

Kombucha / Fermentering

Niveau: Gymnasium

Kære lærer

I denne case inspirerer vi til et spændende fermenteringsprojekt, som let kan udføres og med høj succesrate. Kombucha tager fat i videnskaben om fermentering, som er meget relevant i bioteknologi. Projektet er et godt alternativ til ølbrygning, da man kan tillade sig at være mindre steril. Processen er desuden kortere og mere visuel. Efter projektet kan eleverne få lov til at smage på drikken og eventuelt starte deres egen fermentering derhjemme.

Sidens indhold:

- En opskrift til kombucha, samt en guide til hvordan man kommer i gang.
- En artikel om fermentering, som underviser i den faglige baggrund om fermenteringsprocesser.
- En fermenteringsopgave med en excel datafil, som bruger den faglige viden fra artiklen.
- En rapportvejledning til kombuchaprojektet.

Aktiviteter:

- Løs fermenteringsopgaven. I fermenteringsopgaven skal eleverne have læst artiklen om fermentering som findes i casen. Datafilen indeholder simulerede målinger fra to fermenteringsprocesser, og eleverne skal lære at plote excelfilen og fortolke resultaterne.
- Udfør kombuchaprojektet. Følg opskriften på kombucha, og tag løbende målinger af pH og vægt af SCOBY. Eleverne laver en rapport over fermenteringsprocessen. I rapportvejledningen er der givet spørgsmål, som eleverne kan besvare i deres rapport. Samtligt materiale (opskrift, rapportvejledning og teori) ligger under casen.

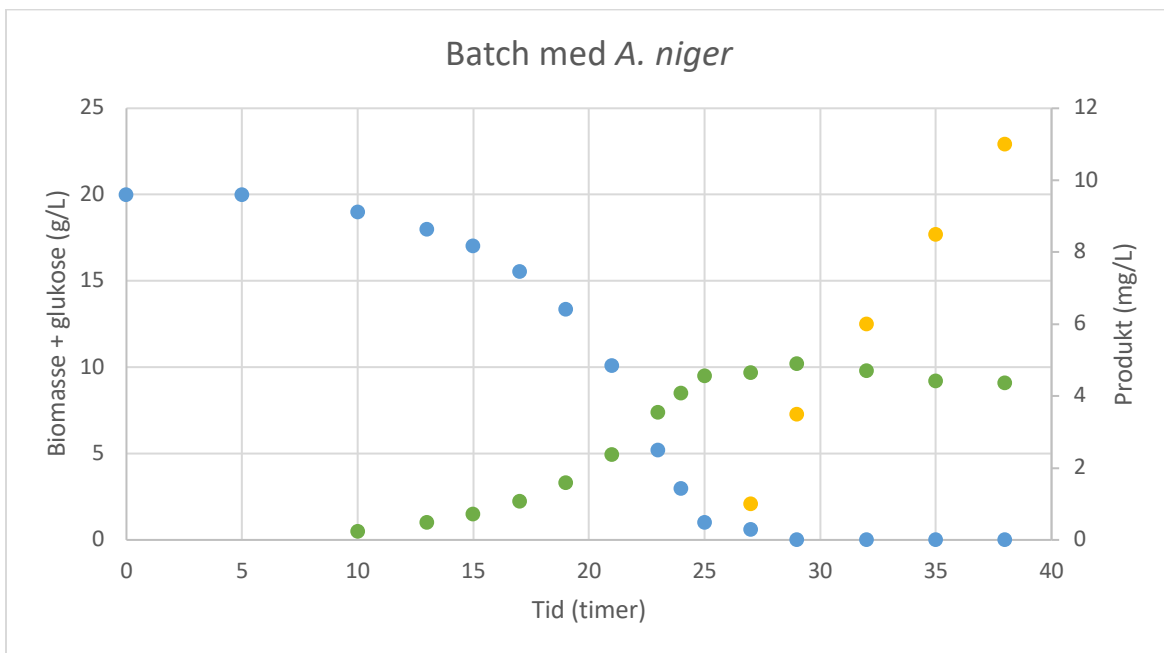
Vi opfordrer til at forsøge at lave den teoretiske opgave og det praktiske forsøg parallelt.

