

Vækst

Et mål for en mikroorganismes evne til vækst er dens *generationstid*. Generationstiden angiver et gennemsnit for hvor ofte en celle deler sig til to nye celler. På figur 37 er vist generationstider for nogle udvalgte bakterier.

Man kan se at kolibakterier, som er nogle af de hurtigste til at dele sig, har en generationstid på 20 min. Hvis man forestiller sig at væksten af *E. coli* kunne fortsætte ubegrænset, fx i 24 timer, ville én celle være blevet til 4.722.366.478.574.681.194.496 celler. Disse ville veje 5.200 tons hvilket svarer til vægten af ca. 65.000 mennesker. Placeret på en lang række ville cellerne kunne nå rundt om jorden 243.988.935 gange. Hvis deres fødekilde havde været glukose, ville de have konsumeret ca. 10.000 tons af det. Men hvor skulle de have fået al den glukose fra?

Netop mangel på føde er én af forkla-

ringerne på hvorfor mikroorganismene trods alt ikke bliver til så mange som beskrevet i ovenstående eksempel. Mange andre faktorer kan også begrænse deres vækst. Fx vil temperaturen, tilgængeligheden af O₂ og næringssalte samt pH-værdien i de vandige omgivelser have betydning. Ligeledes kan tætheden af *populationen*, det vil sige samlingen af individer af samme art, og dens egen eller andre organismers produktion af affaldsstoffer, hæmme mikroorganismernes vækstmuligheder. Endelig har ikke mindst risikoen for at blive spist af andre organismer eller at blive angrebet af virus betydning for hvor stor en population kan blive.

Vækst i et laboratorium

Hvis man rendyrker mikroorganismer i et laboratorium, så man har genetisk ens individer, og derefter lader dem gro under kontrollerede betingelser, vil man kunne følge vækstforløbet for en population.

Figur 37. Generationstid for nogle menneskerelaterede bakterier under optimale vækstbetingelser.

Kilde: Perry m.fl., 2002.

På figur 68, side 67 og figur 84, side 79 kan man se elektronmikroskop-billeder af henholdsvis *Escherichia coli* og *Staphylococcus aureus*.

Art	Beskrivelse	Generasjonstid
<i>Escherichia coli</i>	Harmløs stavformet bakterie der lever i tarmene på mennesket og andre pattedyr. Bruges som testorganisme for at undersøge om føde, vand eller jord er inficeret med afføring fra mennesker eller andre pattedyr.	20 min.
<i>Staphylococcus aureus</i>	Kugleformet bakterie der normalt er harmløs og lever i næse og svælg på mennesker og andre pattedyr. Hos nogle individer forårsager den dog voldsomme infektioner som kan være svære at behandle. Kan også findes i tilberedt mad der ikke har været opbevaret på køl. Her producerer den giftstoffer som giver opkastning og diarré.	30 min.
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Stavformet bakterie der forårsager tuberkulose hos mennesket. Den smitter gennem luften og inficerer lungerne. På grund af den lange generationstid er det kun personer, der i forvejen er svækkede, der er modtagelige.	13 timer og 20 min.

Man starter med at overføre nogle mikroorganismer til et flydende vækstmedie. Med jævne mellemrum udtager man en prøve af denne opløsning og forsøger at vurdere antallet af organismer.

På grundlag af sådanne optællinger har det vist sig at man kan inddele mikroorganismers vækst i fire faser: 1. lagfase, 2. eksponentiel vækstfase, 3. stationær fase og 4. dødsfase.

I *lagfasen*, som man kan oversætte til forsinkelsesfasen eller nølefasen, bliver mikroorganismene overført til deres flydende vækstmedie. Indtil de har vænnet sig til de nye vækstbetingelser, det vil blandt andet sige indtil de har fået produceret passende mængder af de enzymer som skal være aktive i dette miljø, vil cellerne ikke dele sig, og antallet er derfor konstant.

I *den eksponentielle vækstfase* har mikroorganismene tilpasset sig omgivelserne, og de fordobler deres antal i løbet af en generationstid. For en organisme med en generationstid på 20 min. betyder det at én celle efter 20 min. er blevet til to, efter 40 min. til fire, efter 60 min. til otte osv. Det er i denne vækstfase at mikroorganismene i princippet kan blive til et astronomisk højt antal organismer som illustreret i eksemplet med *E. coli* ovenfor. Rent matematisk kan man beskrive det ved følgende ligning:

$$y = 2^x$$

hvor x er antallet af generationer, og y er antallet af celler efter x generationer.

Figur 38 viser en afbildning af eksponentiel vækst.

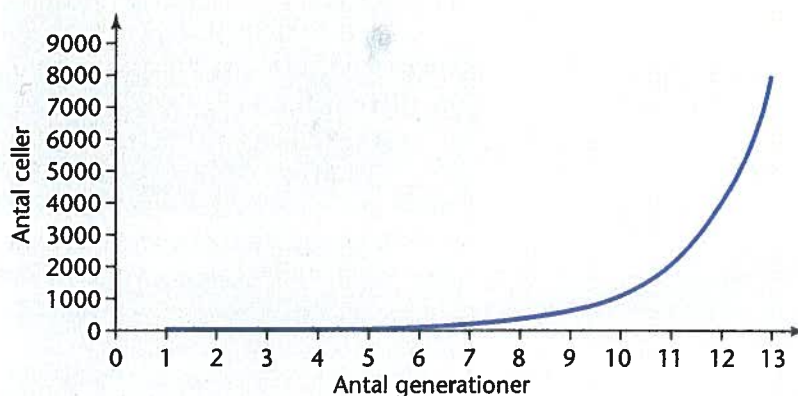
Som man kan se af figuren, vil man efter relativt få generationers vækst få en meget stejlt voksende graf som det kan være vanskeligt at aflæse på. For en hurtig

voksende mikroorganisme, det vil sige én med en kort generationstid, er denne afbildning derfor ikke så hensigtsmæssig. Heldigvis findes der en matematisk løsning på dette problem. Man kan vælge at afbilde antallet af celler på en *logaritmisk skala*. Logaritme betyder forholdstal, og på en logaritmisk skala er afstanden mellem stregerne på skalaen forholdsmæssig mindre jo større tallene bliver. Den logaritmiske afbildning giver derfor mulighed for at få plads til mange flere generationer, og den er nem at aflæse på da den er lineær, se figur 39.

