

Dit branchemagasin fra TechMedia

Kemisk Forening - Kemiingeniørgruppen

# dansk kemi

Nummer 11 - November 2015 / 96. årgang

## Fremtidens mikroskopiske industrirobotter

Egtvedpigens hemmeligheder  
Fokuser mere på patentering



# INDHOLD



**1 Forside:** "Rationelt design af enzymer - fremtidens mikroskopiske industrirobotter" fortæller historien om, hvordan man kan udvikle nye og effektive enzymer til nedbrydning af cellulose, så cellulosens potentiale som råstof kan realiseres. Billede: Jeppe Kari og Johan Olsen.

**6 Egtvedpigens overraskende liv**  
Egtvedpigens - indbegrebet af dansk bronzealder - voksede op flere hundrede kilometer fra Egtved og kom til "Danmark" kort tid før sin død. De overraskende forskningsresultater bygger på tværfaglig forskning med udgangspunkt i strontiumisotopanalyzer af pigens selv og flere fund fra hendes grav.

**11 Hvad er en god "bio-kemiingeniør?"**  
Den bedste måde at beskrive arbejdsområdet for "bio-kemiingeniøren" er gennem eksempler. I artiklen viser forfatteren, hvordan kombinationen af de to, tilsyneladende forskellige discipliner, bedst fungerer.

**16 Rationelt design af enzymer - fremtidens mikroskopiske industrirobotter**  
I en tid hvor klimaforandringer og forsyningssikkerhed dikterer et brud med fossil olie, er jagten gået ind på alternativer. Der er et enormt potentiale i at anvende cellulose som et sådan alternativ. Ved at udvikle nye og effektive enzymer kan nedbrydningen af cellulose gøres mere effektiv og cellulosens potentiale som råstof kan for alvor realiseres.

**20 Kan man få patent på bioteknologiske opdagelser?**  
Patentpraksis i USA fjerner sig stadig mere fra praksis i Europa, og at opnå et biotekpatent i USA er blevet vanskeligt.

**22 Kan patentmulighederne udnyttes bedre?**  
Antallet af patentansøgninger indleveret af danske fødevarevirksomheder i Europa i 2015 udgør 4,1%. Det er et lavt tal sammenlignet med lignende lande. Skal Danmark bevare en førerposition inden for fødevareteknologi, er et større fokus på patentering af forskning og udvikling vigtigt.

**25 NMR-spektroskopis udvikling III**  
Tredje og sidste artikel i vores serie om NMR-spektroskopis udvikling i Danmark. Her om nye NMR-spektrometre, superfølsomme prøvehoveder, paramagnetisk mærkning af bio-makromolekyler og beregningsmæssige fremskridt.

**28 ProduktNyt**

**31 Foreningsside**  
Læs mere om de nyeste arrangementer fra Kemisk Forening.

**31 Boganmeldelse**  
Guldbog Kemi C

## TechMedia

Naverland 35  
2600 Glostrup  
Telefon 43 24 26 28  
Fax 43 24 26 26

### Ledelse:

Adm. direktør Peter Christensen  
Direktør Rikke Marott Schelde  
Direktør Susanne Eine

### Redaktion:

Katrine Meyn (ansvarshavende)  
km@techmedia.dk  
Lektor Søren Kiil  
sk@kt.dtu.dk  
Ph.d. Kristian B. Krogh  
kbk@novozymes.com  
Professor Henrik Skov  
hsk@dmu.dk

### Redaktionskomité:

Professor Anne S. Meyer (formand)  
Professor, dr. scient. Mikael Bols  
Professor Morten J. Bjerrum  
(Kemisk Forening)  
Fagkonsulent i kemi Keld Nielsen  
Lektor, dr. phil. Carl Th. Pedersen  
Underdirektør  
Lars-Erik Kruse Pedersen  
Lektor, ph.d. Peter Szabo  
(Kemiingeniørgruppen)  
Professor, forskningschef Lars Wiebe  
Adjunkt, civilingeniør, ph.d. Merete  
Norsker Bergsøe  
Vibeke Richter Foërsom  
(Næstformand, Kemilærerforeningen)  
Konsulent Nikolai Stubbjær Nilsen  
Procesindustrien  
Seniorforsker, PhD.  
Peter Have Rasmussen

### Redaktionssekretær:

Heidi Thode  
ht@techmedia.dk

### Annoncer:

Annie Overgaard, tlf. 43 24 26 93  
ao@techmedia.dk

### Annonceproduktion:

Anni Jensen, tlf. 43 24 26 96  
aj@techmedia.dk

### Hjemmeside:

www.dansk kemi.dk

### Abonnement:

Kasper Mundt-Nielsen, tlf. 43 24 26 91  
e-mail: kn@techmedia.dk  
Ring vedr. abonnement eller bestil direkte  
på shop.techmedia.dk  
under Fagblade

### Layout:

Morten Malmgren

### Tryk:

PE offset A/S

Trykt på miljøvenligt  
papir med vegetabiliske  
miljøfarver.

Oplag: 5.245  
Ekspl. heraf 4.803  
i betalt abonnement.  
Online læsere: 3.792

Citater fra artikler i Dansk Kemi skal ske med tydelig kildeangivelse. Enhver form for gengivelse af artikler, herunder illustrationer, forudsætter udgiverens skriftlige tilladelse. Redaktionen kan ikke påtage sig ansvaret for materiale, der indsendes uopfordret.

ISSN 0011-6335

UK: Huson European Media -  
Tel.: (+44) 1932-564999  
USA, New York: Huson International Media  
Tel.: +1 212 268 3344  
USA, California: Huson International Media  
Tel.: +1 408 879 6666  
Germany: Huson International Media  
Tel.: (+49) 89-9500-2778



Scan og hent Dansk Kemi's  
medieinformation 2016 hér!

Brug for scanner? Send en  
sms til 1919 med ordet "scan"  
og få scanlife som app.

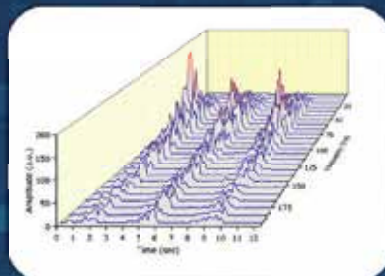
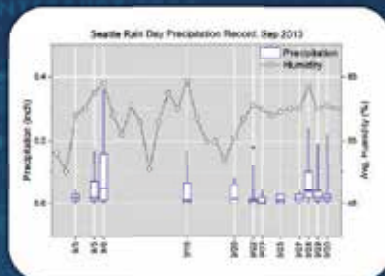
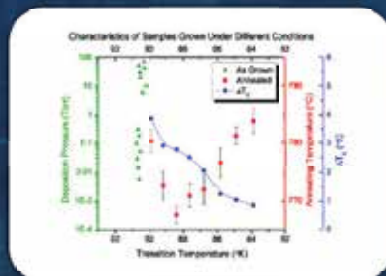
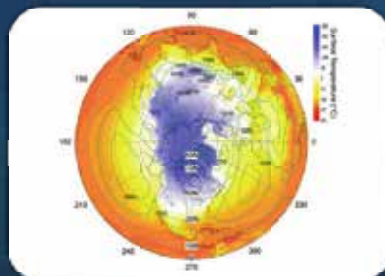
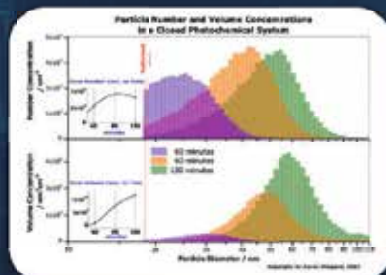
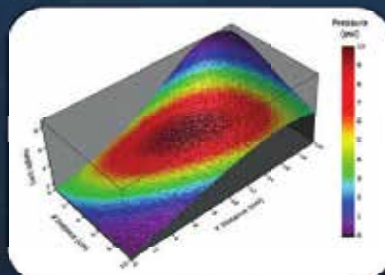
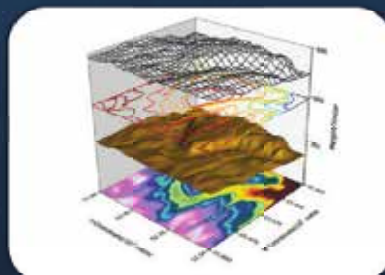
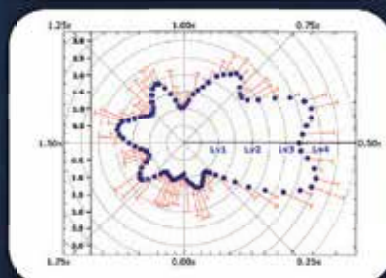
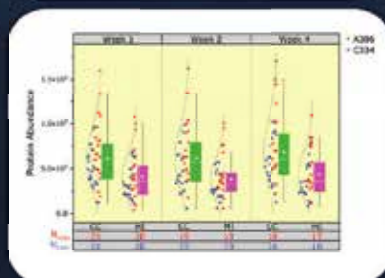
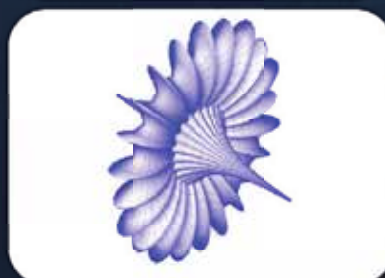


NEW VERSION!



# ORIGIN<sup>®</sup> 2016

Graphing & Analysis



Over 100 new features & improvements in Origin 2016!

**FOR A FREE 60-DAY EVALUATION,  
GO TO [ORIGINLAB.COM/DEMO](http://ORIGINLAB.COM/DEMO)  
AND ENTER CODE: 7853**

Dansk distributør  
Inno-Max  
Tlf: 9696 1111

Over 500,000 registered users worldwide in:

- 6,000+ Companies including 120+ Fortune Global 500
- 6,500+ Colleges & Universities
- 3,000+ Government Agencies & Research Labs

**OriginLab<sup>®</sup>**



## De danske universiteter står igen over for store udfordringer

” Vi må, for at kunne takle de nye besparelser, kræve frihed til at lave de løsninger, som tilgodeser en effektiv og forskningsbaseret undervisning

Universiteterne har gennem de sidste mange år været udsat for store omvæltninger. I 2003 kom en ny universitetslov. I 2007 skete der en fusion af universiteter over hele landet. I 2011-12 skete der en sammenlægning af mange institutter på landets universiteter, og endelig i 2014 kom så studiefremdriftsreformen. Dertil kommer så omlægningen af universiteternes forskningsmidler fra basismidler til konkurrenceudsatte midler. Alle disse ændringer har kostet, og koster stadigt, mange ressourcer for det videnskabelige personale på vores universiteter. Sideløbende med dette har der været et kraftigt meroptag af studerende, hvilket også har krævet en øget arbejdsbelastning.

Nu ser universiteterne igen ud til at blive udsat for nye store udfordringer. Der skal skæres 1,4 mia. kr. til næste år i de statslige forskningsbevillinger og spares 2% på uddannelserne hvert år de næste fire år. Dette er udmeldingen i forbindelse med finanslovsforslaget. En besparelse i forskningsbevillingerne vil også påvirke undervisningen via tabet af overhead til institutterne, som følger disse midler. Regeringen vil sideløbende med dette reformere taxametersystemet. Der vil også de næste år ske store besparelser i gymnasiet, som jo er universiteternes forsyningskilde af veluddannede studerende. Hermed er det klart, at der igen skal ske væsentlige justeringer i den måde, som vi forsker og underviser på. Hvordan sikrer vi, at der fortsat kan uddannes internationalt konkurrencedygtige kemikere under så omskiftelige vilkår?

At uddanne dygtige kemikere kræver tid og udstyr i et laboratorium og nærvær af en aktiv forsker. For at det skal lykkes at fastholde det høje niveau, må vi effektivisere vores undervisning i kemi. Vi må have fjernet en stor del af det bureaukrati, som er ved at kvæle forskning og undervisning på universiteterne. Det er ikke kun de kommende besparelser, som giver problemer, men også at vi hele tiden bliver låst i vores forsøg på at lave effektiv forskning og undervisning pga. en udpræget detailstyring fra politisk side.

Studiefremdriftsreformen og den voldsomme centralisering den har medført, må ændres. Centraliseringen må ikke blive en hæmsko for at lave effektiv undervisning. Et eksempel på spildt tidsforbrug er indførelsen af en ekstra eksamen i august i alle fag på KU. Dette er indført for, at de studerende kan indhente et fag, dersom de er dumpet i løbet af året. Et kæmpe ekstra arbejde for lærerne uden reel effekt, da kun få studerende har benyttet tilbuddet. Reformen stiller firkantede juridiske krav til de studerende, men den har også medført, at de studerende kan stille firkantede juridiske krav til universitetet. Reglerne har låst systemet i en sådan grad, at det skader effektiviteten. Vi må, for at kunne takle de nye besparelser, kræve frihed til at lave de løsninger, som tilgodeser en effektiv og forskningsbaseret undervisning. Vi må af med den regnearksfikserede styring af undervisning, som studiefremdriftsreformen har medført.

Morten J. Bjerrum

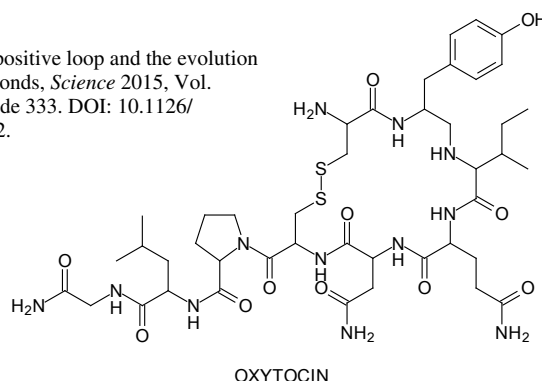
## Nyt om ... ... at se hunden dybt i øjnene

Det er velkendt, at når en mor ser sin baby i øjnene, stiger babyens produktion af kærlighedshormonet oxytocin og samtidig stiger moderens produktion af oxytocin også, hvilket igen

påvirker babyen, og sådan bliver det ved, så længe mor og baby bevarer øjenkontakten. Oxytocin gør os mere altruistiske og får os til at stole mere på hinanden. Det er nu vist, at fuldstændigt det samme sker, når vi stirrer vores hund ind i øjnene: Så stiger oxytocinkoncentrationen også både hos hund og menneske. Man har også gjort det samme forsøg med ulve; men her så man ingen stigning, og ulve forsøger at undgå øjenkontakt.

*Carl Th.*

Oxytocin-gaze positive loop and the evolution of human-dog bonds, *Science* 2015, Vol. 348 no. 6232, side 333. DOI: 10.1126/science.1261022.



### Anton Paar direkte i Danmark fra den 1. juli 2015 !

Anton Paar vil fra vort danske kontor varetage salg, support og service af alle vores produkt områder i Danmark fra den 1. juli 2015

Vi ser frem til den direkte kontakt til alle vores kunder i Danmark, samt det fremtidige samarbejde.

Kontakt os gerne så vi kan få alle rigtigt ind i vor database fra start.

**T: 4420 9888**  
**info.dk@anton-paar.com**  
**www.anton-paar.com**



**Anton Paar**

I to artikler fortæller Karin Margarita Frei den spændende historie om, hvordan hun vha. strontiumisotop-analyser afdækkede Egtvedpigens overraskende liv. I artikel 1 skildres baggrunden for fundet og analysemetoden forklares, og i artikel 2 skildres brugen af metoden på Egtvedpigens. Her bringes artikel 1.

# Egtvedpigens overraskende liv

Egtvedpigens – indbegrebet af dansk bronzealder – voksede op flere hundrede kilometer fra Egtved og kom til "Danmark" kort tid før sin død. De overraskende forskningsresultater bygger på tværfaglig forskning med udgangspunkt i strontiumisotopanalyser af pigen selv og flere fund fra hendes grav.

Af Karin Margarita Frei, seniorforsker, ph.d., Nationalmuseet

Siden fundet af Egtvedpigens grav i 1921 har hun været et nationalt ikon for Danmarks oldtid [1]. Egtvedpigens var 16-18 år, da hun døde [2] og dendrokronologiske analyser af egekisten hun lå i, viser, at hun blev begravet en sommerdag i år 1370 før vor tidsregning, hvilket placerer fundet i den ældre del af bronzealderen. Egtvedpigens grav vidner om, at hun tilhørte bronzealderssamfundets elite, og hendes berømte klædedragt bestående af bl.a. et knælangt snoreskørt, en kort bluse og en bronzebælteplade udsmykket med spiraler antyder, at hun muligvis var en "solpræstinde" [3].

Nye metoder inden for strontiumisotopanalyser har nu gjort det muligt for første gang at udføre en højdetaljeret kortlægning af et forhistorisk menneskes rejseaktivitet [4].

## Fundet af Egtvedpigens

Den 24. februar 1921 fandt gårdejeren Peter Platz, Egtvedpigens kiste, mens han var i gang med at fjerne en høj, der lå på hans mark. Peter Platz indså hurtigt vigtigheden af dette fund og henvendte sig derfor til Nationalmuseet:

*"Da jeg ved flytning af en gammel kæmpehøj på min mark i dag, er stødt på en udhulet træstamme med låg, formoder*

*jeg, at det er en gammel begravelse, og hvis samme har nogen interesse for museet, har jeg standset arbejdet ved udgravningen, indtil jeg hører nærmere fra dem, hvilket jeg håber, snart sker."*

Nationalmuseets inspektør, Thomas Thomsen, tog til Egtved og foretog udgravningen. Kisten blev afdækket på sin plads i højen, mens den endelige udgravning og konservering af fundet senere blev foretaget på Nationalmuseet, figur 2.

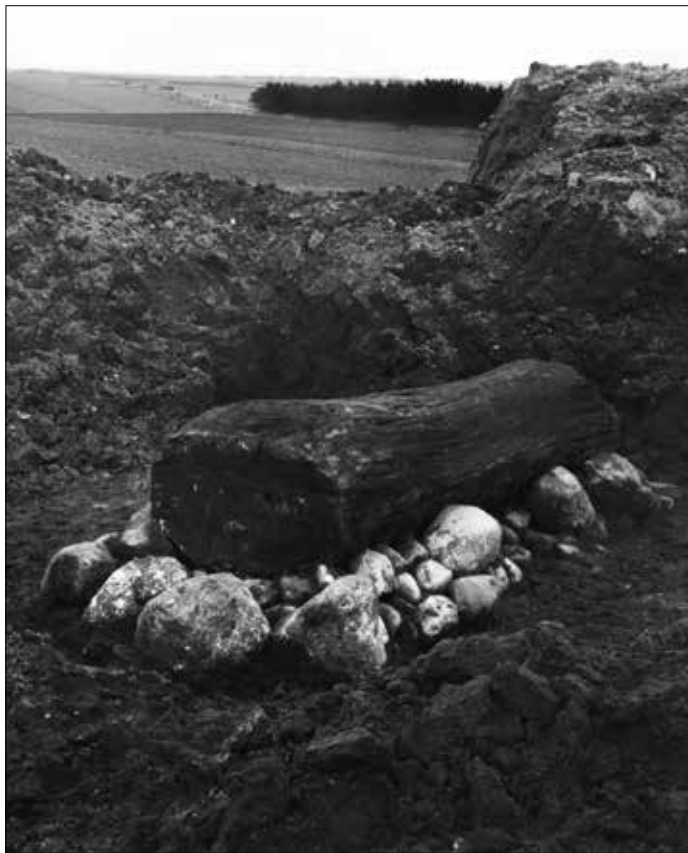
Egtvedpigens kiste var lavet af en afbarket udhulet egestamme, ca. to meter lang, der var spaltet på langs. Dendrokronologiske analyser har vist, at træet blev fældet i 1370 f.v.t. En røllikeblomst i kisten indikerer, at begravelsen fandt sted om sommeren [1]. Egtvedpigens lå på en kohud med hårsiden opad og var iklædt en trekvartlange-ærmet uldbluse, et knælangt uldsnoreskørt og et uldbælte med en bronzebælteplade udsmykket med spiraler. Derudover havde hun nogle lapper på fødderne - også lavet af uld. Til sidst var hun dækket af et uldtæppe.