Løsningsforslag til fermenteringsøvelse: Batch og kemostat

Du har anskaffet dig en særlig skimmelsvamp-stamme af arten *Aspergillus niger* som producerer et eftertragtet antibiotikum. Du bestemmer dig derfor for at undersøge produktionen af dette stof nærmere ved en fermentering. Du går i gang med at lave en batch og en kemostat fermentering for at beslutte dig om, hvad der giver det største udbytte. Du måler løbende biomasse, glukose- og produkt-koncentrationen.

I filen "Data til fermenteringsøvelse" finder du data for de to færdiggjorte processer.

- 1) Plot biomasse, glukose og produktkoncentration over tid i samme graf. Højreklik på det tomme plot og vælg "Vælg data". Klik herefter på "Rediger" for hver af de tre plots, der skal laves. Sørg for at produktkoncentrationen har en sekundær Y-akse.

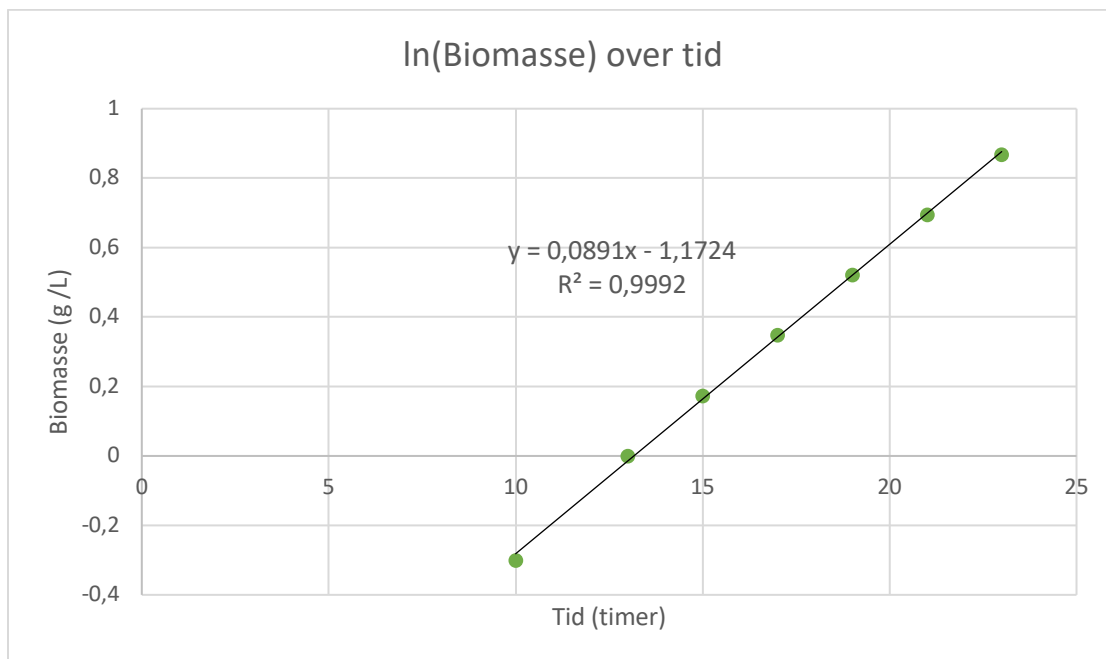


- 2) Hvorfor stiger mængden af biomasse først efter 10 timer og ikke efter 0 timer?

Kulturen befinder sig i lag-fasen i de første 10 timer. Efter 10 timer træder den eksponentielle vækstfase ind.

Under en batch-fermentering vil der være rigelige mængder af substrat til stede fra start, så mikroorganismene har derfor mulighed for at gro ved deres maksimale vækstrate.

- 1) Udregn $\ln(\text{biomassekonc.})$ i en ny excel-kolonne, og plot den som en funktion over tid. Plot kun de punkter, der indgår i den eksponentielle vækstfase.



- 2) Bestem den maksimale biomasse vækstrate, som er lig hældningskoefficienten under den eksponentielle vækstfase. Denne kan bestemmes ud fra grafen fra forrige spørgsmål. Enheden er $time^{-1}$.