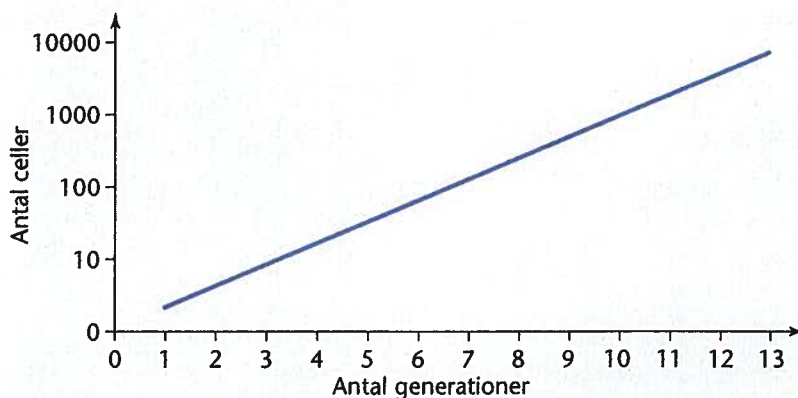


www.nucleus.dk

Dyrkning og vurdering af antallet af mikroorganismer i et flydende vækstmedie.



Figur 38. Graf over eksponentiel vækst.

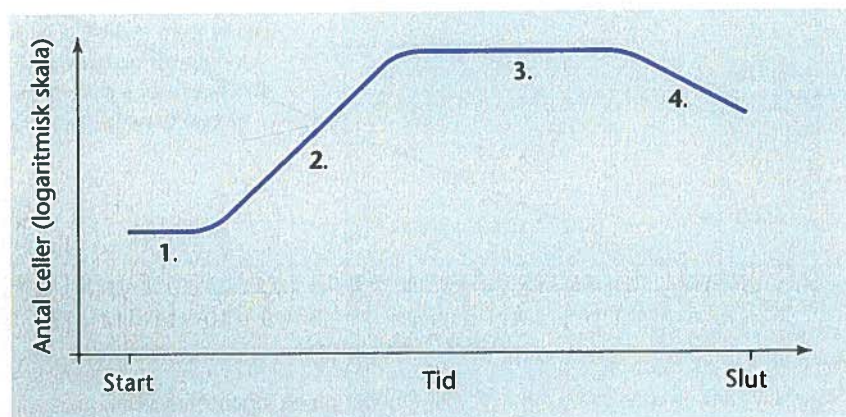


Figur 39. Samme data som i figur 38, her afbildet på en logaritmisk skala.

På et tidspunkt vil én eller flere af de tidligere nævnte parametre begrænse væksten, og mikroorganismene overgår da til *stationærfasen*. I denne fase vil nogle af cellerne dø og blive nedbrudt. Dermed kan de blive næring for andre celler, som så deler sig og erstatter de gamle. Stationærfasen er med andre ord en fase hvor mikroorganismene set som en population blot overlever, og deres antal vil være mere eller mindre konstant. Hvis man undersøger sammensætningen af stoffer i cellerne i denne fase, kan man se at den adskiller sig fra sammensætningen af stoffer i den eksponentielle vækstfase. Det kan man tage som udtryk for at forskellige gener er aktive i de forskellige faser. I den eksponentielle fase er det især vækstgener der er aktive, mens det i højere grad er gener involveret i overlevelse der er aktive i stationærfasen. I stationærfasen er det fx gener der sørger for dannelse af antibiotika og andre forsvarsstoffer der er aktive. Man ser også at nogle mikroorganismer i denne fase danner *sporer* i stedet for de almindelige celler. Sporer fungerer netop som et hvilestadium for mikroorganismer, og de kan – hvis forholdene ændrer sig igen – blive omdannet til aktive celler.

Figur 40. Et vækstforløb for en population af mikroorganismer.

1. lagfase
2. eksponentiel vækstfase
3. stationærfase
4. dødsfase



Når en population af mikroorganismer har været i stationærfasen en vis tid, overgår den til *dødsfasen*. I denne fase er antallet af mikroorganismer som regel eksponentielt aftagende. Det vil sige at antallet bliver halveret pr. tidsenhed. Rent matematisk kan man beskrive det således:

$$y = 0,5^x$$

Hvor x denne gang er halveringstiden, og y er antallet af celler efter x antal halveringer af populationen. Igen afbilder man antallet af celler på en logaritmisk skala som funktion af tiden.

En mikroorganismes fire vækstfaser udgør tilsammen dens vækstforløb, som man kan afbilde som vist i figur 40.

Vækst og infektioner

Sygdomsfremkaldende mikroorganismer har et tilsvarende vækstforløb når de trænger ind i en organisme hvis ikke de bliver bekæmpet. Deres indtrængen kalder man en *infektion* eller en smitte af værtsorganismen. Det er vigtigt for den organisme, der bliver inficeret, at få bekæmpet den sygdomsfremkaldende mikroorganisme tidligt i dens eksponentielle vækstfase, ellers vil den nå den stationære fase. I denne fase vil mikroorganismen dels findes i et stort antal, og dels vil den have en forøget modstandskraft over for antistoffer, antibiotika m.m. Den vil derfor kunne svække værtsorganismen yderligere og evt. forårsage dens død. I kapitlet Mikroorganismer og menneskets sundhed kan man læse mere om infektioner.

Vækst i naturlige økosystemer

I naturlige økosystemer foregår der også vækst af mikroorganismer. Det tænker vi vel mest over hvis væksten bliver meget

Mikroorganismer i produktion

Mikroorganismer har en række egenskaber som gør dem meget anvendelige til industriell udnyttelse. De er fx encellede. Det betyder at alle celler i en rendyrket kultur er ens og dermed producerer de samme stoffer. En lille celle har også en relativ stor overflade i forhold til dens volumen. Det betyder at den er mere effektiv til at optage og udskille stoffer end en større celle, og den vokser og deler sig derfor hurtigere.

Mikroorganismer er også velegnede til at dyrke i flydende vækstmedier i store tanke. I sådanne tanke kan man relativt nemt skabe passende vækstbetingelser for de mikroorganismer man ønsker at anvende. Det er forskelligt om det stof man

ønsker produceret af en mikroorganisme, bliver dannet i dens eksponentielle vækstfase eller i dens stationære fase. Det er derfor vigtigt at kunne kontrollere vækstbetingelserne. Læs mere om mikroorganismers vækstfaser i kapitlet Mikroorganismers vækst og formering, side 36-38.

Det er især bakterier, gær- og skimmelsvampe, man bruger til industrielle produktioner. Figur 101 viser nogle typiske kommercielle produkter, der er fremstillet ved hjælp af disse mikroorganismer.

Man kalder den del af industrien der benytter

sig af mikroorganismer i produktionen, for *fermenterings-industrien*. Egentlig er fermentering det samme som gæring, det vil sige en delvis omdannelse af organiske stoffer uden brug af ilt eller andre respirationsmidler, se side 54. Mange produktioner foregår da også ved hjælp af mikroorganismer der laver gæringer, men det er langt fra alle. I industriell sammenhæng dækker begrebet fermentering derfor mere bredt over stor-skala-produktioner af biologiske stoffer ved hjælp af mikroorganismer. I det følgende vil vi se nærmere på mikrobiologien i nogle af disse produktioner.