Til påklædningen hørte også nogle bronzesmykker bestående af en ørering og to armringe. Derudover fandtes ved hovedet en lille barkeske med en speciel uldsnøre med indviklet halehår fra en ko eller hest og en lille bronzesyl. Ved hendes fødder fandtes en lille barkspand med en honningsødet gæret drik, bl.a. af hvede, tyttebær, tranebær og porse. Man mener, at det kan have været en slags øl. Men Egtvedpigens blev ikke begravet



Figur 1. Egtvedpigens i kisten, set ovenfra, sådan som hun ligger i museets udstilling. Foto: Roberto Fortuna, Nationalmuseet.

alene, idet kisten også rummede de forkullede rester af et barn på fem-seks år, der var delvist anbragt i en tøjbylt ved Egtvedpigens fødder og delvist ved barkæskens ved hendes hoved.



Figur 2. Egtvedpigens kiste på sin stenlægning i 1921, inden låget løftes og kort efter, at gårdejeren Peter Platz fandt hende. Foto: Nationalmuseet.

### Egtvedpigens betydning i forhistorien

Egtvedpigens og de øvrige egekestegrave regnes blandt de mest spektakulære fund fra den europæiske bronzealder. Den nordiske bronzealder var storhøjenes tid, hvor det nuværende danske land i løbet af kort tid (nogle hundrede år) blev dækket af mindst 50.000 gravhøje [5]. I bronzealderen opstod der en vis opdeling af samfundet, som på sin vis blev tydeliggjort gennem udførelsen af højene, figur 3, side 8, bygget for at mindes sine døde og samtidigt vise omgivelserne en slags ejerskab af området. Både mænd og kvinder blev gravlagt i de store høje, og ofte blev højene genanvendt til nye begravelser over en længere tidsperiode. Det nye samfunds sociale og økonomiske situation blev især skabt af langdistance-handel og udveksling af f.eks. metaller som tin (Sn), kobber (Cu) og guld (Au) eller af organiske materialer såsom rav ( $C_{10}H_{16}O$ ).

Disse materialer krydsede kontinentet som råstof eller i form af færdige genstande såsom bronzevåben og smykker. Man har ofte antaget, at det var mandlige krigere, der rejste, og at kontaktnettet var etableret for at sikre handel med råmaterialer såvel som med færdige genstande [3]. Men hvordan denne handel eller udveksling foregik, dvs. hvem der rejste og over hvor lange afstande, har indtil nu været et stort åbent og ubesvaret spørgsmål. Nogle forskere mente, at kontakten foregik gennem et netværk af nærtboende høvdinge, mens andre har argumenteret for, at ikke bare genstande, men også menneskene selv bevægede sig over store afstande mellem Sydsandinavien og Kontinentet. Nu har studiet af Egtvedpigens endvidere vist, at folk har kunnet bevæget sig frem og tilbage over ret lange afstande og i endda i et hurtigt tempo. ►

## Sikrer analyserent laboratorieudstyr med intelligent og effektiv rengøringsproces

**NYHED** laboratorieopvaskemaskine PG 8536

- **Grundig og effektiv teknik** kan rengøre meget kraftigt tilsmudset glasapparatur
- **Intelligent måling** sikrer at det ønskede niveau for renhed opnås
- **Effektivt flow** af udstyr ved hjælp af hurtig og effektiv tørring (op til 115°C)
- **Kompakt** og kan placeres direkte i laboratoriet
- **Brugervenlig og doseringsanlæg** med plads til 4 stk. beholdere

Lad vores dygtige specialister hjælpe med at finde den optimale løsning på, hvordan I sikrer rengøringsprocessen af laboratorieudstyret – sikkert og økonomisk fordelagtigt.



Miele Professional A/S · Erhvervsvej 2 · 2600 Glostrup  
Tlf. 43 27 15 00 · [www.miele-professional.dk](http://www.miele-professional.dk)

**Miele**  
PROFESSIONAL



Figur 3. Rekonstruktion af Storhøjen, hvor Egtvedpigen blev begravet. Foto: Karin Margarita Frei, Nationalmuseet.

## Særlige geokemiske forhold bevarede fundet

Selvom Egtvedpigen betragtes som en af bronzealderens mest velbevarede fund, findes der kun meget lidt af selve pigen bevaret. Hår, små dele af hjernen, tandemaljen (dvs. den ydre del af tænderne), hendes fingre- og tånegle er, hvad vi faktisk har tilbage af Egtvedpigen, figur 4.

Hendes knogler er blevet opløst pga. det sure miljø (lav pH), som opstår i graven via udfældning af den såkaldte al-kappen eller jern-kappen, som forhindrer vandet i at dræne væk. Hvordan jernkappen er dannet, er endnu ikke fuldstændig afklaret, men eksperimentelle undersøgelser viser, at forskelle i højens fyld (dvs. forskellige jordtyper) ser ud til at være årsagen til dannelsen af jernlaget [6].

Jernlaget ser ud til at dannes, når den centrale del af højen består af en meget fugtig, mørk, fedtet jord, mens den ydre del består af muldblandet sand. Imellem de to slags højfyld udfældes et par cm tykt hårdt jernlag, som omslutter kisten på alle sider og forhindrer, at liget, og den omsluttende kiste, rådner. Den meget fugtige jord i højmidten har ofte en blågrå farve, som er tegn på iltfattigt (anaerobt) miljø.

Det sure miljø i højens kerne muliggør bevarelsen af keratinrige dele, såsom hår og negle, men er samtidig årsagen til, at knogledelene opløses. Dog er de forkullede rester af det fem-seks årige barn bevaret på grund af de ændringer, som sker i krystalstrukturen under kremering [2].

Trods de få humane dele, som er bevaret i Egtvedpigens tilfælde, har det været muligt at opnå banebrydende resultater af hendes oprindelse og liv ved hjælp af nye proveniens strontium-isotopmetoder [4].

## Hvordan undersøger man mobilitet af et forhistorisk menneske?

Studier af forhistoriske menneskers mobilitet bliver i dag undersøgt ved hjælp af avancerede naturvidenskabelige analysemetoder, der bl.a. omfatter fossilt-DNA, strontiumisotoper og nogle gange ilt- og blyisotoper. Som regel er det knogler og/eller tænder, som undersøges, da der kun meget sjældent er bevaret både hårde og bløde humane dele (knogler og tænder versus hud og hår). Det begrænser mulighederne for at undersøge forskellige mobilitetsperioder i et givet individs liv. Generel nedbrydning og graden af kontaminering af forhistoriske humane rester kan ligeledes være en hindring eller begrænsning for at opnå brugbare og pålidelige resultater.

Fossil DNA-undersøgelse af Egtvedpigens hår har desværre vist, at DNA'et var for nedbrudt til at kunne give brugbare resultater omkring hendes genetiske arvmasse [4]. Til gengæld har nye strontiumisotop-kemiske protokoller til proveniensbestemmelse af arkæologiske hår- og plantefibre, bidraget med pålidelige og meget overraskende resultater ved analyser af Egtvedpigens hår, tandemalje fra en kindtand, en tommelfingernegl, hendes klædedragt af uld samt det tæppe, hun fik over sig og det oksekind, hun hvilede på i kisten [4].

## Strontiumisotop-sporemetoden

Når man nævner sporstofelementet strontium, får det de fleste mennesker til straks at tænke på strontium-90 og Tjernobyl-ulykken. Dette skyldes, at strontium-90 ( $^{90}\text{Sr}$ ) er et høj-radioaktivt stof, der dannes som affaldsprodukt i atomværker. Dermed er strontium-90 ikke en naturlig isotop. Derimod findes der fire andre naturlige isotoper:  $^{88}\text{Sr}$  (82,53%),  $^{87}\text{Sr}$  (7,04%),  $^{86}\text{Sr}$  (9,87%) og  $^{84}\text{Sr}$  (0,56%) [7], som indgår i fødekæden, figur 5. Det forholder sig faktisk sådan, at strontium er en helt naturlig del af vores kroppe, hvor den substituerer for calcium og som har vist sig at være en vigtig del i vores knoglevæv/skelet, idet den styrker knoglernes densitet [8].

Tre af de fire naturligt forekommende strontiumisotoper er stabile, mens den fjerde,  $^{87}\text{Sr}$ , er delvist radiogen. Dvs. en del af det  $^{87}\text{Sr}$ , som findes på jorden, er et produkt af et radioaktivt henfald af naturligt forekommende  $^{87}\text{Rb}$  (halveringstid på 48.800 millioner år) [7].

Strontiumisotoper bruges ofte som en sporingsmetode, der bygger på anvendelsen af to af de fire "naturligt forekommende" isotoper, nemlig  $^{87}\text{Sr}$  og  $^{86}\text{Sr}$  - og især på variationerne i deres forhold som betegnes:  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ . Derudover relateres dette forhold (og ikke koncentration) til den naturlige mængde af disse to isotoper i jorden og betegnes derfor ofte som en værdi i størrelsesordenen  $\sim 0,7$  ( $\sim 7\%$   $^{87}\text{Sr}$  /  $\sim 10\%$   $^{86}\text{Sr}$ ).

Samtidig er disse variationer direkte relateret til det geologiske materiale, som de stammer fra (bjergartstype, alder,



Figur 4. Egtvedpigens prøver af hår, tandemalje (dvs. den ydre del af tænderne) og tommelfingernegl. Fotos: Karin Margarita Frei, Nationalmuseet.

bestemte mineraler osv.). Kombinationen af det oprindelige  $^{87}\text{Sr}$  samt den, som dannes gennem tiden ved radioaktivt nedfald fra  $^{87}\text{Rb}$ , kan derfor relateres direkte til geologien. For eksempel er de fleste bjergarter i jordens kontinentale skorpe granitiske, og de indeholder betydelige koncentrationer af rubidium og strontium, normalt i størrelsesordenen titusinder til flere hundrede dele per million (ppm). Modsat højt differentierede magmatiske bjergarter (fra kappen), der fra starten har lave rubidium- og strontiumindhold, hvilket medfører mindre ændringer over tiden, end dem vi ser i granitiske bjergarter. Strontiumisotopisk

## Strontium hos mennesker

Mennesker, dyr og planter optager strontium på en kontinuerlig måde gennem vand og føde. På den måde virker strontium lidt som en slags geologisk GPS. Ved at analysere strontiumisotoperne i de arkæologiske rester kan man dermed bestemme, hvor i verden mennesker og dyr levede, fordi deres strontiumisotopsignatur vil afspejle den region, de levede i, figur 5. Fordi knogler, tænder, negle og hår dannes på forskellige tidspunkter i livet, kan analyser af forskellige dele af kroppen påvise, hvor personen har levet gennem forskellige perioder af sit liv. Indtil

Egtvedpigens nye studie har man typisk udført proveniensundersøgelser af forhistoriske mennesker via strontiumisotopanalyser af tænder og knogler, figur 6.

Tandemaljen i tænderne dannes i barndommen og fungerer dermed som et *blue print* af det område, hvor personen voksede op. Omvendt omdannes knoglerne gennem hele livet og afslører dermed de sidste år af et individs liv. Dermed fungerer tandemalje og knogler som arkiver for et bestemt antal år af et individs opholdssted under henholdsvis begyndelsen og slutningen af et individs liv.

Ved hjælp af den nyudviklede metode på menneskehår og negle [4], hvor Egtvedpigens er det første forhistoriske menneske, som det blev udført på - kan man nu opnå en meget højere grad af præcision helt ned til enkelte måneder.

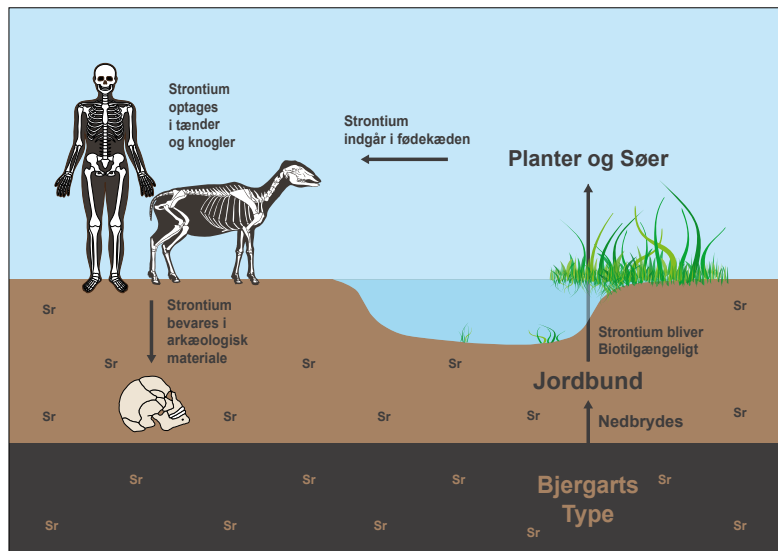
Læs om de spændende resultater, der blev opnået med metoden i artiklen "Afsøringen af Egtvedpigens dynamiske liv", der bringes i Dansk Kemi nr. 12.

E-mail:

Karin Margarita Frei: Karin.M.Frei@natmus.dk

## Litteratur

1. Thomsen, T. 1929. Egekestefundet fra Egtved fra den ældre Bronzealder (La trouvaille de ciste en chene d' Egtved, de l'ancien âge du bronze). Nordiske Fortidsminder. Copenhagen: Nordiske Fortidsminder.
2. Alexandersen, V., Bennike, P., Hvass, L. & Nielsen, K.-H.S. 1983. Egtvedpigens - nye undersøgelser (Die Egtved Frau - neue Untersuchungen). Aarbøger for Nordisk Oldkyndighed og Historie 1981. Copenhagen: Nationalmuseet.
3. Kristiansen, K. & Larsson, B.T. 2005. The Rise of Bronze Age Society, Cambridge, Cambridge University Press.
4. Frei, K.M., Mannering, U., Kristiansen, K., Allentoft, M.E., Wilson, A.S., Skals, I., Tridico, S., Louise Nosch, M., Willerslev, E., Clarke, L. & Frei, R. 2015. Tracing the dynamic life story of a Bronze Age Female. Scientific Reports, 5, 10431.
5. Holst, M.K., Rasmussen, M., Kristiansen, K. & Bech, J.-H. 2013. Bronze Age "Herostrats": Ritual, Political and Domestic Economies in Early Bronze Age Denmark. Proceedings of the Prehistoric Society, 79, 265-296.
6. Breuning-Madsen, H., Holst, M.K., Rasmussen, M. & Elberling, B. 2003. Preservation Within Log Coffins Before and After Barrow Construction. Journal of Archaeological Science, 30, 343-350.
7. Faure, G. 1986. Principles of isotope geology. New York. John Wiley.
8. Reginster, J.Y., Seeman, E., De Vernejoul, M.C., Adami, S., Compston, J., Phenekos, C., Devogelaer, J.P. & Diaz, M. 2005. Strontiumranelate reduces the risk of nonvertebral fractures in postmenopausal women with osteoporosis: Treatment for Periperal osteoporosis (TROPOS) study. Journal of Clinical Endocrinological Metabolism, 90, 2816-2822.



Figur 5. Strontiumcyklus. Tegning: Michael Jørgensen, Karin Margarita Frei og Merete Rude.

udvikling gennem jordens lange geologiske historie er kompliceret, hvilket især skyldes den kendsgerning, at jorden fungerer som et kontinuerligt genbrugssystem, hvor tidligere dannede sten undertiden genanvendes (ved f.eks. subduktionszoner) og rekonstrueres og kombineres til at skabe nye [7].

Alt i alt er alder og bjergartstyper de vigtigste parametre, der styrer strontiumisotopsammensætningen. Derudover er det et faktum, at der ikke sker nogen fraktionering gennem fødekæden, dvs. at  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ -forholdet forbliver det samme fra bjergarten til sedimentet, til jorden, til planterne, til dyrene som spiser og drikker i det bestemte geologiske område. Det er disse egenskaber af strontium, som gør den til et meget nyttigt sporingssystem - også inden for arkæologien. I denne sammenhæng er det vigtigt at pointere, at  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ -forholdet betragtes som invariant over den arkæologiske tidsskala, idet  $^{87}\text{Rb}$ -halveringstid er så stort.



Figur 6. Karin Margarita Frei i laboratoriet på Dansk Center for Isotop Geologi ved Københavns Universitet. Foto: Karin Margarita Frei.

**SKANLAB**

**Retsch**  
Solutions in Milling & Sieving

[www.retsch.dk](http://www.retsch.dk)  
[birte@skanlab.com](mailto:birte@skanlab.com)

## Elektrokemiens ildsjæl fejrer 40 års jubilæum

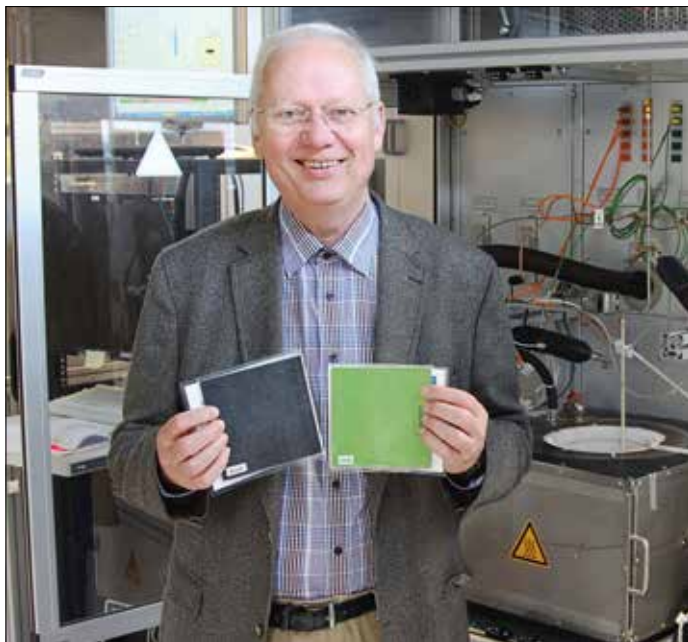
Igennem 40 år har professor Mogens Bjerg Mogensen fra DTU Energi været ansat på DTH, Risø og DTU, hvor han har bidraget til at føre dansk forskning helt frem i verdenseliten inden for forskning i elektrolytter, højtrykselektrolyse og reversible brændselsceller, og han har sat tydelige spor undervejs. Ikke mindst hos dem, der har følt hans skarpe vid og spidse kommentarer.

