

OPGAVER

ØL -verdens første svar på
anvendt bioteknologi

SMÅ OPGAVER

Nedskriv de biologiske processer, der foregår under hvert trin i de processer der indgår i produktion af øl (brug evt. Figur 1 i introduktionsafsnittet).

Forklar hvad aerob og anerob betyder og opskriv reaktionen for aerob og anaerob nedbrydelse af glukose.

Forklar med egne ord hvad haploid og diploid betyder.

Forklar med egne ord hvad termostabilitet betyder.

I hvilken del af mæskningen bliver størstedelen af maldsukkeret frigivet?

Gærsvampen *Saccharomyces cerevisiae* er en meget vigtig industriel organisme. Hvad bruges denne svamp til udover at lave øl?

Hvilke substrater vokser gær på? Forklar hvorfor gærceller ikke vokser på stivelse.

Forklar forholdet mellem genotype og phenotype. Hvordan kan en celleds metabolisme ændres og hvilke muligheder giver det?

Forklar hvorfor det er vigtigt at der under modningen af øl stadig er gærceller tilbage.

Forklar hvorfor gærceller kan blive "gamle"

Hvorfor er det vigtigt præcist at vide hvilken gærstamme man bruger til fremstillingen af øl, og hvilke konsekvenser kan det have at bruge en "forkert".

Forklar ud fra en $NAD^+/NADH$ balance hvorfor en gærcelle producerer ethanol under anaerobe forhold.

Hvorfor er det vigtigt, at både α - og β -amylase er aktive under mæskningen. Hvad ville der ske med den efterfølgende gæring, hvis et af enzymerne ikke var aktive? -Hvad ville der ske hvis enzymerne ikke blev inaktiveret efter mæskningen?

Hvad ville der ske, hvis bygkernerne under spiringen fik lov til at spire i mere end fem dage. Hvad ville der ske hvis bygkernerne ikke får lov til at spire længe nok?

Tegn strukturen for glucose og maltose. Forklar hvad de to suktermolekyler har tilfælles.

Beskriv de strukturelle forskelle mellem β -glucan og cellulose og mellem β -glucan og stivelse. Forklar hvorfor stivelse også kaldes en α -glucan?

Ved mæskning ved lav temperatur ($< 65^{\circ}\text{C}$) op når man meget forgærbart sukker, mæskes istedet ved høj temperatur ($> 65^{\circ}\text{C}$) får man mere "ikke-forgærbart" sukker, hvilket resulterer i en alkoholsvagere og sødere øl.

Forklar hvorfor det er tilfældet.

Nævn nogle forskelle mellem gærceller og bakterieceller.

Beskriv hvordan diacetyl dannes og hvorfor det er uønsket i øl.

Forskere indenfor bioteknologi bruger gær når de laver genteknologi. *Saccharomyces cerevisiae* har GRAS (generally regarded as safe) status. Dette betyder at *S. cerevisiae* er sikker at arbejde med og kan bruges til produktion af fødevarer.

Hvorfor tror du at *S. cerevisiae* har GRAS status??

STØRRE OPGAVER

1. Øl kan fremstilles således at det får en meget lav alkoholprocent (eller er helt uden alkohol), i USA er det desuden meget populært at fremstille øl med et lavt kalorieindhold.

Disse øl fremstilles på forskellige måder.

Øl med lav alkoholprocent eller non-alkohol øl kan fremstilles ved at tilsætte termostabilt α -amylase og derefter mæske malten ved meget høje temperaturer, typisk 72°C-75°C.

-Hvad sker der med den α - og β -amylase, der er blevet dannet/aktiveret under malmningen og hvordan påvirker det nedbrydningen af stivelsen under mæskningen?

-Forklar hvorfor det er nødvendigt, at den tilsatte α -amylase er termostabil?

-Beskriv hvordan kulhydratsammensætningen vil være med den ændrede mæskeprofil og hvad der vil ske under den efterfølgende gæring? Hvorfor resulterer det i en øl med en lavere alkoholprocent?

-Forklar hvorfor det også er nødvendigt at tilsætte termostabilt β -glucanase, når man laver disse slags øl?