Produktion af øl

Øl som vi kender det i dag, er brygget på byg og humle, se figur 102.

I middelalderen blev øl af samme type drukket af både børn og voksne i stedet for vand, da man ofte blev syg af at drikke brøndvand. Øl kunne derimod slukke tørsten uden at give maveproblemer, sandsynligvis fordi den blev kogt under brygningen. Endvidere virker alkohol i sig selv hæmmende på vækst af mikroorganismer, og det er formentlig forklaringerne på øllets sygdomshæmmende funktion i middelalderen.

Ølbrygning blev en industriell produktion i Danmark fra midten af 1800-tallet hvor brygger Jacob Christian Jacobsen (1811 - 1887) i 1847 grundlagde Carlsberg.

Figur 103 viser princippet i industriell ølbrygning.

Det første der sker, er at maltbyg – som er byg der er specielt egnet til brygning – sættes i blød i vand og derefter overføres til spirekasser, se figur 103a, b og c. Byggen spirer, og man kalder den

Figur 101. En tabel over nogle typiske kommercielle produkter der er fremstillet ved hjælp af bakterier, gærsvampe eller skimmelsvampe.

Drkkevarer

Øl
Vin
Whisky

Fødevarer

Smør, ost og surmælksprodukter
Bagegær
Pickles, oliven, sauerkraut og sojasauce

Smagsstoffer og kosttilskud

Eddike
Vitaminer

Organiske syrer

Citronsyre

Enzymer

Vaskepulver
Tandpasta

Hæmmende stoffer

Antibiotika

Medicin o.l. produceret af transgene mikroorganismer

Insulin
Humant væksthormon
Vacciner
Blodprotein



derefter *malt*. Under spiringen producerer byg stivelsesnedbrydende og proteinspalteende enzymer som har betydning senere i bryggeprocessen. Efter spiring tørres malten, hvorefter den males i en maltmølle så den får en større overflade, se figur 103d og e. Den maledede malt bliver blandet med vand og opvarmet, se figur 103f. Hensigten er at de enzymer som blev dannet under spiringen, dels skal spalte proteiner og dels skal nedbryde stivelse til maltsukker og glukose. Maltsukker kalder man også maltose. Processen

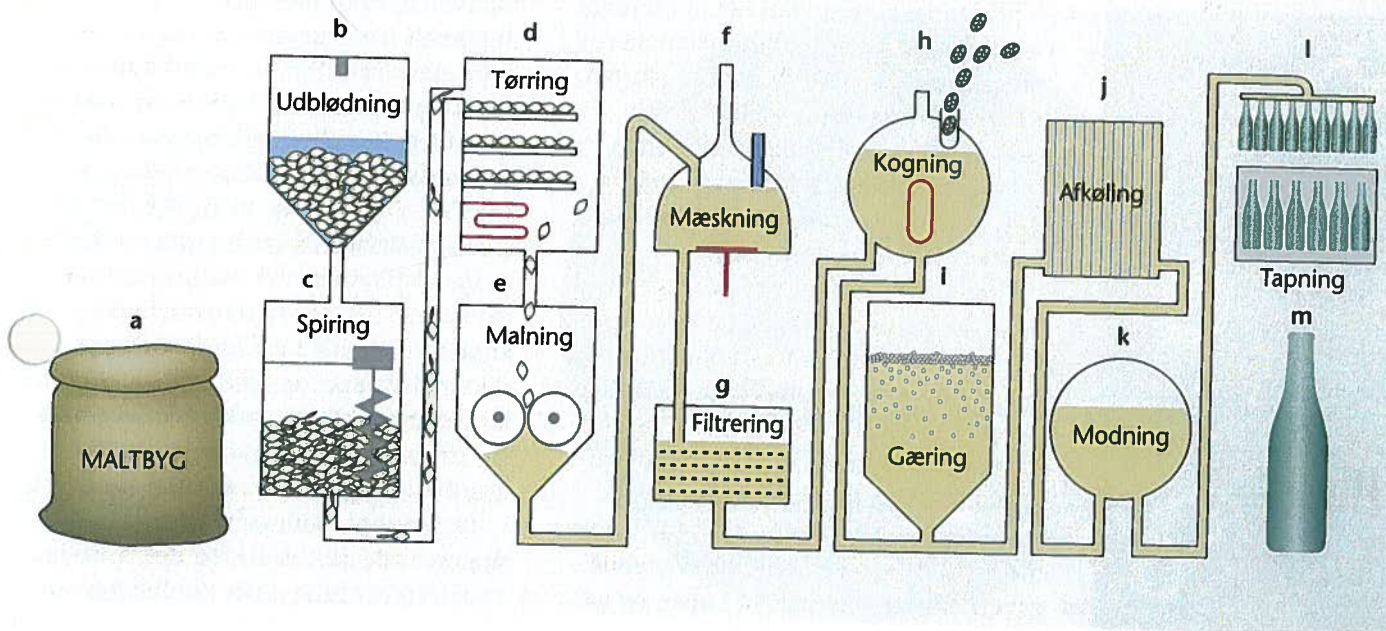
kalder man mæskning, og produktet kalder man *mæsk*. For at udnytte enzymerne optimalt, supplerer man nogle gange med råfrugt, som er stivelse fra ris eller majs, så der bliver dannet særlig meget maltose og glukose. Mæsken filtreres derefter, se figur 103g. Den frafiltrerede del bruger man som dyrefoder, mens filtratet som man kalder *ølurt*, går videre til næste proces. Næste proces er kogning af ølurten under tilsætning af humle, se figur 103h. Humle er med til at give øllet sin karakteristiske bitre smag, og kogningen

Figur 102. a. Toradet byg. b. Humle.

Fotos: a. Gerth Hansen/Biofoto og b. Kjeld Olesen/Biofoto.

Figur 103. Schematisk oversigt over processerne i ølbrygning. Se forklaringer i teksten.

Kilde: www.crc.dk/flab/ (Carlsberg Research Centre).





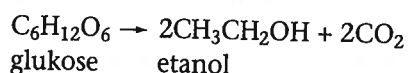
www.nucleus.dk
Ølbrygning.

ødelægger enzymerne og steriliserer ølurten. Ølurten har nu en sammensætning af stoffer der gør den velegnet som vækstmedie for gær. Efter afkøling bliver den derfor tilsat gær. Hver gæringstank kan indeholde godt 500.000 liter.

Gærsvampe og ølbrygning

Man bruger encellede gærsvampe af slægten *Saccharomyces* når man brygger øl, se figur 104.