Den maksimale biomasse vækstrate er: 0.0891 time^{-1}

- 3) Hvornår stopper væksten af biomasse? Hvad kan årsagen højst sandsynligt tænkes at være?

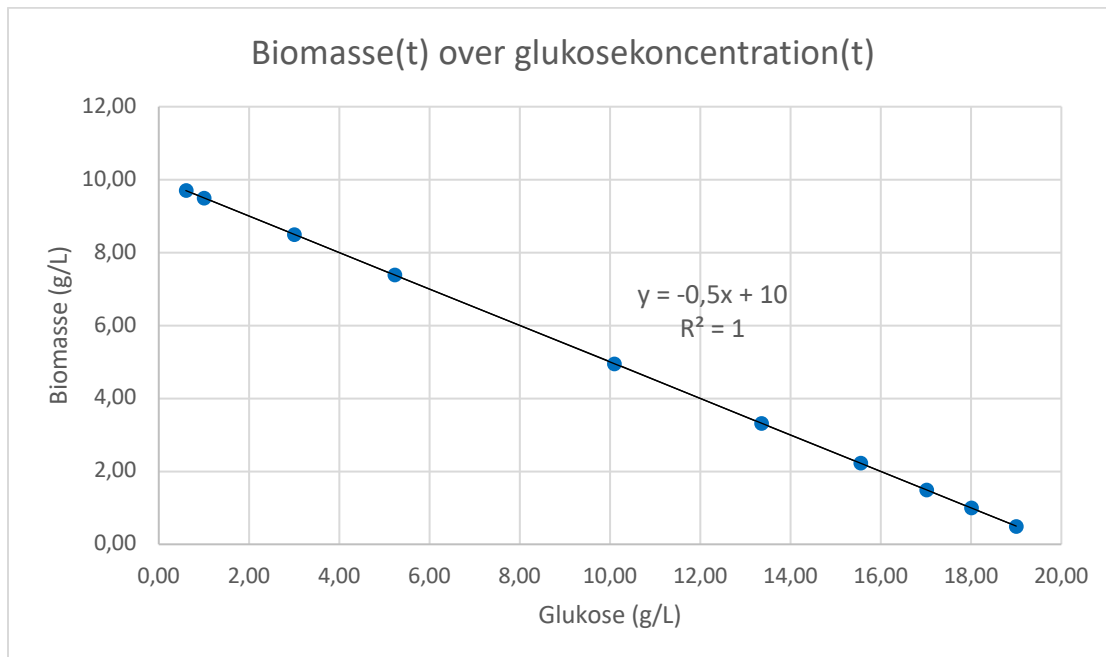
Væksten stopper efter 29 timer. Årsagen skyldes at der ikke er mere glukose tilbage, som er energi- og kulstofkilden.

- 4) Kan man ud fra grafen se om produktet er en primær eller sekundær metabolit? Tænk over hvornår produktet begynder at blive dannet i tanken.

Produktet er en sekundær metabolit. På grafen kan det ses, at produktet først dannes når glukosen er blevet brugt op.

Primære metabolitter dannes konstant, da de dannes under cellens normale vækst. Mange sekundære metabolitter reguleres og udtrykkes kun når der er behov for dem. Manglen på glukose har induceret en ekspression af produktet. Dette reguleringssystem kaldes for **carbon catabolite repression**.

- 5) Plot biomassekoncentration som funktion af glukosekoncentration, og find hældningskoefficienten. Denne konstant kaldes for udbyttekoefficienten, Y_{XS} . Der ses bort fra at der fås en negativ hældning og fortegnet fjernes. Enheden for denne koefficient er $\frac{g \text{ biomasse}}{g \text{ glukose}}$. Hvad betyder denne konstant?

