

# MATERIALESAMLING - ØLBRYGNING

## INDHOLD

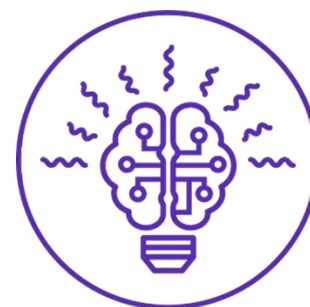
Introduktion.....	2
Modul 1 – Intro til ølbrygning og de processer, der indgår.....	3
Modul 2 – Opbygning af carbohydrater (monosaccharider).....	8
Modul 3 – Opbygning af carbohydrater (disaccharider og polysaccharider).....	9
Modul 4 og 5 – Opbygning af carbohydrater (funktionelle grupper).....	11
Modul 6 – Processer før ølbrygningen.....	12
Modul 7 – Processer før ølbrygningen og gær.....	15
Modul 8 – Gær.....	16
Modul 9 – Gæring Materiale til undervisningen på skolen.....	27
Modul 10 – Ølbrygning.....	28
Modul 11 og 12 – Ølbrygning i praksis.....	28
Eksperimentelle undersøgelser.....	29
Eksperiment 1: Gæring af sukker.....	30
Eksperiment 2: Påvisning af funktionelle grupper i carbohydrater.....	36
Eksperiment 3: Bryg din egen ale.....	41
Afsluttende opgave til undervisningsforløbet om ølbrygning.....	45

Materialet er udviklet af



Biotech Academy

Line Søndergaard Kallerup og Sidsel Maj Rønnegaard Revsbech,  
lærere i Biologi, Kemi og Bioteknologi, Virum Gymnasium  
og DA Åben Virksomhed



## Introduktion

Undervisningsforløbet Ølbrygning kommer omkring rigtig mange af de begreber, processer og laboratorietechnikker, som indgår i læreplanerne for Bioteknologi eller Biologi og Kemi i gymnasiet. Som en del af undervisningsforløbet skal klassen besøge et bryggeri, som er et eksempel på en dansk biotekvirksomhed, hvor der løbende arbejdes med udvikling og optimering af produkterne.

### Materialer

Nogle af de opgaver og forsøgsvejledninger, der skal bruges igennem undervisningsforløbet, er samlet i dette dokument. Der er endvidere mange henvisninger til et [online-undervisningsmateriale om ølbrygning udviklet af DTU Biotech Academy](#), som dette undervisningsforløb er baseret på. Derudover er der henvisninger til undervisningsmateriale på [Beerzymes.dk | læring med gæring](#)

### Undervisningsforløbets opbygning

Undervisningsforløbet består af 12 moduler på gymnasiet. Dernæst skal klassen på et virksomhedsbesøg på et bryggeri i to timer, og til slut skal klassen arbejde videre med en afsluttende posteropgave på gymnasiet.

### Forberedelse til modul 1:

Læs følgende afsnit på denne hjemmeside: [DTU Biotech Academys undervisningsmateriale](#)

- Introduktion – Ølbrygning
- Ølbrygningens historie i Danmark
- TEORI: Læs fanen ”Oversigt”

# Modul 1 – Intro til ølbrygning og de processer, der indgår

## Materiale til undervisningen på skolen

### Opgave 1: Gæring af sukker og påvisning af glukose og CO<sub>2</sub> (og evt. ethanol)

Til denne opgave skal I enten bruge det vedhæftede færdige datasæt fra forsøget ”Gæring af sukker” eller udføre forsøget selv og bruge egne data. Du kan finde en mere detaljeret gennemgang af forsøget på side 30 ”Eksperiment 1: Gæring af sukker”. Hvis din lærer vælger, at I ikke selv laver forsøget, så skal I kun lave opgave 1a og 1b.

Du skal I denne opgave arbejde med:

- Hvordan man kan påvise tilstedeværelsen af CO<sub>2</sub> efter gærcellers fermentering af glukose (1a).
- Hvordan en fermenteringsproces kan monitoreres med programmet Logger Pro (1b).
- Hvordan man kan bestemme indholdet af ethanol i et destillat. Dette gøres kun, hvis I selv udfører forsøget og også ønsker at destillere på jeres fermenteringsopløsning (1c).
- 1a) Redegør for, hvordan man ved hjælp af en mættet opløsning med Ca(OH)<sub>2</sub> kan påvise, at der dannes CO<sub>2</sub> under gærcellernes fermentering af glukose. Hint: Tjek evt. disse videoer ud og få lidt indblik i, hvordan CO<sub>2</sub> og Ca(OH)<sub>2</sub> reagerer med hinanden:

[https://www.youtube.com/watch?v=VI9A8Iyc\\_LY](https://www.youtube.com/watch?v=VI9A8Iyc_LY)

<https://www.youtube.com/watch?v=RK-016QBufs>

Du kan også bruge vejledningen til Eksperiment 1 ”Gæring af sukker” som hjælp.

- Hvad sker der, når CO<sub>2</sub> bobler ud i mættet kalkvand? Opskriv afstemt reaktionsligning.

1b) På baggrund af data fra ”Eksperiment 1 – Gæring af sukker” – enten egne data eller det vedhæftede færdige datasæt – skal du tegne to grafer:

- En graf, der viser masse af kolben som funktion af tiden – sæt aksetitler på figuren, husk enheder. Forklar udviklingen over tid og præciser, hvad massetabet over tid afspejler.

- En graf, der viser masse af afgasset  $CO_2$  som funktion af tiden – sæt aksetitler på figuren, husk enheder. Forklar udviklingen over tid.

**Lav dernæst følgende beregninger:**

Beregninger laves ud fra, at der anvendes 50 g sukker i en konisk kolbe, der efterfølgende tilsættes 250 ml demineraliseret vand og 10 g gær (opslemmet i lidt vand).

1. Opskriv reaktionsskemaet for den reaktion, der forløber – der anvendes sukrose til forsøget. Dette skal du tage højde for, når du opstiller reaktionsskemaet. Husk, at fruktose omlægges til glukose i gærcellerne.
2. Beregn stofmængden af glukose i opløsningen.
3. Beregn, hvor meget ethanol der maksimalt kan blive dannet, hvis al glukosen bliver omdannet til ethanol og  $CO_2$ .
4. Beregn det samlede massetab fra opstillingen, hvis al glukose bliver omdannet, og al  $CO_2(g)$  forsvinder fra opstillingen.
5. Hvilken koncentration af ethanol kan maksimalt opnås?
6. Beregn massetabet ved gæringen.
7. Sammenlign tabet med det teoretisk beregnede.
8. Udregn, hvor mange procent glukose der må være omdannet.
9. Beregn ud fra omsætningen af glukose, hvor meget ethanol der er dannet.

1c) Du kan gå videre med denne del af opgave 1, hvis I selv laver ”Eksperiment 1: Gæring af sukker” i klassen.

Det første, der skal gøres, er at destillere jeres reaktionsblanding fra forsøget ”Gæring af sukker”, så I kan teste for tilstedeværelsen af ethanol og også eksperimentelt bestemme, hvor meget ethanol der rent faktisk dannes under fermenteringen.

Da gæringen er en biologisk proces, tager det en uges tid. Derefter destilleres det gærede materiale. En destillation laver man for at adskille to eller flere væsker. Hvis væskerne har forskellige kogepunkter, vil væsken med det laveste kogepunkt fordampe, før de andre væsker gør det.

Ethanol har lavere kogepunkt end vand, så det vil fordampe først. Dampene fortættes i kølerøret, og den fortættede væske ledes ned i en anden kolbe. Væsken heri har nu meget større indhold af ethanol end den oprindelige væske. Desuden er væsken fri for sukkerrester, gærrester og andre urenheder.

Ethanol-indholdet bestemmes ved først at finde massefylden (densiteten) i gram pr. ml for destillatet. Derefter kan vægtprocenten (gram alkohol pr. 100 gram væske) bestemmes ud fra en standardkurve.

En standardkurve kan tegnes ud fra et udleveret datamateriale – i dette tilfælde densiteten af vand/ethanol-blandingen ved forskellige koncentrationer (masseprocent) ethanol (se C1 Beregninger nedenfor). Af dette materiale fremgår det, at massefylden af væsken afhænger af koncentrationen af ethanol.

Da massefylden for vand er ca. 1 g/ml, og massefylden for ethanol er 0,789 g/ml, falder massefylden af en blanding af ethanol og vand som en funktion af alkoholkoncentrationen. Ud fra denne standardkurve kan man altså direkte aflæse masseprocenten for destillatet.

Man vil ikke kunne opnå en masseprocent på meget mere end 12-14 pct. Derfra kan man regne sig frem til massen af ethanol i destillatet og den samlede produktion i gæringskolben.

Det er altid relevant at kontrollere, om den reaktion, som man regner med er foregået, virkelig har fundet sted. I dette tilfælde er det altså CO<sub>2</sub> (opgave 1a) og ethanol (opgave 1c), som vi tester for.