Disse encellede gærsvampe kan som alle andre eukaryote organismer lave en aerob respiration. Det vil sige at de under forbrug af ilt kan omdanne organiske stoffer til kuldioxid og vand, og få energi ud af det. Men under iltfattige forhold laver de gæring for at få energi. Ved gæringen danner de alkohol (etanol) og kuldioxid ud fra glukose eller maltose, her vist med glukose:



På bryggeriet skaber man netop iltfattige vækstbetingelser i gæringstankene så der ved gæring produceres alkohol i ølurten, se figur 103i. Samtidig danner gæren også en række af de smagsstoffer man finder i øl. Gæringen fortsætter indtil gæren har dannet så meget alkohol at det hæmmer dens egen vækst.

Efter gæring samler gæren sig – afhængig af dens type – i bunden eller toppen af tanken, hvorfra den kan opsamles og bruges til en ny gæring. Nogle gærceller bliver dog i øllet, og de er ansvarlige for modningen af øllet. Efter gæring bliver øllet afkølet og derefter overført til en modningstank, se figur 103j og k. Under modningen optager de tilbageværende gærceller uønskede stoffer i øllet, og gær

og partikler bundfældes efterhånden. Indholdet af kulsyre (CO_2) i øllet bliver justeret, inden øllet til sidst tappes på dåser eller flasker og er klar til at drikke, se figur 103l og m.

Et historisk tilbageblik

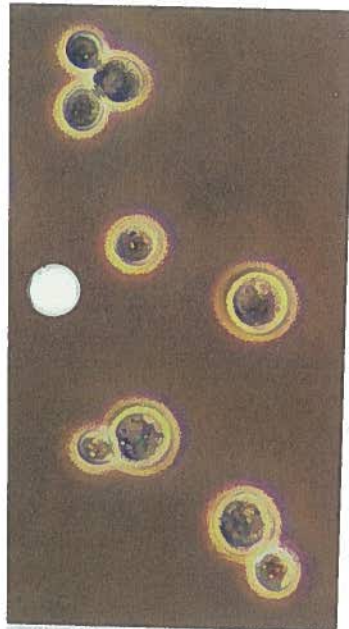
De gærsvampe man oprindeligt brugte i den industrielle ølbrygning, var den art vi i dag kender som bagegær, *Saccharomyces cerevisiae*, se figur 104. Tilbage i midten af 1800-tallet havde man dog ingen idé om at det man kaldte gær, indeholdt levende organismer. Alligevel udvekslede bryggerier rundt om i Europa gær med hinanden, dels for at prøve at ændre lidt på smag og aroma i deres bryg, og dels fordi øllet nogle gange blev udrikkeligt.

Den franske kemiker Pasteur fik, som beskrevet i kapitlet Mikrobiologiske arbejdsmetoder, side 86-87, stor betydning for den moderne mikrobiologi. En del af hans forskning var til stor glæde for ølindustrien, fordi han fandt ud af at 'gær' indeholdt levende organismer – hovedsageligt gærsvampe. Han indførte begreberne aerob og anaerob idet han undersøgte og konstaterede at gæringer foregik uden forbrug af ilt, altså anaerobt. I løbet af 1860'erne og -70'erne identificerede Pasteur også årsagen til at brygget nogle gange blev udrikkeligt. Han undersøgte det dårlige bryg og fandt at det både kunne indeholde flere forskellige gær- og skimmelsvampe, og også forskellige eddikesyre- og mælkesyrebakterier. På grundlag af sine studier udgav han i 1876 en bog om 'ølsygdomme', se figur 105.

Pasteur opfandt også pasteurisering som metode, se side 87, og det viste sig at den forlængede øllets holdbarhed, for-

Figur 104. Gærceller af slægten *Saccharomyces* set i lysmikroskop. Disse celler stammer fra en pakke bagegær.

Foto: Per Schriver.



di metoden især dræbte bakterier i brygget. Pasteurisering har derfor siden slutningen af 1870'erne været en integreret del af industriel ølbrygning. Man pasteuriserer øllet når det er blevet tappet på dåser eller flasker, se figur 103l, og som nævnt tidligere, steriliserer man også ølurten inden man tilsætter gær.

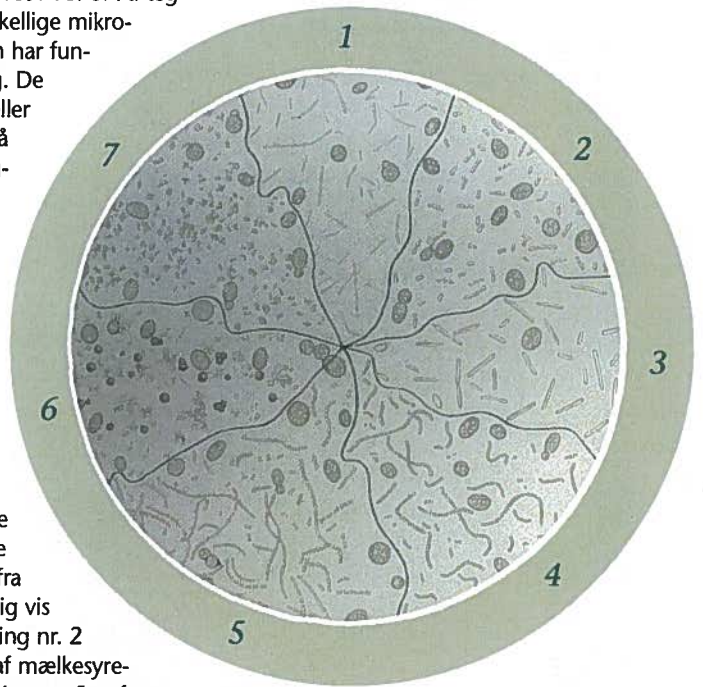
Carlsberg Laboratorium

Brygger Jacobsen var ikke bare praktisk interesseret i ølbrygning, han var også videnskabeligt interesseret. Derfor oprettede han i 1875 et forskningslaboratorium i tilknytning til bryggeriet. Det var Carlsberg Laboratorium som forskede i gærs fysiologi og ølbrygningens kemi. Det blev og er stadig en af verdens førende forskningsinstitutioner inden for sit område.

