

Forsøg med gærceller

Formål

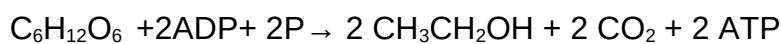
At undersøge hvordan en gæringsproces påvirkes ved ændring af faktorer som substrattype, pH, temperatur, substratkoncentration og inhibitor-koncentration (væksthæmmer).

I skal kunne opstille og afprøve en hypotese over eget forsøg.

Teori

Mikroorganismer, som gær og bakterier anvendes til mange forskellige formål inden for fx bioteknologi, fødevarer og medicinsk produktion.

Almindelig bagegær foretrækkes tit som forsøgsorganisme, fordi det er let at arbejde med og let tilgængeligt. Undersøgelser af bagegærs stofskifte og vækstprocesser har bidraget væsentligt til vores nuværende viden om kulhydratstofskiftet i alle celler. Allerede Pasteur påviste hvordan gær kan omdanne sukker til ethanol og CO₂, når der ikke er ilt tilstede. Gærs latinske navn, *Saccharomyces* (saccharium = sukker, myces = svamp) stammer fra tidlige biologiske iagttagelser og fortæller at det er en svamp, der omsætter sukker. Omsætningsprocessen er en gæring – altså en iltfri (anaerob) nedbrydning af glucose til CO₂ og ethanol under energifrigørelse:



(TIP - sæt tilstandsformer på de indgående stoffer og tænk over hvad det fortæller)

Gærs biologiske egenskaber udnyttes af mennesket til fremstilling af fx brød, vin og spiritus.

Baggrund for forsøg

En 100 mL flaske forsynes med en gummiprop. Gennem gummipropen er der stukket en kanylespids, således at spidsen stikker ind i flasken og er ca. 2 cm over gæropløsningen. Vægten af flasken med forsøgsblanding noteres ved forsøgets start ($t = 0$) og ved afslutning af forsøget (24-72 timer senere) t_{slut} . Det er vigtigt at veje flasken med prop og kanylespids nøjagtigt, flasken skal være helt tør på ydersiden inden vejning. Ved forsøgets start er der ilt tilstede i flasken. Flaskerne bliver dog hurtigt anaerobe, da den dannede CO₂ fortrænger ilt i flasken. Massefylden for CO₂ er 1,80 g/L, mens den er 1,33 g/L for ilt ved stuetemperatur. CO₂ vil derfor lægge sig som en "dyne" over gæropløsningen og den fortrængte luft slipper ud gennem kanylespidsen. Ved at veje flasken til $t = 0$ og t_{slut} får man et mål for den dannede CO₂, der er fordampet fra flasken og dermed aktiviteten (væksten af gærceller) i gæropløsningen.

Klassen deles i 6 grupper, der hver vælger en af de mulige faktorer, der kan varieres. Hver gruppe forbereder, præsenterer resultater, samt skriver rapporten sammen.

Inden forsøget:

I skal vælge en faktor at variere på, undersøge gærs vækst og opstille en begrundet hypotese for jeres forsøg (altså en videnskabelig begrundet forventning til udfaldet på forsøget).

Fremgangsmåde:

Hver gruppe arbejder med 1 kontrolopløsning, 1 standardopløsning og 3-4 varianter af enten:

Gruppe 1: Sukkerkoncentration (varierer i forhold til standarden)

Gruppe 2: pH (puffere med pH 3, 6 og 9 findes i laboratoriet)

Gruppe 3: Substrattype (sucrose (standard), glucose, stivelse, maltose)

Gruppe 4: Temperatur (5 °C, 20 °C (stuetemp, standard), 37 °C og 80°)

Gruppe 5: Inhibitor-koncentration (Væksthæmmer) (CuSO₄, 250 µM, 50 µM, 10 µM)

Gruppe 6: Mængden af gærceller (0,25g, 0,5g, 1g (standard), 3g)

Kontrolprøven består af 1 g gær og 60 mL vand

Standardprøven består af 1 g gær, 60 mL vand, 4,5 g sukker (7%) ved pH 7, og 20 grader celsius.

Hver gruppe finder 5-6 brune 100 mL flasker, 5-6 kanyler og 5-6 gummipropper.

Gruppe 1, 3 og 4 laver først en stor gæropløsning: 360 ml vandhanevand + 6 g gær. Sørg for at alt gæren er opløst, før I tilsætter de ting I skal arbejde med. Mens I venter på det kan I finde og afveje de forskellige ting I skal bruge til jeres forsøg:

Gruppe 1:

- a) 0 g sukker til 60 ml gæropløsning (0,0%) (negativ kontrol)
- b) 1,5 g sukker til 60 ml gæropløsning (2,5%)
- c) 4,5 g sukker til 60 ml gæropløsning (7%, standard)
- d) 8,2 g sukker til 60 ml gæropløsning (12%)
- e) 15 g sukker til 60 ml gæropløsning (20%)

Gruppe 2:

Da I skal arbejde med buffere er I nødt til at lave hver opløsning for sig selv. Men start med at opløse gæren i bufferen, før sukkeret tilsættes.