Han er en internationalt anerkendt forsker, der har været inviteret som oplægsholder ved mere end 40 videnskabelige konferencer. Han er medforfatter til mere end 350 videnskabelige artikler, hvoraf mere end 250 er offentliggjort i anerkendte udenlandske publikationer. Og han er også selv anerkendt og samtidig en anelse frygtet blandt sine fagfæller som en meget streng fagfællebedømmer til anerkendte tidsskrifter.

- Mogens er ikke kun typen, der kun får ideer. Alle er gode til noget, men han er god til det hele. Mogens får ideer, han skaffer midler, han sætter i værk, han skriver rapporter og publikationer, og han evner som få at føre en idé hele vejen fra koncept over projekt til et færdigt produkt.

- Det kan han, fordi han er utrolig arbejdsom, han læser et utal af artikler, og han er også god til at lære af sine fejl og komme igen. Han skræmmes ikke af en fejl, men arbejder bare hårdere, siger institutdirektør Søren Linderøth, DTU Energi.

Et brændende ønske om altid at yde sit bedste, samt hans store evne til at knokle igennem for at nå resultater, har gjort Mogens Mogensen til Danmarks største kapacitet inden for højtemperatur-brændselsceller. Han har været i front i dansk forskning inden for udviklingen af højtemperatur-elektrokemi.



Han har medvirket til at udvikle mange af de analysemetoder og den forståelse af materialer, som er almen praksis i dag i både Danmark og i udlandet, hvilket han er meget anerkendt for i udlandet. Og så har han oplært mange af de topforskere og teknikere, der i dag fører an inden for feltet.

I oktober blev professor Mogens Mogensen anerkendt af Electrochemical Society (det amerikanske baserede internationale elektrokemiske selskab), der udnævnte ham som Fellow 2015 af ECS.

## Hæder til enestående "bio"-kemiingeniør

Af Kristian B.R.M. Krogh, afdeling for enzymoprensning og karakterisering, Novozymes

I slutningen af august modtog professor John Villadsen som den første den nystiftede pris "Novozymes Award for Excellence in Biochemical and Chemical Engineering". Prisen vil fremover årligt blive uddelt til ære for ham til en person, som har gjort sig særligt bemærket inden for sit område af ingeniørkunsten, enten som traditionel kemiingeniør eller inden for bioteknologi.



Det røde bånd klippes over og markerer indvielsen af en ny U-loop fermentor i DTU Kemitekniks pilothal. Til venstre: Energi-, Forsynings- og Klimaminister Lars Christian Lilleholt (V), i midten CEO for den fynske biotekvirksomhed Unibio A/S Henrik Busch-Larsen og til højre professor John Villadsen.

Professor i teknisk kemi og bioteknologi John Villadsen modtog prisen for mere end 45 års virke inden for forskning og undervisning, først i kemiteknik og sidenhen bioteknologi.

I den første halvdel af sin karriere var han beskæftiget inden for den traditionelle kemiteknik, hvor en grundsten var udvikling af matematisk modellering af kemiske reaktioner og anvendelsen af disse modeller. Et imponerende resultat af dette arbejde var udarbejdelsen af vigtige beskrivelser og patenter inden for kemiske katalysatorer.

I 1984 skiftede John Villadsen retning i sin forskning, da Undervisningsministeriet udnævnte ham til en af ti "superprofessorer", som hver især skulle skabe og udvikle et førende dansk forsknings- og undervisningsområde. John Villadsen fik ansvar for at opbygge "Bio-ingeniørvidenskab" ved at parre kemiteknik med bio-videnskaberne, og han har været stærkt medvirkende til at skabe den bioteknologi, vi kender i dag. John Villadsen startede Center for Proces Bioteknologi på DTU med fokus på industriel anvendelse af mikroorganismer inden for produktion af både metabolitter og enzymer. John Villadsen har også undervist på talrige universiteter rundt om i verden, og han har været medvirkende til at starte bioteknologi-uddannelser i andre lande.

Mellem 2006 og 2008 var han således ansvarlig for opbygning af kemi- og bioteknologi som undervisningsområde på Trinidad og Tobagos nye nationale universitet.

I den følgende artikel vil John Villadsen gennemgå og forklare vigtige betragtninger om, hvordan kombinationen af kemiteknik og bioteknologi bedst kan fungere.

# Hvad er en god "bio-kemiingeniør?"

Den bedste måde at beskrive arbejdsområdet for "bio-kemiingeniøren" er gennem eksempler. I det følgende vil jeg vise, hvordan, efter min mening, kombinationen af de to, tilsyneladende forskellige discipliner, bedst fungerer.



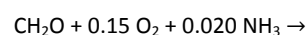
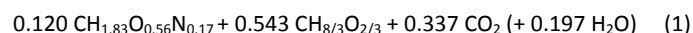
400 m<sup>3</sup> bobble-kolonne reaktor opført i 2003 af DuPont til fremstilling af 25.000 ton/år 1,3 propandiol. Reaktoren er en ud af 10 ens i anlægget.

Af John Villadsen, Institut for Kemiteknik, DTU

Den gode "bio-kemiingeniør" har erhvervet kendskab til væsentlige dele af disciplinerne biokemi og biologi, og han/hun kan anvende kernerdiscipliner fra kemiingeniøruddannelsen – fysisk kemi, reaktionslære, katalyse, fysiske transportprocesser – til at løse problemer med oprindelse i biovidenskaberne. Uden et solidt kendskab til biokemi og biologi bliver modelleringsarbejdet nytteløst, men forståelse af detaljer i metabolismen såsom navne på enkelte metabolitter betyder mindre, end *hvorfor og hvordan* metabolismen fungerer. Man skal være idérig og ved modelarbejde og eksperimenter turde undersøge andre løsninger end de gængse, for herigennem at opnå væsentlige besparelser i industrielle processer, både med hensyn til udbyttet og til driftsomkostninger. Det sidste er et kendetegn for den gode kemiingeniør.

## Støkiometri

Bio-reaktioner, altså omdannelse af reaktanter ("substrater") til produkter, beskrives ligesom "almindelige" kemiske reaktioner ved en støkiometri. I slutningen af 90'erne blev støkiometrien (1) udviklet af Genencor for DuPont's produktion af 1,3 propandiol (C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>) som en af de to komponenter i polyesteren Sonoraden måske største nyskabelse hos DuPont siden opfindelsen af Nylon:



Substraterne er glukose, ilt og ammoniumioner (her skrevet som NH<sub>3</sub>). Produkterne er biomasse, propandiol, samt CO<sub>2</sub> og (en ubetydelig mængde) H<sub>2</sub>O. Støkiometrien er normeret til ét C-atom glukose og 0.120 + 0.543 + 0.337 = 1. Udover at C-balancen stemmer, gælder det også for den såkaldte *redox-balance*, der beskriver, hvordan redox-ækvivalenter overføres mellem substrater og produkter. ►

Man definerer enheden for redox ved at tildele brintatomet redox-niveauet 1. Samtidig definerer man for hvert grundstof et redox-neutralt stof. Det simpleste valg er [H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>], idet disse ofte forekommer i fermenterings-støkiometrier. Herved fås redoxniveauet for [O, C, N] som [-2, 4, -3]. Nu kan redoxindholdet af hver af reaktanterne i (1), nemt beregnes: [glukose = 4 (per C-atom), biomasse (indholdet af H, O og N per C-atom fundet ved elementaranalyse) = 4.20, propandiol per C-atom = 16/3, og O<sub>2</sub> = - 4].

Redoxbalancen for (1):

$4 + 0.15 \cdot (-4) = 0.120 \cdot 4.20 + 0.543 \cdot 16/3$  ses at stemme, idet  $\text{NH}_3$ ,  $\text{CO}_2$  og  $\text{H}_2\text{O}$  er redox-neutrale og ikke bidrager til balancen.

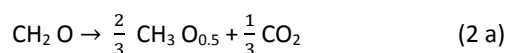
Den vigtigste parameter for procesøkonomien er udbyttet af det ønskede produkt, her 1,3 propandiol, på kultofkilden.

$Y_{sp} = 0.543$  C-atom propandiol/C-atom glukose =  $0.543 \cdot 25.33/30 = 0.458$  kg/kg.

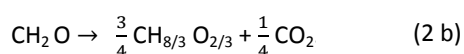
$Y_{sp} \cdot Y_{P_{sp}}$ , altså kulstofudbyttet ganget med forholdet mellem prisen på 1,3 propandiol og glukose skal være væsentlig større end 1 for, at processen kan være økonomisk attraktiv.

For Dupont ville fortjenesten ved proces (1) være  $0.458 \cdot 1.5/0.4 = 1.72$  US\$ per kg forbrugt glukose, en ikke imponerende fortjeneste, når de betydelige anlægsmkostninger tages i betragtning.

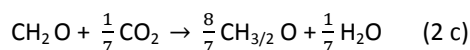
Et vigtigt begreb for beregning af økonomisk bæredygtighed er *det maksimale udbytte*  $Y_{sp}^{max}$ . For processer, hvor substratet har mindre redoxindhold per C-atom end det ønskede produkt, er det bedst, hvis sideproduktet ikke indeholder redox, dvs. sideproduktet er *alene*  $\text{CO}_2$ . Når substratet er mere reduceret end det ønskede produkt, kan man endda *optage*  $\text{CO}_2$ . Dette illustreres i følgende eksempler:



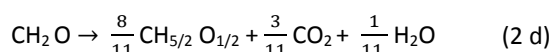
Glukose  $\rightarrow$  Ethanol ;  $Y_{sp}^{max} = \frac{2}{3}$



Glukose  $\rightarrow$  1,3 Propandiol;  $Y_{sp}^{max} = \frac{3}{4}$



Glukose  $\rightarrow$  Ravsyre (Succinic Acid);  $Y_{sp}^{max} = \frac{8}{7}$



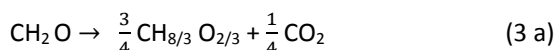
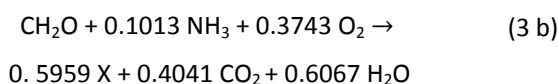
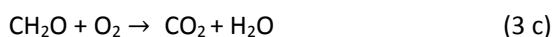
Glukose  $\rightarrow$  1,4 Butandiol;  $Y_{sp}^{max} = \frac{8}{11}$

(2 a) er den velkendte produktion af ethanol fra glukose, hvor  $Y_{sp}^{max} = 2/3$  C-atom/C-atom = 0.51 kg/kg.

(2 b) viser, at udbyttet i (1) er langt fra det maksimalt mulige, nemlig 0.75 C-atom/C-atom.

Produktion af ravsyre med lavere reduktionsgrad (3.5) end glukose (2 c) muliggør et udbytte  $>1$  ved optagelse af  $\text{CO}_2$  fra omgivelserne. Når slutproduktet i (2 d) er 1,4 butandiol med en reduktionsgrad på 22/3 per C-atom, medfører det et tab af glukose til  $\text{CO}_2$ , og udbyttet er meget mindre end for ravsyre.

Enhver empirisk fundet støkiometri som (1) kan spaltes op i tre støkiometrier:



(3 a) er den ønskede reaktion, der omdanner glukose til 1,3 propandiol med  $Y_{sp}^{max} = \frac{3}{4}$

(3 b) er produktion af biomasse, der er nødvendig for at udnytte cellens metaboliske netværk til at danne det ønskede produkt.

Jeg har valgt en støkiometri for aerob dannelse af bagegær fra sukker, men andre organismer, for eksempel mælkesyrebakterier og *E. coli* følger omtrent samme støkiometri.

(3 c) illustrerer et nødvendigt forbrug af glukose, der ved "forbrænding" giver energi til at holde koncentrationen af levende celler på et konstant niveau. Dette kaldes en "maintenance"-reaktion.

Hvis hastigheden af reaktion (3a) defineres til at være 1, mens (3 b) og (3 c) har hastighederne hhv.  $\alpha$  og  $\beta$ , får man 0.75 C-atom 1,3 propandiol ved at bruge  $(1 + \alpha + \beta)$  C-atomer glukose. Med dette forbrug af glukose får man  $0.5959 \cdot \alpha$  C-mol biomasse. Dette giver:

$(1 + \alpha + \beta) \cdot 0.543 = 0.75$ , og  $0.5959 \alpha = (1 + \alpha + \beta) \cdot 0.120 \rightarrow (1 + \alpha + \beta) = 1.381$ ,  $\alpha = 0.278$  og endelig  $\beta = 0.103$ .

$0.278/1.381 = 20\%$  af det totale glukoseforbrug går til at danne biomasse, mens vedligeholdelse ("maintenance") af biomassen kræver 7.3% af det totale glukoseforbrug.

Mens "maintenance"-sukkerforbruget er af en passende (lille) størrelse er det påfaldende, at alt for meget sukker går til at danne biomasse. Analysen giver følgende vejledning til molekylærbiologerne:

*Man bør formindske glukosestrømmen ("fluxen") til de metaboliske veje ("pathways"), der fører til biomasse, og samtidig øge fluxen i den reducerende pathway, der fører til 1,3 propandiol.*

Dette kan ske ved at øge enzymniveauet i vejen hen mod 1,3 propandiol, sådan at glukose transporteres hurtigere gennem denne pathway. Samtidig kan enzymniveauet i vejen mod biomasse formindskes.

Eksemplet viser, hvordan en simpel modelanalyse kan føre til en større forståelse af totalreaktionen, og dermed vejlede molekylærbiologerne til at fremstille en forbedret produktionsorganisme.

Den næste generation af *E. coli*-produktionsorganismen forøgede  $Y_{sp}$  til 0.685, og den endelige organisme, brugt i et 150000 t/år produktionsanlæg i Tennessee har  $Y_{sp} = 0.71$ , i sandhed en imponerende forbedring.

## Ravsyre (1,4 butandisyre) og 1,4 butandiol

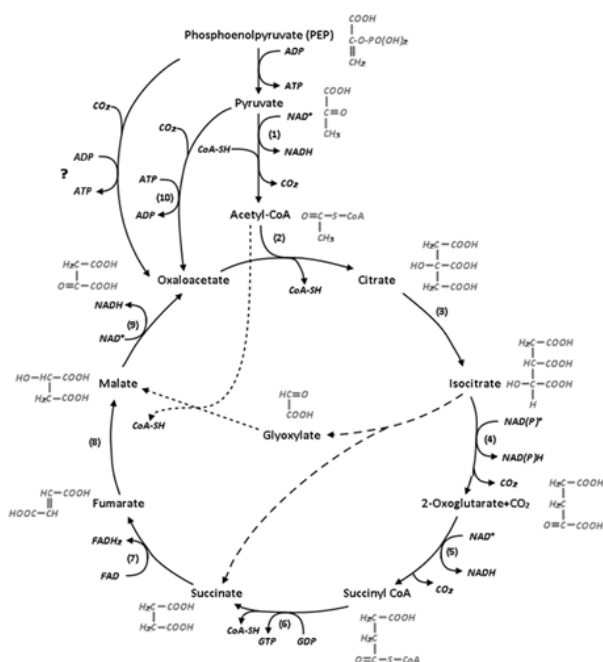
Fremstilling af propandiol fra glukose kan nemt beskrives som en metabolisk graf, med fructose-1,6-diphosphat som knudepunkt. Her deles strømmen i to grene. En, der fører til 1,3 propandiol via glycerol, og én til pyruvat, der efterhånden fører til mange metaboliske produkter og biomasse. Netværket, der fører til ravsyre (SA) og 1,4 butandiol (BDO), (2 c) og (2 d), er langt fra så simpelt. Dicarboxylsyrer (og en række andre vigtige produkter) dannes i TCA(tricarboxyl)-cyklen, figur 1.

Når  $\frac{r_{reduktive}}{r_{oxidative}} = 5$ , som beskrevet ovenfor bliver  $Y_{sp} = \frac{8}{7}$  det maksimale udbytte ifølge (2c). Det samme resultat opnås, når citrat spaltes til SA + glyoxylat, hvor glyoxylat sammen med et ekstra AcCoA danner malat, der reduceres til SA. Man kan således i TCA-cyklen opnå det maksimale SA-udbytte.

Det kan også opnås, når BDO er slutproduktet, men  $Y_{sp}^{max}$  er kun  $\frac{8}{11}$  og  $\frac{r_{reduktive}}{r_{oxidative}}$  falder drastisk fra 5 til  $\frac{4}{9}$ .

En organisme udviklet til produktion af SA kan kun efter en stor ombygning bruges til BDO-produktion.

Endnu værre: Organismen må nødvendigvis producere biomasse for at kunne fungere i længere tid. Dræn af kulstof til byggesten for biomasse eller af redox (NADH) til produktion af biprodukter vil reducere BDO-udbyttet relativt mere, end hvis



SA er det ønskede produkt.

Den nyeste litteratur viser mange eksempler på, at indsættelse af gener for produktion af nogle få enzymer muliggør, at slutproduktet fra en veletableret pathway kan omdannes til et andet, mere attraktivt slutprodukt. For eksempel kan lysin ( $C_6H_{14}N_2O_2$ ) simpelt decarboxyleres til cadaverin ( $1,5$  diaminopentan,  $C_5H_{14}N_2$ ), et værdifuldt substrat til fremstilling af polyamider, og da lysin produceres (til foder) i en kvantitet på over  $10^6$  ton per år er det meget attraktivt at benytte en svagt modificeret produktionsorganisme for lysin til formålet.

Den meget dårlige støkiometri for fremstilling af BDO fra sukker i forhold til SA-støkiometrien rejser tvivl om det hensigtsmæssige i altid at gennemføre alle trin i syntesen af slutproduktet ved fermentering.

Firmaet *Genomatica* (San Diego, USA) har patentret en 5-trins syntesevej fra Succinyl-CoA, se figur 1 og  $\alpha$ -ketoglutarat til BDO. Denne helt bio-baserede produktionsproces er udliciteret til BASF, der interessant nok var det første selskab, der ad kemisk vej (startende med acetylen) producerede BDO – en proces, der stadig eksisterer, nu udført ved hydroformulering af allylalkohol. Det canadiske firma *Bio* ►

Figur 1. Tricarboxyl-cyklen, der også kaldes Krebs' cyklus eller citronsyre-cyklus.

Kulstof ledes til TCA-cyklen fra hhv. phosphoenolpyruvat (PEP), der carboxyleres til oxaloacetat (OAA), og fra pyruvat, der decarboxyleres til "aktiv" eddikesyre, AcCoA.

OAA kan reduceres til SA i den venstre gren af cyklen under optag af 4 redoxækvivalenter ( $NADH$  og  $FADH_2$ ), eller det kan reagere med AcCoA til citronsyre. Dette spaltes til SA og  $2 CO_2$  i den højre gren, idet der samtidig produceres 4 redoxækvivalenter (oftest 2  $NADH$ ). Fordelingen af kulstof, der ledes til hhv. den reductive gren ( $OAA \rightarrow SA$ ) og den oxidative gren ( $OAA + AcCoA \rightarrow citrat \rightarrow SA + 2 CO_2$ ) findes gennem en redoxbalance. Forholdet mellem SA produceret i den reductive gren og i den oxidative gren er 5, altså må enzymerne i den reductive gren være særdeles aktive.