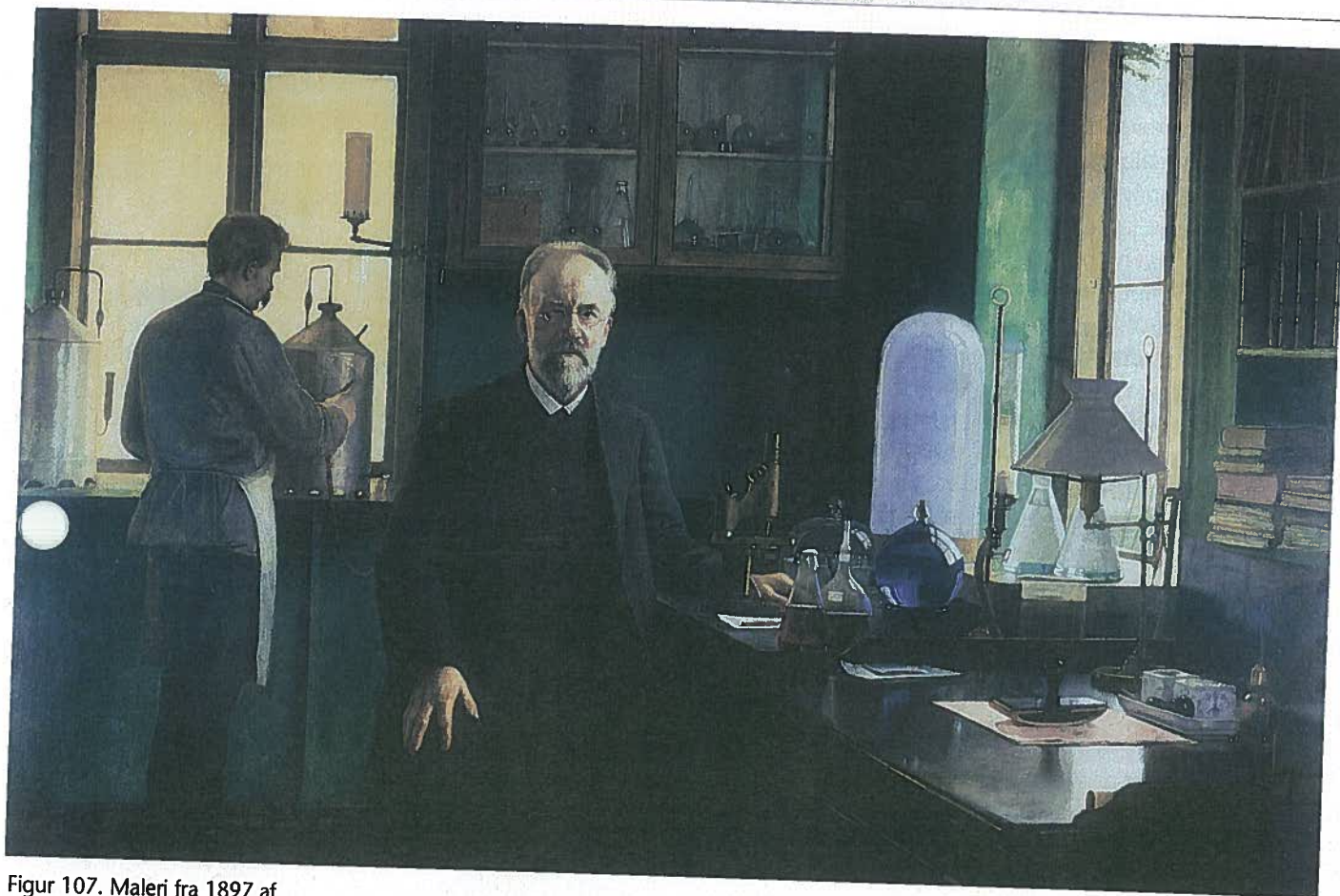
På Carlsberg fandt man snart ud af at pasteurisering ikke altid er tilstrækkeligt til at forhindre et dårligt bryg. Man vidste ganske vist at gæren ikke skulle være forurenset med bakterier, og man havde på laboratoriet fundet forskellige dyrkningsmetoder der favoriserede gærceller frem for bakterier. Men det viste sig at gæren også kunne blive forurenset af *wild-gær*, det vil sige af gærceller fra luften. Det fik forsker Emil Christian Hansen (1842 - 1909), som var ansat på Carlsberg Laboratorium til at rendyrke gær. Det vil sige at han fra en gærkultur udtog gær som han dyrkede på faste vækstmedier så der fremkom kolonier, se figur 106.

Fra en koloni der jo består af genetisk ens celler, udtog han celler til videre dyrkning. På denne måde opnåede han rene kulturer af forskellige varianter af *Saccharomyces cerevisiae*. Ved at ændre på dyrkningsbetingelserne fik han selekteret

Figur 105. Tegning fra bogen om ølsygdomme som Pasteur fik udgivet i 1876. På tegningen ser man forskellige mikroorganismer som han har fundet i forskellige bryg. De store celler er gærceller der er tegnet med så man kan sammenligne størrelsen med de øvrige organismer. Kun tegning nr. 6 er fra et normalt bryg og viser hvad bundfaldet indeholder. Ud over gærceller indeholder det mest forskellige farvede partikler, og altså kun få andre mikroorganismer. De øvrige tegninger er fra bryg som på forskellig vis er dårligt, fx er tegning nr. 2 fra bryg domineret af mælkesyrebakterier, mens tegning nr. 5 er fra bryg domineret af eddikesyrebakterier.



Figur 106. Agarplade med gærudstrygning. Væksten fremkommer ved at man med en steril podenål tager gær fra en kultur og laver den første udstrygning. Næste udstrygning laves ved at trække en steril podenål gennem den sidste del af den første udstrygning, og tredje udstrygning laves ved at trække en steril podenål gennem sidste del af anden udstrygning. Som man kan se, fremkommer der velafgrænsede kolonier i tredje udstrygning. Foto: Per Schriver.



Figur 107. Maleri fra 1897 af Emil Christian Hansen i sit laboratorium. Han ville gerne have taget patent på den rendyrkede gær, men brygger Jacobsen holdt sig til den tradition der var blandt bryggere for at udveksle gær med hinanden. I dag identificeres alle mikroorganismer med nye egenskaber.

Foto er venligst stillet til rådighed af Carlsberg.

forskellige nye varianter, som viste sig at være særligt velegnede til ølbrygning,

Det er således ham der i 1883 har frembragt den art af gær vi i dag kalder ølgær eller *Saccharomyces carlsbergensis*, og som man bruger over hele verden til ølbrygning. Figur 107 viser et maleri af Emil Christian Hansen i sit laboratorium.

Forædling af gær

I dag anvender man forædlede varianter af både *Saccharomyces cerevisiae* og *Saccharomyces carlsbergensis* til ølbrygning. Efterhånden har man kortlagt gærens gener, og ved at parre gærvarianter med

udvalgte genetiske egenskaber med hinanden kan man skabe nye typer øl med en anden smag og aroma.

Gærceller er normalt haploide celler med 16 forskellige kromosomer. De laver mitoser og deler sig ved knopskydning, se figur 104, side 98. De findes i to forskellige parringstyper, a og α (alfa), se figur 108.