- a) 1 g gær til 60 mL vand → tilsæt 4,5 g sukker (standard)
- b) 1 g gær til 60 mL pH 3 buffer → tilsæt 4,5 g sukker
- c) 1 g gær til 60 mL pH 6 buffer → tilsæt 4,5 g sukker
- d) 1 g gær til 60 mL pH 9 buffer → tilsæt 4,5 g sukker

Gruppe 3:

- a) 0,0 g sukker til 60 mL gæropløsning (negativ kontrol)
- b) 4,5 g sucrose til 60 mL gæropløsning (standard)
- c) 4,5 g glukose til 60 mL gæropløsning
- d) 4,5 g maltose til 60 mL gæropløsning
- e) 4,5 g stivelse til 60 mL gæropløsning

Gruppe 4: (hvis varmeskabene ikke er ledige, bruger vi vandbade)

- a) 0 g sukker til 60 ml gæropløsning (0,0%) (negativ kontrol) → flasken står ved stuetemp.(20°C)
- b) 4,5 g sukker til 60 mL gæropløsning (standard) → flasken står ved stuetemp.(20°C)
- c) 4,5 g sukker til 60 mL gæropløsning → flasken stilles i køleskab (5 °C)
- d) 4,5 g sukker til 60 mL gæropløsning → flasken stilles i termaskab (37 °C)
- e) 4,5 g sukker til 60 mL gæropløsning → flasken stilles i varmeskab (80 °C)

Gruppe 5:

Da I skal arbejde med CuSO₄ opløsning er I nødt til at lave hver opløsning for sig selv. Men start med at opløse gæren i CuSO₄ opløsningen, før sukkeret tilsættes.

- a) 1 g gær til 60 mL vand → tilsæt 4,5 g sukker (standard)
- b) 1 g gær til 60 mL 50µM CuSO₄ opløsning → tilsæt 4,5 g sukker
- c) 1 g gær til 60 mL 250µM CuSO₄ opløsning → tilsæt 4,5 g sukker
- d) 1 g gær til 60 mL 50mM CuSO₄ opløsning → tilsæt 4,5 g sukker

Gruppe 6:

Da I skal arbejde med gærceller i forskellig mængde skal I lave hver opløsning for sig selv.

- a) 0,00 g gær til 60 ml vand → tilsæt 4,5 g sukker (negativ kontrol)
- b) 0,25 g gær til 60 ml vand → tilsæt 4,5 g sukker
- c) 0,50 g gær til 60 ml vand → tilsæt 4,5 g sukker
- d) 1,00 g gær til 60 ml vand → tilsæt 4,5 g sukker (standard)
- e) 3,00 g gær til 60 ml vand → tilsæt 4,5 g sukker

Når alle opløsninger er færdige sættes prop med kanyle i flasken.

Hver flaske (incl. prop og kanyle) vejes

Vægten noteres nøjagtigt,

Tiden noteres (t₀)

Flaskerne står nu i nogle dage, hvor de vejes igen (incl. prop og kanyle) og vægten noteres. Husk, der må ikke være vand på flasker der vejes.

Vægten noteres nøjagtigt,

Tiden noteres (t_{slut})

Alle jeres måledata og observationer skal noteres i dette fællesdokument:

[Resultater fra forsøg om gærs vækst 1C](#)

Når I har vejlet sidste gang, skal I tømme og skylle flaskerne og propperne og sætte dem til opvask

Rapporten skal indeholde

Formål/hypotese

I skal selv opstille en kort hypotese over eget forsøg.

Teori

Korte fakta om gæringsprocesser: fx gæring med ilt og uden ilt.

Materialeliste

En kort liste

Fremgangsmåde

Kort og præcis beskrivelse, evt en tegning.

Resultater

I skal præsentere resultaterne for hvert delforsøg på en måde der gør det let at analysere effekten af variationen - tænk over hvad det er vi undersøger og hvordan du vil inddele akserne. Husk aksetitler og enheder. Til hvert delforsøg skal I skrive en kort konklusion som det kan analyseres ud fra grafen.

Fejlkilder

Beskriv hvilke fejlkilder der er ved forsøget

Diskussion

Hvordan påvirker de enkelte faktorer gæringsprocessen?

Er det som forventet? Og hvorfor/hvorfor ikke?

Hvorfor har vi kontrolopløsningen med?

Hvorfor har vi standardopløsningen med? Kan man bruge det at sammenligne dette forsøg op på tværs af delforsøgene?

Hvilke egenskaber ved gærcellerne udnyttes industrielt?

Giv et eksempel på hvordan gærceller anvendes i en bioteknologisk produktion.

Inddrag fejlkilder i diskussionen.

Konklusion

Kan jeres hypotese over eget forsøg bekræftes eller afkræftes

Kildeliste

Anvendt litteratur skrives