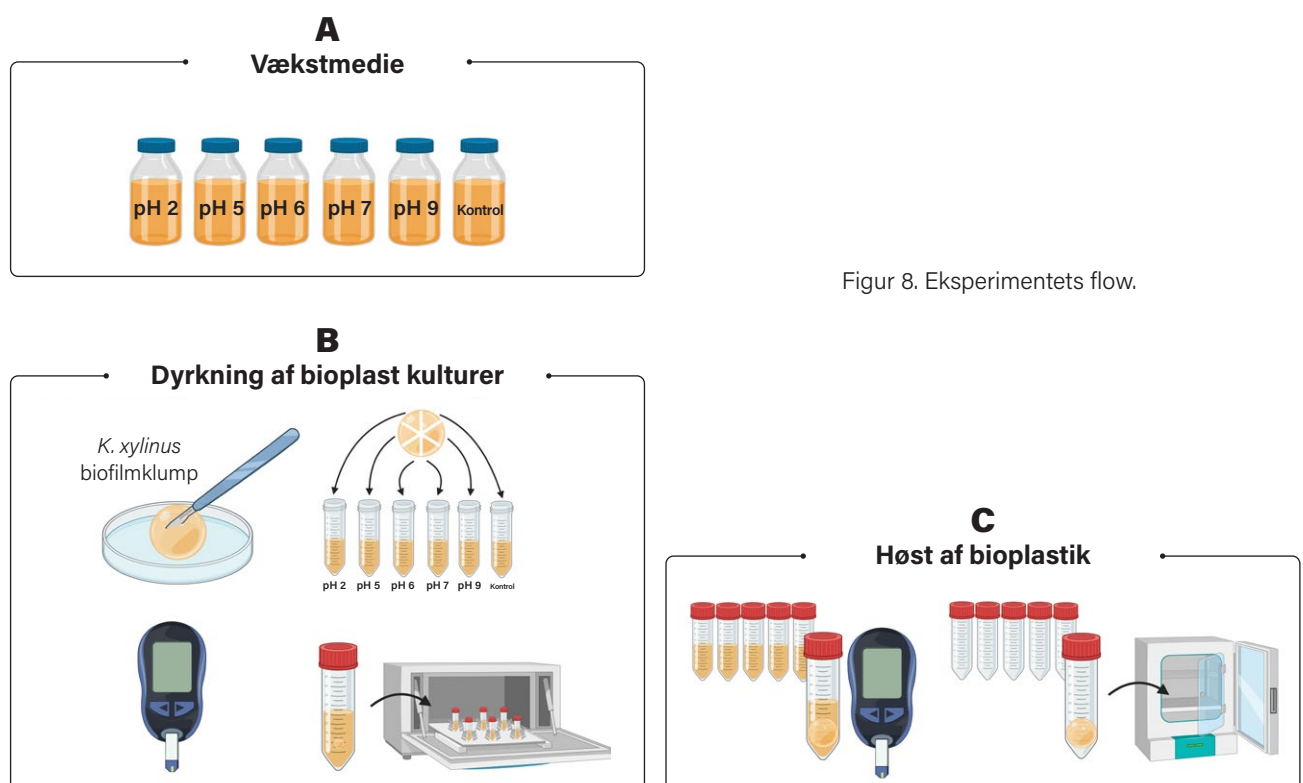
Formål

I denne øvelse er formålet at dyrke den celluloseproducerende bakterie *Komagataeibacter xylinus* under forskellige vækstbetingelser med henblik på at optimere produktionen af cellulose. De mest optimale vækstbetingelser kan efterfølgende afprøves i en bioreaktor, så produktionen derved opskaleres.

Flow

Øvelsen har følgende flow og tidsforbrug (figur 8):

- DEL A – Fremstilling af vækstmedier (90 min)
- DEL B – Pilotforsøg med dyrkning af *K. xylinus* (90 min dag 0 + ca. 30 min pr. efterfølgende måledag)
- DEL C – Høst af bioplastik (60 min)



Figur 8. Eksperimentets flow.

DEL A - Fremstilling af vækstmedier

Formålet med DEL A er at fremstille vækstmedier til dyrkning af *K. xylinus*.

