Formål

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

Hypotese

Vi forventer, at vi vil opleve et større vægttab med mere sukker. Vi forventer desuden, at effekten af mere sukker langsomt vil blive mindre og mindre, i takt med at andre faktorer begynder at begrænse udviklingen.

	kontrol	1,5	4,5	8,2	15
Start [g]	204,16	206,83	218,26	212,45	220,98
Slut [g]	204.15	206.19	216.38	209.27	217.20

Teori

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

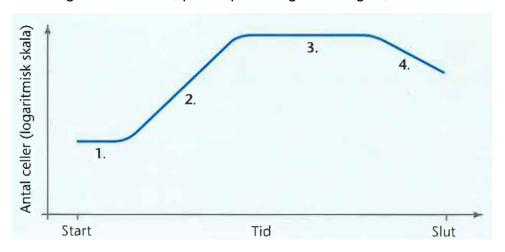
Almindelig bagegær foretrækkes tit som forsøgsorganisme, fordi det er let at arbejde med og let tilgængeligt. Undersøgelser af bagegærs stofskifte og vækstprocesser har bidraget væsentligt til vores nuværende viden om kulhydratstofskiftet i alle celler. Allerede Pasteur påviste hvordan gær kan omdanne sukker til ethanol og CO₂, når der ikke er ilt tilstede. Gærs latinske navn, Saccharomyces Cerevisae (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 anaerob nedbrydning af glucose til CO₂ og ethanol under energifrigørelse. Anaerob betyder at processen foregår iltfrit, imodsætning til en aerob reaktion, som involverer oxygen.

•
$$C_6H_{12}O_6$$
 (aq) + 2ADP (aq) + 2P (aq) \rightarrow 2 CH_3CH_2OH (aq) + 2 CO_2 (g) + 2 ATP (aq)

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

Som vi kan se på reaktionen, er alle stoffer undtagen CO₂ i en opløst form. Dette er vigtigt for vores forsøg, da vi derfor kan kvantificere reaktionens effektivitet, ved at se på den vægt der bliver tabt.

Mikroorganismers væk, plottet på en logaritmisk graf, ser sådan ud:



Det er vigtigt at forstå denne graf, hvis man vil forstå fx gærs vækstrate. Væksten deles normalt op i 4 dele:

- 1. Ingen vækst. I denne fase, tilpasser mikroorganismen sig til miljøet, og producerer de passende enzymer som den skal bruge.
- 2. Eksponentiel vækst. Mikroorganismerne har tilpasset sig miljøet, og kan begynde at dele sig.
- 3. Stationær fase. I denne fase, begynder begrænsninger at holde væksten nede (trængsel, affaldsstoffer, mangel på næring). Mikroorganismerne overgår til overlevelse, og væksten stopper.
- 4. Dødsfase. De samme begrænsninger som i fase 3, begynder at have overvægt i forhold til væksten. Mikroorganismerne dør eksponentielt.

Materiale liste:

- 5 flasker (100mL)
- 5 Gummiproppe med kanylespidser igennem
- Sukker
- Vægt
- Målebæger
- Vand
- Gær

- Malertape og blyant
- Ske

Baggrund for forsøg

En 100 mL flaske forsynes med en gummiprop. Gennem gummiproppen 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 CO_2 fortrænger ilten i flasken. Massefylden for CO_2 er 1,80 g/L, mens den er 1,33 g/L for ilt ved stuetemperatur. CO_2 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 $t_{\rm slut}$ får man et mål for den dannede CO_2 , 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.

Fremgangsmåde:

Start med at finde 5 100 ml flasker frem. Afmål 60 ml vandhanevand for hver af flaskerne, og hæld det i. Derefter, afmåles 1 g gær per flaske, som så puttes i vandet og opløses, eventuelt med en ske.

Vej 4 forskellige doser af sukker op (1,5 g, 4,5 g, 8,2 g oh 15 g). Disse tilføjes hver af flaskerne, sådan så en flaske ikke modtager noget sukker. Opløs sukkeret med en ske, og marker hver af flaskerne med malertape og blyant, for at kunne kende forskel på dem.