Hydroxy-gruppen (-OH) i den primære alkohol ethanol reducerer det violette MnO<sub>4</sub><sup>-</sup> til farveløst Mn<sup>2+</sup> (evt. også brunsten, MnO<sub>2</sub>) i en sur opløsning.

For at kunne påvise, om der er dannet ethanol under fermenteringen, skal man først destillere sin opløsning. Dette udføres, efter fermenteringen er færdig. Se fremgangsmåde 1b under afsnittet ”Eksperiment 1: Gæring af sukker” side 30.

Efter forsøget er udført, kan I lave følgende beregninger:

### C1 Beregninger:

Nedenfor er et datasæt, der viser sammenhæng mellem densitet og koncentration af ethanol. Lav en standardkurve over densiteten som funktion af masseprocent ethanol (g pr. 100 g væske), og brug denne standardkurve til at bestemme masseprocenten af jeres destillat.

Densitet (g/ml)	C <sub>masse</sub> %
0,99823	0
0,99275	3,0
0,98938	5,0
0,98478	8,0
0,98187	10,0
0,97514	15,0
0,96997	20,0
0,96168	25,0
0,95382	30,0
0,94494	35,0
0,93518	40,0
0,92472	45,0
0,91384	50,0
0,89113	60,0

Brug standardkurven til at aflæse masseprocenten for jeres destillat:

- Beregn massen af ethanol, der er i alt i *destillatet*. Antag, at al den ethanol, der var i de 50 ml, som I destillerede på, er destilleret fra gæringskolben og over i destillatet.
- Beregn massen af ethanol i gæringskolben (før I destillerede).
- Beregn nu massen af ethanol, der er dannet i gæringskolben ud fra kurven over massetab som funktion af tiden – dette gjorde I i en tidligere opgave, under opgave 1.b.5
- Sammenlign den teoretiske masse af ethanol med den aktuelle masse af ethanol og kommentér på resultatet

### **Eksperimenter i Modul 1:**

- Lav øvelsen [Gær i ballon \(kvalitativt\)](#) – det er Øvelse 1 i DTU Biotech Academys materiale under fanen ”FORSØG”.
- Eksperiment 1 – Gæring af sukker, side 30 (laves i klassen eller benyt det vedhæftede færdige datasæt).
- Udfyld laboratorieprotokol (skabelon på side 29).

### **Forberedelse til modul 2:**

Læs side 17-19 om Carbohydrater og Saccharider i undervisningsmaterialet på <https://beerzymes.dk/wp-content/uploads/2021/08/Beerzymes-undervisningsmateriale.pdf>

## Modul 2 – Opbygning af carbohydrater (monosaccharider)

### Materiale til undervisningen på skolen

#### Opgaver, hvor Marvin Sketch benyttes

Til at løse opgave 2 og 3 skal du bruge programmet Marvin Sketch. Programmet er gratis og bruges både i bioteknologiundervisningen og kemiundervisningen. For at få det fulde udbytte af programmet skal du have en skolelicens – den skal du bede om at få fra din lærer.

Du kan downloade programmet fra denne hjemmeside: <https://emu.dk/stx/kemi/marvinsketch-vejledninger-og-opgaver>, hvor du også kan finde en generel vejledning til programmet og andre gode dokumenter, som hjælper dig til at bruge programmet.

#### Opgave 2: Stereoisomeri i $\alpha$ – D – glukose (anvendelse af Marvin Sketch)

Du skal i denne øvelse bruge programmet Marvin Sketch til at undersøge stereoisomerien i glukose. Inden du laver opgaven, skal du have kendskab til, hvordan man tildeler stereoisomeri i et molekyle. Det er du blevet introduceret til via teori, som du har læst og gennemgået med din lærer:

- Åbn Marvin Sketch.
- Under menuen "insert" skal du vælge "Template" og finde glukose – her kan du arbejde med  $\alpha$  – D – glukose.
- Få strukturen frem i skærbilledet ved at klikke på den side, som du har åbnet – så indsættes din skabelon automatisk.
- Under menuen "View" skal du nu klikke på "stereo" – dernæst på "R/S labels" og til slut "All possible".
- Nu kan du se, hvordan der ved de forskellige chirale C-atomer tildeles stereoisomer – en S eller R.

Vælg et C-atom ud og undersøg, om du er enig i den tildelte isomeri. Argumenter for, hvorfor du er enig eller uenig og diskuter med din sidemakker, om I er enige.



### Forberedelse til modul 3:

Læs side 20-21 i undervisningsmaterialet på <https://beerzymes.dk/wp-content/uploads/2021/08/Beerzymes-undervisningsmateriale.pdf>

## Modul 3 – Opbygning af carbohydrater (disaccharider og polysaccharider)

### Materiale til undervisningen på skolen

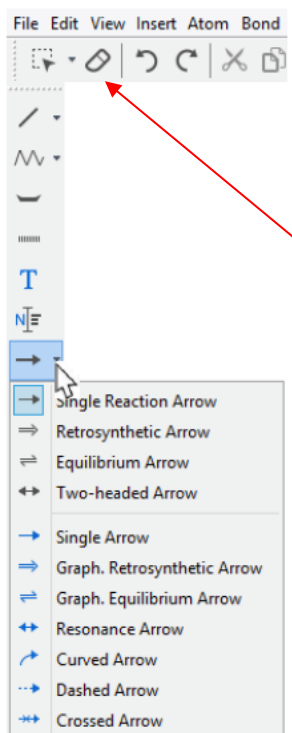
#### Opgave 3: Kondensationsreaktion og hydrolyse (anvendelse af Marvin Sketch)

I denne opgave skal du anvende programmet Marvin Sketch til at illustrere:

- en kondensationsreaktion mellem glukose og fruktose
- en hydrolyse af maltotriose

For at kunne løse opgaven skal du have kendskab til opbygningen af glukose, fruktose, maltotriose og maltose. Desuden skal du kende de engelske navne for molekylerne, da Marvin Sketch bruger engelske navne.

- Åbn Marvin Sketch.
- Under menuen "Structure" skal du vælge "Name to structure", og så skal du indskrive navnene på de molekyler, der indgår som reaktanter og produkter i reaktionen. Navnene adskilles med semikolon i skrivefeltet. Når du har skrevet navnene ind, adskilt af semikolon, trykkes på "importer" – tryk *ikke* Enter, da det giver en fejlmelding.
- Placer nu molekylerne, så reaktanterne står til venstre i skærbilledet, og produkterne står til højre i skærbilledet. Indsæt dernæst en reaktionspil mellem reaktanter og produkter. Du finder den, som vist i figuren nedenfor. Vælg blot reaktionspilen "Single Reaction Arrow". Du vil nu se, at reaktanter adskilles med et +, og det samme gør produkterne.



- d) Vælg alle molekylerne ved at bruge værktøjet markeret med rød pil.
- e) Du kan nu bede om at få vist molekylerne på forskellige måder. F.eks. kan du ved at gå ind under menuen "View" vælge at få vist alle H-atomer i strukturen ved at vælge "Implicit Hydrogens" og så vælge f.eks. "On all".
- f) Dernæst kan du vælge under menuen "Structure" at få ordnet dine strukturer – vælg "Clean Structure in 2D".
- g) Indsæt dine reaktioner her. Du kan tage skærmbilleder fra Marvin og indsætte:
- kondensationsreaktion af glukose og fruktose
  - hydrolyse af maltotriose

### Forberedelse til modul 4 og 5:

Læs øvelsesvejledningen til "Eksperiment 2 – Påvisning af funktionelle grupper i carbohydra-ter", s. 36 og lav flowchart over forsøgets forløb.

## Modul 4 og 5 – Opbygning af carbohydrater (funktionelle grupper)

### Eksperimenter:

- Eksperiment 2 – Påvisning af funktionelle grupper i carbohydrater (side 36).
- Udfylde laboratorieprotokol (skabelon side 29).

### Forberedelse til modul 6:

Læs følgende afsnit på denne hjemmeside: [DTU Biotech Academys undervisningsmateriale](#)

- Under overskriften TEORI – ”Fra malt til urt”.
- Under overskriften FORSØG – læs vejledningen til Øvelse 2 ”Påvisning af Sucraseaktivitet” igennem og se videoen ”[Gæren i øllet](#) – sukraseaktivitet”.

## Modul 6 – Processer før ølbrygningen

### Materiale til undervisningen på skolen

I dette modul arbejder I med enzymer – herunder struktur, bindingslomme og temperaturafhængighed.

Bioinformatikopgaver PDB, NCBI og UGENE

Når I arbejder med opgaverne, så sørg for at gemme jeres arbejde undervejs. I skal kunne præsentere det mundtligt, og præsentationen skal understøttes af Powerpoint-dias.