Materialer

- Engangspipetter
- Permanent tusch
- Vægt (ned til 0,2 g)
- pH-meter med elektrode eller pH-strips
- Buffere til pH-meter
- Vejebåde
- Autoklavetape
- Lille plastikske
- BlueCap-flaske med låg (500 mL), 6 stk.
- Pepton (kilde til aminosyrer og protein)
- Gærekstrakt (bidrager med grundstofferne N, C og S samt de vigtigste sporstoffer)
- Natriumhydrogenphosphat – $\text{Na}_2\text{HPO}_4(\text{s})$
- Citronsyre – $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7(\text{s})$
- Natriumhydroxid 4 M – $\text{NaOH}(\text{aq})$
- Saltsyre 4 M – $\text{HCl}(\text{aq})$
- Autoklave
- Måleglas (100 mL)
- Demineraliseret vand

Fremgangsmåde

Klassen inddeles først i seks grupper, der følger nedenstående fremgangsmåde også vist på figur 9, side 15.

1. Hver gruppe sætter et stykke autoklavetape midt på en 500 mL BlueCap-flaske.
2. På tapen skriver gruppe 1: **pH 2**, gruppe 2: **pH 5**, gruppe 3: **pH 6**, gruppe 4: **pH 7**, gruppe 5: **pH 9** og gruppe 6: **Kontrol**. Notér med permanent tusch.
3. Tilsæt 100 mL demineraliseret vand til BlueCap-flasken.
4. Afvej som beskrevet i tabellen nedenfor, og tilsæt til Bluecap-flasken. Sæt flueben i tabellen, når I har tilsat stoffet.

Stof:	Peptone	Gær-ekstrakt	Dinatriumhydrogenfosfat (Na_2HPO_4)	Citronsyre
Mængde:	1,25 g	1,25 g	0,68 g	0,29 g
✓				

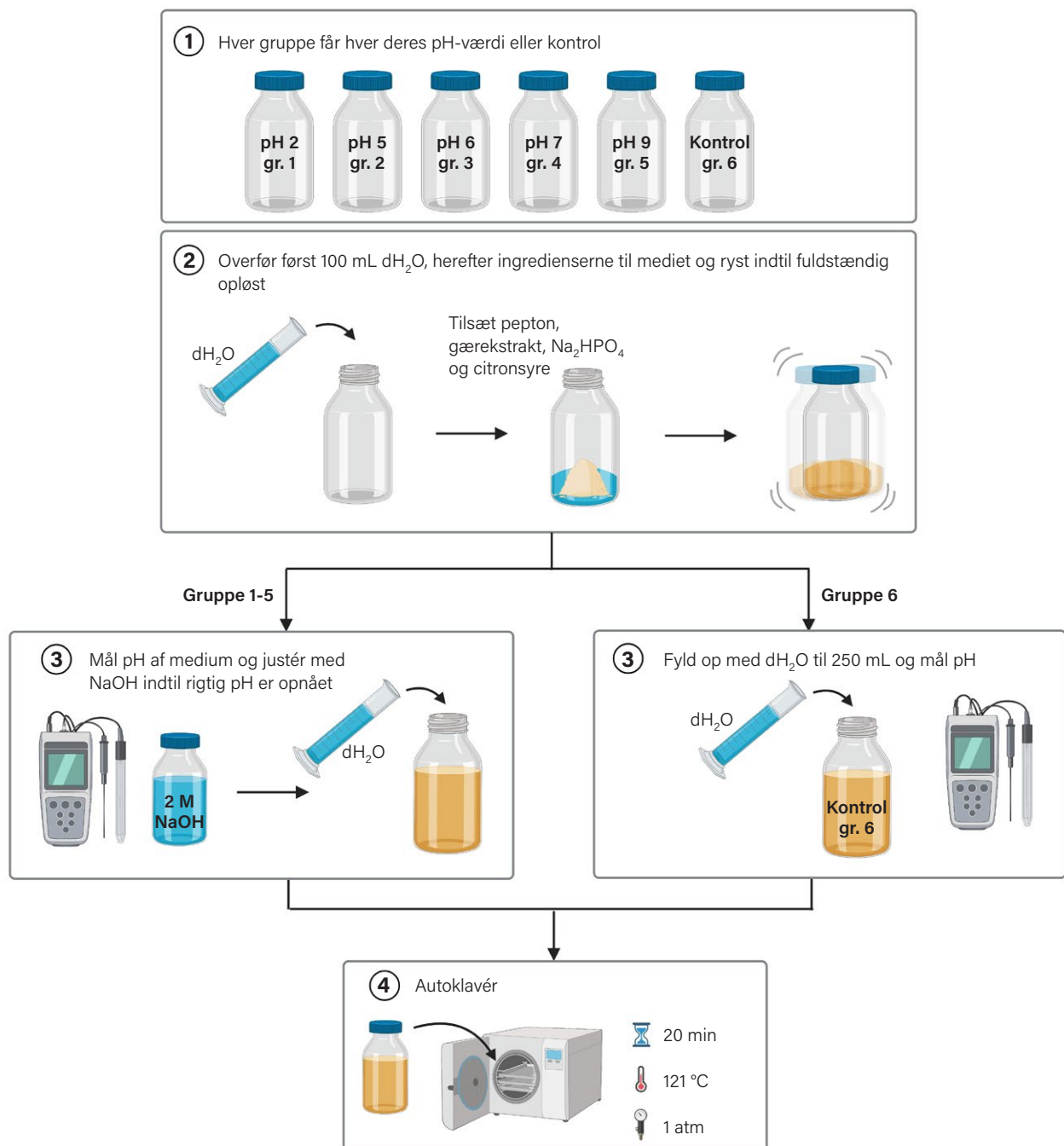
5. Sæt låg på flasken, og ryst grundigt.
6. Mål pH i BlueCap-flasken med et kalibreret pH-meter eller pH-strips.