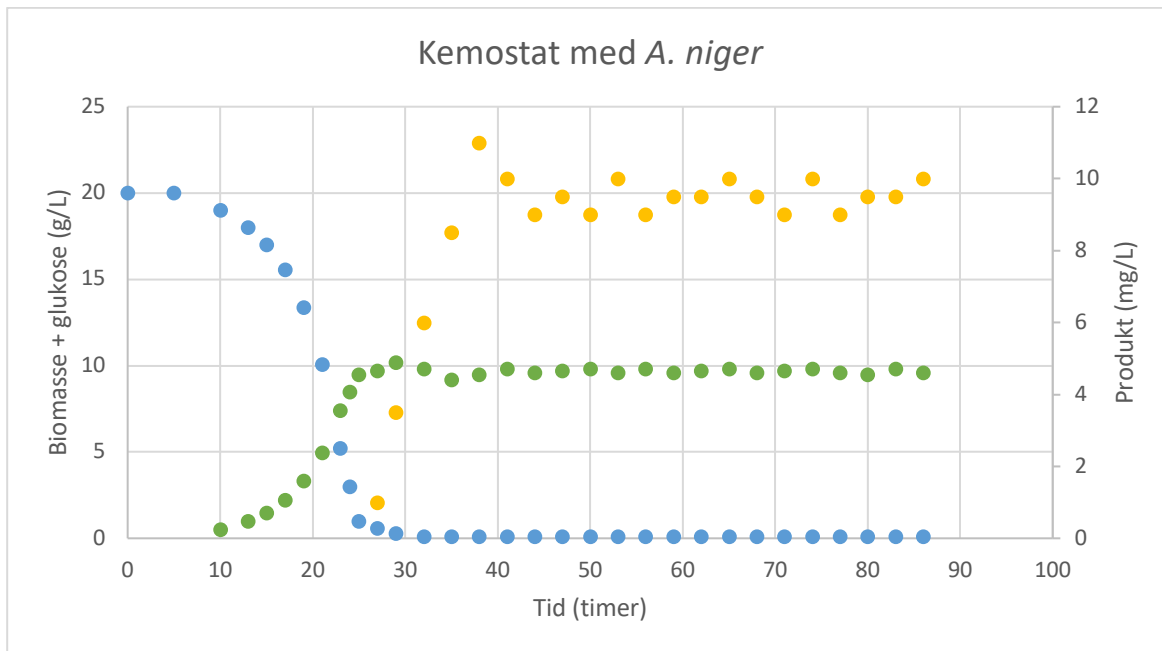


$$Y_{xs} = 0.5 \frac{\text{g Biomasse}}{\text{g Glukose}}$$

Udbyttekoefficienten viser, at der dannes 0.5g biomasse for hvert gram glukose, der bruges.

På baggrund af de fundne resultater bestemmer du dig for at undersøge om en kemostat fermenteringsproces er bedre egnet til produktionen af antibiotikummet. Du gentager forrige eksperiment, men på et tidspunkt begynder du at føre frisk medie ind i tanken. Imens begynder du at tappe, så volumen holdes konstant. Du sørger for at holde koncentrationen af det begrænsende substrat så minimalt som muligt.

- 6) Lav et lignende plot som i a), men nu i med kemostat setuppet.



Fordi at der både føres medie ind og samtidigt tappes fra fermenteringssuppen, kan der opnåes **steady state**. Under steady state ophobes der hverken substrater, produkter eller biomasse. Koncentrationerne af disse holdes konstante.

7) Kan du se på grafen om der er opnået steady state?

Efter ~30 timer holdes glukose, biomasse og produktkoncentrationerne konstante. Der er derfor opnået steady state.

En smart ting ved kemostat er, at man kan undgå dødsfasen ved konstant at fylde frisk medie ind. På den måde kan man også holde substratkoncentrationen ved et minimum.

8) Hvad betyder den lave koncentration af det begrænsende substrat (glukose) for produktiviteten af produktet (antibiotikummet)?

Fordi at der ikke længere er rigelige mængder af glukose til stede kan man undgå **carbon catabolite repression**. Produktiviteten bliver derfor ikke nedreguleret.

9) Er batch eller kemostat bedst egnet til at producere antibiotikummet? Nævn fordele og ulemper ved hhv. batch og kemostat. Hvilken faktor gør kemostat bedst egnet i dette tilfælde?

Glukose kan holdes ved en lav koncentration ved kemostat, og dermed kan man undgå nedreguleringen af produktiviteten.

10) Perspektivering: Hvordan kan bioteknologi hjælpe med at optimere produktionen?