### PDB

#### Opgave 4: Sukrase fra *Saccharomyces cerevisiae* (almindeligt bagegær)

Åbn Protein Data bank (PDB) i din browser: <https://www.rcsb.org/>.

Find denne struktur: 4EQV

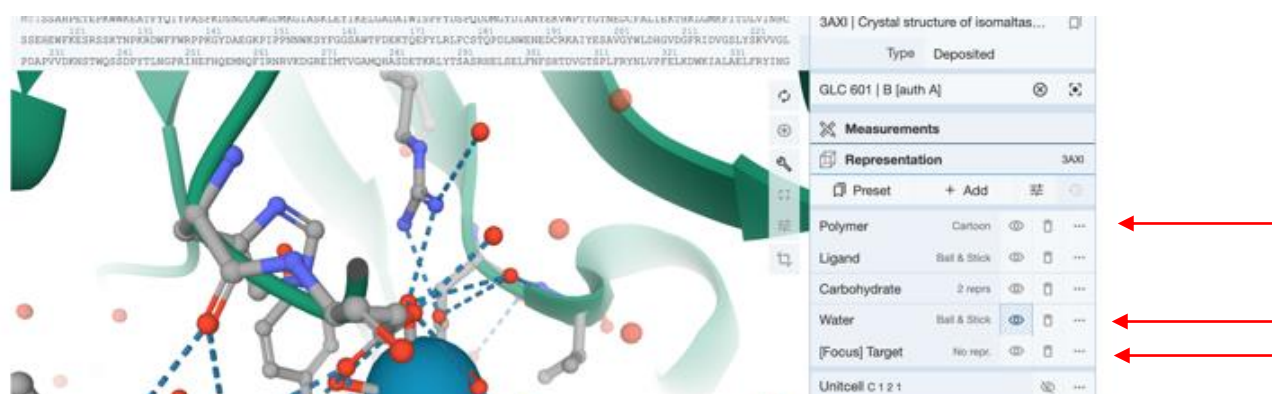
- Hvilket protein er der tale om?
- Hvilket ekspressionssystem er anvendt?
- Hvad er molekylvægten i kDa for enzymet?
- Hvilken enzymklasse hører enzymet ind under? Opskriv reaktionen som enzymet katalyserer – angiv både reaktionsskemaet med molekylformler og strukturformler.
- Redegør for opbygningen af enzymets primære, sekundære, tertiære og kvaternære struktur. Inddrag visualiseringsværktøjet 3D View og dokumenter på figurer, hvad du redegør for. Indsæt dine figurer her. Lav en kort figurtekst til de figurer, som du har valgt at medtage i din redegørelse.

#### Opgave 5: Isomaltase fra *Saccharomyces cerevisiae* i kompleks med $\alpha - D - \text{glukose}$

Åbn Protein Data bank (PDB) i din browser: <https://www.rcsb.org/structure/3A4A>.

Find denne struktur: 3A4A

- Hvilket protein er der tale om?
- Hvilket ekspressionssystem er anvendt?
- Hvad er molekylvægten i kDa for enzymet?
- Hvilken enzymklasse hører enzymet ind under? Opskriv reaktionen som enzymet katalyserer – angiv både reaktionsskemaet med molekylformler og strukturformler.
- Redegør for enzymets opbygning. I din redegørelse skal du komme ind på enzymets primære, sekundære og tertiære struktur og også finde frem til, hvad der udgør enzymets bindingslomme, samt hvilke katalytiske aminosyrer man har kendskab til for enzymet. For at kunne svare på opgaven skal du både bruge 3D view samt læse Pubmed Abstractet – indsat nedenfor. For at visualisere vekselvirkningen kan du f.eks. vælge en repræsentation, der viser non-kovalente bindinger – der er også andre muligheder. Prøv dig lidt frem ved at bruge mulighederne, der er vist med røde pile i Figur 1. Der er mange forskellige, der kan afprøves. Start med at klikke på de tre prikker og prøv dig frem.



Figur 1

- Enzymet binder naturligvis dets substrat, men bindingslommen indeholder også en slags kæder for vandmolekyler. Hvilken rolle menes disse kæder af vandmolekyler at spille?

### PubMed Abstract

*The structures of isomaltase from *Saccharomyces cerevisiae* and in complex with maltose were determined at resolutions of 1.30 and 1.60 Å, respectively. Isomaltase contains three domains, namely, A, B, and C. Domain A consists of the (β/α)<sub>8</sub>-barrel common to glycoside hydrolase family 13. However, the folding of domain C is rarely seen in other glycoside hydrolase family 13 enzymes. An electron density corresponding to a nonreducing end glucose residue was observed in the active site of isomaltase in complex with maltose; however, only incomplete density was observed for the reducing end. The active site pocket contains two water chains. One water chain is a water path from the bottom of the pocket to the surface of the protein, and may act as a water drain during substrate binding. The other water chain, which consists of six water molecules, is located near the catalytic residues Glu277 and Asp352. These water molecules may act as a reservoir that provides water for subsequent hydrolytic events. The best substrate for oligo-1,6-glucosidase is isomaltotriose; other, longer-chain, oligosaccharides are also good substrates. However, isomaltase shows the highest activity towards isomaltose and very little activity towards longer oligosaccharides. This is because the entrance to the active site pocket of isomaltose is severely narrowed by Tyr158, His280, and loop 310-315, and because the isomaltase pocket is shallower than that of other oligo-1,6-glucosidases. These features of the isomaltase active site pocket prevent isomalto-oligosaccharides from binding to the active site effectively.*

### Eksperimenter:

- Fællesforsøg med påvisning af sukraseaktivitet Øvelse 2 i DTU's undervisningsmateriale (evt. i kombination med Øvelse 3, hvis læreren vælger, at I både skal prøve det på gær og sukker samt på øl).
- Udfyld laboratorieprotokol (side 29).

### Forberedelse til modul 7:

Læs følgende afsnit på denne hjemmeside: [DTU Biotech Academys undervisningsmateriale](#)

- Under overskriften TEORI – ”Gærsvampe”.
- Under overskriften FORSØG – læs vejledningen til Øvelse 4 ”Rendyrkning af gær”
- Se videoen ”[Gæren i øllet](#) – renstrygning”.

## Modul 7 – Processer før ølbrygningen og gær

### Materiale til undervisningen på skolen

I dette modul arbejder I med: Livscyklus, overgær og undergær.

#### Ekspirerter:

- Elevforsøg: Gæren i øllet – renstrygning (dag 1).
- Mikroskopi af gærceller – kvalitativt.
- Udfyld laboratorieprotokol (skabelon side 29).

#### Forberedelse til modul 8:

Læs side 35: Tabel 2, der opsummerer forskellene mellem undergær og overgær i <https://beeryzymes.dk/wp-content/uploads/2021/08/Beerzymes-undervisningsmateriale.pdf>

På Videnskab.dk <https://videnskab.dk/kultur-samfund/skaal-oellets-historie-staar-skrevet-i-gaers-dna>, læs artiklen: ”Skål! Øllets historie står skrevet i gærs DNA”.

## Modul 8 – Gær

### Materiale til undervisningen på skolen

I dette modul arbejder I med *Saccharomyces cerevisiae* og *Saccharomyces carlsbergensis*, MEL-gener.

I skal se filmen "It all comes from beer" <https://filmcentralen.dk/museum/danmark-paa-film/film/it-all-comes-beer>.

### NCBI og Ugene

#### Opgave 6: Isomaltase fra *Saccharomyces cerevisiae*

Gå ind på <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>.

Under "All databases" skal du vælge "Nucleotide".

I nukleotiddatabasen skal du søge efter en nukleotidsekvens fra *Saccharomyces cerevisiae* for enzymet *oligo – 1,6 – glucosidase*.



I Figur 2 nedenfor er vist, hvordan du finder sekvensen.

I søgefeltet skriver du "Oligo-1,6-glucosidase IMA1" og trykker på "Search".

Efterfølgende vælger du at klikke på *Saccharomyces cerevisiae* (se rød pil på Figur 2), så du målretter din søgning til kun at være fra denne organisme.



The screenshot shows the NCBI Nucleotide search interface. The search bar contains "Oligo-1,6-glucosidase IMA1". Below the search bar, there is a red banner with COVID-19 information. The main results area shows "Items: 1 to 20 of 149". Two items are listed, both for *Saccharomyces cerevisiae*. On the right side, there is a "Results by taxon" section with a "Top Organisms [Tree]" list. The first item in this list is "Saccharomyces cerevisiae (84)", which is highlighted with a red arrow.

Figur 2

Dernæst vælger du at klikke på det hit, der hedder "Saccharomyces cerevisiae S288C oligo-1,6-glucosidase IMA1 (IMA1) partial mRNA" (se rød pil på figur 3).