7. **Kun for gruppe 1-5:** Tilsæt forsigtigt 4 M NaOH eller HCl med engangspipette til der opnås den pH, som står på flasken. Omryst forsigtigt flasken jævnlige under måling med låg på.

8. Fyld til sidst op med demineraliseret vand, så der er 200 mL i flasken.

9. **Kun for gruppe 6:** Fyld op med demineraliseret vand, så der er 250 mL i flasken.

10. Skru låget løst på BlueCap-flaskerne, og autoklavér i 20 min ved 121 °C og 1 atm overtryk. Gem flaskerne med låg på til næste lektion.



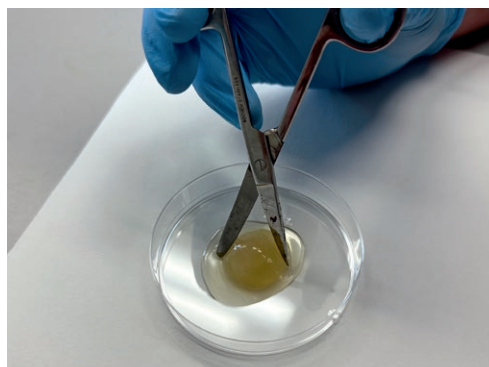
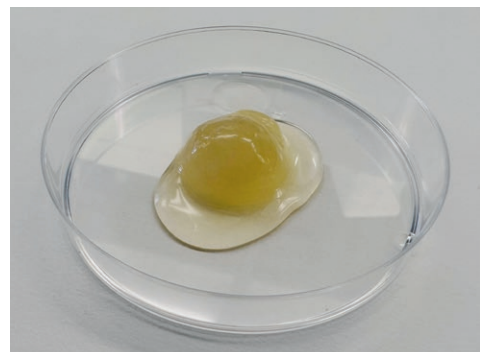
Figur 9. Fremgangsmåde for fremstilling af vækstmedier.

DEL B - Pilotforsøg med dyrkning af *K. xylinus*

Formålet med DEL B er at undersøge hvordan væksten af *K. xylinus* påvirkes af pH i mediet.