## SIKRE PRODUKTER OG PROCESSER

- Rådgivning i regulering, miljø og sundhed
- Dokumentation og registrering af stoffer
- Risikovurdering af restkoncentrationer og urenheder
- Identifikation og strategi for problematiske stoffer
- Kurser i QSAR, sikkerhedsvurdering og fødevarekemi

[www.tox.dhi.dk](http://www.tox.dhi.dk)

DHI  
Agern Allé 5, DK-2970 Hørsholm  
Tel: 4516 9200 – Fax: 4516 9292  
dhi@dhigroup.com

The expert in **WATER ENVIRONMENTS**



Amber producerer også BDO, men stopper fermenteringsvejen ved SA, der i øvrigt produceres med en gær udviklet af Cargill i USA. Det med højt udbytte  $Y_{sp} \sim 1$  kg/kg sukker fremstillede SA hydrogeneres til BDO + tetrahydrofuran (der også anvendes i polymerindustrien) ved en rent kemisk proces. Det synes som om, Bio Ambers processen både er simplere og giver et højere udbytte af BDO.

## Valg af produktionsorganisme

Valg af produktionsorganisme kan også være af afgørende betydning for, hvor konkurrencedygtig processen bliver. I løbet af de sidste 10 år er omtrent 15 betydelige bio-virksomheder gået ind i en industriel produktion af SA, og den totale produktion er øget fra omkring 50.000 til næsten 200.000 t SA/år. De fleste bruger bakterier som produktionsorganisme (sikkert fordi flertallet af videnskabelige artikler om SA-produktion benytter forskellige SA-producerende bakterier), men efterhånden har man øget produktiviteten af processer baseret på gær så meget, at disse er blevet fuldt konkurrencedygtige med hensyn til fermenteringsprocessen. En SA-proces baseret på gær har den konkurrencefordel, at den kan finde sted ved et ret lavt pH (4-5), hvor processer baserede på bakterier kræver, at  $pH > 6.5$ . Dette forklares nærmere herunder.

Da det af polymerindustrien ønskede SA skal være et rent krystallinsk pulver, nyter det ikke meget at tilbyde krystallinsk  $Na_2SA$ , det salt man får, når begge syregrupper er ioniserede. I litteraturen beskrives adskillige processer, hvor syren fremstilles ud fra Na-saltet, men de medfører alle stærkt forøgede produktionsomkostninger.

Det danske firma Jurag foreslår en proces, hvor man først i en elektrokemisk drevet membranproces opkoncentrerer Na-saltopløsningen fra ca. 70 g/l til 180 g/l, og derefter med en proces baseret på bipolare membraner omdanner saltet til syren, der let udkrystalliseres ved 2-5°C. Men udgifterne til membraner og til elektrisk energi er meget høje.

Man kan også i forskellige processer få syren ved tilsætning af  $H_2SO_4$  til  $Na_2SA$ , men denne fremgangsmåde forøger kemikalieudgifterne og giver store mængder affaldsprodukter ( $CaSO_4$ ).

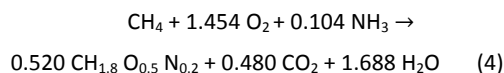
De virksomheder, hvor gær bruges som produktionsorganisme har betydelige konkurrencefordele. Således producerede DSM og Roquette allerede i 2012 10.000 t/år (senere udvidet til 20.000 t/år) i et anlæg i Italien, mens Bio Amber og Mitsui siden 2014 producerer 30.000 t/år i Sarnia (Canada).

I 2015 startes et endnu større anlæg i Thailand, hvor 65.000 t/år skal produceres ved Bio Amber-processen, og hvoraf 50.000 t/år SA skal konverteres til BDO [3].

## Fremstilling af foderprotein

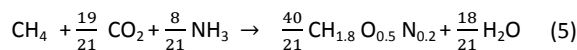
I en helt anden industri, nemlig fremstilling af foderprotein ("Single Cell Protein", SCP) ved fermentering af de efterhånden meget billige substrater methan og methanol, kan der formentlig på sigt opnås en meget stor gevinst ved at bruge gær som produktionsorganisme fremfor de methylotrophe bakterier, der udelukkende er benyttet, siden SCP-produktion omkring 1970 blev industrielt udviklet.

Støkiometrien for en methanbaseret proces er typisk



Kulstofudbyttet er  $0.52$  C-atom biomasse/ $CH_4 = 0.8$  kg/kg methan.

Dette er langt fra det maksimale udbytte af en anaerob fermenteringsproces med støkiometrien:



Her er kulstofudbyttet 3.66 gange større end ved de bakteriebaserede, aerobe processer, der synes enerådende i industrien. Disse er alle hæmmede af den umådeligt ineffektive energi(ATP)skabende proces, hvorved ATP dannes ved "forbrænding" af en del af substratet. Med en methylotroph gær som *Pichia pastoris*, der kan danne ATP i en aerob proces ved "forbrænding" af en del af substratet methanol, kan man formentlig formindske især  $O_2$ -forbruget (men også C-forbruget) i forhold til de på bakterier baserede processer. Men en forskning i denne retning er sandsynligvis endnu ikke påbegyndt.

Denne artikel fortsætter i næste nummer, hvor fokus vil være rettet mod nytænkning inden for den kemiske industri.

E-mail:

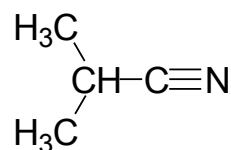
John Villadsen: [jv@kt.dtu.dk](mailto:jv@kt.dtu.dk)

## Referencer

1. To lærebøger [1] og [2] er anvendt til inspiration for de her beskrevne eksempler: Nye ideer kan forbedre både processer og apparatur i bioindustrien. Referencen [3] indeholder yderligere information om hhv. produktion af ravsyre og 1,4 butandiol.
2. Villadsen, J, Nielsen J, og Lidén G (2011). *Bioreaction Engineering Principles*. 3rd edition, Springer Verlag.
3. Villadsen, J (editor), 2016. *Fundamental Bioengineering*. Wiley – VCH, Advanced Biotechnology Series, Vol 1.
4. Cok, B, Tsiropoulos, I, Roes, AL, Patel, MK (2014). Succinic acid production derived from carbohydrates. An energy and greenhouse gas assessment of a platform chemical toward a bio-based economy. *Biofuels, Bioproducts & Biorefining* 8: 16-29.

## Nyt om ...

### ... Forgrenede carbonkæder i det interstellare rum



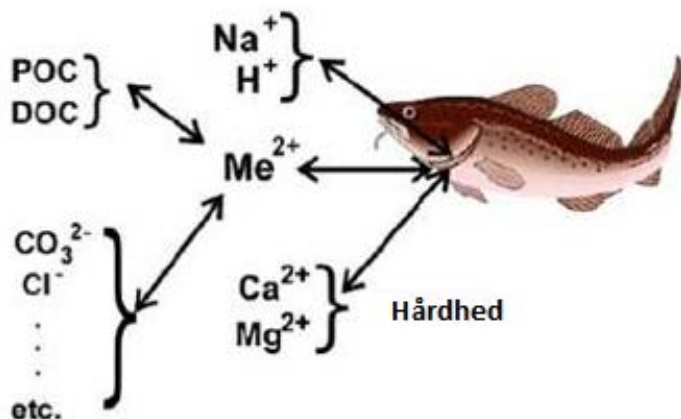
Der er påvist en række ikke-cykliske carbonforbindelser i det interstellare rum, der alle har haft uforgrenede kæder. Der er nu blevet påvist den første forgrenede isopropylcyanid (2-methylpropanitril) ved hjælp af spectra fra et teleskop i Chile. Man har påvist det i en stjernedannende del af det interstellare rum, hvor det forekommer i samme mængde som den uforgrenede isomere. Man er stærkt interesseret i, om aminosyrer forekommer i det interstellare rum, de er blevet påvist på meteoritter og i kometer, og forekomsten af sådanne forgrenede molekyler som isopropylcyanid giver håb om, at aminosyrer også findes, hvilket har stor biologisk betydning.

Carl Th.

Detection of a branched alkyl molecule in the interstellar medium: *iso*-propyl cyanide, *Science* 345 (6204), 2014, side1584. DOI: 10.1126/science.1256678.

Nyt om ...

## ... Biotilgængelighed



Mange stoffer, herunder metaller, er kun delvist tilgængelige for optagelse i organismer i miljøet. Den faktiske miljøeffekt bestemmes derfor bedst ved at tage hensyn til, at det kun er den biotilgængelige fraktion af stoffet i vandmiljøet (og sedimentet), der kan optages og virke toksisk. De reviderede

miljøkvalitetskrav for nikkel (Ni) og bly (Pb), der træder i kraft i 2015, refererer til den biotilgængelige koncentration af metallerne. At inddrage biotilgængelighed i reguleringen af metaller i ferskvand er en forholdsvis ny lovgivningsmæssig tilgang og repræsenterer en betydelig ændring i forhold til overholdelse af kravværdier i vandmiljøet.

M-bat og Bio-Met er to brugervenlige modeller, der kan anvendes til beregning af biotilgængeligheden af kobber, nikkel og zink i ferskvand. Naturstyrelsen har for nyligt taget initiativet til at vurdere modellernes anvendelighed under danske forhold. Konklusionen i rapporten var, at begge modeller er anvendelige under danske forhold, og at de undersøgte fysisk-kemiske parametre i de fleste tilfælde har afgørende betydning for biotilgængeligheden af metallerne og dermed for overholdelse af miljøkvalitetskravene.

*Tina Slothuus, DHI Miljø og Toksikologi*

Bioavailability modelling of three metals in Danish freshwater systems  
<http://naturstyrelsen.dk/media/132338/bioavailability-modelling-of-three-metals-in-danish-freshwater-systems-2.pdf>.

## NEED A CREATIVE ADVISOR?

Between you and your ideas, we'll find the spark for brilliant business opportunities. From IP strategy, legal services and analysis to patents, trademarks, design and copyright, we help illuminate the vast potential in your creation. [www.awapatent.com](http://www.awapatent.com)

**AWAPATENT**

# Rationelt design af enzymer

## – fremtidens mikroskopiske industrirobotter

I en tid hvor klimaforandringer og forsyningssikkerhed dikterer et brud med fossil olie, er jagten gået ind på alternativer. Der er et enormt potentiale i at anvende cellulose som et sådan alternativ. Ved at udvikle nye og effektive enzymer kan nedbrydningen af cellulose gøres mere effektiv og cellulosens potentiale som råstof kan for alvor realiseres.

Af Johan Pelck Olsen og Jeppe Kari,  
ph.d.-studerende ved Roskilde Universitet

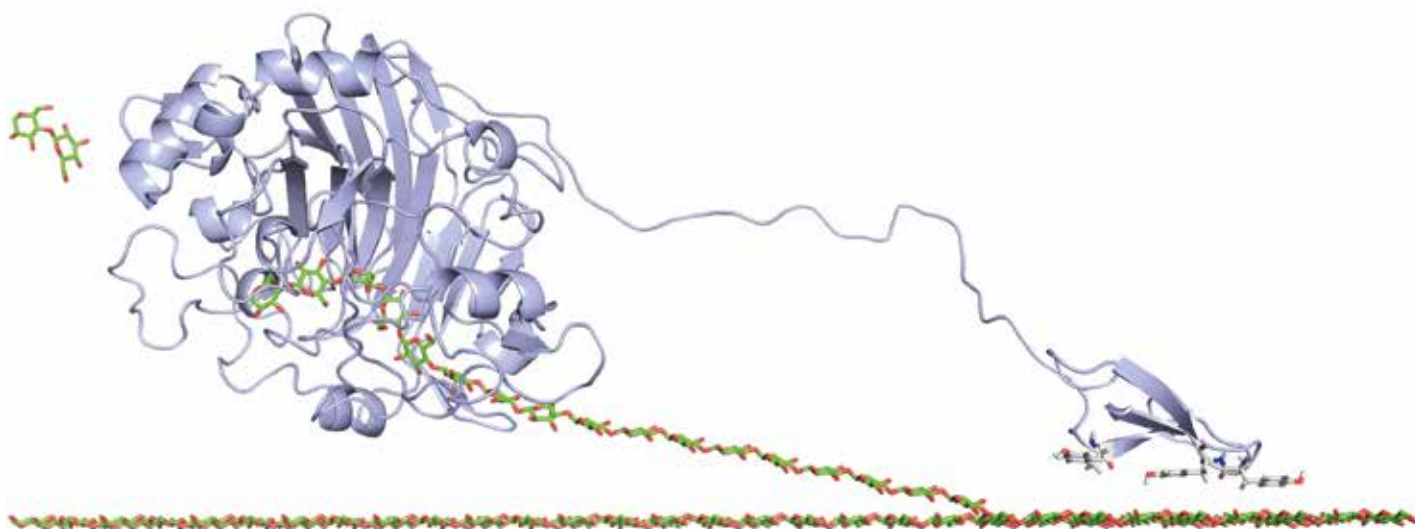
Enzymer er en gruppe af proteiner, der katalyserer forskellige kemiske reaktioner. Allerede i dag spiller enzymteknologi en stor rolle i fødevarer- og tekstilindustrien, ligesom enzymer findes i mange forbrugsprodukter lige fra vaskemiddel til kontaktlinserens.

I nogle tilfælde erstatter enzymerne kemikalier, der er dyre eller skadelige for miljøet, og i andre tilfælde bruges de til at katalysere processer, der slet ikke eksisterede tidligere. En af de store fordele ved enzymer er, at de er enormt specifikke. F.eks. kan vaskepulver indeholde lipaser, der nedbryder fedtpletter

bruger dem i hjemmet eller industrien, opstår der ofte problemer, fordi de nu skal operere under andre betingelser, end de er optimeret til.

### Det rette enzym til opgaven

Langt størstedelen af de enzymer, der anvendes i dag, er fundet i naturen. Gennem adskillige årtier har man arbejdet med at screene forskellige mikroorganismer for specifikke enzymaktiviteter under relevante betingelser, for så at oprense de mest lovende organismer og isolere enzymerne herfra. Ved at lede i varme kilder er det f.eks. lykkedes at isolere enzymer, der er stabile ved op imod 100°C. Det kan være en fordel i fødevarerindustrien, hvor bakterievækst udgør et problem, eller industrier



Figur 1. 3D-struktur af en cellulase (TrCel7A). Enzymet består af to domæner forbundet af et fleksibelt led. Længst til venstre ses det katalytiske domæne med et tunnel-formet aktivt site, hvor selve hydrolysen finder sted. Til højre er et "anker", der hjælper enzymet med at holde sig fast til cellulosen.

uden at have nogen effekt på tekstilerne. Derudover er enzymer biologisk nedbrydelige, så modsat mange husholdningskemikalier udgør de ingen belastning af vores spildevand. Desværre er enzymernes fordele også en ulempe. Den nøje tilpassede aktivitet, som enzymet gennem mange tusinde års evolution har optimeret til et bestemt biologisk system, er sårbar overfor ændringer. Når vi tager dem ud af deres vante omgivelser og

hvor tilstødende processer foregår ved høje temperaturer, og man dermed kan mindske kølebehovet. Der er dog stadig langt fra de forhold, der hersker i den fri natur til forholdene i en typisk industriel proces, og derfor går man langt for at lave nye, optimerede enzymer, der virker bedst i lige præcis den sammenhæng, hvor man ønsker at bruge dem. Med et engelsk udtryk kaldes dette for "protein engineering", altså udvikling

eller konstruktion af proteiner. Begrebet dækker typisk over to tilgange, nemlig dirigeret evolution og rationelt design. Dirigeret evolution går ud på at påføre et enzym en stor mængde tilfældige ændringer og efterfølgende undersøge om disse ændringer måtte være gunstige. Rationelt design, som vi her vil beskæftige os nærmere med, er derimod ikke spor tilfældigt, men styret helt ned i detaljen. Som navnet antyder, starter rationelt design med et rationale, altså en idé om hvordan et givet enzym virker, og hvad man måtte ønske at ændre ved det. Derefter kommer designfasen, hvor rationale oversættes til konkrete ændringer i enzymets struktur, og forhåbentlig derved opnås de ønskede ændringer i enzymets egenskaber.

## Industrielt design på nanoskala

Som alle andre proteiner er enzymer opbygget som en lang kæde af aminosyrer, der er rullet op til en kompakt struktur. Aminosyrerne bindes sammen af peptidbindinger, der tilsammen udgør en "rygrad" i kæden. De forskellige aminosyrer har forskellige funktionelle grupper, der stikker ud fra denne rygrad og giver enzymet dets funktion. Den rationelle del af rationelt design beror i høj grad på et grundlæggende kendskab til enzymets funktion. Gennem grundig karakterisering af enzymets aktivitet kan man gøre sig klart, hvad der måtte være udfordringen for et givent enzym under de relevante betingelser. Ved at kigge på enzymets 3D-struktur kan man gøre sig idéer om, hvilke aminosyrer der kan tænkes at spille en rolle for de egenskaber, man ønsker at forbedre. Disse aminosyrer kan man så ændre, se faktaboks 1, og efterfølgende udføre eksperimenter for at be- eller afkræfte sine antagelser. Processen har været kendt og anvendt i 30-40 år, primært i grundforskningen. Man har f.eks. fjernet et enzyms katalytiske aktivitet og dermed op-

nået klarhed om den specifikke kemiske reaktionsvej. Dette har bidraget enormt til vores viden om enzymer, men er i sig selv sags natur ikke noget, der i sig selv fører til bedre enzymer. Det er først i løbet af de seneste år, at forskere og virksomheder er begyndt at bruge teknikken til at forbedre egenskaber som stabilitet og specificitet, med henblik på enzymernes anvendelse.

## 2. generations bioethanol

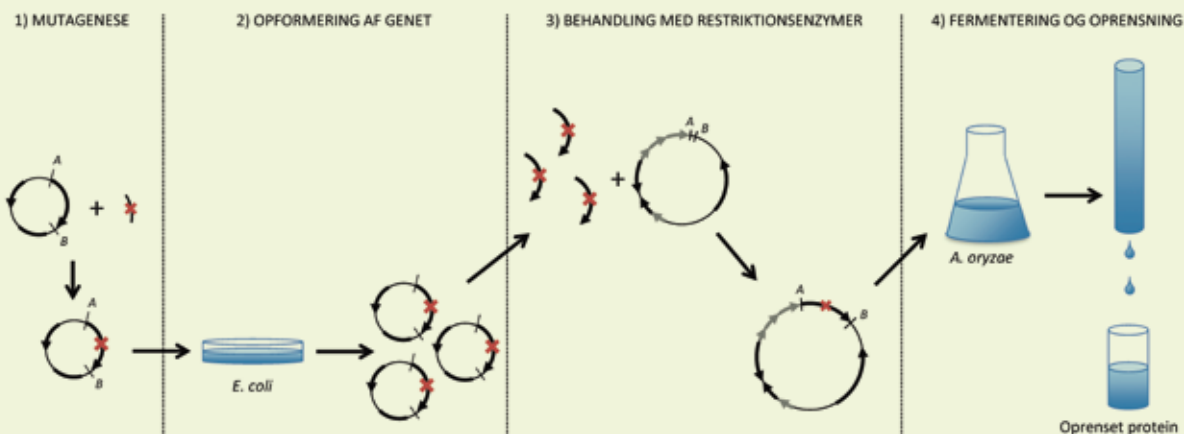
På Roskilde Universitet har vi i samarbejde med Novozymes brugt rationelt design til at udvikle nye enzymer, der katalyserer nedbrydningen af cellulose – såkaldte cellulaser. Cellulose er det hyppigst forekommende biologiske materiale på jorden og udgør den største bestanddel af plantemateriale som f.eks. blade og stængler. Cellulose består af lange kæder af glukose, der som bekendt er en fremragende kilde til energi. Derfor er der også et kæmpe potentiale i at nedbryde cellulose fra planteaaffald til glukose, og derefter gære glukosen til sprit, der kan bruges som brændstof. Dette brændstof kaldes 2. generations bioethanol, fordi der – i modsætning til 1. generation – ikke anvendes fødevarer i produktionen.