The screenshot shows a GenBank search interface. At the top, the search query is "(Oligo-1,6-glucosidase IMA1) AND "Saccharomyces cerevisiae"[porgn:\_txid4932]". Below the search bar, there is a COVID-19 information banner. The main content area displays search results for "Items: 1 to 20 of 84". The results are listed as follows:

1. [Saccharomyces cerevisiae DNA, contig: contig01, whole genome shotgun sequence](#)  
1,493,749 bp linear DNA  
Accession: BEGW01000001.1 GI: 1238277780  
[Assembly](#) [BioProject](#) [BioSample](#) [Protein](#) [Taxonomy](#)  
[GenBank](#) [FASTA](#) [Graphics](#)
2. [Saccharomyces cerevisiae DNA, contig: contig03, whole genome shotgun sequence](#)  
1,065,895 bp linear DNA  
Accession: BEGW01000003.1 GI: 1238276793  
[Assembly](#) [BioProject](#) [BioSample](#) [Protein](#) [Taxonomy](#)  
[GenBank](#) [FASTA](#) [Graphics](#)
3. [Saccharomyces cerevisiae strain GLBRCY22-3 chromosome VII, whole genome shotgun sequence](#)  
1,119,015 bp linear DNA  
Accession: LBMA01000007.1 GI: 1023943730  
[BioProject](#) [BioSample](#) [Protein](#) [Taxonomy](#)  
[GenBank](#) [FASTA](#) [Graphics](#)
4. [Saccharomyces cerevisiae S288C oligo-1,6-glucosidase IMA1 \(IMA1\).partial mRNA](#)  
1,770 bp linear mRNA  
Accession: NM\_001181416.3 GI: 398366422  
[BioProject](#) [Protein](#) [PubMed](#) [Taxonomy](#)  
[GenBank](#) [FASTA](#) [Graphics](#)
5. [Saccharomyces cerevisiae strain CEN.PK113-7D alpha 1,6-glucosidase \(IMA1\) gene, complete cds](#)

A red arrow points to the fourth result. On the right side of the page, there are sections for "Results by taxon" (Saccharomyces cerevisiae (84)), "Find related data", "Search details" (showing the search query), and "Recent activity" (listing recent searches).

Figur 3

Der kommer nu et skærbillede frem, der ser således ud, hvor du klikker på "FASTA" (se rød pil i Figur 4).



GenBank Send to: ▾

**Saccharomyces cerevisiae S288C oligo-1,6-glucosidase IMA1 (IMA1), partial mRNA**

NCBI Reference Sequence: NM\_001181416.3

[FASTA](#) [Graphics](#)

**Go to:**  [FASTA](#)

**LOCUS** NM\_001181416 1770 bp mRNA linear PLN 01-NOV-2019

**DEFINITION** Saccharomyces cerevisiae S288C oligo-1,6-glucosidase IMA1 (IMA1), partial mRNA.

**ACCESSION** NM\_001181416

**VERSION** NM\_001181416.3

**DBLINK** BioProject: [PRJNA128](#)

**KEYWORDS** RefSeq.

**SOURCE** Saccharomyces cerevisiae S288C

**ORGANISM** [Saccharomyces cerevisiae S288C](#)  
Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Saccharomycotina;  
Saccharomycetes; Saccharomycetales; Saccharomycetaceae;  
Saccharomyces.

**REFERENCE** 1 (bases 1 to 1770)

**AUTHORS** Tettelin,H., Agostoni Carbone,M.L., Albermann,K., Albers,M., Brown,J., Barchiesi,F., Barreira,T., Bertani,F., Briones,J.J.

**Change region shown**

**Customize view**

**Analyze this sequence**

Run BLAST

Pick Primers

Highlight Sequence Features

Find in this Sequence

Show in Genome Data Viewer

**Articles about the IMA1 gene**

Global analysis of genetic circuitry and mechanisms enabling resistance to [PLoS Gen

The Chromatin Remodeler ISW1 is a Quasi-Control Factor that Surveys Nuclear [Ci

A global genetic interaction network maps

Figur 4

Du kan nu downloade nukleotidsekvensen i formatet "FASTA" ved at klikke på "Send to" (se Figur 5) og så vælge formatet FASTA. Navngiv din fil, så du kan huske, hvad sekvensen hedder.

The screenshot shows the NCBI GenBank interface for the sequence NM\_001181416.3. The title is "Saccharomyces cerevisiae S288C oligo-1,6-glucosidase IMA1 (IMA1) mRNA". The "Send to" dropdown menu is open, showing options like "Complete Record", "Coding Sequences", "Gene Features", "File", "Clipboard", "Collections", and "Analysis Tool". The "File" option is selected, and the "Format" dropdown is set to "FASTA". A "Create File" button is visible at the bottom of the menu. The main sequence text is partially visible, starting with ">NM\_001181416.3 Saccharomyces cerevisiae S288C oligo-1,6-glucosidase IMA1 (IMA1), partial mRNA".

Figur 5

Du skal nu bruge programmet Ugene til at kigge lidt nærmere på sekvensen.

Åbn programmet, og åbn dernæst din FASTA-fil.

Find ud af ved at klikke på histogram-ikonet til højre i skærbilledet (se Figur 6):

- Hvor mange nukleotider består filen af?
- Hvad er GC-indholdet?
- Hvordan er den procentvise fordeling af ACGT?
- Få vist komplementærstrengen ved at klikke på bogstavet C (se grøn pil).



Figur 6

Ved at klikke på T lige nedenfor (se blå pil) kan man få translateret sekvensen til aminosyrer, se figur 7. Du skal blot efter at have valgt "Translate selection" højreklikke på selve sekvensen og dernæst vælge "Select sequence region" og sætte denne til Max. Så får du et overblik over aminosyre-sammensætningen af enzymet.



Figur 7

Kopier aminosyresekvensen og indsæt den her. Find også ud af noget statistik (ved at bruge histogram-værktøjet i Ugene) om din oversatte aminosyresekvens og indsæt det her.

Sammenlign med den oprindelige sekvens, der kan findes på NCBI's side, når du scroller lidt ned over siden (vist i figur 8). Du kan kopiere aminosyresekvensen herfra og indsætte i Ugene. Så kan du lave statistik på denne aminosyresekvens også ved at bruge histogram-værktøjet i Ugene. På den måde kan du sammenligne de to sekvenser.

GenBank Send to: -

**Saccharomyces cerevisiae S288C oligo-1,6-glucosidase IMA1 (IMA1), partial mRNA**

NCBI Reference Sequence: NM\_001181416.3  
[FASTA](#) [Graphics](#)

---

Go to: ☺

LOCUS NM\_001181416 1770 bp mRNA linear PLN 01-NOV-2019  
 DEFINITION Saccharomyces cerevisiae S288C oligo-1,6-glucosidase IMA1 (IMA1), partial mRNA.  
 ACCESSION NM\_001181416  
 VERSION NM\_001181416.3  
 DELINK BioProject: [PRJNA128](#)  
 KEYWORDS RefSeq.  
 SOURCE Saccharomyces cerevisiae S288C  
 ORGANISM [Saccharomyces cerevisiae S288C](#)  
 Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Saccharomycotina;

Figur 8

## PDB, BLAST og Ugene

### Opgave 7: Alfa-galactosidase (MEL1) fra *Saccharomyces cerevisiae*

Åbn Protein Data Bank (PDB) i din browser: <https://www.rcsb.org/>.

Find disse 2 strukturer: 3LRL og 3LRK – hvad er forskellen på dem?

- Hvilken enzymklasse hører enzymet til, og hvilken reaktion katalyseres af enzymet?
- Redegør for opbygningen af enzymet i forhold til primær, sekundær og tertiær struktur – herunder også for hvad en alpha/beta (8) barrel er, og hvad en beta-sandwich er. Her vil et Wikipedia-opslag hjælpe dig. Så kan du evt. kigge nærmere på kilderne til Wikipedia-opslaget, hvis du ønsker at gå mere i dybden:

[https://en.wikipedia.org/wiki/TIM\\_barrel](https://en.wikipedia.org/wiki/TIM_barrel)

<https://en.wikipedia.org/wiki/Beta-sandwich>

- c) Find ud af, hvilke annotationer der er tildelt enzymet. Her skelnes mellem domæne-annotationer, proteinfamilie-annotationer og genprodukt-annotationer.
- d) Under fanen ”Sequence” kan du danne dig et overblik over, hvordan sekundærstrukturen ser ud i forhold til procentvis fordeling af alpha-helix og betafoldeblade. Angiv procentsatserne for  $\alpha$  – helix og betafoldeblad.
- e) Visualiser, hvordan enzymet bindes til substratet. I dette tilfælde er substratet melibiose. Brug 3D View til at finde vekselvirkningen med substratet.
- f) Opskriv reaktionen som enzymet katalyserer. Angiv både reaktionskemaet med molekylformler og strukturformler. Hvorfor kan det være en fordel for gærcellerne at have mulighed for at katalysere denne reaktion?
- g) Orienter dig i nedenstående abstract (se Figur 9) fra artiklen ”MEL Gene Polymorphism in the Genus *Saccharomyces*”. Hvad er hovedpointerne i undersøgelsen? (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC182329/pdf/aem00037-0290.pdf>)

APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, Aug. 1993, p. 2622–2630  
0099-2240/93/082622-09\$02.00/0  
Copyright © 1993, American Society for Microbiology

Vol. 59, No. 8

## MEL Gene Polymorphism in the Genus *Saccharomyces*

HILKKA TURAKAINEN,<sup>1</sup> SIRPA AHO,<sup>2</sup> AND MATTI KORHOLA<sup>2\*</sup>

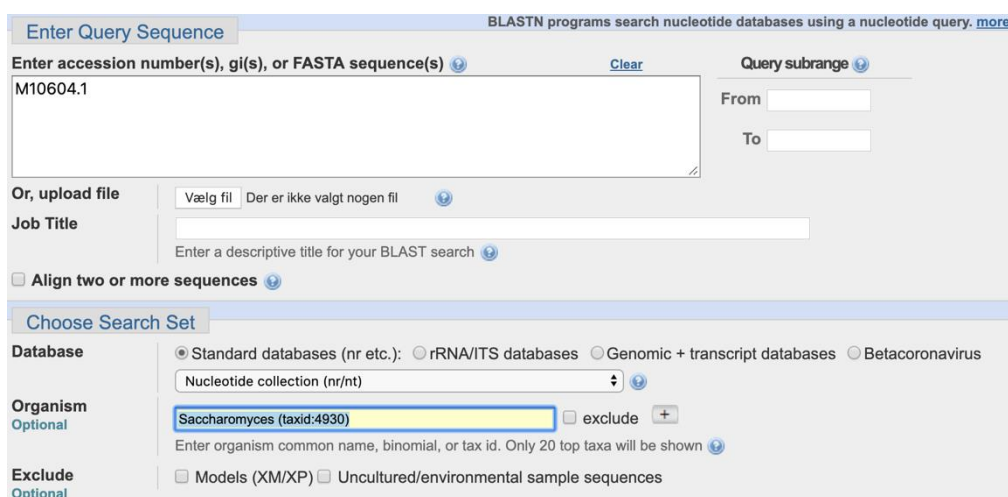
Department of Genetics, University of Helsinki, SF-00100 Helsinki,<sup>1</sup> and Research Laboratories, Alko Ltd., P.O. Box 350, SF-00101 Helsinki,<sup>2</sup> Finland

Received 10 February 1993/Accepted 11 May 1993

In *Saccharomyces* spp. the ability to use melibiose depends on the presence of a *MEL* gene encoding  $\alpha$ -galactosidase. We used two cloned *MEL* genes as probes to characterize the physical structure and chromosomal location of the *MEL* genes in several industrial and natural Mel<sup>+</sup> strains of *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces pastorianus*, and *Saccharomyces bayanus*. Electrokarotyping showed that all of the *S. pastorianus* strains and most of the *S. bayanus* strains studied had one *MEL* locus. The *MEL* gene in *S. bayanus* strains was similar but not identical to the *S. pastorianus MEL* gene. Mel<sup>+</sup> *S. cerevisiae* strains had one to seven loci containing *MEL* sequences. The *MEL* genes of these strains could be divided into two categories on the basis of hybridization to *MEL1*, one group exhibiting strong hybridization to *MEL1* and the other group exhibiting weak hybridization to *MEL1*. In *S. pastorianus* and *S. bayanus* strains, the *MEL* gene was expressed as a single 1.5-kb transcript, and the expression was galactose inducible. In some *S. cerevisiae* strains, the *MEL* genes were expressed even without induction at fairly high levels. Expression was usually further induced by galactose. In two strains, CBS 5378 and CBS 4903, expression of the *MEL* genes was at the same level without induction as it was in most other strains with induction. In all *S. cerevisiae* strains, irrespective of the number of *MEL* genes, mRNA of only one size (1.6 kb) was observed.

Figur 9: Abstract til artiklen ” MEL Gene Polymorphism in the Genus *Saccharomyces*”

- h) Find nukleotidsekvensen for Yeast (*S.carlsbergensis*) MEL1 (alpha-galactosidase) gene, complete cds, GenBank: M10604.1, og lav en BLAST på sekvensen. Fokuser din BLAST til kun at omhandle "Saccharomyces (taxid:4930)" – vælg dette under "organism" (se Figur 10a). Du kan også vælge helt specifikke stammer af *Saccharomyces* (se Figur 10b).



Enter Query Sequence BLASTN programs search nucleotide databases using a nucleotide query. [more](#)

Enter accession number(s), gi(s), or FASTA sequence(s) Clear

M10604.1

Query subrange

From

To

Or, upload file  Der er ikke valgt nogen fil

Job Title

Enter a descriptive title for your BLAST search

Align two or more sequences

Choose Search Set

Database

Standard databases (nr etc.):  rRNA/ITS databases  Genomic + transcript databases  Betacoronavirus

Nucleotide collection (nr/nt)

Organism Optional

Saccharomyces (taxid:4930)  exclude

Enter organism common name, binomial, or tax id. Only 20 top taxa will be shown

Exclude Optional

Models (XM/XP)  Uncultured/environmental sample sequences

Figur 10a



Figur 10b

- i) Når din BLAST kommer frem, så vælg sekvenser ud for relevante stammer. Prøv at finde dem, som artiklen refererer til. Download sekvenserne i FASTA-format.
- j) Du skal nu bruge programmet Ugene til at kigge lidt nærmere på sekvenserne, og hvordan de adskiller sig fra hinanden. Åbn programmet og åbn dernæst din FASTA-fil. Husk at vælge "Join sequences into alignment", når du indlæser filerne. Vælg dernæst at aligne dem ved at bruge værktøjet MAFFT.
- k) Redegør for forskelle sekvenserne imellem. Hvad kan forskellene skyldes?

### **Eksperimenter i dette modul:**

Elevforsøg:

- Gæren i øllet – renstrygning (dag 2).
- Udfylde laboratorieprotokol (skabelon side 29).

### **Forberedelse til modul 9:**

Læs følgende afsnit på denne hjemmeside: [DTU Biotech Academys undervisningsmateriale](#)

- Under overskriften TEORI – ”Gæring”.

## Modul 9 – Gæring

### Materiale til undervisningen på skolen

I dette modul arbejder I med: Nedbrydning af sukre, dannelse af alkohol, biprodukter, modning, tapning og kvalitet.

Eksperimenter i dette modul:

- Gæren i øllet – renstrygning (dag 3).
- Udfylde laboratorieprotokol (skabelon side 29).

### Forberedelse til modul 10:

Læs grundopskrift til ølbrygning grundigt igennem ("Eksperiment 3 – Bryg din egen ale", side 41) og færdiggør alle laboratorieprotokoller fra de tidligere udførte eksperimenter.

## **Modul 10 – Ølbrygning**

### **Arbejde på skolen**

I dette modul skal I lave en brainstorm i forhold til smag og etiket til jeres øl.

I samler op på de opgaver, som I har lavet igennem undervisningsforløbet og taler om posterarbejdet, som I skal arbejde med i den afsluttende opgave efter bryggeribesøget (se den afsluttende opgave side 45).

### **Forberedelse til modul 11:**

Genlæs grundopskrift på øl ("Eksperiment 3 – Bryg din egen ale", side 41).

## **Modul 11 og 12 – Ølbrygning i praksis**

### **Arbejde på skolen**

I Modul 11 og 12 forbereder I jer på jeres besøg på et bryggeri og planlægger det efterfølgende posterarbejde. Endvidere går klassen i gang med at brygge øl.

# Eksperimentelle undersøgelser

## Skabelon til laboratorieprotokol

Dato:

Forsøg:

### Hvad har I lavet i dag?

Skriv en kort tekst om, hvad I har foretaget jer i laboratoriet i dag, og indsæt billeder af jeres arbejde i laboratoriet her.

### Afvielser:

Er der afvielser i forhold til forsøgsvejledningen? – Hvis ja, hvilke:

# Eksperiment 1: Gæring af sukker

*Vejledningen er udarbejdet af lærer Dorte Kühnau, Virum Gymnasium*

## Formål:

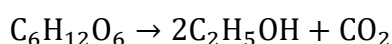
Ud fra almindeligt sukker (saccharose) skal vi producere ethanol ved hjælp af bagegær (*Saccharomyces cerevisiae*).

Efterfølgende skal vi bestemme mængden af dannet ethanol, destillere opløsningen og bestemme ethanolindholdet i destillatet.

Reaktionerne der foregår sandsynliggøres bl.a. ved at påvise CO<sub>2</sub>, glukose og ethanol.