Materialer

- Biofilmklump af *K. xylinus* (figur 10)
- BlueCap-flaske med medium fra DEL A
- Engangspipetter
- Vægt
- Skalpel
- Pincetter
- Mikropipetter + spidser (1000 μ L, 200 μ L, sterile)
- Eppendorfrør (1,5 mL)
- Bægerglas (50 mL, sterile)
- Petriskåle (sterile)
- AKKU-CHEK-apparat til glucosemåling + tilhørende teststrimler (glucometer)
- Greinerrør (50 mL, sterile)
- Parafilm
- Sprøjter (1 mL, 20 mL)
- Sterilfilter (0,22 μ m)
- D-glucose
- Rystebad
- Demineraliseret vand
- Handsker (nitril)
- 70% ethanol til afspritning
- Bunsenbrænder



Figur 10. Biofilmklump af *K. xylinus*.

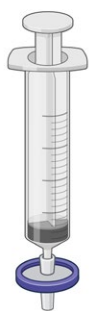
Fremgangsmåde

Der fortsættes i grupperne fra DEL A.

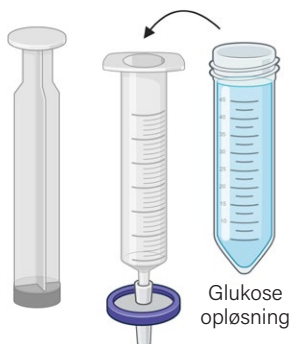
1. Find jeres BlueCap-flaske fra sidst.

Kun for gruppe 1-5:

2. Afvej og tilsæt 5 g D-glucose til et 50 mL Greinerrør.
3. Fyld op til 50 mL med demineraliseret vand og ryst grundigt med låg på :-).
Hvis det er svært at opløse glucosen, kan et varmebad bruges.
4. Påsæt 0,22 µm filter på 20 mL sprøjte, se figur 11.
5. Tag stemplet af sprøjten, og hæld ca. 20 mL af glucoseopløsningen ned i sprøjten, se figur 12.
6. Filtrér vha. sprøjten opløsningen ned i BlueCap-flasken, se figur 13.
7. Gentag indtil hele glucoseopløsningen er filtreret.
8. Sæt låg på BlueCap-flasken, og ryst grundigt.



Figur 11. Sprøjte med filter.



Figur 12. Glucoseopløsning overføres til sprøjte.

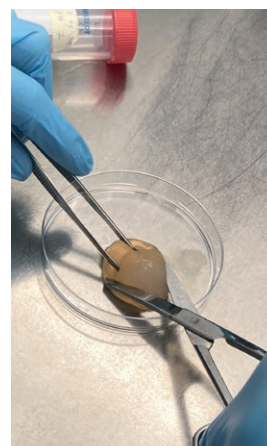


Figur 13. Glucoseopløsning filtreres.

9. Hver gruppe finder seks stk. 50 mL Greinerrør. På hvert af rørene skrives et af følgende: pH 2, pH 5, pH 6, pH 7, pH 9 og kontrol.
10. Afvej rørene, og notér med to decimaler i skema 1, side 20 under **Resultater**.

Note: I de næste trin arbejdes så vidt muligt sterilt (evt. i LAF-bænk eller tæt ved en bunsenbrænder). Start med at afspritte overflader og pincet, og brug handsker (sørg for at afspritte hænderne med handsker på, hvis der røres ved ikke sterile objekter).

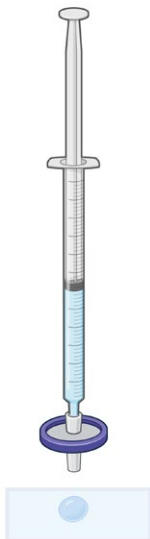
11. Find en biofilmklump, og placer den i en steril petriskål. Biofilmen indeholder *K. xylinus*. (Klumpen skal veje 3-5 g.)
12. Del klumpen i seks lige store stykker med en skalpel og brug en pincet til at fastholde klumpen, se figur 14. Forsøg ikke at presse væske ud af klumpen.
13. Tilsæt et stykke af klumpen til hver af de seks sterile Greinerrør fra pkt. 9. Brug pincetten.
14. Afvej igen Greinerrørene, og notér med to decimaler i skema 1.
15. Til Greinerrør 'pH 2' tilsættes 20 mL medie fra BlueCap-flasken 'pH 2', tilsvarende gælder for de øvrige rør.
TIP: Hæld fx 30 mL medie fra BlueCap-flaske 'pH 2' i et sterilt bægerglas, og overfør 1000 µL medie med en pipette 20 gange til Greinerrør 'pH 2'. Det samme gøres for de øvrige fem Greinerrør (pH 5, pH 6, pH 7, pH 9 og kontrol).
16. I har nu startet jeres biofilmkulturer af *K. xylinus*.