Når de to parringstyper bliver blandet, kan en a -celle parre sig med en α -celle og danne en zygote, der er en diploid celle. De diploide celler kan også lave mitoser og dele sig ved knopskydning. Under ugunstige forhold laver de diploide celler



www.nucleus.dk

Forsøg med forskellige parringstyper af gær.

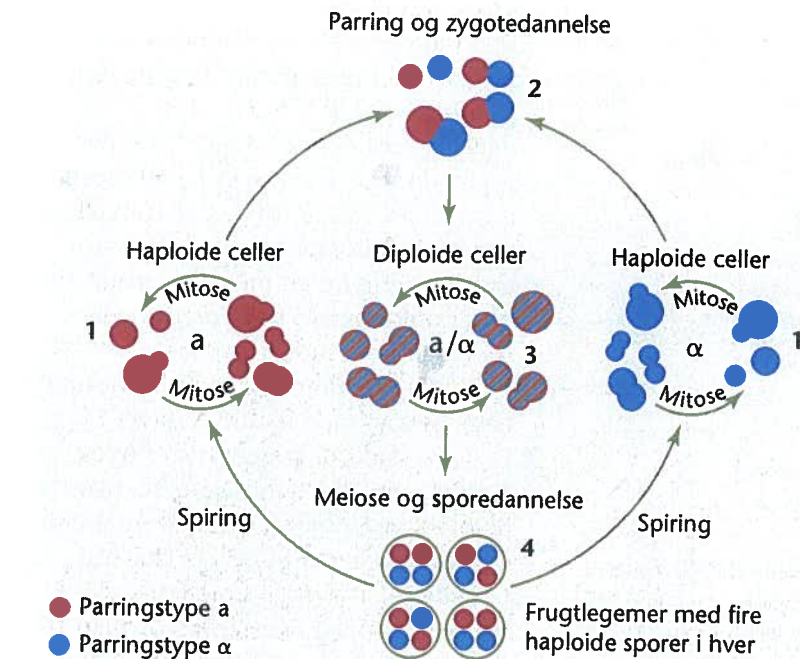
meiose og omdannes til fire haploide sporer. Når forholdene igen bliver bedre, frigives sporerne, og de spirer til nye haploide gær-celler. De nye haploide gær-celler indeholder nye kombinationer af det genetiske materiale. Det er fordi der i meiosen sker overkrydsninger mellem kromosomer fra de to oprindelige par-ringstyper, og derefter en tilfældig fordeling af kromosomerne til de nye celler. Læs mere om mitose og meiose i kapitlet Mikroorganismers vækst og formering, side 43-44. På denne måde kan man – ved at ændre på dyrkningsforholdene – frembringe nye varianter af gær-celler.

Enzymproduktion

I slutningen af 1800-tallet fandt man også ud af at man kunne lave alkohol-gæring ved hjælp af ekstrakter fra gær. Det vil altså sige at der i en gær-celle findes stoffer som kan fungere uden for den levende celle. Disse stoffer døbte man *enzymer*, som betyder i gær eller i surdej.

Det har siden vist sig at der findes enzymer i alle levende organismer. De fungerer som *katalysatorer* for cellernes stofskifteprocesser. Det vil sige at enzymer fremmer omdannelsen af stoffer uden selv at blive brugt. Enzymer er altid opbygget af protein og kan derudover indeholde metal-ioner og vitaminer. De er specifikke, hvilket betyder at de kun er i stand til at katalysere én bestemt stofskifteproces. Det stof et enzym omdanner, kalder man enzymets *substrat*.

Mange enzymer fungerer udmærket uden for de levende celler. De skal blot befinde sig i en vandig opløsning der med hensyn til substrat, pH og temperatur minder om miljøet i cellen de kom fra.



Figur 108. Livscyklus for gær-celler af slægten *Saccharomyces*. Efter www.crc.dk/flab/ (Carlsberg Research Centre).

- Til vaskepulver (vask ved lave temperaturer)
- Til tandpasta (modvirkning af plakdannelse)
- Til 'stonewashing' af cowboybukser
- Til klaring af frugtjuice
- Til brødbagning (bedre hævnning)
- Til at give bomuldstøj silkelook
- Til fremstilling af sukkersirup ud fra kartoffel- eller majsstivelse
- Til blødgøring af læder

Figur 109. Industrielt producerede enzymeres anvendelse. Kilde: www.novozymes.com.

I industrien har man siden slutningen af 1800-tallet udvundet enzymer til kommercielt brug. Med udviklingen af forskellige molekylærbiologiske teknikker i løbet af den sidste halvdel af 1900-tallet har man mere målrettet kunnet fremstille enzymer med særlige egenskaber. Enzymer viser sig at være særdeles anvendelige i mange sammenhænge. Figur 109 viser en oversigt over anvendelser af industrielt producerede enzymer.



www.nucleus.dk

Undersøgelse af aktivitet af ektoenzym hos bakterie.

Mikroorganismers rolle

Den industrielle produktion af enzymer foregår ved hjælp af mikroorganismer. Bl.a. har bakterien *Bacillus subtilis*, se figur 45, side 42, og skimmelsvampen *Aspergillus oryzae* vist sig som velegnede organismer, bl.a. fordi de er harmløse for mennesket. Denne egenskab er overordentlig vigtig for en mikroorganisme der bliver opformeret i så store mængder som man gør i industrien.

Bacillus subtilis er en aerob stavformet bakterie som man naturligt finder i jord. Den er i stand til at nedbryde stivelse og andre komplekse kulhydrater fra planter, og trives ved 22-40 °C. Da stivelsesholdige vækstmedier er billige, er bakterien velegnet til at dyrke i store tanke. Man har også kortlagt dens gener, og man er derfor i stand til at udnytte alle dens kendte egenskaber.

Aspergillus oryzae findes ikke naturligt i Danmark. Men i Østasien vokser den naturligt i jord, på planterester og på korn.

I Japan har man en ældgammel tradition med at fremstille *koji* ved hjælp *Aspergillus oryzae*. *Koji* er en slags surdej som man fremstiller på grundlag af dampkogte ris som svampen forgærer. Man bruger *koji* i produktionen af sojasauce og risvin.