## Teori:

Glukose kan under indvirkning af (bage)gær nedbrydes til ethanol:



Ved hydrolyse af saccharose, der er det sukker, som vi alle kender fra dagligdagen, dannes glukose og fruktose. Denne reaktion katalyseres af enzymet sukrase (også kaldet saccharase eller invertase), som gær danner i tilstedeværelsen af saccharose. Sukrase udskilles ekstracellulært, det vil sige, at saccharose nedbrydes enzymatisk til glukose og fruktose, før det optages af gær-cellen:

Sukraseaktiviteten kan påvises ved tilstedeværelse af glukose og måles ved hjælp af glukosesticks. Fruktose omlægges til glukose i gærcellerne.

Da gæringen er en biologisk proces, tager det en uges tid. Derefter destilleres det gærede materiale. Ethanol har lavere kogepunkt end vand, så det vil fordampe først. Dampene fortættes i kølerøret, og den fortættede væske ledes ned i en anden kolbe. Væsken heri har nu meget større indhold af ethanol end den oprindelige væske. Desuden er væsken fri for sukkerrester, gærrester og andre urenheder.

En destillation laver man for at adskille to eller flere væsker. Hvis væskerne har forskellige kogepunkter, vil væsken med det laveste kogepunkt fordampe, før de andre væsker gør det.

Ethanol-indholdet bestemmes ved først at finde massefylden (densiteten) i gram pr. ml for destillatet. Derefter kan vægtprocenten (gram alkohol pr. 100 gram væske) bestemmes ud fra en standardkurve.

En standardkurve kan tegnes ud fra et udleveret datamateriale – i dette tilfælde densiteten af vand/ethanol-blandingen ved forskellige koncentrationer (masseprocent) ethanol.

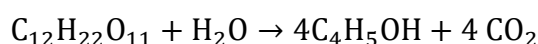
Af dette materiale fremgår det, at massefylden af væsken afhænger af koncentrationen af ethanol.

Da massefylden for vand er ca. 1 g/ml, og massefylden for ethanol er 0.789 g/ml, falder massefylden af en blanding af ethanol og vand som en funktion af alkoholkoncentrationen.

Ud fra denne standardkurve kan man altså direkte aflæse masseprocenten for destillatet. Man vil ikke kunne opnå en masseprocent på meget mere end 12-14 pct.

Derfra kan man regne sig frem til massen af ethanol i destillatet og den samlede produktion i gæringskolben.

Ved hjælp af stofmængdeberegninger på nedenstående reaktion kan man også beregne udbyttet (den procentvise effektivitet) af gæringen i forhold til det teoretiske udbytte:



Det er altid relevant at kontrollere, om den reaktion, man regner med er foregået, virkelig har fundet sted. I dette tilfælde er det altså  $CO_2$  og ethanol, som vi skal teste for.

$CO_2$  danner bundfald ved kontakt med mættet kalkvand,  $Ca(OH)_2$ .

Hydroxygruppen (-OH) i den primære alkohol ethanol reducerer det violette  $MnO_4^-$  til farveløst  $Mn^{2+}$  (evt. også brunsten,  $MnO_2$ ) i en sur opløsning.

## Materialer:

Til del 1a) Påvisning af glukose og carbondioxid

- Sukker, gær, demineraliseret vand, mættet  $Ca(OH)_2$  opløsning, glukose sticks, konisk kolbe 250 ml, prop med hul, glastrør, gummislange og bægerglas 50 ml.

Til del 1b) Gæringsforsøg samt påvisning af ethanol

- Sukker, gær, demineraliseret vand, konisk kolbe 500 ml, gæringsrør, pimpsten, en vægt tilsluttet computer, 0,02M  $KMnO_4$ , 1M  $H_2SO_4$ , pipette, pipettebold, destillationsudstyr, varmekappe og reagensglas.

## Udførelse af Eksperiment 1: Gæring af sukker

### 1a Påvisning af glukose og carbondioxid

- Hæld 25 ml mættet  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  i et bægerglas, og lav en opstilling som den ovenfor skitserede.
- Hæld 25 g sukker i en konisk kolbe. Tilsæt 125 ml vand. Test for glukose ved hjælp af glukose sticks.
- Tilsæt 10 g gær (opslemmet i lidt vand).
- Omrør og test igen for glukose.
- Sæt prop i kolben, og forbind den ved hjælp af glasrør og gummislange, så dannede luftarter bobler igennem  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -opløsningen ( $\text{CO}_2$  reagerer med  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  og danner tungtopløseligt  $\text{CaCO}_3$ . Hvis der så dannes bundfald, er det bevis på dannelsen af  $\text{CO}_2$  i gæringskolben og en indikation på dannelsen af ethanol).

### 1b Gæringsforsøg samt påvisning af ethanol

- Forbind computer med vægt og åbn Logger Pro. Indstil prøvetagning, så du måler i alt i 84 timer og tager en prøve to gange i timen, det vil sige hver  $\frac{1}{2}$  time.
- Hæld 50 g sukker i den koniske kolbe. Tilsæt 250 ml demineraliseret vand og 10 g gær (opslemmet i lidt vand).
- Sæt gæringsrør i kolben.
- Sæt kolben på vægten og start målingen (vægt som funktion af tid – vi måler hver  $\frac{1}{2}$  time)
- Lad opstillingen stå lunt til næste forsøgsgang.

Næste forsøgsgang gør I følgende:

- a) Bestem volumen i gæringskolben (det vil sige mål i et måleglas).

$V(\text{gæringskolbe}) = \underline{\hspace{2cm}}$

- b) Med en pipette med pipettebold udtages præcis 50,0 ml af det gærede materiale fra kolben til destillation. Tilsæt eventuelt lidt pimpsten (hindrer stødkogning). Benyt varmekappe til at opvarme det med, da ethanol er brandfarligt, og vi herved undgår åben ild. Vej først det tomme glas, som du vil destillere din alkohol over i.

$m(\text{bægerglas, uden destillat}) = \underline{\hspace{2cm}}$



- c) Under destillationen holdes dampenes temperatur på ca. 80°C – alkohols kogepunkt. Når alt alkohol er fordampet, stiger temperaturen til vands kogepunkt (100°C). Fortsæt herefter destillationen til ca. det dobbelte volumen er opnået. Bestem massen (og volumen, hvis der skal laves enzymatisk ethanolbestemmelse) af det samlede destillat (målt i måleglas).

$$m(\text{bægerglas med destillat}) = \underline{\hspace{2cm}}$$

$$V(\text{destillat}) = \underline{\hspace{2cm}}$$

- d) Vej et lille bægerglas. Med finpipette udtages 5,0 ml af destillatet og kommes i bægerglasset. Vej dette. Nu kan densiteten (massefylden) udregnes.

$$m(\text{bægerglas u. 5 ml destillat}) = \underline{\hspace{2cm}}$$

$$m(\text{bægerglas m. 5 ml destillat}) = \underline{\hspace{2cm}}$$

- e) Påvis tilstedeværelsen af ethanol ved at reducere det violette  $\text{MnO}_4^-$  til farveløst  $\text{Mn}^{2+}$  (evt. også brunsten,  $\text{MnO}_2$ ) i en sur opløsning. Et farveskifte indikerer tilstedeværelsen af en primær alkohol, der under reaktionen oxideres.

- Fyld et reagensglas ca.  $\frac{1}{3}$  op med destillat.
- Tilsæt ca. 1 cm 1M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  og 1-2 dråber 0,2 M  $\text{KMnO}_4$ .
- Opvarm det derefter moderat over en bunsenbrænder. Hold ikke direkte på reagensglasset, men brug en læderstrop. Bevæg reagensglasset i flammen, så glasset (og væsken) ikke bliver for varmt enkelte steder, men så varmen fordeles jævnt. Affarvning af den violette kaliumpermanganat viser, at der er reducerende OH-grupper tilstede.
- Observer forsøget, tag billeder af dit forsøg for at kunne dokumentere, om du har påvist ethanol.

### Resultater:

Alle data præsenteres overskueligt. Lav desuden en graf, der viser masse som funktion af tiden.

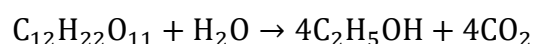
### Efterbehandling:

Datasættet nedenfor viser sammenhængen mellem densitet og koncentration af ethanol. Lav en standardkurve over densiteten som funktion af masseprocent ethanol (g pr. 100 g væske).