Desværre er cellulose utrolig stabil; halveringstiden for den spontane hydrolyse er fem millioner år. I den industrielle produktion af bioethanol er man derfor afhængig af cellulaser, der øger nedbrydningshastigheden. De nuværende cellulaser kan øge nedbrydningen af cellulose omkring  $10^{15}$  gange. Selvom det lyder som en helt utrolig forbedring, er cellulaser stadig relativt langsomme med omkring 1 klip i sekundet og i den nuværende produktion er den enzymatiske nedbrydning også den dyreste og mest tidskrævende proces. Der er derfor et stigende behov for mere effektive cellulaser til at omdanne biomasse til sukker.

### Faktaboks 1 Produktion af enzym-varianter

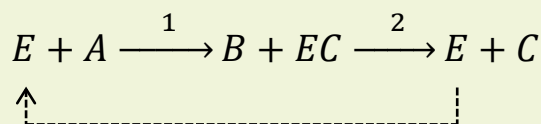
Når man ønsker at introducere en ændring i et protein, starter man med at lave ændringen i det DNA, der koder for proteinet. Et cirkulært stykke DNA kaldes et plasmid.

- 1) Først kopieres et plasmid med et gen, der koder for proteinet vha. en proces kaldet PCR (polymerase chain reaction). Som skabelon bruges en lille stump syntetisk DNA, der indeholder den ønskede ændring i koden. Fordi der er en "fejl" i skabelonen, vil alle de nye kopier have den samme ændring.
- 2) Bakterien *E. coli* optager det muterede DNA og opformerer det yderligere.
- 3) Genet klippes ud af det opformede DNA ved hjælp af restriktions-enzymmer, der klipper i DNA på meget specifikke steder (hhv. A og B). Svampeplasmidet har de samme to steder og klippes tilsvarende op. Når DNA'et er klippet, danner det "klistrede ender", der passer sammen i stil med velcro. Derfor sætter genet sig den rigtige vej på det rigtige sted i svampe-plasmidet.
- 4) En mug-svamp (*A. oryzae*) optager plasmidet og begynder at producere det muterede protein. Til sidst oprenses proteinet ved kromatografi.



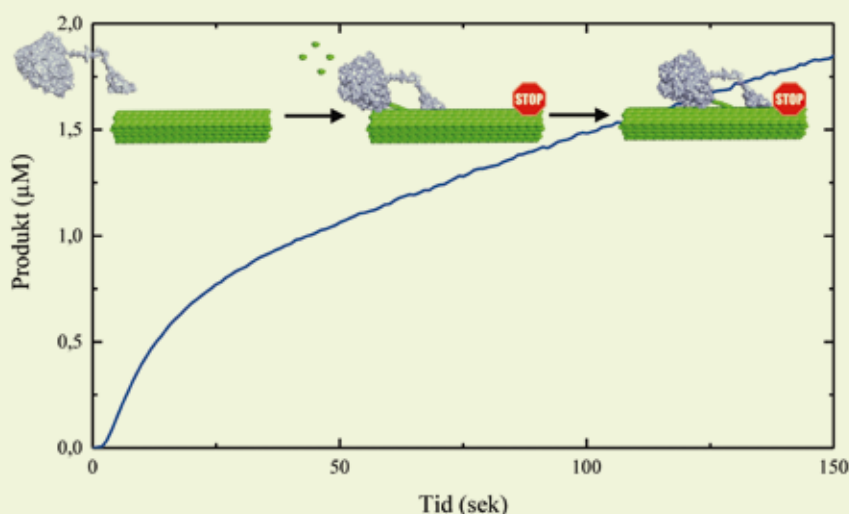
## Faktaboks 2 Burst-teori for cellulaser

Nogle enzymer udviser et såkaldt "burst" i deres aktivitet. Det vil sige, at aktiviteten starter med at være høj, men efter kort tid falder til et langt lavere niveau. Et sådan forløb kan forklares ud fra en model, hvor enzymet frigiver sit produkt i to sekventielle skridt, som i nedenstående skema.



Hvis skridt 1 er meget hurtigere end skridt 2, vil man se en hurtig produktion af B (burst) i starten af reaktionen. Efter kort tid vil det langsomme skridt 2 føre til, at størstedelen af enzymet sidder inaktivt bundet til C, og derfor vil produktionen af B også falde. Ønsker man at forstå den overordnede reaktion, er det nødvendigt at karakterisere reaktionen med en tidsopløsning, som er hurtigere end det første skridt. Måler man efter step 1 er indtruffet, vil signalet være domineret af den langsomme reaktion. Det svarer til, at man ønsker at måle sin topfart på vej til arbejde og kun ser på den tid, det har taget at tilbagelægge strækningen. Sidder man eksempelvis i kø eller holder for rødt lys, vil det dominere ens måling.

Cellulaser udviser et tydeligt burst i deres aktivitet. I nedenstående graf kan man følge produktionen af sukker efter tilsættelse af et cellulase-enzym til en suspension af cellulose-partikler. Den høje tidsopløsning gør det muligt at følge forskellige faser af reaktionen. Den hurtige reaktion i starten er den uhindrede frigivelse af sukker og kan sammenlignes med skridt 1 i ovenstående reaktion. Hvis enzymerne møder en forhindring, sidder de fast, og da frigivelsen af enzymet er langsom, kan den sammenlignes med reaktion 2.



### Hvad er flaskehalsen?

For at kunne optimere de nuværende cellulaser vha. rationel design har vi studeret kendte cellulaser med det formål at finde deres stærke og svage sider. Under dette arbejde opdagede vi et interessant fænomen: Efter blot 50 sekunder har cellulaserne tabt 1/6 af starthastigheden, se faktaboks 2. Med andre ord havde enzymerne et langt større potentiale for at nedbryde biomasse end først antaget. Årsagen til dette pludselige tab i aktivitet viste sig at være direkte relateret til cellulaserne struktur.

De fleste cellulaser er opbygget på en speciel måde, der hjælper dem til at nedbryde det ellers genstridige cellulose. Enzymet har to funktionelle dele, som er forbundet med et fleksibelt forbindingsled, se figur 1. Den forreste del har en flad side, der kan sidde fast på cellulosen og på den måde forankre enzymet. Den bagerste del har til gengæld en tunnel, som lige passer til

en cellulosekæde. På den måde holder enzymet sig fast til den samme kæde og rykker fremad i takt med, at cellulosen nedbrydes én sukkerenhed ad gangen. Det er selvfølgelig en praktisk struktur, men den medfører et problem for enzymet: Hvis det støder på en forhindring på sin vej, sidder det så godt fast til cellulosen, at det bliver siddende foran forhindringen og dermed ikke kan gøre sit arbejde. Hvis et træ vælter over togs Skinnerne, kan toget ikke køre og på samme måde med dette enzym. Derfor er frigivelsen af sukker inddelt i to faser: Til at starte med finder alle enzymer et frit stykke cellulose og kører derudad med fuld hastighed. Efter få sekunder begynder de første enzymer dog at støde på forhindringer, hvor de sidder fast og ikke laver sukker. Først når de tilfældigvis falder af, kan de finde en ny, fri strækning og begynde at køre igen. Resultatet bliver, at efter et minuts tid sidder størstedelen af enzymerne uproduktivt fast foran en forhindring, hvor de bare venter på at falde af [1].

### Løsere greb giver hurtigere enzym

Konsekvensen af den ovenstående forklaring må nødvendigvis være, at man kan forbedre enzymet ved at slække bindingen til cellulosen. Ved at kigge på en 3D computermodel af enzymet og sammenligne med lignende enzymer kan man få en fornemmelse for, hvilke aminosyrer der ligger tæt på cellulosekæden og sandsynligvis har en indflydelse på bindingen. På Roskilde Universitet og Novozymes har vi på den måde identificeret flere aminosyrer, som vi har udskiftet med andre, som beskrevet i faktaboks 1. side 17. Vores opfølgende undersøgelser har vist, at det både er lykkedes at svække bindingen som ønsket, men derud-

over at den svækkede binding rent faktisk har ført til en forøget hastighed [2]. Nu ligger der så en række grundigere undersøgelser forude, der skal klarlægge, hvorvidt forbedringerne også slår igennem udenfor laboratoriet. Hvis det viser sig at være tilfældet, er vi måske et skridt nærmere et samfund, hvor CO<sub>2</sub>-udslip og olieafhængighed hører fortiden til.

E-mail:

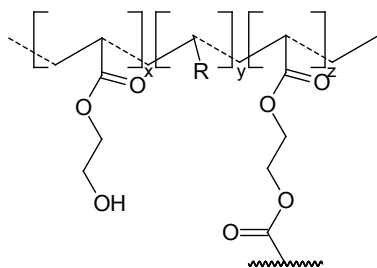
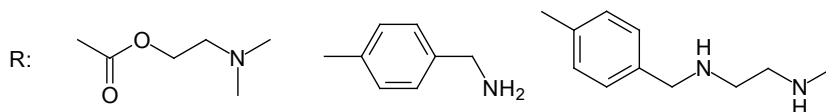
Johan Pelck Olsen: jool@ruc.dk

Jeppe Kari: jkari@ruc.dk

### Referencer

1. Praestgaard, E., et al., A kinetic model for the burst phase of processive cellulases. FEBS Journal, 2011. **278**(9): p. 1.547-1.560.
2. Kari, J., et al., Kinetics of cellobiohydrolase (Cel7A) variants with lowered substrate affinity. J Biol Chem, 2014. **89**(47): p. 32.459-68.

## Nyt om ... ... Rødt for eksplosiver



Landområder, der har været skueplads for krige, gemmer ofte store mængder af ikke eksploderede sprængstoffer, der kan true befolkningen, dels ved eksplosioner, men også ved at forurene drikkevandet, da de normalt er stærkt toksiske. Sprængstofferne kan påvises ved adskillige analytiske metoder som massespektrometri eller chromatografi, hvad der kræver adgang til specialudstyr. Spanske forskere har nu udviklet en metode, der ved en simpel farvereaktion kan påvise nitrerede sprængstoffer som

TNT (trotyl eller trinitrotoluen). Den viste polymer reagerer med nitroforbindelser såvel i gasform som opløst i vand til dybt røde såkaldte Meisenheimer-komplekser.

Carl Th.

Solid polymer substrates and smart fibres for the selective visual detection of TNT both in vapour and in aqueous media. *RSC Advances*, 4, 2014, side 25562, DOI: 10.1039/c4ra02716g.



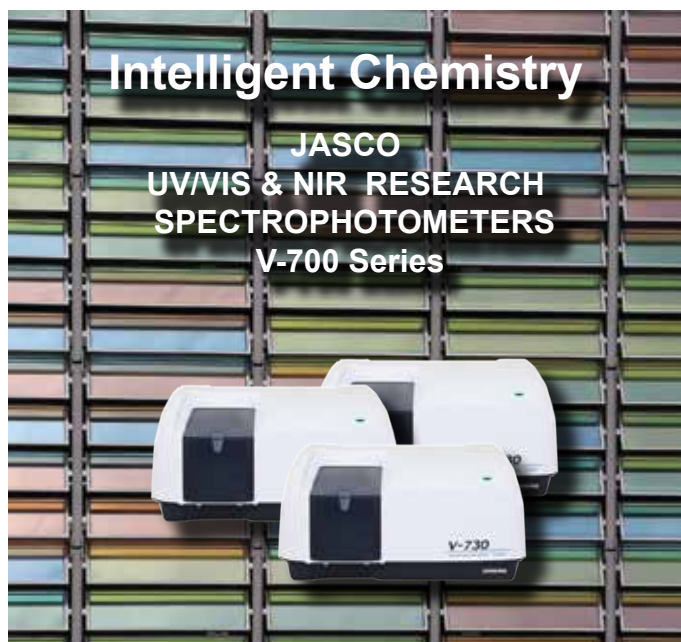
### Joachim Werther vinder Jacques Villiermaux medaljen 2015

Professor Joachim Werther fra Hamburg Tekniske Universitet i Tyskland har vundet Jacques Villiermaux medaljen 2015, der gives af EFCE (European Federation of Chemical Engineering). Professor Werther har fået medaljen for sine enestående forskningsresultater i partikelteknologi.

### Jens Kehlet Nørskov modtager Rigmor og Carl Holst-Knudsens Videnskabspris 2015

Professor Jens Kehlet Nørskov, Stanford University, har modtaget Rigmor og Carl Holst-Knudsens Videnskabspris 2015 og dermed 100.000 kroner. Jens Kehlet Nørskov har opnået stor indflydelse med sin forskning – nationalt som internationalt. I det internationale videnskabelige samfund har han blandt andet høstet anerkendelse for sit betydningsfulde bidrag til teoretiske, fysiske beskrivelser af katalysatorer, nanostrukturer og overflader.

I dag er Jens Kehlet Nørskov professor i Chemical Engineering ved Stanford University, hvor han forsker på et interdisciplinært forskningscenter, SUNCAT Center for Interface Science and Catalysis. Hans forskning er fokuseret på at forstå kemiske og fysiske processer på overflader og grænseflader. Hans viden fra forskningen bliver brugt til at beskrive heterogen katalyse, elektro-katalyse, foto-katalyse og enzym-katalyse. Katalytiske processer, der har betydning for bæredygtige transformationer, energi og miljøbeskyttelse, er af særlig interesse for ham. Det omfatter eksempelvis vandspaltning til blandt andet at producere brint, CO<sub>2</sub>-reduktion til brændstof og kemikalier, omdannelse af biomasse og fjernelse af svovl. Grundlaget for Jens Kehlet Nørskovs arbejde er beregningsmæssige elektroniske strukturmetoder kombineret med kinetisk modellering af reaktionshastigheder og selektivitet.



JASCO



Biolab A/S  
Sindalsvej 29  
DK-8240 Risskov  
Telefon 8621 2866  
Telefax 8621 2301  
E-mail: sales@biolab.dk

# Kan man få patent på bioteknologiske opdagelser?

Patentpraksis i USA fjerner sig stadig mere fra praksis i Europa, og at opnå et biotekpatent i USA er blevet vanskeligt.

Af Anders Heebøll-Nielsen,  
European Patent Attorney, Awapatent A/S

I hele verden findes grundlæggende de samme betingelser for at patentere en opfindelse: Den skal være ny, have opfindelseshøjde og være industrielt anvendelig. Ikke desto mindre er der forskel på, hvad der kan patenteres i forskellige lande, da lovgivning og praksis varierer landene imellem. Denne artikel belyser, hvordan praksis for bioteknologiske opfindelser adskiller sig mellem USA og Europa.

## Bioteknologiske opfindelser

Bioteknologiske opfindelser finder bred anvendelse, og eksempler kan være enzymer til brug i vaskemiddelsammensætninger



Den amerikanske højesteret afgjorde i 2013, at naturligt forekommende DNA er et naturprodukt, som ifølge USC 35, §101 ikke kan patenteres, hvorimod cDNA, hvor ikke-kodende sekvenser er fjernet, kan være patenterbart, da cDNA ikke findes i naturen. Således kan cDNA kodende for Protein X være patenterbart, mens kromosomalt DNA kodende for samme Protein X ikke vil være patenterbart.

eller kemiske processer, proteiner til behandling af sygdomme, gensekvenser til fremstilling af enzymerne eller proteinerne eller til diagnostiske formål, eller mikroorganismer til produktion af enzymerne eller proteinerne. Ifølge amerikansk praksis behandles sådanne produkter som produkter, der kan være isoleret fra naturen, og øvrige produkter, der isoleres fra naturen, især små molekyler fra planter og lignende, behandles tilsvarende. I denne artikel er alle sådanne opfindelser "bioteknologiske opfindelser".

## Baggrund

Den amerikanske patentlov, United States Code Title 35 (USC 35), angiver i §101, hvad der udgør muligt patenterbare opfindelser, og tilsvarende findes i Artikel 52 i den Europæiske Patentkonvention (EPC) - se faktaboksen på næste side. I EPC

omhandler Regel 26-34 bioteknologiske opfindelser, og Regel 27 definerer udtrykkeligt, hvad der forstås ved bioteknologiske opfindelser, som kan være patenterbare; Regel 29 understreger, hvordan menneskelige gensekvenser kan være patenterbare. I Europa anses videnskabelige opdagelser ikke at udgøre opfindelser, og de kan derfor ikke patenteres, men sekvenser for gener og proteiner kan søges patenteret, hvis man kan redegøre for, hvordan sekvensen kan anvendes. Hvis man modsat ikke kan forklare, hvad et protein beskrevet ved en proteinsekvens kan, vil patentering være udelukket, da sekvensen i så fald ikke opfylder betingelsen om industriel anvendelighed. Lignende gælder for små molekyler, som isoleres fra naturen.

Tilsvarende bestemmelser findes ikke i USC 35, og fortolkning af den (meget gamle) formulering i USC 35, §101 er blevet overladt til domstolene i større grad, end det har været nødvendigt i Europa.

## BRCA-afgørelsen

I USA var mulighederne for at patentere bioteknologiske opfindelser ganske åbne, indtil højesteret 13. juni 2013 udstedte afgørelsen 12-398. Afgørelsen omhandlede, hvorvidt selskabet Myriad Genetics' patenter på BRCA1- og BRCA2-gener var gyldige. Myriad havde fundet mutationer i det menneskelige genom, som var koblet til forekomsten af bryst- og ovariekræft, og de søgte patent på DNA-sekvenserne og fremgangsmåder til at påvise mutationerne, så de kunne beskytte deres produkt: Et testkit til screening for de to kræftformer.

Den amerikanske højesteret afgjorde, at naturligt forekommende DNA er et naturprodukt, som ifølge USC 35, §101 ikke kan patenteres, hvorimod cDNA, hvor ikke-kodende sekvenser er fjernet, kan være patenterbart, da cDNA ikke findes i naturen. Således kan cDNA kodende for

Protein X være patenterbart, mens kromosomalt DNA kodende for samme Protein X ikke vil være patenterbart.