Indsæt nu en gummiprop stukket med en kanylespids, således at spidsen stikker ind i flasken og er omtrent 2 cm over gæropløsningen. Dette gøres, for at sikre at gas kan undslippe fra flasken.

Mål hver af flaskerne med deres fulde indhold, og noter det.

Stil nu flaskerne til side ved stuetemperatur, helst væk fra sollys, og giv dem omkring 4 dage til at respirere. Mål herefter vægten af de fulde flasker, og noter det igen. Tabet af vægt på flaskerne kan nu betegnes som $m_{tab} = m_{før} - m_{efter}$.

Lignende forsøg udføres med andre variationer såsom pH, substrattype, temperatur, inhibitorkoncentration og mængden af gærceller, for at danne et overblik over virkningerne af forskellige variabler.

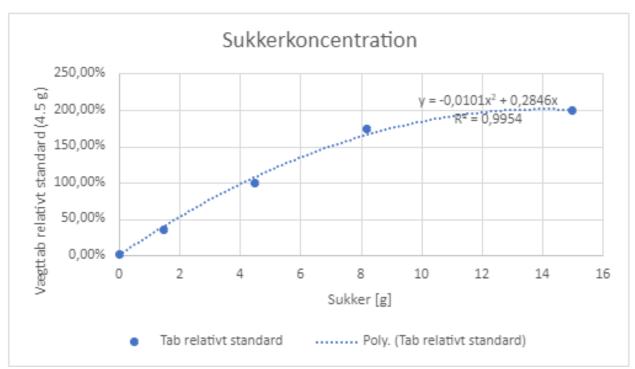
Resultater

I hvert af vores forsøg, har vi valgt at tage vægtforskellen i procent, relativt vægttabet på standardværdien. Altså, for hver af vores forsøg, er y-aksen:

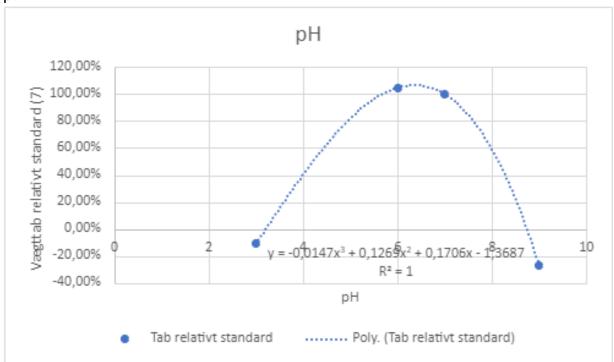
$$m_{tab}(m) = \frac{m_{for} - m_{efter}}{m_{for}}$$
$$y(n) = \frac{m_{tab}(n)}{m_{tab}(s)}$$

Hvor $m_{tab}(m)$ er tabet af masse i relation til startvægten, n er den forsøgsvariationen, s er standardvariationen, og y(n) er y-værdien for forsøgsvariationen. Det er en relativt kompliceret opstilling, men det giver os lov til at analysere variationen i effektivitet i forhold til standardvariationen.