Densitet (g/ml)	C <sub>masse</sub> %
0.99823	0
0,99275	3,0
0,98938	5,0
0,98478	8,0
0,98187	10,0
0,97514	15,0
0,96997	20,0
0,96168	25,0
0,95382	30,0
0,94494	35,0
0,93518	40,0
0,92472	45,0
0,91384	50,0
0,89113	60,0

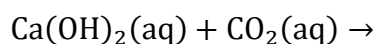
Brug standardkurven til at aflæse masseprocenten for jeres destillat:

- Beregn massen af ethanol, der alt i alt er i *destillatet*. Antag, at al den ethanol, der var i de 50 ml, som I destillerede på, er destilleret fra gæringskolben og over i destillatet.
- Beregn massen af ethanol i gæringskolben (før I destillerede).
- Beregn nu massen af ethanol, der er dannet i gæringskolben ud fra kurven over massetab som funktion af tiden.
- Sammenlign de to masser og kommenter jeres resultat.
- Beregn massen af ethanol, som I teoretisk kunne have opnået, hvis alt sukker var omdannet til alkohol. Hvad er udbyttet i procent af det teoretiske? Brug dette reaktionsskema til mængdeberegningerne:

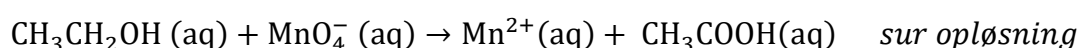


- Kommenter dine resultater.
- Beskriv din kurves udseende og forklar, hvorfor den ser ud, som den gør.

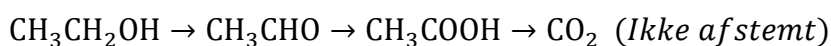
- h) Afstem fældningsreaktionen med mættet kalkvand, og CO<sub>2</sub>. CO<sub>2</sub> vil i vandige opløsninger reagere med vand til kulsyre H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Prøv at forudsige, hvad reaktionens produkter bliver.



- i) Afstem redoxreaktionen:



- j) Giv en oversigt over indikationer på, at der er dannet alkohol ved gæringsreaktionen.  
 k) Ethanol nedbrydes/oxideres i kroppen gennem flere trin. De vigtigste er:



- l) Angiv strukturformler og systematisk navn for alle stofferne.  
 m) Hver reaktion i ovenstående reaktionsskema er speedet kraftigt op/katalyseret af enzymer.  
 n) Find navnene på de to enzymer, der katalyserer de første to omdannelser. Hvilken enzymklasse er der tale om?  
 o) Hvordan nedbrydes ethansyre?

Antabus (Disulfiram) er en dansk opfindelse. Det er et præparat, der hjælper alkoholikere til ikke at drikke. Hvis man har taget antabus, får man en forgiftningsreaktion med kraftigt ubehag osv., hvis man indtager selv den mindste mængde alkohol. Det aktive stof er en enzymhæmmer.

- p) Giv et bud på, hvordan antabus virker.  
 q) Find den kemiske strukturformel på disulfiram på internettet eller andet steds.

## Eksperiment 2: Påvisning af funktionelle grupper i carbohydrater

Vejledningen er oprindeligt udarbejdet af Henrik Parbo m.fl.: *Kend Kemien 2 Eksperimenter*.  
Revideret af lærer Dorte Kühnau, Virum Gymnasium.

### Formål:

At påvise indholdet af carbohydrater i forskellige øl.

### Introduktion:

Carbohydrater inddeles i mono-, di- og polysaccharider.

I vandig opløsning findes monosacchariderne hovedsageligt på ringform, nemlig som  $\alpha$ - og  $\beta$ -former. De indstiller sig i ligevægt med en kædeform, der enten optræder som et aldehyd, det vil sige som aldose, eller som en keton, det vil sige som ketose.

Disacchariders molekyler består af to ringe. I vandig opløsning indstiller nogle disaccharider sig i ligevægt med en struktur, hvor den ene ring har åbnet sig og dannet et aldehyd.

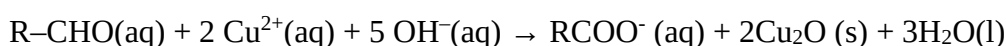
Polysaccharider, f.eks. stivelse, cellulose og pektin, omtales ikke i denne vejledning.

Drikkevarerne undersøges ved hjælp af to prøver: **Fehlings prøve** og **Seliwanoffs prøve**.

**Fehlings prøve** er en test for carbohydrater, der kan reducere kobber(II)ioner til kobber(I)ioner i basisk opløsning. Sådanne sukkerarter kaldes reducerende carbohydrater.

Fehlings væske indeholder kobber(II)ioner, der er bundet komplekst til tartrat. Herved undgås udfældning af tungtopløseligt kobber(II)hydroxid. To tartrationer bindes til en kobber(II)ion i komplekset. Reagensets kraftige blå farve skyldes dette tartratkompleks.

Aldehyder, R-CHO, reducerer  $\text{Cu}^{2+}$  i Fehlings væske til rødt kobber(I)oxid,  $\text{Cu}_2\text{O}$ :



blå opløsning

rødt bundfald

Fehlings væske er imidlertid ikke kun et reagens for aldehyder. Det giver også positiv reaktion med  $\alpha$ -hydroxyketoner, der delvist omdannes til aldehyder i basisk væske. Ved en  $\alpha$ -hydroxyketon menes en keton med en hydroxygruppe på nabo-C-atomet til carbonylgruppen.

**Seliwanoffs prøve** eller benzen-1,3-diol-reagens anvendes til at skelne aldoser fra ketoser, både som monosaccharider og i disaccharider. Reagenset indeholder phenolen benzen-1,3-diol (eller resorcinol) opløst i saltsyre.

Testen bygger på den kendsgerning, at ketoser dehydreres hurtigere end aldoser ved opvarmning.

Ved opvarmning og under sure betingelser vil poly- og disaccharider hydrolyseres til monosaccharider, og ketosen vil afgive tre molekyler vand. Den dehydrerede ketose reagerer med benzen-1,3-diol i en kondensationsreaktion, og der dannes en kirsebærrød forbindelse i løbet af et par minutter.

Aldoser giver negativ reaktion, men vil efter nogen tid afgive vand og danne samme ringforbindelse. Seliwanoffs prøve er altså baseret på forskellen i den hastighed, hvormed ketoser og aldoser afgiver vand.

#### Forarbejde inden eksperimentet:

1. Forklar, at Fehlings prøve er positiv for fruktose, der er en ketohexose.
2. Find på nettet en strukturformel for tartratkomplekset i Fehlings væske.
3. Tjek reaktionsskemaet for fruktoses omdannelse til den cykliske forbindelse 5-hydroxymethyl-furfural ved at skrive det med molekylformler.
4. Tegn strukturformler for  $\alpha$ -glukose,  $\beta$ -fruktose og sukrose.
5. Hvilken enzymklasse tilhører glukoseoxidase? Afstem reaktionsskemaet med glukoses omdannelse til glukonsyre.
6. Undersøg hvilke R- og S-sætninger, der gælder for de kemikalier, I skal arbejde med.

### Materialer:

- varmeplade med vandbad (90 °C) og stativ til reagensglas i vandbadet
- målepipetter, engangspipetter, mindst 6 × 3,5 ml
- bægerglas, 6 × 100 ml
- måleglas, 25 ml
- tuschmarker
- termometer
- spatler

### Kemikalier:

- Glukose
- Fruktose
- Sukrose
- Stivelse
- Forskellige øl, f.eks. filtreret, ufiltreret, hjemmelavet.
- Fehling I
- Fehling II
- Seliwanoffs væske
- 

### Udførelse af Eksperiment 2:

Fremstilling af fire opløsninger

Overfør ca. 1 g carbohydrat til et bægerglas og tilsæt 50 ml vand. Rør rundt og opløs sukkeret. Mærk glassene med bogstaverne: G (glukose), F (fruktose), S (sukrose), og ST (stivelse).

#### *Fehlings prøve*

Fremstil en portion Fehlings væske til alle forsøgene ved at blande lige store volumener Fehling I med Fehling II i et reagensglas, så det er  $\frac{2}{3}$  fyldt.

Mærk reagensglassene. Hæld sukkeropløsningerne i hvert sit glas, så væskestanden er ca. 1 cm fra bunden (ca. 1 ml). Tilsæt samme volumen Fehlings væske som volumen opløsning og omryst. Anbring glassene i vandbad ved 90 °C. Vandet må ikke overstige denne temperatur og begynde at koge. Iagttag ændringer i glassene og noter observationerne i Tabel 1.

Vask og skyl glassene grundigt. Evt. fastsiddende kobber(I)oxid eller kobberspejl fjernes med fortyndet salpetersyre og skylles med demineraliseret vand.

### *Seliwanoffs prøve*

I de rengjorte glas hældes ca. 1 ml opløsning ligesom før. Tilsæt samme volumen af Seliwanoffs væske.

Glassene anbringes i 90 °C varmt vandbad. Noter ændringerne efter to minutter. Så snart der ses positiv reaktion, fjernes glasset fra vandbadet. Efter 5 minutter fjernes de sidste glas (står opløsningerne i længere tid i vandbadet, vil også aldoserne reagere positivt pga. omdannelse til ketoser). Noter observationerne i Tabel 1. Vask og skyl glassene.