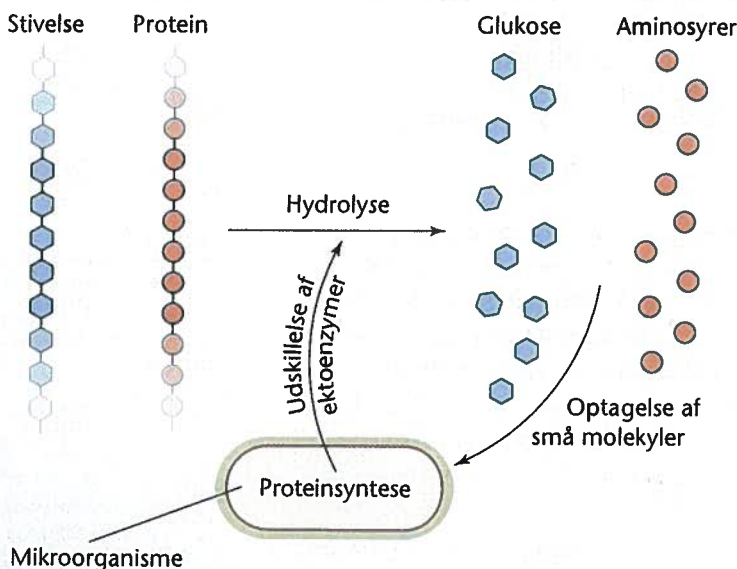
Aspergillus oryzae trives bedst ved temperaturer på omkring 35 °C, og vokser slet ikke ved temperaturer under 23 °C. De varianter af svampen man bruger til produktion, danner ikke sporer, hvilket ellers er normalt for *Aspergillus*-slægten, se figur 48, side 45.

Begge de anvendte mikroorganismer har det til fælles at de producerer enzymer der kan nedbryde komplekse stoffer, som fx stivelse og store proteiner. Men de kan ikke optage disse store molekyler direkte, og derfor udskiller de enzymer som katalyserer en nedbrydning af molekylerne til mindre molekyler som glukose og aminosyrer. På den måde har enzymerne samme funktion som enzymer i vores mave-tarm-system, nemlig at nedbryde store molekyler til mindre bestanddele som kan optages direkte, se figur 110.

Man kalder enzymer der udskilles, for *ektoenzymer*, idet ekto betyder udenfor. Vores fordøjelsesenzymer udskilles sådan set også uden for kroppen, selv om vi umiddelbart betragter mave-tarm-systemet som en indre del af vores krop. Men i princippet er fordøjelsessystemet blot et rør gennem vores krop, der er beklædt med slimhinde.

Mange af de enzymer som mikroorganismer udskiller, har vist sig at være anvendelige, fx til fremstilling af vaskepulver hvor man netop har brug for stivelses- og proteinspaltende enzymer til at fjerne madpletter på tøj.

Figur 110. Mikroorganisme der udskiller enzymer og derved nedbryder makromolekyler til mindre bestanddele. Ved processer af den type indgår vand. Derfor kalder man også den slags processer for *hydrolyse*, idet hydro betyder vand, og lyse betyder opløse.



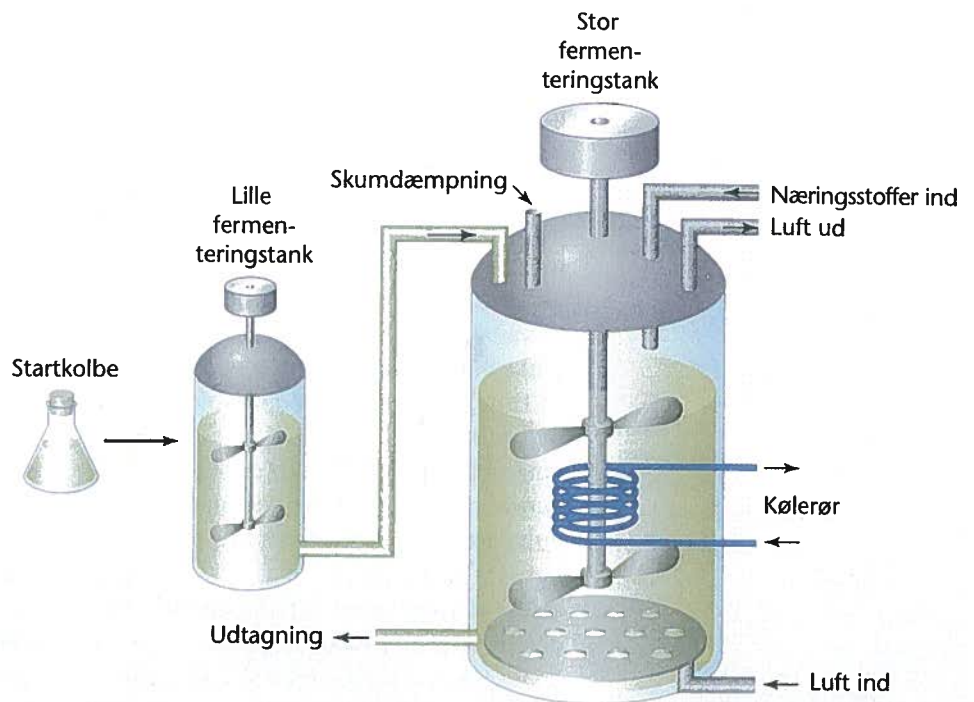
Stor-skala-produktion

Når man skal starte en produktion af et enzym, begynder man – ligesom i et almindeligt laboratorium – med at overføre en smule af en bakterie- eller svampkultur til et flydende vækstmedie. Når produktionen er i gang, bliver kulturen overført til en tank på nogle hundrede liter for til sidst at ende i tanke på op til 160.000 liter. I tankene er der omrøring, og man kan kontrollere pH og temperatur, samt tilførsel af luft- og næringsstoffer. Man kan således skabe vækstforhold der er optimale for at få mikroorganismene til at producere netop det enzym man ønsker, se figur 111.

Når fermenteringen stopper, indeholder tanken en blanding af ubrugte næringsstoffer, vand, mikroorganismer samt de ønskede enzymer. Man fjerner først mikroorganismene fra væsken ved at centrifugere blandingen i en stor tromle med et filter. Mikroorganismene kan genbruges. Derefter adskiller man enzymerne fra resten af blandingen, fx ved filtrering eller ved udfældning med et salt. Hvilken oprensning man bruger, afhænger af hvilket enzym der er tale om.

Hvis produktet skal være meget rent, kan man oprense enzymet yderligere ved at overhælde en *ionbyttersøjle* med et vandigt koncentrat af enzymet, se figur 112.