Myriad blev ikke hindret af afgørelsen, men den har været vigtig for biotekbranchen, da den præsenterer en yderst restriktiv tolkning af USC 35, §101, som den amerikanske patentmyndighed (USPTO) skal følge. Afgørelsen var umiddelbart klar om gensekvenser, men tilsvarende uklar om patentering af øvrige produkter isoleret fra naturen.

I marts 2014 udstedte USPTO et memorandum med eksempler på næsten karikerede patentkrav, som skulle illustrere opfindelser om naturligt forekommende produkter, og en skitseret tilgang til analyse af sådanne krav. Materialet omfattede åbenlyse fejlslutninger, og memorandummet blev 16. december 2014 erstattet af et sæt retningslinjer med en mere anvendelig test til at afgøre, om en opfindelse falder inden for USC 35,

§101. I testens andet trin (af tre) svares ja eller nej til, om et patentkrav er rettet mod en naturlov, et naturligt fænomen eller en abstrakt idé, altså undtagelserne ifølge USC 35, §101. Retningslinjerne forklarer, at USC 35 ikke tillader, at (udviklings) arbejde inden for undtagelserne fastlåses ("tie up"), altså at for eksempel naturlove eller naturlige fænomener ikke fastlåses for andres arbejde. For at et patentkrav er "rettet mod" en af undtagelserne, kræves det, at undtagelsen nævnes eller beskrives i patentkravet. Hvis ikke kravet omfatter yderligere tekniske træk, som adskiller opfindelsen tilstrækkeligt fra undtagelsen, er patentering udelukket.

### Hvordan kommer man videre?

Hvis man har isoleret et gen, et protein eller et organisk molekyle fra naturen, hvilket udgør en opfindelse, fordi der er tilknyttet en ukendt funktion, vil et patent på selve genet/proteinet/molekylet efter alt at dømme være udelukket fra patentering i USA. I Europa kan den tilknyttede funktion gøre det til en teknisk opfindelse, som kan analyseres for nyhed og opfindelseshøjde, og der kan søges patent.

USPTO's retningslinjer definerer i eksemplerne, hvordan en opfindelse kan tilpasses for at undgå udelukkelse fra patentering. For gen- og proteinsekvenser udtrykkes, at mindst én substitution i sekvensen i forhold til den naturlige sekvens er tilstrækkelig til at undgå udelukkelse fra patentering, og for proteiner kan transgen ekspression i en værtselle ligeledes være tilstrækkeligt. Tilføjelse af ekstra grupper (især funktionelle) på et molekyle kan hjælpe til at undgå udelukkelse. Under alle omstændigheder gælder dog, at hvis ændringen fra det naturlige molekyle er ordinær inden for feltet, anses ændringen ikke begrænsende og vil ikke hjælpe. En god huskeregel er, at der til enhver ændring skal være tilknyttet en særskilt teknisk effekt, hvis man vil søge patent på den tilpassede opfindelse. Tekniske tilføjelser til en opfindelse kan anses for unødigt begrænsende for opfindelsen, men ifølge amerikansk praksis kan en tilknyttet funktion muliggøre, at der opstilles et frem-

gangsmådekrav rettet mod et gen/protein/molekyle. Denne type krav vil ikke "fastlåse undtagelsen", og kravet kan analyseres for patenterbarhed i øvrigt. Her er det vigtigt at huske på, at amerikansk lov, modsat EPC, tillader patentkrav på terapeutiske fremgangsmåder.

Patentbeskyttelse i USA er således ikke umulig, men hvis en opfindelse mistænkes at falde uden for USC 35, §101, kan en patentansøgning forsynes med produktkrav til brug i Europa, tilpassede produktkrav til USA og anvendelses-/fremgangsmådekrav tilpasset henholdsvis Europa og USA.



Hvis man har isoleret et gen, et protein eller et organisk molekyle fra naturen, hvilket udgør en opfindelse, fordi der er tilknyttet en ukendt funktion, vil et patent på selve genet/proteinet/molekylet efter alt at dømme være udelukket fra patentering i USA. I Europa kan den tilknyttede funktion gøre det til en teknisk opfindelse, som kan analyseres for nyhed og opfindelseshøjde, og der kan søges patent.

### Afsluttende bemærkninger

I Europa anses patentering af menneskelige gener ikke altid som problemfrit. I 2001 udstedtes Myriads europæiske patent EP 0705902 med et krav på en isoleret nukleinsyre kodende for BRCA1-polypeptidet. Myndighedsbehandlingen var ret omfattende, men opfindelsen fandtes at opfylde kravene i EPC. Patentet blev siden angrebet ved ni indsigelser af organisationer som Greenpeace og det socialdemokratiske parti i Schweiz. Indsigelsen blev endeligt afgjort ved, at patentets krav blev indsnævret markant: Opfindernes egen artikel var nyhedsskadelig for væsentlige dele af opfindelsen, men der var ikke problemer under Artikel 52(2).

E-mail:

Anders Heebøll-Nielsen:

anders.heeboll-nielsen@awapatient.com

### Faktaboks

#### 35 U.S.C. 101 Inventions patentable

Whoever invents or discovers any new and useful process, machine, manufacture, or composition of matter, or any new and useful improvement thereof, may obtain a patent therefor, subject to the conditions and requirements of this title.

#### Article 52 EPC Patentable inventions (uddrag)

- (1) European patents shall be granted for any inventions, in all fields of technology, provided that they are new, involve an inventive step and are susceptible of industrial application.
- (2) The following in particular shall not be regarded as inventions within the meaning of paragraph 1:
  - (a) discoveries, scientific theories and mathematical methods;
  - (b) aesthetic creations;
  - (c) schemes, rules and methods for performing mental acts, playing games or doing business, and programs for computers;
  - (d) presentations of information.

## Pipettecenteret

Kalibrering og service af alle fabrikater pipetter.

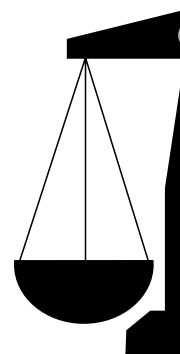
Vi kalibrerer både ved indsendelse eller på kundens adresse.

Salg af pipetter og laboratorie varer.



### Pipettecenteret

Skovkanten 41 · 4700 Næstved  
Tlf. 55 73 62 05 · Mobil 30 33 32 49  
Email. nielslindgaard@stofanet.dk  
www.pipettecenteret.dk





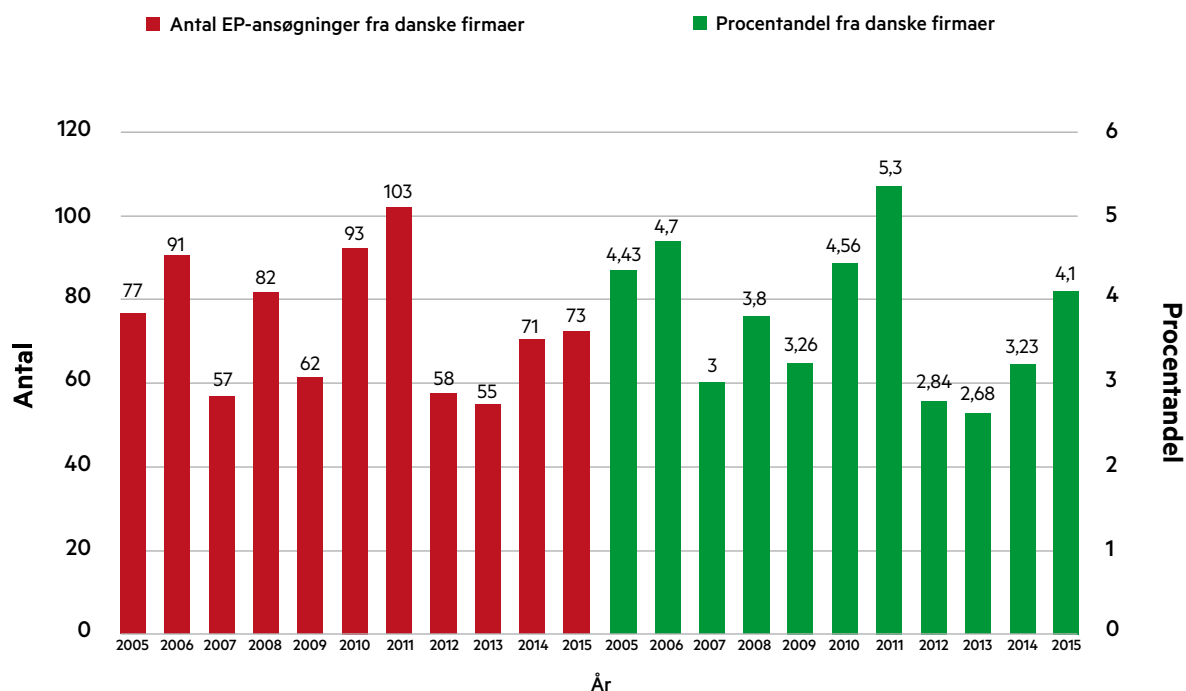
# Kan patentmulighederne udnyttes bedre?

Antallet af patentansøgninger indleveret af danske fødevarevirksomheder i Europa i 2015 udgør 4,1%. Det er et lavt tal sammenlignet med lignende lande. Skal Danmark bevare en førerposition inden for fødevareteknologi, er et større fokus på patentering af forskning og udvikling vigtigt.

Af Katja Sørensen, European Patent Attorney, M.Sc. Kemi og Jacob Schwalbe Lohmann, European Patent Attorney, Ph.d. Medicin, Plougmann & Vingtoft

De senere år er der kommet mere og mere fokus på vækst, udvikling og innovation inden for fødevareområdet i Danmark. Som et resultat heraf har et stigende antal netværksgrupper set dagens lys, heriblandt Future Food Innovation, Agro Food Park, Danish Food Cluster, Videntcenter for Fødevareudvikling og Nationalt IngrediensCenter. Netværksgrupperne har tiltruk-

ket interesse både i Danmark og fra udlandet. Og dette er ikke uden grund, for Danmark er et land med stolte landbrugstraditioner, hvor fødevarer og agroindustrielle produkter udgør ca. 24% af den samlede danske vareeksport (Kilde: Udenrigsministeriet, Eksportrådet). De danske forskere inden for fødevareområdet har mange års erfaring med innovation, men spørgsmålet er, hvorvidt de danske fødevarevirksomheder også får beskyttet denne innovation med immaterielle rettigheder og dermed får skabt et forspring i forhold til deres konkurrenter. Vi vil i det følgende kigge nærmere på danske virksomheders patentaktivitet i forhold til deres europæiske konkurrenter.



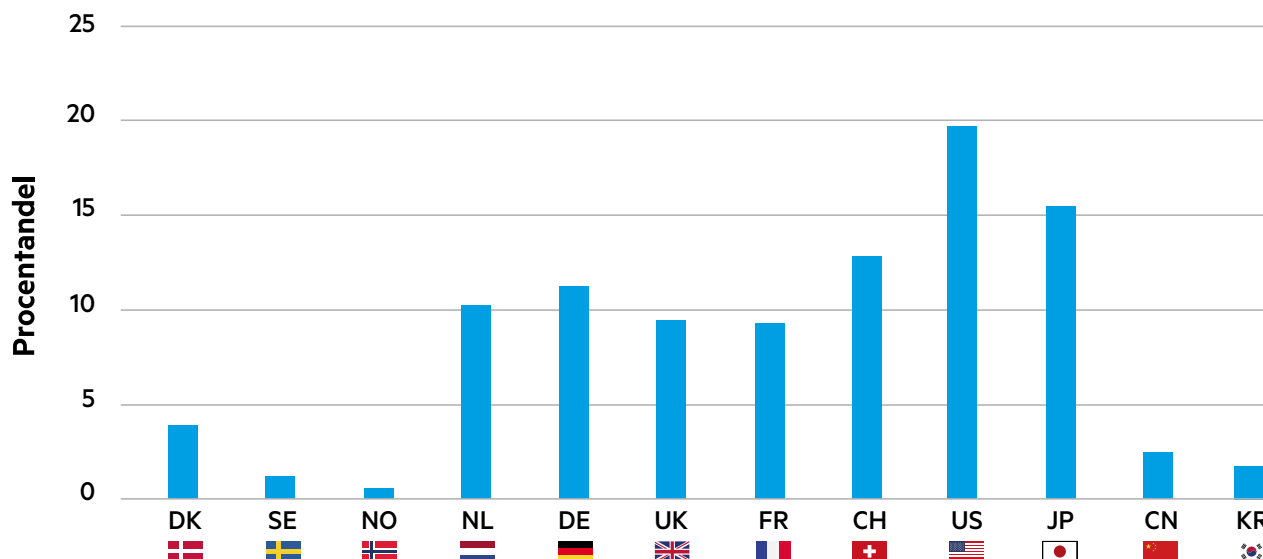
Figur 1. Antal publicerede EP-ansøgninger indleveret af danske firmaer pr. år (rød), samt procentvis andel i forhold til totalt antal indleverede EP-ansøgninger (grøn). Kilde: European Patent Register. Note: Tal for 2015 er ikke komplet, da tal for 4. kvartal 2015 ikke foreligger endnu.

### Status på patentaktiviteten i den danske fødevarerbranche

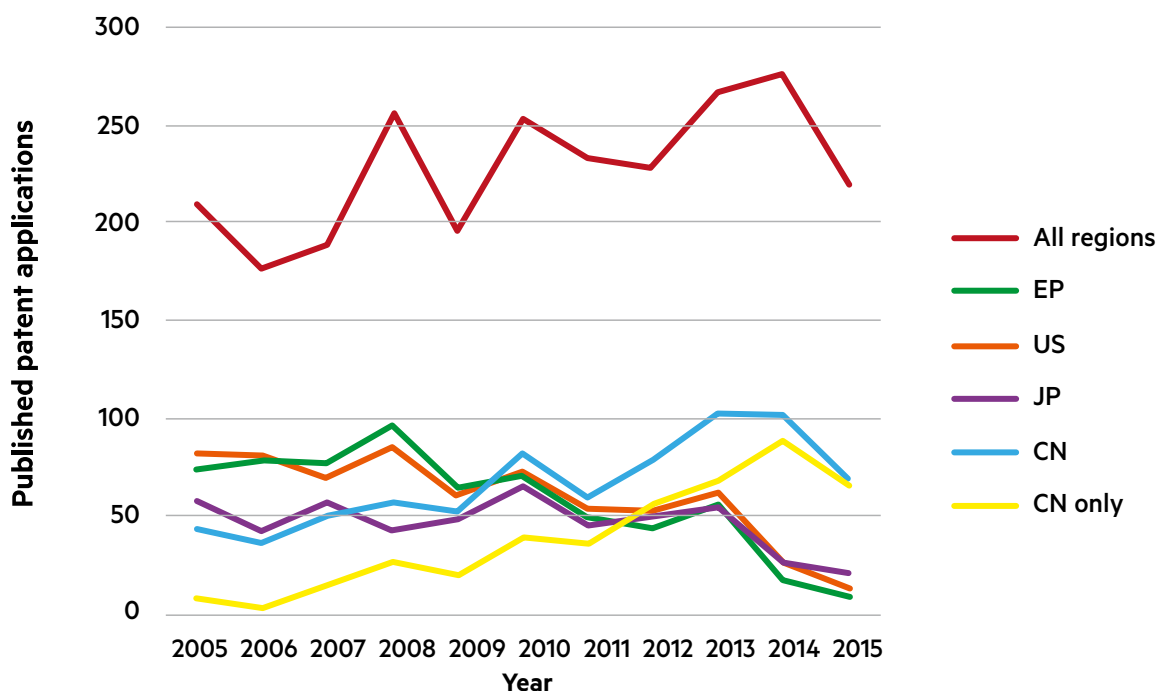
Hvis man kigger på antallet af europæiske (EP) patentansøgninger indleveret inden for fødevarerområdet de sidste 10 år, så indleverer danske virksomheder 3-4% af det samlede antal. Dette tal lyder måske rimeligt, når man tager landets størrelse i betragtning, men når vi sammenligner os med andre landbrugslande, og det fokus der har været på forskning og udvikling, er andelen ikke så imponerende. I figur 1 ses antallet af EP-ansøgninger fra danske firmaer samt den procentandel de udgør af alle EP-ansøgninger inden for området.

Selvom der har været et øget fokus på innovation inden for fødevarerområdet i Danmark de seneste år, findes der ingen indikation af dette i figur 1, som viser, at der de sidste 10 år har været en relativ konstant patentaktivitet fra danske firmaer, dog med enkelte afvigelser.

Hvis vi kigger på antallet af patentansøgninger indleveret i Europa i 2015 inden for fødevarerområdet, kommer 4,1% fra danske firmaer, hvorimod en langt mindre andel kommer fra vores nordiske nabolande Sverige og Norge, figur 2. Retter vi blikket mod Schweiz, som kun har et lidt højere indbyggertal end Danmark, så er patentaktiviteten inden for fødevarerområdet mere end tre gange så stort som fra danske firmaer. Kigger vi på Holland, som ligesom Danmark betragtes som et landbrugsland, dog med et indbyggertal omkring tre gange højere end Danmark, så er de hollandske firmaer også langt mere patentaktive end de danske firmaer. Det tyder altså på, at de mange ressourcer, der årligt bruges i Danmark på innovation inden for fødevarerområdet, ikke resulterer i en tilsvarende beskyttelse af denne innovation i form af patenter. Dermed sikres de danske firmaers konkurrencevilkår altså heller ikke på europæisk plan. ►



Figur 2. Procentvis andel af EP-ansøgninger i 2015. Kilde: European Patent Register. Note: Tal for 2015 er ikke komplet, da tal for 4. kvartal 2015 ikke foreligger endnu.



Figur 3. Publicerede patentansøgninger pr. år inden for det tekniske felt "ost og osteproduktion". Kilde: PatBase. Note: Tal for 2015 er ikke komplet, da tal for 4. kvartal 2015 ikke foreligger endnu.

En af grundene til dette kan skyldes en forestilling om, at patentering er besværligt og dyrt. En anden grund kan være, at der i Danmark har hersket en opfattelse af, at fødevarer ikke kan patenteres. Det kunne de heller ikke før 1995, hvor man kun kunne patentere fremstillingen af fødevarer og ikke de faktiske fødevarer. I 1995 blev patentlovgivningen dog ændret og det blev muligt at patentere fødevarer. I løbet af de sidste 10-15 år har mange af de store, danske virksomheder fokuseret mere og mere på patenter som et vigtigt parameter ved værdiansættelse af et firma. IPR er derved blevet inkorporeret i de store fødevarerfirmaer på samme måde som i farma-industrien.

Det er da også de store fødevarerfirmaer, der står for hovedparten af de indleverede europæiske patentansøgninger i 2015 med dansk oprindelse, mens de mindre og mellemstore firmaer ikke er så aktive. Den samme tendens ses i Holland og Schweiz, hvor patentaktiviteten inden for fødevarerområdet også domineres af store virksomheder (f.eks. af Nestlé og Unilever). 77% af EP-ansøgningerne fra danske firmaer inden for fødevarerområdet blev indleveret af kun seks firmaer (Novozymes, Dupont, Christian Hansen, Arla, Gumlink og Fertin Pharma), mens de sidste 23% af EP-ansøgningerne blev indleveret af 18 forskellige ansøgere. Disse tal kunne godt tyde på, at der er et potentiale hos de mindre og mellemstore fødevarerfirmaer til at beskytte deres udvikling i større grad.