<b>Tabel 1</b>	<b>Iagttagelser</b>	<b>Fehlings prøve</b>	<b>Seliwanoffs prøve</b>	<b>Evt. kommentar</b>
Glukose	Positiv			
	Negativ			
Fruktose	Positiv			
	Negativ			
Sukrose	Positiv			
	Negativ			
Stivelse	Positiv			
	Negativ			
	Positiv			
	Negativ			
	Positiv			
	Negativ			
	Positiv			
	Negativ			

**Efterbehandling:**

7. Kommenter resultaterne.
8. Afgør, om resultaterne stemmer overens med teorien, så I ved, at I kan bruge analysemetoderne til at skelne reducerende sukkerarter fra ikke-reducerende og aldohexoser fra ketohexoser.
9. Stemmer resultaterne på drikkevarerne overens med varedeklarationerne?



## Eksperiment 3: Bryg din egen ale

*Vejledning er udarbejdet af lærer Magnus Groes, Øregård Gymnasium.*

### Materialer:

- Gryde
- Grydeske
- 500 ml bægerglas
- Gasblus
- Termometer
- Si og ostelærred til filtrering i sien
- Vægt
- Stor konisk kolbe
- Gærlås
- Kapsler
- Kapselpåsætter

### *Til målinger undervejs:*

- Hydrometer
- pH-sticks
- Glukose-sticks
- Iod-iodkalium
- Evt. refraktometer til præcis bestemmelse af glukoseindhold i urten

### Ingredienser:

- 750 ml vand
- 25 g knust pale ale malt
- 5 g knust cara hell malt

- 150 g lys spraymalt
- 10 g Humle goldings eller Fuggle (eller tilsvarende). Deles i 3 portioner: 4g, 4g og 2g
- 0,50 g Irish moss til at klare øllet ved at koagulere proteinerne
- Gærstarter lavet på Ale tørgær, f.eks. Wyeast 1056, Wyeast 1028 eller WLP007
- 25 ml steril 0,5M sukkeropløsning (efter gæring)
- Forskellige smagsgivere – f.eks. chokolade, kakaonips, lakrids, appelsinskal, hyldeblomst, gran – eleverne bestemmer selv.

### Tidsforbrug:

- |  |          |
|--|----------|
| 1. forsøgsdag: Mæskning, filtrering og kogning | 120 min. |
| Gæring i kolber                                | 1-2 uger |
| 2. forsøgsdag: Tapning og prøvetagning         | 60 min.  |
| Lagring  | 1-2 uger |

### Ølbrygning – Fremgangsmåde:

#### Inden klassen går i gang, forbereder læreren en steril gærstarter på følgende måde:

I et bægerglas blandes 500 ml kogt vand med en temperatur på 30°C tilsættes 10g sukker og en pose tørgær.

Flasken lukkes med en vatprop og står i 1-2 timer

#### Dag 1

**10. Mæskning:** Fyld 750 ml vand i gryden, og varm det op til 65°C. Tilsæt 25 g knust pale ale malt og 5 g knust cara hell malt, og lad den stå ved ca. 60°C i 30 min. under jævnlig omrøring.

**11. Filtrering:** Fjern malten med en si. Det brændte malt har nu givet vandet farve og smag.

12. Tilsæt 150 g lys spraymalt og rør rundt, indtil alt er opløst.

13. Grydens indhold kaldes nu for urten.

**14. Kogning af urt:** Bring gryden i kog og tilsæt så den første portion humle (4 g). Skru ned og rør, indtil humlen synker til bunds. Kog i 20-30 min.

15. Tilsæt den anden portion humle (4 g) sammen med irish moss, der får proteinerne til at koagulere og giver en klaring af øllen. Her kan du vælge at tilsætte en smagsvariant, som du selv vælger. Honning eller andet, som ikke nødvendigvis har godt af kogning, kan med fordel tilsættes efter pkt. 7.
16. Kog i 15 min. og tilsæt derefter den tredje portion humle (2 g).
17. Tag gryden af varmen og rør i 10 min., mens urten køler af.
18. Hæld den varme urt gennem ostelærredet i sien, der er sat på 500 ml bægerglas. Humlen filtreres fra.
19. Hæld urten over i en konisk kolbe og fyld op til ca. 980 ml med koldt vand. Sørg for at plaske godt, så vandet iltet. Ryst vand og urt sammen. Gærens opformering sker i starten ved respiration med den smule ilt, som I har rystet i, og vandet som I har plasket i.
20. Når temperaturen i kolben er under 30° C, foretages følgende tests af øllet:
  - Densitet: Måles med et hydrometer.
  - Smag: Læg især mærke til sødmen og effekten af den bitre humle.
  - Glukose: Måles med glukosestick eller refraktometer.
  - Stivelse: Udtag en dråbe øl og tilsæt en dråbe iod-iodkalium. Sortfarvning indikerer tilstedeværelse af stivelse.
21. Ca. 20 ml gæropløsning hældes i kolben, og der blandes godt. Kolben lukkes med gærlås.
22. **Gæring:** Stil gæringskolben ved ca. 20°C og vent 1-2 uger, indtil densiteten er nået ned på ca. 1,010 g/ml. Ved temperaturer under 18°C tager gæringen for lang tid, og over 24°C dannes for mange uønskede smagskomponenter.

## Dag 2 (efter 1-2 uger)

23. Mål densiteten, og udregn alkohol pct. efter denne formel:

$$\text{Alkohol pct.} = (\text{Densitet}_{\text{før}} - \text{Densitet}_{\text{efter}}) / 7,5$$

24. Efter 1-2 ugers gæring bør densiteten være mellem 1,008 og 1,014.

25. Foretag de samme tests på øllet som inden gæringen (se pkt. 10).

26. Gæren får sit sidste måltid. Tilsæt 25 ml steril 0,5 M sukkeropløsning. Rør rundt med steril spatel, men forstyr ikke det tykke bundfald af gærceller.

27. **Tapning:** Hæld øllet på flasker, så de er fyldte på nær 1 cm. Undgå at plaske med øllet, da iltning vil nedbryde alkoholen. Påsæt kapsler undervejs.

28. Øllet skal nu lagre 1-2 uger ved 20-24 grader og dermed danne det sidste kulsyre samt få en mere rund smag. Herefter bør øllet hvile køligt ved mellem 10-15 grader.

### Efterbehandling:

29. Opskriv dine resultater i passende skemaer, herunder de kvalitative observationer af øllet under processen.

30. Giv en evaluering af din øl.

31. Forklar, hvilke omdannelser der sker af amylosen og amylopektinen under maltningen, og herunder formålet med at lade byggen spire. Inddrag funktionen af de forskellige enzymer, der er i spil.

32. Skitsér i passende koordinatsystemer, hvordan du forestiller dig, at koncentrationen af følgende størrelser i øllet ændrer sig under gæringen: Ilt, alkohol, sukre og gærceller. Begrund kurverne og forklar, hvad der sker.

33. Giv et bud på, hvad der kan være årsag til ændringen i pH under gæringen.

34. Forklar kort formålet med modningen – med fokus på diacetyl.

35. Beskriv en metode til at måle, om der er kommet nogle uønskede mikroorganismer i øllet.

## Afsluttende opgave til undervisningsforløbet om ølbrygning

Du har i undervisningsforløbet arbejdet med en række forskellige faglige begreber, opgaver, eksperimenter, brygget din egen øl og være på virksomhedsbesøg på et bryggeri.

Den viden, som du har tilegnet dig under forløbet, skal du nu formidle for en mindre gruppe af tilhørere. Du og din gruppe skal lave en elektronisk poster, som I præsenterer til et posterarrangement.

Den viden, du og din gruppe skal formidle, ligger inden for følgende områder:

- Processerne i forbindelse med ølproduktion.
- Forløbets eksperimentelle arbejde, som ikke er din egen ølproduktion. Her skal I dokumentere jeres eksperimentelle arbejde ved figurer og med udgangspunkt i en enkelt figur føre tilhøreren igennem det pågældende eksperiment.
- Visualisering af carbohydraternes opbygning med hensyn til isomeri, og hvorledes enzym-substratinteraktion foregår.
- Egen ølproduktion – I skal formidle efterbehandlingen til ølbrygningen, gerne under inddragelse af billeder fra arbejdet.
- Ølproduktion på et bryggeri – herunder viden om, hvordan et bryggeri kan sørge for, at en øl er ens hver gang den laves, og hvordan man sikrer sig en god kvalitet af øllet – hver gang.
- FN's verdensmål #12 og ølproduktion på bryggerier – Perspektivere til udvikling af bæredygtig ølproduktion – her kan I f. eks inddrage det bryggeri, som I har besøgt, men I kan også søge ny viden ved at kigge lidt nærmere på DTU Bryghus: <https://bryghus.dtu.dk/>

Alle områder skal medtages på jeres poster. I skal selv finde frem til, hvordan I vil bygge posteren op. Husk på, at der skal være en tydelig sammenhæng mellem punkterne, og at posteren skal afspejle denne sammenhæng.