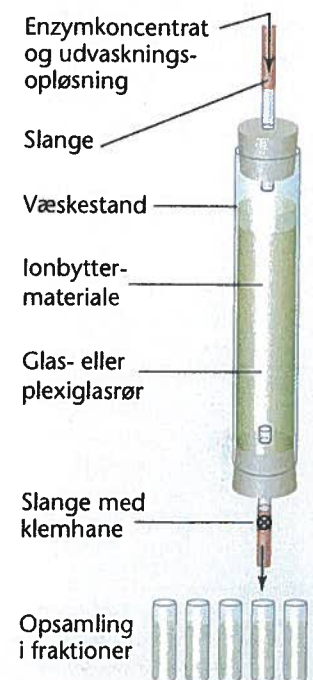
En ionbyttersøjle er lavet af et materiale som gør at den er elektrisk ladet, ligesom ioner. Den er konstrueret således at dens ladninger vil tiltrække enzymet, der også er elektrisk ladet. Enzymet vil derfor binde sig til søjlen. Derefter udvasker



Figur 111. Stor-skala-produktion af enzym. Efter Perry m.fl., 2002.

man enzymet igen, fx ved at overhælde søjlen med stigende koncentrationer af et salt, der jo også består af ioner. Saltets ioner vil bytte plads med enzymet, som efterhånden vil slippe søjlen og blive vasket ud. Hvornår enzymet bliver udvasket, afhænger af dets kemiske sammensætning. Ved at opsamle den væske som bliver vasket ud af søjlen i mindre fraktioner, kan man – ved at analysere disse nærmere – finde frem til de fraktioner der indeholder enzymet. Da enzymkoncentratets øvrige bestanddele bliver udvasket på forskellige tidspunkter, vil enzymet efter gennemløb i søjlen være mere oprenset end før.

Figur 112. En ionbyttersøjle. Se forklaringer i teksten.



Genmodificerede mikroorganismer

Kun en mindre del af de mikroorganismer man bruger i industrien i dag, har naturligt evnen til at producere bestemte enzymer i passende store mængder. Derfor er de fleste mikroorganismer der producerer enzymer, genmodificerede. Læs mere om genmodifikation i kapitlet Mikrobiologiske arbejdsmetoder, side 93-94. Fx finder man ikke mange mikroorganismer som naturligt udskiller et fedtspaltende enzym. Men det er ønskeligt at kunne tilsætte sådan et enzym til vaskepulver, så også fedtpletter kan blive fjernet ved vask.

Det danske firma Novozymes har fundet en skimmelsvamp som har et gen der koder for et fedtspaltende enzym. Men svampen egner sig ikke til stor-skala-produktion. Derfor har man ved hjælp af gensplejsning og efterfølgende transformation, indsat dette gen i en variant af *Aspergillus oryzae*. Da denne skimmelsvamp egner sig fint til stor-skala-produktion, kan man i dag få vaskepulver med fedtspaltende enzymer. På samme måde er det lykkedes at designe andre mikroorganismer, der producerer enzymer som de ellers ikke naturligt danner.

Risikovurdering

I Danmark skal en virksomhed der ønsker at anvende en genmodificeret mikroorganisme kommercielt, have produktionen godkendt af myndighederne. Man ønsker en vurdering af om produktionen kan udgøre nogen risiko for mennesker og miljø. Man undersøger risikoen for følgende fire forhold:

1. Udslip af mikroorganismene fra produktionsanlægget til miljøet.
2. Mikroorganismernes muligheder for at overleve i miljøet.
3. Mikroorganismernes muligheder for at påvirke miljøet.
4. Mulighederne for at de indsplejsede egenskaber spredes til andre mikroorganismer.

For at undersøge disse risici indhenter myndighederne oplysninger om de forhold produktionen skal foregå under. Man sammenholder også mikroorganismens muligheder for at udgøre en risiko for mennesker og miljø med en tilsvarende ikke-genmodificeret mikroorganismes.

I tilfældet med den genmodificerede *Aspergillus oryzae*, der producerer et fedtspaltende enzym, har man fx sammenholdt dens evne til at klare sig i et fedtholdigt miljø med en naturlig variants evne til det samme. Det viser sig at de klarer sig lige godt. Den genmodificerede variant har således ikke fået nogen overlevelsesmæssig fordel af den nye egenskab.

Man har undersøgt produktionen af genmodificeret *Aspergillus oryzae* på Novozymes. Der er fire måder hvorpå svampen vil kunne undslippe fra produktionsanlægget til det omgivende miljø:

1. Direkte fra fabrikken når fermenteringstankene tømmes og renses.
2. Via fabrikkens spildevand.
3. Via den luft som blæses gennem tankene og udledes via en skorsten til omgivelserne.
4. Via det slam som er restprodukt og bruges som gødning på marker.

Det viser sig at svampen undslipper. Det største udslip sker direkte fra fabrikken

når tankene bliver tømte. Fra spildevandet sker der også en vis udledning af svampen, selvom spildevandet bliver sendt gennem et renseanlæg inden udledning til havet. I havet kan svampen ikke overleve, vandet er for salt. Fra luften undslipper svampen også, men kun i meget begrænset antal. I luft overlever svampen dårligt, den udtørres. Da den heller ikke producerer sporer, overlever svampen ikke udledningen til luftmiljøet. I slammet er der slet ingen levende svampe, idet slammet – inden anvendelse som gødning på marker – er blevet opvarmet til 90 °C.

I alle tilfælde hvor svampen slipper ud, er der en risiko for at det indspilejede gen kan blive optaget af andre mikroorganismer, også selv om svampen dør. Risikoen anser man for at være meget lille. Selv om man kan konstatere at der formodentlig sker et mindre udslip af den genmodificerede svamp til omgivelserne, har man ikke kunnet finde den i det omgivende miljø. Under alle omstændigheder må man formode at svampen har svært ved at etablere sig, da den som nævnt slet ikke kan vokse ved temperaturer under 23 °C. Myndighederne har derfor godkendt produktionen og kontrollerer den løbende.

Produktion på et mejeri

På et mejeri fremstiller man en række produkter ud fra mælk. Figur 113 viser hvilke produkter man laver ud fra mælken.

Til fremstilling af smør, kærnemælk og surmælksprodukter bruger man mikroorganismer, mens man både bruger mikroorganismer og enzymer til produktion af ost.

Som man kan se af figur 113, er noget af det første der sker med mælken at den bliver enten høj- eller lavpasteuriseret. Forskellen på høj- og lavpasteurisering er især temperaturen det foregår ved. Ved højpasteurisering bliver mælken opvarmet til 83-92 °C i 15 sekunder, mens den ved lavpasteurisering bliver opvarmet til 70-75 °C i 15-20 sekunder. Formålet er – uanset temperaturen – at dræbe så mange uønskede mikroorganismer som muligt, men samtidig bevare smag, lugt og vitaminer i mælken. Ved højpasteurisering er det stort set kun bakteriesporer der overlever, mens også forskellige mælkesyrebakterier overlever ved lavpasteurisering.

Figur 113. Fremstilling af en række produkter ud fra mælk. Til fremstilling af produkterne der er markeret med en stjerne, bruges der mikroorganismer. Se yderligere forklaring i teksten. Efter Thouggaard m.fl., 2001.