Sukkerkoncentration

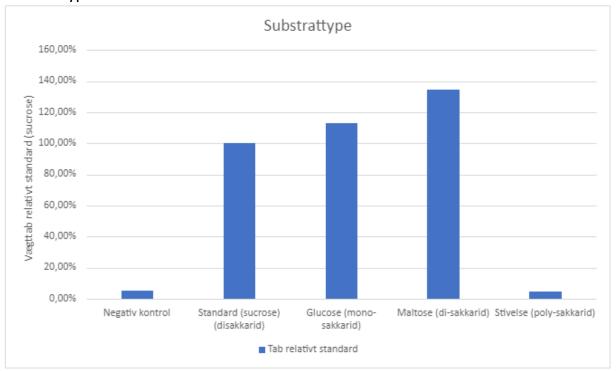


Her er en graf over effekten af variation af sukkerkoncentrationen. Værdien for 0 er den negative kontrol. Dataet kan tilnærmelsesvis tilpasses et andengradspolynomium, dog er vi nødt til at begrænse denne model til mellem 0 og 15 gram sukker. Dette er fordi, at vores andengradspolynomier er faldende efter vores toppunkt, og vi kan desværre ikke forudsige effekten af mere sukker. Dog inden for dette interval, har kurven en høj korrelation på 0.9954, langt højere end nødvendigt for at kalde den repræsentativ. Derfor kan vi konkluderer, at mens mere sukker har en positiv effekt på effektiviteten, er effekten aftagende jo mere sukker man tilføjer.



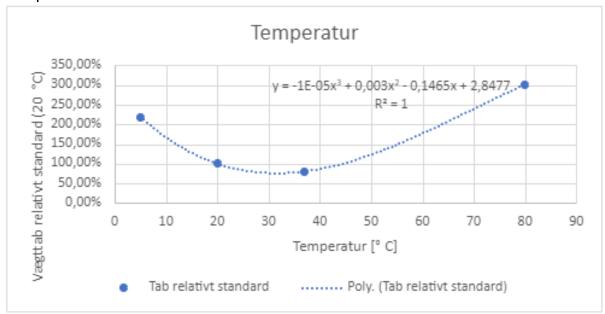
Her er en graf over variationen i effektivitet ved forskellige pH-værdier. Den negative kontrol er ikke inkludere i grafen. I forsøget må der have været fejlkilder af en art, da både værdien for pH 3 og pH 9 viser en negativ udvikling. Dette betyder, at m_{efter} > m_{før}, hvilket er usandsynligt i dette forsøg. Vi kan dog alligevel tilpasse et tredjegradspolynomium med en perfekt korrelation med vores begrænsede data. Ud fra dette kan vi konkludere, at gærcellerne foretrækker en pH på omkring 6, men uden yderligere data, kan vi ikke vide hvilken en tolerance gæret har.

Substrattype

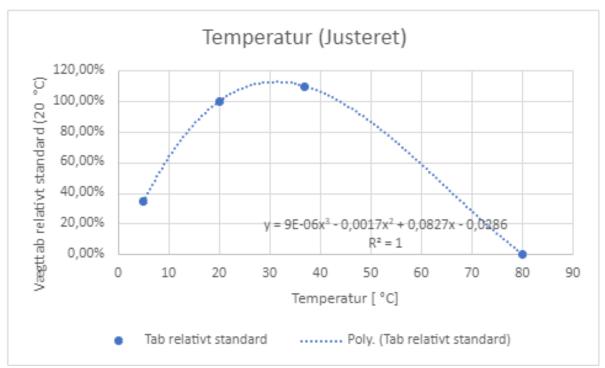


Her er en graf over variationen i effektivitet med forskellige substrattyper. Den negative kontrol er inkluderet i grafen for sammenligning, men er ikke strengt nødvendig for analyse af dataet. Dataet er plottet som et søjlediagram, da det tillader os at analysere effekten af forskellige substrattyper, men stadig formidle at dataet ikke nødvendigvis kan korreleres med en matematisk model. Ud fra grafen kan vi se, at mens den sucrose, vores standard, yder relativt godt, er det faktisk glukose og maltose som gæret foretrækker. Vi kan desuden se at stivelse, et større polysakkarid, er umuligt for gæret at nedbryde, hvilket er grunden til dens samme vægttab som den negative kontrol. Vi kan desuden perspektivere dette til industrielle fermenteringsprocesser, hvor fx malt skal igennem lang forbehandling, før det kan gæres til øl.