Figur 14. Biofilmklump deles.

Lav den første glucosemåling:

1. Hver gruppe forbereder seks Eppendorfrør – én til hver kultur. Notér pH 2, pH 5, pH 6, pH 7, pH 9 og kontrol på rørene.
2. I dette trin arbejdes sterilt: Ryst hver af de seks Greinerrør med biofilmkulturer. Udtag og overfør 50 μL medie fra hver Greinerrør til matchende Eppendorfrør med en 200 μL pipette.
3. Overfør dernæst 950 μL demineraliseret vand til hvert Eppendorfrør, svarende til 20X fortynding. Anvend en 1000 μL mikropipette.
4. Forbered seks små stykker Parafilm på et bord.
5. Tag stemplet ud af en 1 mL sprøjte, og påsæt et 0,22 μm filter på enden.
6. Vortex Eppendorfrøret i 5 sek. med det fortyndede medie, og sug ca. 0,5 mL væske med en engangspipette. Herefter overføres de 0,5 mL til sprøjten med sprøjtefilteret.
OBS: Brug kun én sprøjte pr. pH dvs. 6 sprøjter i alt. Efter brug skylles sprøjten med demivand og lægges til tørre. Markér sprøjten med pH værdien til de efterfølgende dage.
7. Tryk væsken ud gennem filteret og ned på et af de seks stykker Parafilm – den lægger sig som en dråbe, se figur 15. Kassér de første to dråber og brug den tredje dråbe til måling.
8. Sæt en teststrimmel i bunden af glucometeret – den gule linje skal pege ud, og vent til der står 'tilfør dråbe'.
9. Teststrimmelen skal forsigtigt røre ved dråben og fjernes hurtigt igen, se figur 16.
10. Notér resultatet fra glucometeret i skema 2, side 20 under **Resultater**.
Skriv under Dag 0.
11. Gentag punkt 5-10 for de sidste fem Eppendorfrør.



Figur 15. Glucoseopløsning filtreres.



Figur 16. Måling med glucometer.

12. Placer biofilmkulturene i et rystebad (150 rpm og 28 °C).

Der skal nu foretages glucosemålinger hver 2. eller 3. dag over ca. 8 dage, og fremgangsmåden i punkt 1-11 gentages.

DEL C - Høst af bioplastik

Formålet med DEL C er at høste den fremstillede bioplastik.

Materialer

Pr. gruppe

- Saks
- Ske
- 6 små alubakker
- (Digel)tang
- Sprittusch
- Greinerrør med biofilm fra DEL B