### Patentaktiviteten inden for ost og osteproduktion

For at kigge nærmere på et mere specifikt fødevarerområde har vi lavet en analyse af patentaktiviteten inden for ost og osteproduktion. Ost og osteproduktion har været kendt i årtusinder, og man kan derfor spørge sig selv, om det giver mening at tale om patentering inden for dette område, da man kunne antage, at alt allerede var patenteret.

Vi har analyseret patentaktiviteten inden for de sidste 10 år. Af figur 3 fremgår det, at "ost" stadig er et område med høj patenteringsaktivitet. Der er ca. 200 nye publikationer pr. år.

Også for et specifikt område som ost, er patentaktiviteten fra Danmark stærkt domineret af store virksomheder såsom Danisco/Dupont, Christian Hansen og Arla, hvorimod patentak-

tiviteten fra små og mellemstore virksomheder nærmest ikke optræder (data ikke vist).

Af figur 3 fremgår det endvidere, at der inden for de traditionelle industriregioner (Europa, USA, og Japan) har været et jævnt fald de seneste 10 år, hvorimod patenteringsaktiviteten i Kina de seneste 10 år har været jævnt stigende. Dette indikerer et skift i geografisk fokus mht. patentaktivitet.

Spørgsmålet er, om dette er et tegn på, at "kineserne kommer". Ud fra patentstatistikken ser dette ikke ud til at være tilfældet. I stedet for skal det nok nærmere ses som, at Kina er blevet et interessant marked for udenlandske (og danske) virksomheder. At kinesiske virksomheder dertil også er mere patentaktive kan ses i "CN only"-grafnen, som viser patentansøgninger, der kun er publiceret i Kina (dvs. ikke er forsøgt beskyttet i andre lande).

Overordnet ser det ud til, at den øgede patentaktivitet i Kina kommer fra to grupper: 1) Kinesiske virksomheder med et primært fokus på det kinesiske marked. 2) Ikke-kinesiske virksomheder, der har øget fokus på det voksende kinesiske marked.

Hvis, eller når, de kinesiske virksomheder på sigt begynder at patentere i Europa, vil det kunne have stor indflydelse på det europæiske marked, da der tydeligvis er en meget høj patentaktivitet i Kina, som endnu ikke har bevæget sig ud over grænserne.

### Konklusion

Der er endnu ingen tegn på, at kinesiske virksomheder oversvømmer det europæiske marked med patentansøgninger, men dette er et billede, som kan ændre sig, når de kinesiske virksomheder får et større internationalt fokus. Hvis Danmark skal bevare en førerposition inden for fødevareteknologi, vil et større fokus på patentering af forskning og udvikling kunne spille en væsentlig rolle. Ligeledes, hvis de mindre og mellemstore virksomheder også øger deres fokus, vil Danmarks position kunne styrkes yderligere.

E-mail:  
Katja Sørensen: KSN@pv.eu

Dette er tredje og sidste artikel i en serie om NMR-spektroskopis udvikling. Artikel 1 blev bragt i Dansk Kemi nr. 9 og artikel 2 i Dansk Kemi nr. 10.

# NMR-spektroskopis udvikling III

Nye NMR-spektrometre, superfølsomme prøvehoveder, paramagnetisk mærkning af bio-makromolekyler og beregningsmæssige fremskridt.

Af Jens Jørgen Led\*, Kemisk Institut, Københavns Universitet

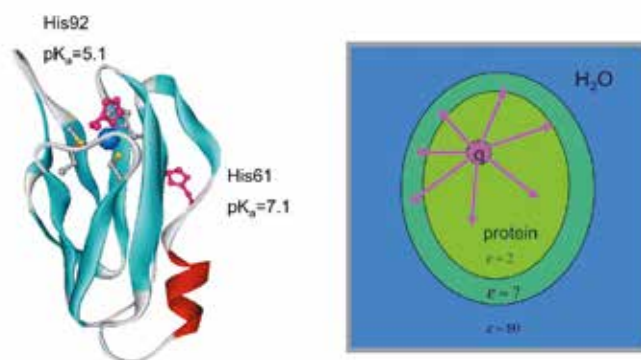
Fra sin indførelse i den analytiske kemi i starten af 1960'erne og frem til begyndelsen af 1990'erne havde NMR-spektroskopien gennemgået en betydelig udvikling og var blevet et vigtigt værktøj inden for stort set alle naturvidenskabelige forskningsområder. Således havde NMR-spektroskopien udviklet sig til et betydeligt og omfattende forskningsområde inden for studier af biomakromolekyler, og i Danmark var der nu etableret dedikerede protein-NMR-forskningsgrupper ved alle landets universiteter, samt ved Carlsberg Laboratorium, Kemisk afdeling.



Figur 1. Ph.d.-studerende Malene Ringkjøbing Jensen, Københavns Universitet, ved det fælles 800 MHz spektrometer ved NMR-centret på Carlsberg Laboratorium.

Den hurtige tekniske udvikling gjorde det imidlertid nødvendigt at opgradere det eksisterende udstyr eller anskaffe helt nyt. Da fire forskningsinstitutioner, inklusiv Protein-NMR gruppen ved Københavns Universitet, i begyndelsen af 1990'erne alle søgte Det Naturvidenskabelige Forskningsråd om midler til nyt NMR-udstyr, besluttede Rådet at bevilge en samlet pakke omfattende udstyr til alle fire grupper. For yderligere at fremme forskningsområdet besluttede Rådet samtidigt at bevilge midler til et fælles udstyr med en magnetfeltstyrke svarende til en protonfrekvens på 800 MHz - den højeste magnetfeltstyrke, der på det tidspunkt var kommercielt tilgængeligt. Det fælles udstyr

blev placeret på Carlsberg Laboratoriet, hvor der blev oprettet et landsdækkende "Instrumentcenter for NMR-spektroskopi af Biologiske Makromolekyler", figur 1. Med sin altruistiske holdning stillede Carlsberg Laboratorium en velegnet bygning til rådighed for udstyret og bevilgede et antal stillinger til udstyrets drift samt forpligtede sig til at afholde de løbende driftsudgifter af 800 MHz spektrometret de første fem år af dets levetid. Den samlede pakke af udstyr skulle være tilgængelig for alle fire grupper. Andre NMR forskningsgrupper tilsluttede sig senere ordningen. Endvidere blev der nedsat en brugergruppe med repræsentanter fra de involverede laboratorier, som aftalte den løbende brug af det samlede udstyr og arrangerede et årligt NMR-symposium med international deltagelse. Endelig blev der nedsat en styringsgruppe med international repræsentation, som sikrede, at udstyret blev udnyttet efter hensigten.

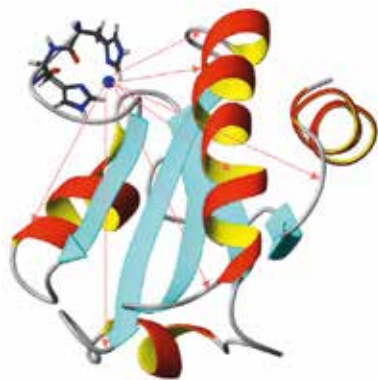


Figur 2. Mens dielectricitetskonstanten ( $\epsilon$ ) i rent vand er ca. 80, er den 2-3 i det indre af et protein. I proteinerne påvirkes  $\epsilon$  bl.a. af ladede ioner som Cu-ionen i plastocyanin og de titrerbare grupper i proteinet, her His61 og His92 i plastocyanin, der begge ligger tæt ved proteinets overflade. (Hass MAS, Jensen MR, Led JJ. *Proteins* **2008**, 72, 333-343).

## Bestemmelse af proteinernes dynamik og elektrostatiske egenskaber

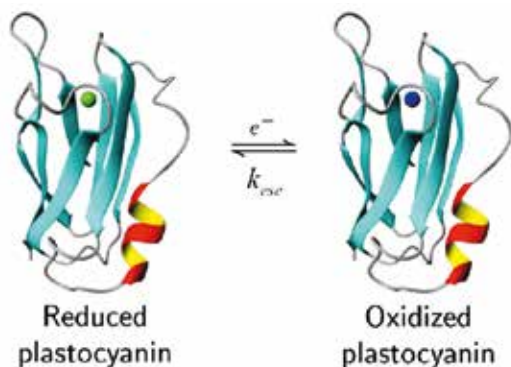
Det nye udstyrs forbedrede elektronik, og det deraf følgende bedre signal/støjforhold, gjorde det muligt ved hjælp af NMR-spektroskopi at bestemme en række af proteinernes andre fysiske egenskaber, herunder deres dynamik og elektrostatiske egenskaber. Disse muligheder blev dramatisk forbedrede efter installationen i 2004 af det superfølsomme cryo-prøvehoved, som Villum Kann Rasmussen Fonden bevilgede Protein-NMR gruppen ved Kemisk Institut, Københavns Universitet. Dette prøvehoved forøgede med et slag signal/støjforholdet på gruppens 500 MHz spektrometer med en faktor 4-5.

Især til studier af proteinernes dynamiske forhold i vandig opløsning, der er afgørende for proteinernes funktion, har NMR-spektroskopien vist sig velegnet. Det gælder f.eks. dyna- ►



Figur 3. Langtrækkende strukturinformation frembragt af en paramagnetisk  $\text{Ni}^{2+}$ -metalion, der er bundet til proteinet Thioredoxin med en His-His-Pro tag. (Jensen MR, Lauritzen C, Dahl SW, Pedersen J, Led JJ. *J Biomol. NMR*, **2004**, 29, 175–185).

mikken i vandig opløsning af plastocyanin [1–5], pseudoazurin [6] og et Collagen C-Terminal Kunitz Domain [7,8]. De elektriske felter i proteiner, der skyldes ladede og polære grupper, har også en afgørende indflydelse på proteinernes binding og funktion. Der findes imidlertid kun få teknikker, som giver mulighed for at bestemme disse elektriske felter. En af disse er NMR-spektroskopien, der gør det muligt at bestemme det elektriske felt i specifikke positioner i et protein ud fra ændringer i amidgruppernes  $^1\text{H}$  og  $^{15}\text{N}$  chemical shift-værdier. Et detaljeret NMR-studium af de elektriske felter i plastocyanin illustrerer disse forhold, figur 2 [9], side 25.



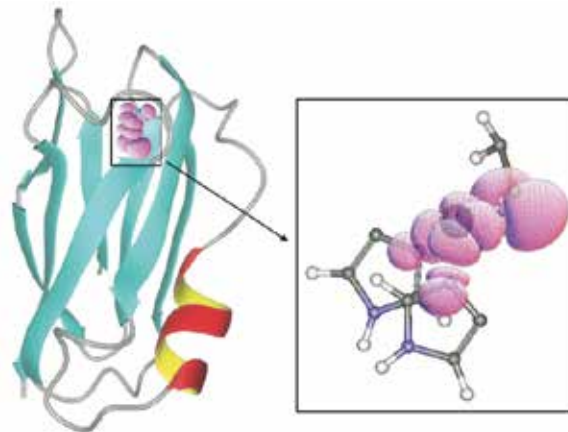
Figur 4. Udveksling af en elektron mellem to plastocyaninmolekyler (self-exchange). (Jensen MR, Hansen DF, Led JJ. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 4093–4096, og Ma L, Philipp E, Led JJ. *J. Biomol. NMR* **2001**, 19, 199–208).

## Udnyttelse af paramagnetiske effekter i NMR-spektroskopien

Uparrede elektroner fra paramagnetiske ioner, der enten findes naturligt i molekylerne eller er inkorporeret i dem, har en kraftig indflydelse på de omkringsiddende kerner chemical shifts og relaxationshastigheder. NMR-spektroskopien blev således forbedret væsentligt for metallo-proteiner såsom plastocyanin ved at inkorporere strukturinformationen fra de langtrækkende paramagnetiske pseudocontact shifts i strukturbestemmelsen [10], eller ved at binde en paramagnetisk metalion som f.eks. en  $\text{Ni}^{2+}$ -ion til et protein ved hjælp af et ionbindende molekylfragment (en tag), som ikke ændrer proteinets struktur, figur 3 [11].

De mere præcise data, der blev opnået med de nye spektrometre og den paramagnetiske påvirkning af NMR-signalerne, gjorde det muligt både at bestemme hastigheden for udveksling af elektroner mellem elektronoverførende proteiner [12,13],

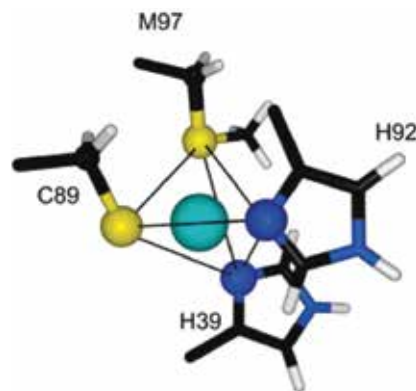
figur 4, og at fastlægge de steder på proteinernes overflade, hvor overførslen finder sted [14]. Ligeledes gav de paramagnetiske relaxationshastigheder information om elektronens vej ud gennem proteinet [15]. Selv elektronernes egne relaxationstid i et paramagnetisk metallo-protein kan bestemmes ved hjælp af NMR-spektroskopi, hvis de eksperimentelle data er tilstrækkelig præcise [16].



Figur 5. Fordelingen af den uparrede elektron omkring  $\text{Cu}^{2+}$ -ionen i plastocyanin. (Hansen DF, Led JJ. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 1247–1252.)

## Paramagnetisk NMR-spektroskopi og teoretiske beregninger

En ulempe ved anvendelsen af paramagnetisk NMR-spektroskopi er, at de kraftige paramagnetiske effekter forhindrer en normal NMR-strukturbestemmelse af selve metal-sitet og de nærmeste områder omkring det paramagnetiske center. Som D. Flemming Hansen viste under sit ph.d.-studium ved Protein-NMR gruppen, kan man ved hjælp af teoretiske beregninger relatere de paramagnetiske relaxationsdata både til elektron-

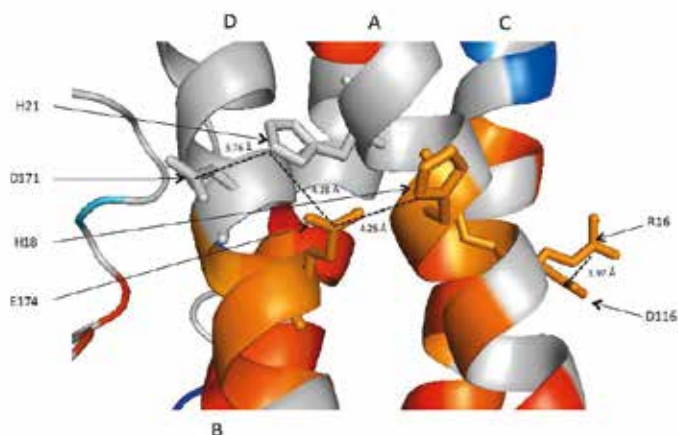


Figur 6. Den geometriske struktur af det aktive metalsite i plastocyanin. (Hansen DF, Led JJ. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, 103, 1738–1743.)

fordelingen omkring det paramagnetiske site [17], figur 5, og til sitets geometriske struktur [18], figur 6. Med forbedrede teoretiske modeller (Natural Bonding Orbitals) var det endvidere muligt at bestemme både sitets struktur og dets dynamik ud fra de paramagnetiske NMR-data [19].

## NMR-studier af selv-associerende proteiner ved højt magnetfelt

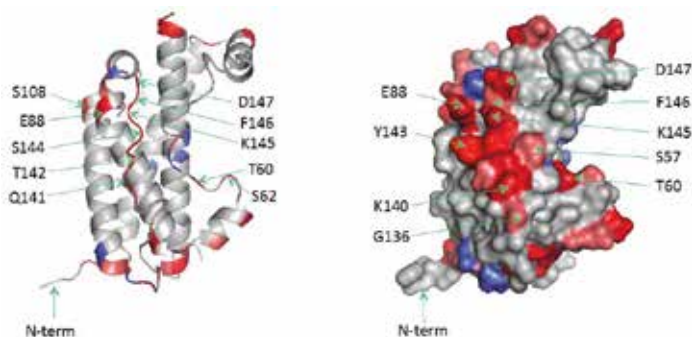
Der er betydelige fordele ved at studere selv-associerende proteiner ved et så højt magnetfelt som muligt. Ikke blot adskiller det høje magnetfelt bedre de forbrede signaler, som selv-associeringen medfører. Den større følsomhed, som følger af



Figur 7. Den centrale del af hGH's "four-helix-bundle" med netværket af saltbroer, H18-E174-H21-D171, som stabiliserer proteinet ved pH 2.7 og vokser i styrke med voksende temperatur fra 24°C til 40°C. (Vinther JM, Kristensen SM, Led JJ. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 271-278.).

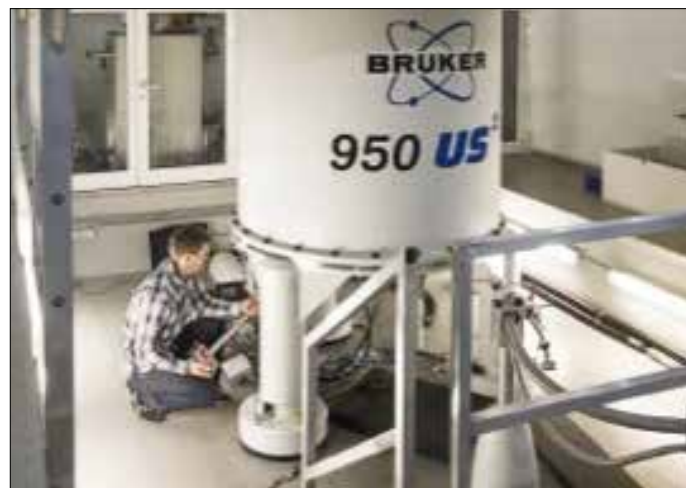
det høje magetfelt, tillader også brugen af lavere proteinkoncentrationer og deraf følgende mindre selv-associering og mindre forbreddning af signalerne. Det sidstnævnte medfører umiddelbart en bedre adskillelse af signalerne, men kan også medføre et bedre signal/støjforhold trods den lavere koncentration.