Temperatur



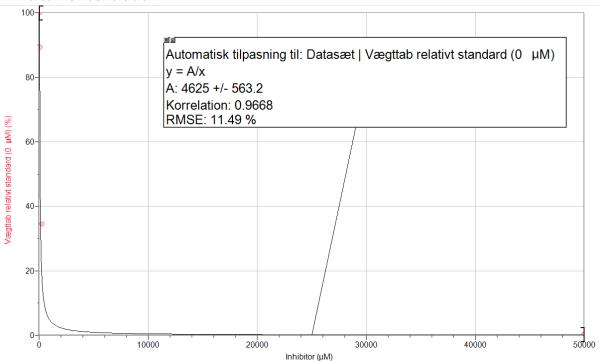
Temperatur er endnu en interessant graf, men ikke af gode grunde. Det lader til, at alle resultaterne har påvist en negativ effektivitet. Dette kan ikke ses ud fra vores graf, da vores graf er relativt til standarden. Det kan dog ses, hvis man kigger på kildedataet. Med udgangspunkt i at gæret vil yde relativt ringe ved højere temperaturer, må vi gå ud fra, at der er tale om en miskonfiguration af vægten, frem for en ombytning af dataet. Hvis vi normaliserer dataet til at vægttabet for 80 °C er 0, får vi i stedet denne graf:



Da dette blot er et gæt på hvordan dataet burde have været, kan vi ikke være 100% sikker på de konklusioner vi drager fra denne graf. Men hvis vi gjorde det alligevel,

må vi konkludere at gæret yder mest effektivt mellem 20 °C og 37 °C, men har storre problemer med højere temperaturer såsom 80 °C.



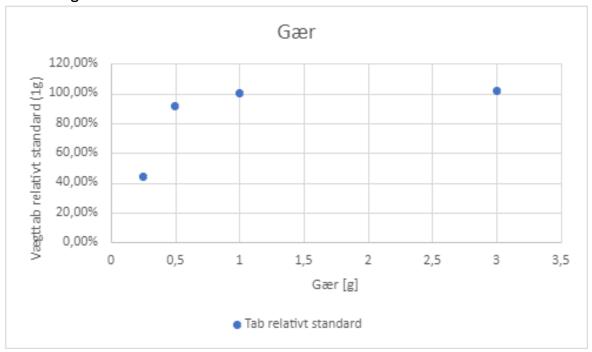


Dette er en graf over effekten af forskellige koncentrationer af inhibitor. Da der er et så stort spræng mellem 250 µM og 50 mM, er det svært at visualisere dataet ordentligt. Vi har derfor valgt at repræsentere dataet primært gennem en matematisk model, som kan ses på autotilpasningen ovenover. Desuden, for at opnå en mere læsbar og præcis repræsentation, er vægttabet i procent for den negative kontrol, trukket fra hvert af de andres vægttab i procent:

$$\begin{split} m_{tab}(m) &= \frac{m_{for} - m_{efter}}{m_{for}} \\ y(n) &= \frac{m_{tab}(n) - m_{tab}(kontrol)}{m_{tab}(s) - m_{tab}(kontrol)} \end{split}$$

Vi mener at dette er gyldigt, da den mængde vægt der forsvinder fra den negative kontrol, må anses for at være fordampning samt andre mindre ting, som er irrelevante til vores forsøg. Ud fra denne model kan vi se, at mens gæret fortsætter med at kunne arbejde med relativt små mængder inhibitor, bliver det hurtigt nok til at effektiviteten reelt set falder til 0.

Gærmængde



Her er en graf over effekten af forskellige mængder tilsat gær. Den negative kontrol er ikke inkluderet i grafen, da den påviste en negativ effektivitet, hvilket vi formoder er en fejlkilde. På denne graf kan vi se en relativt interessant udvikling. Vi kan se, at mens effektiviteten fra 0,25 g til 0,5 g blev fordoblet, er springet fra 0,5 g til 1 g langt mindre ekstremt. Udover dette, er udviklingen fra 1 g til 3 g tæt på 0. Ud fra dette kan vi konkludere, at mens ændringer ved lavere koncentrationer gør en stor forskel, har det en langt mindre effekt ved højere koncentrationer.

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

Vi tabte sukker på vægten da vi v

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?

Inddrag fejlkilder i diskussionen.

Konklusion

Kan jeres hypotese over eget forsøg bekræftes eller afkræftes

Kildeliste

Anvendt litteratur skrives