Fælles

- Ovn/varmeskab (60 °C)
- Vægt

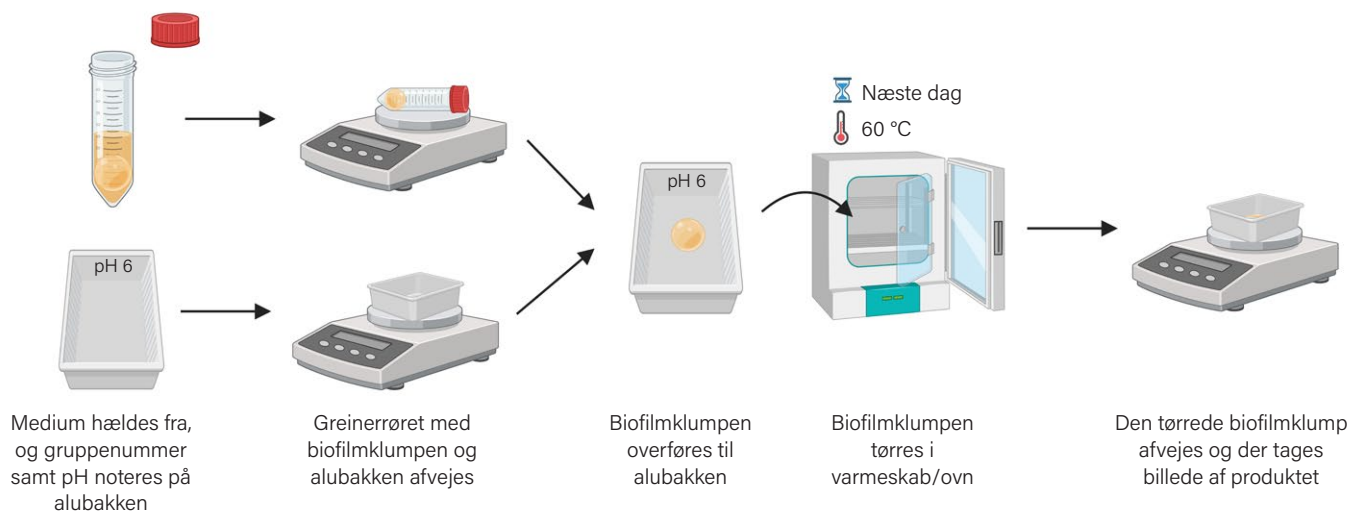


Figur 17. Tørret biofilm.

Fremgangsmåde

Der fortsættes i grupperne fra DEL A og DEL B.

1. Start med at navngive alubakkerne med tusch (gruppenummer + hhv. pH 2, pH 4, pH 5, pH 6, pH 7 og kontrol), se figur 18.
2. Find Greinerrørene med biofilm, og hæld væsken fra hvert rør, så kun biofilmklumpen er tilbage.
3. Afvej Greinerrørene med to decimaler, og notér i Resultatskema 1 under 'Dag 8'.
4. Vej hver alubakke, og notér vægten i skema 1, side 20.
5. Overfør så meget biofilm så muligt fra Greinerrørene til alubakkerne – brug evt. en ske.
6. Sæt alubakkerne med biofilm i en ovn/varmeskab ved 60 °C, og lad dem tørre til næste dag.
7. Tag alubakkerne ud af ovnen, se figur 17, og lad dem køle i 1 min. Afvej herefter hver af bakkerne med tørret biofilm, og skriv ind i skema 1, side 20.
8. Tag et billede af de færdige produkter :-).



Figur 18. Fremgangsmåde for tørring af biofilmklumpen.

Resultater

Skema 1: Massebestemmelser

Pilotforsøg (Greinerrør)	$m(\text{Greinerrør})$ (g)	$m(\text{Greinerrør} + \text{biofilm})$ Dag 0 (g)	$m(\text{Greinerrør} + \text{biofilm})$ Dag 8 (g)	$m(\text{alubakke})$	$m(\text{alubakke med tørret produkt})$
pH 2					
pH 5					
pH 6					
pH 7					
pH 9					
Kontrol					

Skema 2: Glucoseudvikling

Pilotforsøg:	Dag 0: $c(\text{glucose})$ (mmol/L)	Dag 1: $c(\text{glucose})$ (mmol/L)	Dag 2: $c(\text{glucose})$ (mmol/L)	Dag 4: $c(\text{glucose})$ (mmol/L)	Dag 6: $c(\text{glucose})$ (mmol/L)	Dag 8: $c(\text{glucose})$ (mmol/L)
pH 2						
pH 5						
pH 6						
pH 7						
pH 9						
Kontrol:						

Efterbehandling

1. Afbild for hver af de seks vækstbetingelser udviklingen i koncentration af glucose som funktion af tiden. Afbild graferne i samme diagram, og kommenter resultatet.
2. Beregn vådvægten af den biofilm, der er dannet under hver af de seks vækstbetingelser. Vis beregninger, og kommenter resultaterne.
3. Beregn massetilvæksten i procent for hver af de seks vækstbetingelser. Vis beregninger, og kommenter resultaterne.
4. Beregn tørvægten af den biofilm, der er lavet under hver af de seks vækstbetingelser. Vis beregninger, og kommenter resultaterne.
5. Beregn masseprocenten af biofilmen i produktet for hver af de seks vækstbetingelser. Vis beregninger, og kommenter resultaterne.
6. Under antagelse af at alt glucose omsættes til cellulose, hvor mange gram glucose går der til at danne 1 g cellulose?
7. Diskuter fejlkilder i hhv. DEL A, DEL B og DEL C. Hvilke fejlkilder har størst indvirkning på de endelige resultater?
8. Lav en konklusion, hvor der tages stilling til om formålet for hvert af de tre delforsøg er blevet opfyldt.