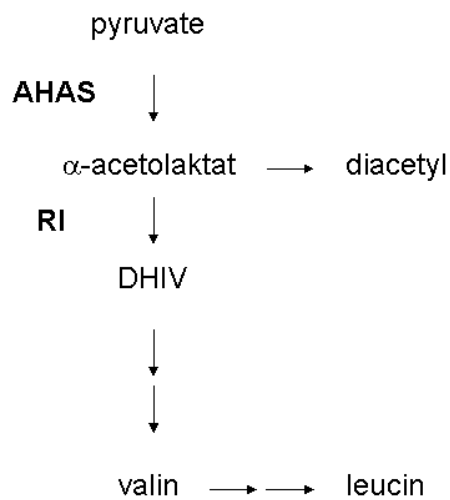
Til fremstilling af øl med et lavt kalorieindhold bruges et enzym, der kaldes pullanase. Pullanase, nedbryder α -1,6-bindinger.

-Skitser nedbrydning af et forgrenet stivelse-molekyle med β -amylase. Skitser dernæst nedbrydning af det samme stivelsesmolekyle med β -amylase og pullanase.

-Hvilken effekt kan det have at tilsætte pullanase?

2. Forbedring af gærstammer – nedsættelse af diacetylproduktion

Diacetyl er et biprodukt i biosyntesen af valin og leucin, det fremkommer spontant (dvs. ikke enzymatisk ud fra α -acetolaktat, se Figur 1. To enzymer er meget vigtige i forbindelse med dannelse af diacetyl. Enzymet AHAS omdanner pyruvat til α -acetolaktat, α -acetolaktat omdannes til DHIV af enzymet reduktio isomerase (RI). RI er ikke særligt effektiv, hvilket resulterer i, at α -acetolaktat ophobes og eksporteres ud i øllet. I øllet omdannes α -acetolaktat spontant til diacetyl.



Figur 1. Dannelse af diacetyl.

-Forklar hvordan man ved at gøre enzymet AHAS mindre effektivt eller ved at øge antallet af enzymet RI kan nedsætte dannelsen af diacetyl.

En ofte anvendt metode der bruges til at ændre effektiviteten af AHAS, hedder klassisk stammeforbedring.

Der eksisterer en kemisk forbindelse som specifikt kan inhibere AHAS

3. Vækstkurve

Tabel 1 viser resultaterne af et vækstforsøg, hvor gærceller er vokset aerobt i et medie bestående af glucose, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ og en vitaminopløsning.

Tabel 1. Resultat fra vækstforsøg med gær.

Tid (timer)	OD	Glukose (g/L)	Ethanol (g/L)
0	0,0	30,0	0,0
15	2,2	23,3	2,1
17	4,5	19,2	4,7
19	8,5	4,3	7,7
22	9,1	0,0	8,4
25	9,2	0,0	8,6
28	10,5	0,0	8,7
31	11,8	0,0	7,7
34	13,4	0,0	6,5
37	14,3	0,0	5,5
40	15,5	0,0	4,3

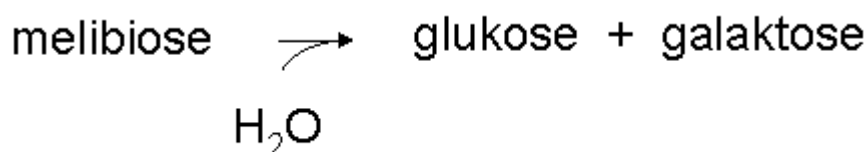
- Afbild forsøgsresultaterne grafisk og giv en forklaring på resultaterne.
- Bestem de to fordoblingshastigheder (på hhv. glukose og ethanol) for gærcellerne og forklar hvorfor de er forskellige.
- Forklar hvorfor den ethanol der bliver dannet i øl, ikke bliver forbrugt af gærcellerne under modningen.
- Giv forslag til hvad gærcellerne bruger $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ til under vækst.

Coli-bakterier vokser med en fordoblingshastighed på ca. 20 min på glukose.

- Giv forslag til hvorfor der er en forskel på fordoblingshastigheden på glukose for coli-bakterier og gærceller.

4. Under- og overgær

Som nævnt i afsnit 3 (*S. cerevisiae*) adskiller under- og overgær sig bl. a. ved evnen til at nedbryde sukkeret melibiose.



Figur 1. Enzymatisk nedbrydning af melibiose

- Angiv hvilken gruppe enzymet melibiase tilhører.
- Forklar hvordan man kan bruge denne egenskab til at bestemme om den gærstamme man arbejder med tilhører under- eller overgær.