Disse forhold blev udnyttet i et studium af lav-pH formen af human væksthormon (hGH). Omkring pH 3 danner hGH en fleksibel form, der trods sin fleksibilitet har samme struktur som den native form af hGH ved pH 7. Formen ved pH 3 er imidlertid karakteriseret ved en voksende stabilitet med stigende temperatur op til omkring 40°C ligesom thermophile



Figur 8. hGH-molekylet med båndstrukturen til venstre og overfladestrukturen til højre. Den røde farve angiver områder, der er involveret i selv-associeringen, den blå farve angiver områder, der ikke er involveret i selv-associeringen og den grå farve angiver områder med aminosyrerester, der ikke er tilordnet. Enkelte af de aminosyrerester, der er involveret i selv-associeringen er angivet ved deres symboler. (Johansson H, Jensen MR, Gesmar H, Meier S, Vinther JM, Keeler C, Hodsdon ME, Led JJ. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, 136, 10277-10286.).

proteiner. Samtidig har pH 3-formen en noget mindre selv-associeringstendens end den native form. I et 800 MHz NMR studium af hGH ved pH 2.7 blev det påvist, at årsagen til den voksende stabilitet er dannelsen af intramolekylære saltbroer, figur 7, hvis stabilitet vokser med stigende temperatur og dermed øger hGH-molekylets stabilitet op til ca. 40°C [20]. Samtidigt blev det sandsynliggjort, at det samme gælder for andre thermophile proteiner, der generelt er karakteriseret ved et større antal saltbroer end deres nærmeste mesophile homologer. Den native hGH ved pH 7 har væsentlig større aggregeringstendens end formen ved pH 2.7. Det ville derfor have været nærliggende at studere den med anvendelse af det superfølsomme



Figur 9. 950 MHz NMR-spektrometret ved "Danish Center for Ultra-high Field NMR Spectroscopy" ved Aarhus Universitet.

me cryo-prøvehoved, som 500 MHz spektrometret på Kemisk Institut, Københavns Universitet var blevet udstyret med. Imidlertid besluttede ledelsen på Kemisk Institut i 2008 at nedlægge Protein-NMR gruppen i forbindelse med min fratrædelse på grund af alder. Samtidig blev 500 MHz overdraget til brug for organisk kemisk interesserede, og da ledelsen ikke mente, at den kunne vedligeholde det superfølsomme cryo-prøvehoved, blev dette desværre afmonteret og skrottet og spektrometret ført tilbage til sin oprindelige tilstand til brug for mere rutinemæssige opgaver for Kemisk Instituts øvrige ansatte. Til alt held havde jeg og en tilbageværende ph.d.-studerende fortsat adgang til det Danske NMR Centers 800 MHz spektrometer på Carlsberg Laboratorium, og da dette samtidig var blevet udstyret med et superfølsomt cryo-prøvehoved var de bedst tænkelige betingelser til stede for at kunne foretage de nødvendige NMR-målinger, så undersøgelserne af selv-associeringen af den native pH7-form af hGH kunne gennemføres. Samtidig kunne forskergruppen ved Yale University, som vi samarbejdede med, levere den række af isotopmærkede hGH-prøver, som studierne krævede.

Resultatet af studierne var overraskende [21]. Med det meget følsomme NMR-udstyr var det muligt at opnå pålidelige relaxationsmålinger selv ved meget lave hGH-koncentrationer (< 0.2 mM), på grund af en væsentlig mindre selv-associering. Disse målinger viste, at hGH's selvassociering først og fremmest skyldes et antal svage intermolekylære, elektrostatiske og hydrofobe vekselvirkninger samt hydrogenbindinger, som dækker en stor del af proteinets overflade, figur 8.

### Fremtidige højfelts-NMR-studier i Danmark

Med nedlæggelsen af protein-NMR gruppen ophørte de biofysiske protein NMR-studier ved Kemisk Institut, Københavns Universitet. Forskningsområdet er dog fortsat i fokus ved Biologisk Institut, Københavns Universitet og andre danske universiteter, ikke mindst ved Aarhus Universitet, hvor man for nyligt har fået installeret Nordeuropas største og mest avancerede NMR-spektrometer, figur 9.

E-mail:

Jens Jørgen Led: led@chem.ku.dk

\* Jens Jørgen Led er ph.d. og Dr. Scient. Han blev ansat ved Kemisk Institut, Københavns Universitet i 1968, hvor han har været leder af Protein-NMR forskningsgruppen fra 1986 til 2008. Han er i dag docent emeritus samme sted.

Referencer til artiklen på nedenstående link:  
<http://www.danskkemi-online.dk/29910-2>

## Nye produkter

Vi har fra Binder fået oplyst, at de nu har frigivet en ny serie varmeskabe, inkubatorer med og uden køl og CO<sub>2</sub> klimaskabe - alle typer til laboratoriebrug. De blev alle vist første gang på Achema.

Klimaskabene type KBF har nu fugtområde op til 98% og har størrelser fra 115 til 1.020 liter. De kan nu benyttes med almindeligt vand, demineraliseret er ikke mere nødvendigt.

Varme-/tørreskabene har markedets bedste temperaturfordeling, let overskuelig styring samt lavt energiforbrug.

Inkubatorerne med og uden køl har ligeledes markedets bedste temperatur-

fordeling, desinfektionsrutine ved 100°C, let og ergonomisk døråbning.

CO<sub>2</sub>-inkubatorerne har sterilisationsprogram ved 180°C, CO<sub>2</sub>-sensorer steriliseres samtidig. Let rengøring, da hjørner er afrundede, let og enkel indstilling. Af options kan nævnes 4-delt kammer samt O<sub>2</sub>-kontroller.

Alle typer har USB-interface.

Yderligere information:

Bräuner & Nybro

Tlf. 57 60 06 11

info@brauner-nybro.dk



## Effektiv rensning af tanke

Når der er behov for højere rengørings-effektivitet, er det nemt at opgradere fra statiske renseskugler til Alfa Laval Toftejorg SaniMidget SB roterende renseskugleteknologi. Den statiske renseskugle skal afklipes og udskiftes med et nyt roterende renseshoved, der er lige til at klipse på. Den roterende renseskugle bruger et sprøjtemønster, der sikrer dynamisk og effektiv fordeling af skyllevand til de indvendige overflader i tanken og producerer dermed de bedste rengøringsresultater.

Når renseshovedet roterer, udøver det en indvirkning på tankens væg og producerer et velfordelt faldende lag

uden det brusende flow, som kan opleves med statiske renseskugler. Resultatet er en bedre rengøringsydelse end med en statisk kugle.

Dens flugtende lejer og sprækkefri design optimerer rengøringsprocedurerne. Renseskuglen er selvdrænende og selvrensende, både indvendigt og udvendigt; det overholder gældende god fremstillingspraksis og giver en besparelse på vand, kemikalier og energi på op til 70%.

Renseskuglen er designet til minimalt tryktab og begynder at rotere ved tryk, der er lavere end 0,1 bar. Den er fremstillet af sikre, ureaktive og hygiejniske materialer, som sikrer produktkvaliteten,



og som er blevet tildelt 3A- og EHEDG-certificering. Roterende renseskugleteknologi har vist sig at være effektiv til en pålidelig og gentagelig rengøringsydelse og en lang brugstid.

Yderligere information:

www.alfalaval.com

## Touch Coulometer til coulometrisk KF-vandbestemmelse



Metrohm præsenterer et nyt medlem af Ti-Touch titrator-"familien": 917 Ti-Touch Coulometer.

Coulometeret er et kompakt, stand-alone-instrument. Kontrolenhed, magnetorør og pumpe til reagensudskiftning forenes i et enkelt pladsbesparende design.

Brugersikkerheden er høj, idet der er:

- Integreret pumpe: Reagensudskiftning ved tryk på en knap. Kontakt med Karl Fischer-reagenser undgås fuldstændigt.
- Vigtige parametre (antal analyser, reagensbeholdning, drift...) overvåges/vises konstant.

Brugervenligheden er høj, idet der er:

- Automatisk overførsel af vejetal.
- Brugeren kan starte sine favorit-applikationer (op til 14!) med et enkelt tryk på ikonet på farveskærmen.
- Titrering begynder automatisk, når prøven tilsættes.

Andre fordele er:

- Rapporter kan gemmes direkte på et USB-stick eller netværksdrev.
- Resultater kan eksporteres til LIMS via ethernet interface og bearbejdes der.
- Manuel eller automatisk prøvehåndtering med 885 Compact Oven Sample Changer.

Yderligere information:

Metrohm Nordic

Tlf. 70 20 05 61

michael.hoj@metrohm.dk

# Leverandørregister

## Analyse

### E

#### Elektronmikroskoper

##### DFA A/S/NIKON

Produktionsvej 26  
2600 Glostrup  
Tlf. 72 48 84 31 - Fax 72 48 84 33  
ak@dfa.dk  
www.dfa.dk

### F

#### Fermentering og cellekultur-udstyr



Svanholm.com  
Nordisk Pharma  
og Analyzer Center  
Tlf. 70 26 58 11 - Fax 69 80 31 33  
mail@svanholm.com  
www.svanholm.com  
Nordens største sensor og analyser  
udvalg til lab, pilot og proces

#### FTIR-udstyr



##### Bruker Optics Scandinavia AB

Vallgatan 5  
SE-17067 Solna  
Tlf. +46 8 655 25 30 -  
Fax +46 8 655 25 99  
www.bruker.com

### G

#### Gasdetektorer



##### Dräger Safety Danmark A/S

Lyskær 9  
2730 Herlev  
Tlf. 44 50 00 00 - Fax 44 50 00 01  
draeger-safety.dk@draeger.com  
www.draeger.dk

## Gasser

A Member of  
The Linde Group | **AGA**

##### AGA A/S

Vernlandsgade 55  
2300 København S  
Tlf. 32 83 66 00 - Fax 32 83 66 01  
www.aga.dk  
Specialgasser

### L

#### Laboratoriearmaturer

##### BROEN LAB DIVISION

Skovvej 30  
5610 Assens  
Tlf. 64 71 20 95 - Fax 64 71 24 76  
lab@broen.com  
www.broen.com

### M

#### Massespektrometre, proces



Svanholm.com  
Nordisk Pharma  
og Analyzer Center  
Tlf. 70 26 58 11 - Fax 69 80 31 33  
mail@svanholm.com  
www.svanholm.com  
Svanholm.com er distributør af  
Thermo Scientific proces MS

#### Massespektrometre



##### Bruker Daltonics Scandinavia AB

Vallgatan 5  
SE-17067 Solna  
Tlf. +45 20 21 54 44 -  
Fax +45 47 31 74 44  
www.bruker.com



##### Svanholm.com Nordisk Pharma og Analyzer Center

Tlf. 70 26 58 11 - Fax 69 80 31 33  
mail@svanholm.com  
www.svanholm.com  
MS til styring af fermentering og  
farmaceutisk pulvertørring

#### Mikrobiologi, udstyr t.



##### Bruker Daltonics Scandinavia AB

Vallgatan 5  
SE-17067 Solna  
Tlf. +45 20 58 68 66 -  
Fax +46 8 655 25 99  
karina.petersen@bruker.com  
www.bruker.com

#### Mikroskoper

##### DFA A/S/NIKON

Produktionsvej 26  
2600 Glostrup  
Tlf. 72 48 84 31 - Fax 72 48 84 33  
ak@dfa.dk  
www.dfa.dk

### N

#### NIR-analyse/-udstyr



##### Bruker Optics Scandinavia AB

Vallgatan 5  
SE-17067 Solna  
Tlf. +46 8 655 25 30 -  
Fax +46 8 655 25 99  
www.bruker.com



##### Svanholm.com Nordisk Pharma og Analyzer Center

Tlf. 70 26 58 11 - Fax 69 80 31 33  
mail@svanholm.com  
www.svanholm.com  
NIR til QbD og PAT ved pulvertørring,  
tablet-produktion og fermentering

## NMR-analyseudstyr



##### Bruker BioSpin Scandinavia AB

Vallgatan 5  
SE-17067 Solna  
Tlf. +46 8 655 25 10 -  
Fax +46 8 655 25 99  
www.bruker.com

### O

#### Opvaskemaskiner



##### KEN A/S

Bøgebjergvej 60, Brobyværk  
5672 Broby  
Tlf. 62 63 10 91  
www.ken.dk



##### Miele A/S PROFESSIONAL

Erhvervsvej 2  
2600 Glostrup  
Tlf. 43 27 11 00 - Fax 43 27 15 09  
professional@miele.dk  
www.miele.dk

### R

#### RAMAN-udstyr



##### Svanholm.com Nordisk Pharma og Analyzer Center

Tlf. 70 26 58 11 - Fax 69 80 31 33  
mail@svanholm.com  
www.svanholm.com  
Råvare-identifikation og  
onlinemåling i R&D og GMP

# Leverandørregister

## Produktion

### E

#### Etikettering

##### LSS Etikettering A/S

Normansvej 8  
8920 Randers NV  
Tlf. 70 20 25 00 - Fax 70 20 10 44  
info@lss-dk.com  
www.lss-dk.com

### F

#### Faremærkning



##### Pekema A/S

Dam Holme 14-16  
3660 Stenløse  
Tlf. 44 92 62 00  
pekema@pekema.dk  
www.pekema.dk  
www.barsafe.dk  
Software til CLP mærkning, printere  
og etiketter.  
Vi er specialister i produktmærkning

### H

#### Hygiejne & Rengøring



##### Procurator A/S

Stærevej 2  
6705 Esbjerg Ø  
Tlf. 76 11 50 00 - Fax 76 11 50 01  
info@procurator.dk  
www.procurator.dk  
Vi sikrer tryghed!

### P

#### Personligt sikkerhedsudstyr



##### Procurator A/S

Stærevej 2  
6705 Esbjerg Ø  
Tlf. 76 11 50 00 - Fax 76 11 50 01  
info@procurator.dk  
www.procurator.dk  
Vi sikrer tryghed!

### V

#### Vægte

##### CBH Vægte aps

Vonsildvej 207  
6000 Kolding  
Tlf. 75 56 73 10 - Fax 75 56 73 20  
info@cbh-vaegte.dk  
www.cbh-vaegte.dk

### Å

#### Åndedrætsværn



##### Dräger Safety Danmark A/S

Lyskær 9  
2730 Herlev  
Tlf. 44 50 00 00 - Fax 44 50 00 01  
draeger-safety.dk@draeger.com  
www.draeger.dk

#### Service & miljø

### M

#### Miljøbeskyttelse og sikkerhed

##### Dansk Polyglas A/S

Industrivej 12  
5672 Broby  
Tlf. 62 64 12 00  
www.polyglas.dk  
Glasfiberarmerede miljøbokse  
til krævede miljøer

### P

#### Patenter



##### Chas. Hude A/S

H.C. Andersens Boulevard 33  
1780 København V  
Tlf. 33 19 34 00 - Fax 33 19 35 00  
chashude@chashude.com  
www.chashude.dk



##### LBK PATENT ApS

Ole Maaløes Vej 3  
2200 København N  
Tlf. 30 50 38 78  
lbk@lbkpatent.dk  
www.lbkpatent.dk

## Software

### A

#### Arbejdspladsbrugs- anvisninger og etiketter



##### CHYMEIA ApS

Universitetsparken 7  
4000 Roskilde  
Tlf. 72 40 16 22  
info@chymeia.dk  
www.chymeia.dk  
APB/SDS software med beregning af  
CLP klassificeringer

Find også dansk kemi her:

[www.danskkemi-online.dk](http://www.danskkemi-online.dk)

[www.facebook.com/UNG.KEMI](https://www.facebook.com/UNG.KEMI)

#### Eksempel på optagelse i leverandørregistret:

**Fagbladsforlag** (produktoverskrift) - kr. 234



(fimalogo) - kr. 222

##### TechMedia A/S

Naverland 35  
2600 Glostrup  
Tlf. 43 24 26 28 - Fax 43 24 26 26  
info@techmedia.dk  
www.techmedia.dk

Nordens største fagbladsforlag (ekstra linie) - kr. 60

**Samlet pris for ovenstående optagelse er kr. 516**

*Alle priser er pr. stk. pr. udgave ekskl. moms*



## Generalforsamling 2015

3. december 2015

Københavns Universitet, H.C. Ørsted Institut,  
 Universitetsparken 5, auditorium 2, kl. 16.30

plenarforedrag

**Professor Troels Skrydstrup,**  
 Aarhus Universitet, Kemisk Institut

**"From Accident to Research to a University Spin-  
 Off for New Chemical Technologies"**

fra kl. 17.15:

**Ordinær generalforsamling**

## Mødekalender (11) 2015

**3. 12. 2015** Kemisk Forening, Foredrag og Generalforsamling kl. 16.30 og 17.15, H.C. Ørsted Institut, auditorium 2, Universitetsparken, København. Se dk 2015 (11).

## BOGANMELDELSE

### Guldbog Kemi C

*Guldbog Kemi C*  
 Mira Beckers og Christian Bøgelund  
 2015, 79 sider,  
 pris 99,95 kr. ekskl. levering



Bogen er et smart resultat af to skoleelevers keminoter forud for eksamenen. Christian Bøgelund og Mira Backers har fået samlet formuler, huskestof og nøgledata til en lille velskrevet bog med en god struktur.

Målgruppen er elever med kemi på C-niveau i gymnasiet og HTX.

Kapitlerne dækker emnerne: Stoffers opbygning og det periodiske system, formuler, blandbarhed, mængdeberegning, kemiske reaktioner, kemisk faremærkning, eksperimenter og opgaveskrivning.

Teksten er skrevet i overskuelige afsnit, sat med store typer og suppleret med få gode tegninger og tabeller. Lidt mere korrekturlæsning ville strømline illustrationerne, overskriftshierakiet, samt fjerne nogle dumme slå- og stavfejl. Bogens gode stikordsregister kan med fordel suppleres med en kapiteloversigt.

Forfatterens annoncerede "guldkorn" inkluderer et par huskeremsere bl.a. til alkaners navne. Anmelderen anbefaler i stedet læserne at lære betegnelser (penta, hexa---) samt hvorfor og hvorfra disse stammer (latinske talord), da de anvendes overalt i kemiens univers.

Bogen præsenteres som nøglen til eksamens-succes, men den må anbefales som et supplement til pensum og en tjekliste ved eksamenslæsning. Uden forklarende tekst med baggrund og årsager til kemidata bliver det let udenadslæren uden den blivende forståelse, som skal anvendes til daglig gavn og efterlevelse resten af livet. Som ved anden udvinding af guldkorn, er der ingen nem genvej, men gode værktøjer.

Michael Koefoed, civilingeniør. Kemi, ekstern lektor, DTU

Anmelderen har undervist på trekantområdet specialarbejderskole, HTX og DTU.

Afsender: TechMedia A/S, Naverland 35, DK-2600 Glostrup



# Dedicated Raw Material Analyzer

## BRAVO - A **new** era of Handheld Raman Spectroscopy

- **SSE™** – Sequentially Shifted Excitation mitigates fluorescence
- **Duo LASER™** provides the highest sensitivity throughout a large spectral range including the CH-stretching region
- **IntelliTip™** – automated recognition of measurement tips
- **Class 1M Laser safe in all modes of operation**
- **Intuitive and guided touch screen operation**

BRAVO makes Raman analysis accessible to everybody. New technologies especially designed for BRAVO provide an efficient verification of the widest range of materials. BRAVO supports the complete manufacturing process from raw material verification to finished product inspection with functionality that meets your requirements.

**Contact us for more details** [www.bruker.com/bravo](http://www.bruker.com/bravo)

### **Bruker Optics Scandinavia AB**

Vallgatan 5  
SE-170 67 SOLNA, Sweden  
Tel: +46 8 655-2530  
Fax: +46 8 655-2599  
Email: [optics@bruker.se](mailto:optics@bruker.se)

Innovation with Integrity

RAMAN