Ekstra spørgsmål:

9. I princippet kan bakteriel cellulose anvendes til at lave bionedbrydeligt tøj, men man skal være opmærksom på, at cellulosen er vandsugende. Figur 19 viser eksempler på to jakker fremstillet af bakteriel cellulose. En jakke af den type vejer ca. 300 g, og her antages det, at den består af ren bakteriel cellulose. Med udgangspunkt i jeres egne resultater, skal I beregne massen af den biofilm, der som minimum skal fremstilles for at kunne producere en jakke.



Figur 19. To jakker fremstillet af bakteriel cellulose.

10. Skitsér en forsøgsopstilling, der kunne gøre det muligt for jer at producere bakteriel cellulose til fremstilling af en jakke. Overvej volumen af beholder/bioreaktor m.m.
11. Diskuter hvilke plasttyper og anvendelser af plast, bakteriel cellulose kunne erstatte, og hvilke muligheder og begrænsninger, der er forbundet med brug af cellulosen i forhold til traditionel plast.

EKSPERIMENT 1

Produktion af bioplastik

Læreplanen

Eksperimentet 'Produktion af bioplastik' belyser følgende kernestof i læreplanen for bioteknologi A (og tilsvarende for biologi A):

- Prokaryote celletyper og celledyrkning
- Opbygning, egenskaber og biologisk funktion af carbohydrater
- Mængdeberegninger
- Vækst, vækstmodeller og vækstfaktorer

Eksperimentet kan indgå i temaer der perspektiverer kernestoffet indenfor bæredygtig produktion af fødevarer, energi og kemiske stoffer; bioteknologisk anvendelse af mikroorganismer samt ny forskning og nye bioteknologiske metoder.

Teori

For at få det bedste faglige udbytte af eksperimentet er det en fordel at kende til:

- Bakteriecellers opbygning og funktion
- Bakteriers vækst, vækstkurver og betydningen af forskellige vækstfaktorer

Det kan der læses om i de biologi- og/eller bioteknologilærebøger der i forvejen anvendes i undervisningen.

Desuden er det nødvendigt at kende til:

- Den konkrete bakterie der anvendes og de biokemiske synteseprocesser den udfører
- Bakteriers evne til at danne biofilm
- Funktion og anvendelse af bioreaktorer

Disse emner beskrives i den teori der knytter sig til eksperimentet.

Flow

Øvelsen har følgende flow og tidsforbrug:

- DEL A – Fremstilling af vækstmedier (90 min)
- DEL B – Pilotforsøg med dyrkning af *K. xylinus* (90 min dag 0 + ca. 30 min pr. efterfølgende måledag)
- DEL C – Høst af bioplastik (60 min)

Kommentarer til eksperimentet

DEL A – Fremstilling af vækstmedier

- Vækstmedierne kan evt. fremstilles af læreren i forvejen eller det kan evt. aftales med AAU, at der fremsendes færdige sterile vækstmedier.
- Gymnasiet forventes selv at have:
 - En autoklave
 - En vægt der kan veje ned til 0,2 g

DEL B – Pilotforsøg med dyrkning af *K. xylinus*

- Gymnasiet forventes selv at have et rystebad (150 rpm og 28 °C) eller tilsvarende.
- Tiden er lidt presset på dag 0, og kræver måske en time forinden hvor eleverne instrueres.

DEL C – Høst af bioplastik

- Gymnasiet forventes selv at have en ovn (105 °C).

I tilknytning til denne øvelse vil det være muligt at aftale demonstration af en bioreaktors funktion til batchkultur af *Komagataeibacter xylinus*.

HANDS ON BIOTECH

EKSPERIMENT 1

Produktion af bioplastik

Dette hæfte (Produktion af bioplastik) indgår i en serie på seks hæfter skrevet som del af udviklingsprojektet 'Hands on Biotech'. Det er skrevet til undervisningen i bioteknologi A/biologi A i gymnasiet.

Hæftet er delt op i tre kapitler:

- Teori
- Elevvejledning
- Lærervejledning